



Colon cancer – new strategies of treatment

Rak jelita grubego – nowe strategie leczenia

Anna Międzybrodzka^{1,2} , Joanna Gmyrek¹ , Grzegorz Cieślar¹ , Aleksandra Kawczyk-Krupka¹ 

¹Department of Internal Medicine, Angiology and Physical Medicine, Faculty in Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia in Katowice

²General Practitioner Practice, Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Katowice

ABSTRACT

Colon cancer is one of the most frequent causes of death in the world. Despite the easily accessible diagnostic tools, the disease is still diagnosed at its advanced stage, when radical treatment is no longer possible and only palliative therapy can be provided. Cancer recurrence, which worsens the patient's prognosis, is a separate problem. Currently, scientists are seeking modern, multidirectional treatment methods, which would enable the inhibition of neoplasia, elongation of patients' lives and improvement in their quality. Immunotherapy and photodynamic therapy seem to be promising as they provide good results, also at advanced stages of cancer. Due to its cytotoxic and immunomodulating effect, photodynamic therapy exhibits an antineoplastic effect. Using monoclonal antibodies in the targeted therapy of colon cancer is a new, promising concept, which requires further studies.

KEY WORDS

colon cancer, photodynamic diagnostics, photodynamic therapy, immunotherapy, monoclonal antibodies, targeted therapy

STRESZCZENIE

Rak jelita grubego jest jedną z najczęstszych przyczyn zgonów na świecie. Pomimo łatwo dostępnych narzędzi diagnostycznych nadal często rozpoznawany jest w stadium zaawansowanym, kiedy niejednokrotnie nie ma już możliwości leczenia radykalnego i pozostaje jedynie terapia paliatywna. Odrębnym problemem jest wznowa nowotworu, pogarszająca rokowanie pacjenta. Współcześnie poszukuje się nowoczesnych, wielokierunkowych metod leczniczych, które pozwoliłyby zahamować proces nowotworzenia, wydłużyć życie chorych i poprawić jego jakość. Obiecującym kierunkiem badań okazują się immunoterapia oraz terapia fotodynamiczna, które dają pomyślne wyniki również w zaawansowanych stadiach raka. Terapia fotodynamiczna wykazuje działanie przeciwnowotworowe poprzez efekt cytotoksyczny oraz immunomodulujący. Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych w celowanej terapii raka jelita grubego jest nową, dobrze rokującą koncepcją wymagającą dalszych badań.

SŁOWA KLUCZOWE

rak jelita grubego, diagnostyka fotodynamiczna, terapia fotodynamiczna, immunoterapia, przeciwciała monoklonalne, terapia celowana

Received: 16.01.2019

Revised: 16.02.2019

Accepted: 17.05.2019

Published online: 31.12.2019

Address for correspondence: Anna Międzybrodzka, General Practitioner Practice, Hospital of the Ministry of the Interior and Administration in Katowice, Głowacki Street 10, 40-052 Katowice, tel. + 48 726 062 415, e-mail: anna.miedzybrodzka@gmail.com

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
www.annales.sum.edu.pl



Colon cancer – epidemiology, diagnostics, treatment

Colon cancer is one of the most frequently occurring malignant neoplasms, second to breast cancer and third to lung and prostate cancer in men. There were 19,000 new cases of colon cancer in Poland in 2017, and each year there are approximately 11,000 deaths caused by the disease. The rate of five-year survival is approximately 47% in men and 49% in women. Most cancers of the colon occur after the age of 50, out of which 75% of cases concern people aged over 60. The clinical picture of the disease depends on the location of the neoplastic lesion. If the tumour is located in the caecum or the right part of the colon, the disease may develop without any symptoms for a long time; due to concealed bleeding, gradually increasing anaemia develops and abdominal pain may occur. In laboratory tests, a positive result of the test for concealed blood can be observed. A tumour located in the left half of the colon and rectum causes overt bleeding from the lower part of the gastrointestinal tract and changes in defecation patterns. Moreover, rectal tumours are often found by palpation during per rectum examinations. Less frequent symptoms include perforation of the gastrointestinal tract, haemorrhage or obstruction, which is sometimes the first symptom of colon cancer [1,2].

The basic diagnostic tool in the case of colon cancers is colonoscopy, which has been easily accessible and performed routinely in the recent years. However, diagnosing the disease at its advanced stadium remains a problem; it is related to a worse prognosis due to limited therapeutic possibilities, which is the reason why the scientific world struggles to develop newer, more precise and less invasive diagnostic and therapeutic methods that would prolong patients life and improve its quality. The high macroscopic similarity between small neoplastic and dysplastic foci and normal mucosa is a frequent diagnostic problem. Laser-induced fluorescence (LIF) or photodynamic diagnosis (PDD), based on an optical analysis of tissues, are new diagnostic methods. The optical effect is the emission of red light through neoplastic tissue and of green – through healthy tissue. Optical biopsy is known as a method supporting the final diagnosis and enabling targeted sample collection for the histopathological examination; it is also an element which supports the assessment of autofluorescence imaging. Studies show the high effectiveness of autofluorescence techniques using spectroscopy in targeted biopsy or early diagnosis of pre-neoplastic diseases and gastrointestinal system neoplasms, especially in diagnostically difficult tumours of the gastrointestinal system. This method makes it possible to initially rule out or confirm the presence of pre-neoplastic lesions and neoplasms on the basis of autofluorescence examination of gastrointestinal mucosa. It also enables non-invasive diagnosis of early forms of neoplasms and pre-neoplastic lesions, monitoring and early detection of disease recurrence, as well as non-invasive exclusion of the neoplastic nature of lesions.

Rak jelita grubego – epidemiologia, diagnostyka, leczenie

Rak jelita grubego jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych; znajduje się na drugim miejscu po raku sutka u kobiet i na trzecim miejscu po raku płuca i prostaty u mężczyzn. W 2017 r. w Polsce zanotowano 19 tys. nowych zachorowań, a co roku notuje się około 11 tys. zgonów z powodu tej choroby. Pięcioletnie przeżycie chorych wynosi około 47% u mężczyzn i 49% u kobiet. Do większości zachorowań na nowotwory złośliwe jelita grubego dochodzi po 50 r.ż., z czego 75% przypadków dotyczy osób po 60 r.ż. Obraz kliniczny choroby zależy od lokalizacji zmiany nowotworowej. W przypadku umiejscowienia guza w kątnicy i prawej części okrężnicy choroba przez długi czas może rozwijać się bezobjawowo, a w związku z utajonym krwawieniem dochodzi do stopniowo narastającej niedokrwistości, może również pojawiać się ból brzucha. W badaniach laboratoryjnych można zaobserwować dodatni wynik badania kału na krew utajoną. Guz zlokalizowany w lewej połowie okrężnicy i odbytnicy daje jawne krwawienie z dolnego odcinka przewodu pokarmowego oraz zmiany rytmu wypróżnień. Ponadto guz odbytnicy jest często wyczuwalny podczas badania *per rectum*. Do rzadszych objawów należą perforacja przewodu pokarmowego, krwotok czy niedrożność, która niekiedy jest pierwszym objawem raka jelita grubego [1,2].

Podstawowym narzędziem diagnostycznym w przypadku nowotworów jelita grubego jest kolonoskopia, która w ostatnich latach stała się badaniem łatwo dostępnym i wykonywanym rutynowo. Nadal jednak problem stanowi rozpoznawanie choroby w zaawansowanym stadium, wiążące się z gorszym rokowaniem ze względu na ograniczone możliwości terapeutyczne; stąd dążenie świata nauki do opracowania nowszych, dokładniejszych, mniej inwazyjnych metod diagnostycznych i terapeutycznych, które mogłyby przedłużyć i poprawić jakość życia chorych z rakiem jelita grubego. Duże podobieństwo makroskopowe niewielkich ognisk nowotworowych i dysplastycznych do prawidłowej śluzówki to częsty problem diagnostyczny. Nowymi metodami są diagnostyka fluorescencyjna (*laser-induced fluorescence* – LIF) lub fotodynamiczna (*photodynamic diagnosis* – PDD), która opiera się na analizie optycznej tkanek. Efektem optycznym jest emisja światła czerwonego przez tkankę nowotworową, a zielonego przez tkankę zdrową. Biopsja optyczna jest uznawana za metodę wspomagającą ostateczne rozpoznanie oraz pozwalającą na celowane pobranie wycinków do badania histopatologicznego; jest także elementem wspomagającym ocenę obrazowania autofluorescencyjnego. Badania wykazują dużą skuteczność technik autofluorescencyjnych z wykorzystaniem spektroskopii w celowanej biopsji oraz wczesnym wykrywaniu schorzeń przednowotworowych i nowotworów przewodu pokarmowego, zwłaszcza w trudnych diagnostycznie guzach przewodu pokarmowego. Metoda ta pozwala wstępnie wykluczyć lub potwierdzić obecność zmian przedno-



Modern methods of diagnosing colon cancer also include narrow band imaging (NBI) and chromoendoscopy. Narrow band imaging uses optical filters transmitting narrow rays of blue and green light; the light is absorbed by haemoglobin and, as a result, the vessels, highly vascularised structures and the surface of the mucosa are visualised in detail. Chromoendoscopy uses surface dyes accumulating in the pathological tissue, which results in the tissue being clearly visualised in the endoscopic image. The methods were developed in order to increase the sensitivity and specificity of diagnostics and endoscopic resection of lesions, especially adenomas, which are most often a starting point for cancer. There are analyses in which researchers draw attention to the decrease in the number of colon cancer cases in large, cohort groups of patients, mostly due to the performed colonoscopies, frequently complemented by NBI and chromoendoscopy with simultaneous polyp resection, clearly preventing further development and neoplastic progression of the lesions [3]. Using autofluorescence endoscopy together with narrow-band imaging in diagnostics of gastrointestinal tract diseases makes it possible to reach specificity and sensitivity of up to, respectively, 92% and 89% in the detection of intestinal metaplasia, 98.5% and 83% in the detection of dysplastic lesions and 99% and 91% in the detection of early gastric cancer. White light endoscopy applied on its own makes it possible to reach diagnostic specificity and sensitivity of 74% and 83%, respectively [3, 4,5,6,7].

In the case of colon cancer, radical surgical removal of the primary tumour is a standard therapeutic procedure. Benign (adenoma) and pre-invasive (in-situ cancer) lesions are removed by means of endoscopic resection during colonoscopy. In some patients with local and regional advancement of cancer, it is necessary to complement surgical treatment with chemotherapy, sometimes in combination with radiotherapy. In primarily unresectable tumours or inoperable metastatic lesions, induction chemotherapy is applied in order to decrease neoplastic foci, which – in some cases – makes it possible to perform radical or palliative surgery after several months.

Personalised treatment of colon cancer

Currently, scientists are working on developing individualised, complex strategies, which combine conventional treatment methods with modern immunotherapy. The development of medicine based on an individual approach to patients plays an important role in the prevention, diagnosis and treatment of colon cancer, thanks to the application of molecular criteria appropriate for a given patient, which makes it possible to determine the predispositions and apply optimal therapy. In oncology, the concept of personalised medicine is based on identifying people with an increased risk of developing cancer, specifying molecular changes in cancer cells and determining the effectiveness of the drug's biotransformation in the organism of the patient. Lear-

wotworowych i nowotworowych na podstawie badań autofluorescencji śluzówki przewodu pokarmowego, ponadto umożliwia nieinwazyjną diagnostykę wczesnych postaci nowotworów i zmian przednowotworowych, monitorowanie i wczesne wykrywanie nawrotów choroby, a także nieinwazyjne wykluczenie nowotworowego charakteru zmiany.

Do nowoczesnych metod diagnostyki nowotworów jelita grubego należy również obrazowanie wąskopasmowe (*narrow band imaging* – NBI) oraz chromoendoskopia (*chromoendoscopy*). Obrazowanie wąskopasmowe wykorzystuje filtry optyczne przepuszczające wąskie pasmo światła niebieskiego i zielonego, pochłanianie przez hemoglobinę, co powoduje dokładne uwidocznienie naczyń, struktur silnie unaczynionych i powierzchni błony śluzowej. W chromoendoskopii stosuje się barwnik powierzchniowy, gromadzący się w patologicznej tkance, która zostaje wyraźnie uwidoczniła w obrazie endoskopowym. Metody te zostały opracowane w celu zwiększenia czułości i specyficzności diagnostyki oraz endoskopowych resekcji zmian, zwłaszcza gruczolaków będących najczęściej punktem wyjścia raka. Istnieją analizy, w których badacze zwracają uwagę na zmniejszanie się liczby zachorowań na raka jelita grubego w dużych kohortowych grupach pacjentów, przede wszystkim dzięki wykonywanym kolonoskopiom, niejednokrotnie uzupełnianym NBI i chromoendoskopią z jednoczasową resekcją polipów, co ewidentnie zapobiega dalszemu rozwojowi i późniejszemu złośliwieniu zmian [3]. Zastosowanie endoskopii autofluorescencyjnej łącznie z obrazowaniem wąskopasmowym w diagnostyce schorzeń przewodu pokarmowego pozwala osiągnąć specyficzność i czułość w granicach odpowiednio 92% i 89% w wykrywaniu metaplazji jelitowej, 98,5% i 83% dla zmian dysplastycznych oraz 99% i 91% w wykrywaniu wczesnego raka żołądka. Endoskopia w świetle białym stosowana samodzielnie pozwala osiągnąć w diagnostyce specyficzność i czułość w granicach odpowiednio 74% i 83% [3,4,5,6,7]. Standardem postępowania terapeutycznego w przypadku raka jelita grubego jest radykalne chirurgiczne usunięcie guza pierwotnego. Zmiany łagodne (gruczolaki) oraz przedinwazyjne (rak in situ) usuwa się poprzez endoskopowe wycięcie podczas kolonoskopii. U niektórych chorych z miejscowym i regionalnym zaawansowaniem choroby nowotworowej konieczne bywa uzupełnienie leczenia chirurgicznego chemioterapią, niekiedy łącznie z radioterapią. W pierwotnie nieresekcyjnych guzach lub nieoperacyjnych zmianach przerzutowych stosuje się chemioterapię indukcyjną w celu zmniejszenia ognisk nowotworowych, co w niektórych przypadkach umożliwia po kilku miesiącach wykonanie radykalnego lub paliatywnego zabiegu operacyjnego [1].

Terapia spersonalizowana raka jelita grubego

Współcześnie dąży się do opracowania zindywidualizowanych kompleksowych strategii łączących konwencjonalne metody terapii z nowoczesną immunoterapią.



ning about the biology of cancer and the mechanisms responsible for the processes of cancer development and progression constitutes the basis of such therapy. Factors promoting tumour growth include: genetic mutations, abnormalities in the Wnt signalling pathway and factors produced and released by cancer cells, such as chemokines, cell adhesion factors or vascular endothelial growth factors, which participate in growth and proliferation processes as well as angiogenesis and the formation of metastases. Persistent inflammation within the tumour mass and pro-cancer activity of the local immune system are necessary factors for tumour development and progression of the disease.

Adenocarcinoma constitutes 95% of malignant neoplasms of the colon. It has been proven that its development is initiated by mutations of suppressor genes, namely antioncogenes, such as *p53*, *APC*, *DCC* and mutations activating protooncogenes, for example *K-ras*. As a result, normal epithelium transforms from a minor crypt-like lesion, through a benign gland polyp, to malignant, invasive cancer [8,9]. The participation of many factors has been proven in this growth process. In the course of adenomas, hyperplastic polyps and the early stage of colon cancer the activity of interleukin (IL) 4 is increased, whereas a low concentration of IL-4 was observed at a more advanced stage of adenocarcinoma. Moreover, on the basis of in-vivo studies on mice it has been proven that the alpha receptor of interleukin 4, which constitutes an element of the receptor complex for IL-4, IL-3 and lymphocytes, plays an important role in promoting the growth of colon cancer, and when the receptor is lacking, tumours with a much smaller mass develop [11]. Increased activity of IL-6, the concentrations of which have been observed to be higher in colon cancer patients than in the healthy population, is also associated with a bad prognosis. It has been proven that IL-6 participates in the process of development, local invasion and metastases of colon cancer [12,13,14,15,16], just like IL-8 and the vascular endothelial growth factor (VEGF), which additionally promote angiogenesis, facilitating metastasis and cancer recurrence, and also cause cancer cell resistance to chemotherapy. In all cases of colon cancer, increased expression of IL-8 and VEGF has been observed.

Studies have shown that IL-8 and its receptor, CXCR2, are factors which undergo the strongest expression in the course of colon cancer and may exhibit an antineoplastic effect as well as increase cancer cell sensitivity to chemotherapy [17,18,19,20,21,22]. Moreover, it has been observed that concentrations of IL-9 in the case of colon cancer are lower, and it has been proven that a decreased level of IL-9 expression correlates with colon cancer progression [23], while an increased concentration of IL-10 in the serum of patients with cancer progression is associated with a decrease survivability [24,25]. Interleukin 11 also plays a role in cancer development. In genetic studies on mouse models and human cancer cell lines, it has been proven that pharmacological inhibition of IL-11 expression reduces proliferation, the infiltration ability and growth of cancer cells [26].

Rozwój medycyny opartej na zindywidualizowanym podejściu do pacjenta odgrywa znaczącą rolę w prewencji, diagnozowaniu oraz leczeniu raka jelita grubego dzięki zastosowaniu kryteriów molekularnych właściwych dla danego chorego, co pozwala na określenie predyspozycji oraz zastosowanie optymalnej terapii. Pojęcie medycyny personalizowanej w onkologii opiera się na identyfikacji osób ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na chorobę nowotworową, charakterystyce zmian molekularnych w komórkach nowotworu oraz określeniu efektywności biotransformacji leku w organizmie pacjenta. U podstaw takiej terapii leży poznanie biologii nowotworów oraz mechanizmów odpowiedzialnych za procesy rozwoju i progresji raka. Czynnikiami promującymi wzrost guza są m.in. mutacje genetyczne, nieprawidłowości szlaku sygnalizacji Wnt oraz czynniki produkowane i uwalniane przez komórki raka, takie jak chemokiny, czynniki adhezji komórkowej czy czynniki wzrostu śródbłonka naczyń, które biorą udział w procesach wzrostu i proliferacji, a także w angiogenezie i tworzeniu przerzutów. Utrzymujący się stan zapalny w obrębie masy nowotworowej oraz pronowotworowa aktywność miejscowego układu odpornościowego są czynnikami niezbędnymi do rozwoju guza i progresji choroby.

Spośród nowotworów złośliwych jelita grubego 95% przypadków stanowi gruczolakorak. Dowiedziono, że jego rozwój zapoczątkowują mutacje genów supresorowych, czyli antyonkogenów takich jak *p53*, *APC*, *DCC*, oraz mutacje aktywujące protooncogeny, m.in. *K-ras*. W efekcie dochodzi do przemiany prawidłowego nabłonka z niewielkiej zmiany kryptopodobnej, poprzez łagodny gruczolowy polip, do złośliwego, inwazyjnego raka [8,9]. W procesie tego wzrostu udowodniono udział wielu czynników. Wykazano zwiększoną aktywność interleukiny (IL) 4 w przebiegu gruczolaków, polipów hiperplastycznych oraz raka jelita grubego we wczesnym stadium, natomiast niskie stężenie IL-4 obserwowano w bardziej zaawansowanym stadium gruczolakoraka [10]. Ponadto na podstawie badań in vivo na myszach udowodniono, że receptor alfa interleukiny 4, będący składnikiem kompleksu receptorowego dla IL-4, IL-13 i limfocytów T, odgrywa rolę w promowaniu wzrostu raka jelita grubego, natomiast przy braku tego receptora dochodzi do rozwoju guzów o znamiennej mniejszej masie [11]. Ze złym rokowaniem wiąże się również zwiększona aktywność IL-6, której wyższe stężenia obserwowano u chorych z rakiem jelita grubego niż u zdrowej populacji. Udowodniono udział IL-6 w procesach rozwoju, miejscowej inwazji oraz przerzutowania raka jelita grubego [12,13,14,15,16], podobnie IL-8 i czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), które dodatkowo promują angiogenezę, sprzyjając przerzutowaniu i wznowie raka, a także powodują oporność komórek raka na chemioterapię. We wszystkich przypadkach raka jelita grubego obserwowano zwiększoną ekspresję IL-8 i VEGF.

Badania wykazały, że IL-8 i jej receptor CXCR2 należą do czynników ulegających najsilniejszej ekspresji



The expression of IL-33 and its receptor, ST2, which stimulate carcinogenesis, has also been found in colon cancer. It has been observed that involvement of the IL-33/ST2 pathway is crucial for colon cancer development, and the IL-33 concentrations in colon cancer patients are higher compared to the healthy population. In the mouse model, ST2 receptor deficiency protected the animals from cancer development. In addition, it was found that the activation of IL-33/ST2 signalling damages the integrity of the intestinal barrier and triggers the production of pro-neoplastic IL-6 by the immune cells [27,28].

Another group of factors stimulating cancer growth are CAM adhesion molecules – intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) – and also cadherins, metalloproteinases, as well as proteolytic enzymes, which together play a role in the process of neoplastic cell adhesion, cell membrane digestion as well as cancer cell migration and invasion [30,31,32]. All these factors, produced and released by cancer cells, create its microenvironment, which sustains its growth, local progression and promotes the spreading process. Leukocyte cells such as macrophages, neutrophils, dendritic cells, mastocytes, lymphocytes and eosinophils cause chronic inflammation in the microenvironment, additionally stimulating the production of pro-inflammatory factors such as IL-6, VEGF and the fibroblast growth factor (FGF), which boosts the growth and invasion of cancer [33, 34]. Hypoxia within the tumour is another factor facilitating progression. The accumulation of macrophages and produced cytokines, chemokines and growth factors (e.g. interleukins and VEGF) occurs in the hypoxic environment of the tumour, which forms a continuous paracrine loop promoting tumour growth, angiogenesis, migration to cells and, as a consequence, cancer spread to other organs [35].

In the analysis of molecular changes, diagnostic, prognostic and predictive markers are assessed in terms of the response to the applied treatment [36,37,38]. The knowledge of such complicated mechanisms of cancer development and spreading allows researchers to better understand the essence of the problem and gain a broader perspective on the possibilities of exploring various targets when developing new, targeted and more effective methods of treatment.

The targeted therapy of colon cancer began with the introduction of two monoclonal antibodies – cetuximab and panitumumab – the activity of which consists in blocking the receptor for the epidermal growth factor receptor (EGFR). Even though therapy based on the activity of anti-EGFR antibodies seems to be effective, it has been found that there is a significant percentage of patients who do not respond to the treatment [39,40,41]. This results from the incidence of KRAS and NRAS gene mutations in patients; it has been proven that only patients without the mutation significantly benefit from the treatment, and the group has been estimated at 40–45% [41,42]. Due to such a high percentage of patients who cannot be qualified for treatment with anti-EGFR,

w przebiegu raka jelita grubego i mogą wykazywać działanie przeciwnowotworowe oraz zwiększać wrażliwość komórek raka na chemioterapię [17,18,19,20,21,22]. Ponadto w przypadku raka jelita grubego obserwowano niższe stężenia IL-9 oraz wykazano, że obniżony poziom ekspresji IL-9 koreluje z progresją raka okrężnicy [23], natomiast zwiększone stężenie IL-10 w surowicy pacjentów z progresją raka wiąże się ze zmniejszeniem przeżywalności [24,25]. Interleukina 11 również odgrywa rolę w rozwoju nowotworu. W badaniach na genetycznych modelach mysich i liniach ludzkich komórek nowotworowych udowodniono, że farmakologiczne hamowanie ekspresji IL-11 powoduje ograniczenie proliferacji, zdolności naciekania i wzrostu komórek nowotworowych [26]. W raku jelita grubego wykazano również ekspresję IL-33 i jej receptora ST2, które pobudzają karcynogenezę. Zaobserwowano, że zaangażowanie szlaku IL-33/ST2 jest kluczowe dla rozwoju raka jelita grubego, a u chorych występują wyższe stężenia IL-33 w porównaniu ze zdrową populacją. W modelu mysim niedobór receptora ST2 chronił przed rozwojem nowotworu. Ponadto zanotowano, że aktywacja sygnalizacji IL-33/ST2 narusza integralność bariery jelitowej i wywala wytwarzanie pronowotworowej IL-6 przez komórki odpornościowe [27,28].

Kolejną grupą czynników stymulujących wzrost nowotworu są m.in. cząsteczki adhezyjne CAM – cząsteczka adhezji komórkowej (*intercellular adhesion molecule 1* – ICAM-1) i cząsteczka adhezji komórkowej naczyń (*vascular cell adhesion molecule 1* – VCAM-1) – oraz kadheryny, metaloproteinazy, a także enzymy proteolityczne, które wspólnie odgrywają rolę w procesie adhezji komórek nowotworowych, trawieniu błon komórkowych oraz migracji i inwazji komórek raka [30,31,32]. Wszystkie te czynniki wydzielane i uwalniane przez komórki raka tworzą jego mikrośrodowisko podtrzymujące wzrost, miejscową progresję oraz promujące proces rozsiewu. Za pośrednictwem komórek leukocytarnych, takich jak makrofagi, neutrofile, komórki dendrytyczne, mastocyty, limfocyty i eozynofile, w mikrośrodowisku panuje przewlekły stan zapalny, stymulujący dodatkowo wydzielanie czynników prozapalnych, m.in. IL-6, VEGF oraz czynnika wzrostu fibroblastów (*fibroblast growth factor* – FGF), co nasila rozrost i inwazję nowotworu [33,34]. Niedotlenienie panujące w obrębie guza jest kolejnym czynnikiem sprzyjającym progresji. W niedotlenionym środowisku nowotworu dochodzi do gromadzenia makrofagów oraz wydzielanych cytokin, chemokin i czynników wzrostu (np. interleukin i VEGF), co tworzy nieprzerwaną pętlę parakrynną promującą wzrost guza, angiogenezę, migrację komórek i w efekcie rozsiew nowotworu do innych narządów [35].

W charakterystyce zmian molekularnych oceniane są markery diagnostyczne, prognostyczne oraz predykcyjne pod kątem odpowiedzi na zastosowane leczenie [36,37,38]. Poznanie tak skomplikowanych mechanizmów rozwoju i rozprzestrzeniania choroby nowotworowej pozwala lepiej zrozumieć istotę problemu oraz szerzej spojrzeć na możliwości poszukiwania różnych



scientists began to search for an alternative method of personalised colon cancer treatment. The high activity of the mTOR (mammalian target of rapamycin) signalling pathway resulting from high expression of EGFR is described in the course of many types of cancer, including colon cancer. Hao et al. and Sticz et al. [39, 40] suggest that combining anti-EGFR antibodies with mTOR pathway inhibitors is effective, however, it requires further studies. Another example of monoclonal antibody application is so-called angiogenesis inhibitors such as bevacizumab, which can reduce the activity of VEGF [37,41]. The use of anti-EGFR antibodies has diagnostic and therapeutic value, and simultaneous determination of the limitations of the method suggests the necessity to conduct further studies on the biomarkers, which could be of use in the personalised treatment of colon cancer.

Photodynamic therapy (PDT) is another treatment method which interests the researchers due to the great deal of evidence in recent decades of its effectiveness in cancer diagnostics and treatment. The low level of invasiveness, selectivity and lack of significant side effects as well as relatively low costs of the therapy constitute important advantages of the method [43,44]. The method uses photosensitive, non-toxic substances known as photosensitisers, which accumulate in pathological tissue; under the action of light with a particular wave length on the tissue, it is damaged as a result of several simultaneous mechanisms. The direct cytotoxic effect of PDT results from the generation of reactive forms of oxygen, which, as a result, leads to cell death through necrosis or apoptosis. Moreover, PDT applied in smaller doses of energy shows immunomodulating activity through stimulation of the immune system and influence on auto- and paracrine activity of cancer cells [45,46]. The effectiveness of PDT has been proven in the treatment of many types of cancer such as head and neck, urinary bladder, skin and colon cancer [44].

The work of Herrera-Ornelas et al. published in 1986, in which the prolongation of life in patients with advanced colon cancer was proven, was one of the first reports on the effectiveness of PDT in colon cancer treatment [47]. The following decades brought promising research results: the effectiveness of PDT using 5-aminolevulinic acid in the treatment of colon cancer was proven [48,49,50] and the extension of life as well as improvement in its quality in patients at an advanced stage of the disease was obtained after using PDT with the Photofrin® photosensitiser [51]. In addition, researchers also studied the usefulness of PDT as a complementary method conducted intraoperatively in order to visualise the pathological tissue masses more precisely thanks to accumulation of the photosensitiser in the cancer tissue, which – upon its exposure to the activity of light with a particular wave length – becomes clearly separated from the healthy tissue. In this way, higher completeness of the procedure was achieved [52]. In recent years, research has been targeted at using the immunomodulating effect of PDT in combination with modern immunotherapy as a personalised and targeted

punktów uchwytu podczas opracowywania nowych, celowanych, skuteczniejszych metod leczenia.

Terapia celowana raka jelita grubego rozpoczęła się od wprowadzenia dwóch przeciwciał monoklonalnych – cetuksymabu oraz panitumumabu – działających poprzez blokowanie receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor receptor* – EGFR). Terapia oparta na zastosowaniu przeciwciał anty-EGFR wydaje się efektywna, jednakże wykazano znaczący odsetek pacjentów nieodpowiadających na leczenie [39,40,41]. Wynika ona z częstości występowania u pacjentów mutacji genów KRAS i NRAS; wykazano, że jedynie pacjenci bez tej mutacji odnoszą znaczną korzyść z leczenia, a grupę tę oszacowano na 40–45% [41,42]. W związku z tak wysokim odsetkiem pacjentów niekwalifikowanych do terapii z użyciem anty-EGFR zaczęto poszukiwać alternatywnej metody personalizowanego leczenia raka jelita grubego. Wysoka aktywność szlaku sygnałowego mTOR (*mammalian target of rapamycin*) w wyniku dużej ekspresji EGFR jest opisywana w przebiegu wielu nowotworów, w tym również jelita grubego. Hao i wsp. oraz Sticz i wsp. [39] sugerują skuteczność kombinacji przeciwciał anty-EGFR z inhibitorami szlaku mTOR, jednak wymaga to dalszych badań. Innym przykładem zastosowania przeciwciał monoklonalnych są tzw. inhibitory angiogenezy, takie jak w bevacyzumab, mające osłabić aktywność VEGF [37,41]. Zastosowanie przeciwciał anty-EGFR ma wartość diagnostyczną oraz terapeutyczną, a jednocześnie opisanie ograniczeń tej metody nasuwa konieczność dalszych badań nad biomarkerami mogącymi mieć zastosowanie w terapii personalizowanej raka jelita grubego.

Inną metodą leczenia, która również cieszy się zainteresowaniem badaczy ze względu na liczne w ostatnich dekadach dowody skuteczności w diagnostyce i terapii nowotworów, jest terapia fotodynamiczna (*photodynamic therapy* – PDT). Istotnymi jej zaletami są mała inwazyjność, selektywność, brak istotnych skutków ubocznych oraz stosunkowo niewysokie koszty [43,44]. W metodzie wykorzystuje się światłoczułe, nietoksyczne substancje, zwane fotouczulaczami, które gromadzą się w patologicznej tkance, a pod wpływem działania na tę tkankę światła o określonej długości fali dochodzi do jej uszkodzenia w wyniku kilku jednoczasowych mechanizmów. Bezpośredni efekt cytotoksyczny PDT wynika z generacji reaktywnych form tlenu, co w efekcie prowadzi do śmierci komórki poprzez nekrozę lub apoptozę. Ponadto PDT stosowana w mniejszych dawkach energii wykazuje działanie immunomodulujące przez stymulację układu odpornościowego oraz wpływ na auto- i parakrynną aktywność komórek nowotworowych [45,46]. Skuteczność PDT udowodniono w leczeniu wielu nowotworów, m.in. głowy i szyi, pęcherza moczowego, raka skóry oraz raka jelita grubego [44]. Jednym z pierwszych doniesień na temat użyteczności PDT w leczeniu raka jelita grubego jest opublikowana w 1986 r. praca Herrery-Ornelasa i wsp. [47], w której wykazano wydłużenie życia pacjentów z zaawansowanym rakiem jelita grubego. Kolejne dekady przyniosły



therapy, which should control and terminate the process of carcinogenesis. The positive results presented so far constitute a solid basis for further analyses of such a strategy of colon cancer treatment.

SUMMARY

The results of the studies to date are promising, they require repetition and large-scale clinical trials. However, we already know today that thanks to multidirectional and targeted therapy, we can influence the immunological activity of primary tumour cells and metastasis foci, in a way changing the natural course of the disease process, leading to inhibition of the development and destruction of cancer tissue.

Author's contribution

Study design – A. Międzybrodzka, A. Kawczyk-Kupka

Data collection – A. Międzybrodzka, J. Gmyrek, A. Kawczyk-Kupka, G. Cieślak

Data interpretation – A. Międzybrodzka, J. Gmyrek, A. Kawczyk-Kupka, G. Cieślak

Manuscript preparation – A. Międzybrodzka, J. Gmyrek, A. Kawczyk-Kupka, G. Cieślak

Literature research – A. Międzybrodzka, J. Gmyrek, A. Kawczyk-Kupka, G. Cieślak

REFERENCES

1. Krzakowski M., Potemski P., Warzocha K., Wysocki P. *Onkologia kliniczna*. T. 2. Wyd. Via Medica. Gdańsk 2015.
2. Bartnik W., Wyrwicz L. *Rak jelita grubego*. W: Interna Szczeklika 2017. Red. P. Gajewki, A. Szczeklika. Wyd. Medycyna Praktyczna. Kraków 2017.
3. Vişovan I.I., Tanţău M., Pascu O., Ciobanu L., Tanţău A. The role of narrow band imaging in colorectal polyp detection. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2017; 17(2): 152–158, doi: 10.17305/bjbm.2017.1686.
4. Backes Y., Moss A., Reitsma J.B., Siersema P.D., Moons L.M. Narrow Band Imaging, Magnifying Chromoendoscopy, and Gross Morphological Features for the Optical Diagnosis of T1 Colorectal Cancer and Deep Submucosal Invasion: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am. J. Gastroenterol.* 2017; 112(1): 54–64, doi: 10.1038/ajg.2016.403.
5. Har-Noy O., Katz L., Avni T., Battat R., Bessissow T., Yung D.E., Engel T., Koulaouzidis A., Eliakim R., Ben-Horin S., Kopylov U. Chromoendoscopy, Narrow-Band Imaging or White Light Endoscopy for Neoplasia Detection in Inflammatory Bowel Diseases. *Dig. Dis. Sci.* 2017; 62(11): 2982–2990, doi: 10.1007/s10620-017-4772-y.
6. Latos W., Sieroń A., Cieślak G., Kawczyk-Krupka A. The benefits of targeted endoscopic biopsy performed using the autofluorescence based diagnostic technique in 67 cases of diagnostically difficult gastrointestinal tumors. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2018; 23: 63–67, doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.05.015.
7. Strzelczyk N., Kwiatek S., Latos W., Sieroń A., Stanek A. Does the Numerical Colour Value (NCV) correlate with preneoplastic and neoplastic colorectal lesions? *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2018; 23: 353–361, doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.07.012.
8. Bos J.L., Fearon E.R., Hamilton S.R., Verlaan-de Vries M., van Boom J.H., van der Eb A.J., Vogelstein B. Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. *Nature* 1987; 327(6120): 293–297.
9. Jass J.R. Colorectal cancer: a multipathway disease. *Crit. Rev. Oncog.* 2006; 12(3–4): 273–287.

obiecujące wyniki badań, udowodniono skuteczność PDT z zastosowaniem kwasu 5-aminolewulinowego w leczeniu raka jelita grubego [48,49,50] oraz uzyskano wydłużenie i poprawę jakości życia u pacjentów w zaawansowanym stadium choroby po zastosowaniu PDT z fotouczulaczem Photofrin® [51]. Ponadto badano użyteczność PDT jako metody uzupełniającej, prowadzonej śródoperacyjnie w celu dokładniejszego uwidocznienia patologicznych mas tkankowych, dzięki wzmożonemu gromadzeniu fotouczulacza w tkance nowotworowej, która poddana działaniu światła o określonej długości fali staje się wyraźnie odgraniczona od zdrowej tkanki. Uzyskano w ten sposób większą doszczętność zabiegu [52]. W ostatnich latach badania ukierunkowane są na wykorzystanie immunomodulującego działania PDT w połączeniu z nowoczesną immunoterapią jako spersonalizowaną i celowaną terapię mającą opanować i przerwać proces nowotworzenia [53,54,55]. Prezentowane do tej pory pozytywne wyniki dają mocną podstawę do dalszych analiz takiej strategii leczenia raka jelita grubego.

PODSUMOWANIE

Wyniki dotychczasowych badań są obiecujące, wymagają powtórzeń i badań klinicznych na szeroką skalę. Już dziś jednak wiadomo, że dzięki wielokierunkowej i celowanej terapii można wpłynąć na aktywność immunologiczną komórek nowotworu pierwotnego oraz ognisk przerzutowych, niejako zmieniając naturalny przebieg procesu chorobowego, i doprowadzić do zahamowania rozwoju i zniszczenia tkanki nowotworowej.

10. Marszałek A., Szyłberg L., Wiśniewska E., Janiczek M. Impact of COX-2, IL-1β, TNF-α, IL-4 and IL-10 on the process of carcinogenesis in the large bowel. *Pol. J. Pathol.* 2012; 63(4): 221–227.
11. Koller F.L., Hwang D.G., Dozier E.A., Fingleton B. Epithelial interleukin-4 receptor expression promotes colon tumor growth. *Carcinogenesis* 2010; 31(6): 1010–1017, doi: 10.1093/carcin/bgq044.
12. Nie W., Xue L., Sun G., Ning Y., Zhao X. Interleukin-6 -634C/G polymorphism is associated with lung cancer risk: a meta-analysis. *Tumour Biol.* 2014; 35(5): 4581–4587, doi: 10.1007/s13277-013-1602-5.
13. Esfandi F., Mohammadzadeh Ghobadloo S., Basati G. Interleukin-6 level in patients with colorectal cancer. *Cancer Lett.* 2006; 244(1): 76–78.
14. Galizia G., Orditura M., Romano C., Lieto E., Castellano P., Pelosio L., Imperatore V., Catalano G., Pignatelli C., De Vita F. Prognostic significance of circulating IL-10 and IL-6 serum levels in colon cancer patients undergoing surgery. *Clin. Immunol.* 2002; 102(2): 169–178.
15. Yeh K.Y., Li Y.Y., Hsieh L.L., Lu C.H., Chou W.C., Liaw C.C., Tang R.P., Liao S.K. Analysis of the Effect of Serum Interleukin-6 (IL-6) and Soluble IL-6 Receptor Levels on Survival of Patients with Colorectal Cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2010; 40(6): 580–587, doi: 10.1093/jjco/hyq010.
16. Kwon K.A., Kim S.H., Oh S.Y., Lee S., Han J.Y., Kim K.H., Goh R.Y., Choi H.J., Park K.J., Roh M.S., Kim H.J., Kwon H.C., Lee J.H. Clinical significance of preoperative serum vascular endothelial growth factor, interleukin-6, and C-reactive protein level in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2010; 10: 203, doi: 10.1186/1471-2407-10-203.
17. Asfaha S., Dubeykovskiy A.N., Tomita H., Yang X., Stokes S., Shibata W., Friedman R.A., Ariyama H., Dubeykovskaya Z.A., Muthupalani S., Erickson R. i wsp. Mice that express human interleukin-8 have increased mobilization of immature myeloid cells, which exacerbates inflammation and accelerates colon carcinogenesis. *Gastroenterology* 2013; 144(1): 155–166, doi: 10.1053/j.gastro.2012.09.057.



18. Lurje G., Zhang W., Schultheis A.M., Yang D., Groshen S., Hendifar A.E., Husain H., Gordon M.A., Nagashima F., Chang H.M., Lenz H.J. Polymorphisms in VEGF and IL-8 predict tumor recurrence in stage III colon cancer. *Ann. Oncol.* 2008; 19(10): 1734–1741, doi: 10.1093/annonc/mdn368.
19. Li A., Varney M.L., Singh R.K. Expression of interleukin 8 and its receptors in human colon carcinoma cells with different metastatic potentials. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7(10): 3298–3304.
20. Ning Y., Manegold P.C., Hong Y.K., Zhang W., Pohl A., Lurje G., Winder T., Yang D., LaBonte M.J., Wilson P.M., Ladner R.D., Lenz H.J. Interleukin-8 is associated with proliferation, migration, angiogenesis and chemosensitivity in vitro and in vivo in colon cancer cell line models. *Int. J. Cancer* 2011; 128(9): 2038–2049, doi: 10.1002/ijc.25562.
21. Rubie C., Kollmar O., Frick V.O., Wagner M., Brittner B., Gräber S., Schilling M.K. Differential CXCR2 receptor expression in colorectal carcinomas. *Scand. J. Immunol.* 2008; 68(6): 635–644, doi: 10.1111/j.1365-3083.2008.02163.x.
22. Ning Y., Lenz H.J. Targeting IL-8 in colorectal cancer. *Expert Opin. Ther. Targets* 2012; 16(5): 491–497, doi: 10.1517/14728222.2012.677440.
23. Huang Y., Cao Y., Zhang S., Gao F. Association between low expression levels of interleukin-9 and colon cancer progression. *Exp. Ther. Med.* 2015; 10(3): 942–946.
24. O'Hara R.J., Greenman J., MacDonald A.W., Gaskell K.M., Topping K.P., Duthie G.S., Kerin M.J., Lee P.W., Monson J.R. Advanced colorectal cancer is associated with impaired interleukin 12 and enhanced interleukin 10 production. *Clin. Cancer Res.* 1998; 4(8): 1943–1948.
25. Stanilov N., Miteva L., Deliyev T., Jovchev J., Stanilova S. Advanced colorectal cancer is associated with enhanced IL-23 and IL-10 serum levels. *Lab. Med.* 2010; 41(3): 159–163.
26. Putoczki T.L., Thiem S., Loving A., Busuttill R.A., Wilson N.J., Ziegler P.K., Nguyen P.M., Preaudet A., Farid R., Edwards K.M., Boglev Y. i wsp. Interleukin-11 is the dominant IL-6 family cytokine during gastrointestinal tumorigenesis and can be targeted therapeutically. *Cancer Cell.* 2013; 24(2): 257–271, doi: 10.1016/j.ccr.2013.06.017.
27. Mertz K.D., Mager L.F., Wasmer M.H., Thiesler T., Koelzer V.H., Ruzzante G., Joller S., Murdoch J.R., Brümendorf T., Genitsch V., Lugli A. i wsp. The IL-33/ST2 pathway contributes to intestinal tumorigenesis in humans and mice. *Oncoimmunology* 2015; 5(1): e1062966.
28. Cui G., Qi H., Gundersen M.D., Yang H., Christiansen I., Sørbye S.W., Goll R., Florholmen J. Dynamics of the IL-33/ST2 network in the progression of human colorectal adenoma to sporadic colorectal cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 2015; 64(2): 181–190, doi: 10.1007/s00262-014-1624-x.
29. Maywald R.L., Doerner S.K., Pastorelli L., De Salvo C., Benton S.M., Dawson E.P., Lanza D.G., Berger N.A., Markowitz S.D., Lenz H.J., Nadeau J.H. i wsp. IL-33 activates tumor stroma to promote intestinal polyposis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2015; 112(19): E2487–2496, doi: 10.1073/pnas.1422445112.
30. Eppenberger M., Zlobec I., Baumhoer D., Terracciano L., Lugli A. Role of the VEGF ligand to receptor ratio in the progression of mismatch repair-proficient colorectal cancer. *BMC Cancer* 2010; 10: 93, doi: 10.1186/1471-2407-10-93.
31. Friedl P., Wolf K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat. Rev. Cancer* 2003; 3(5): 362–374.
32. Kwiatkowski P., Godlewski J., Śliwińska-Jewsiewicka A., Kmieć Z. Cząsteczki adhezyjne w procesie nowotworzenia i przerzutowania. *Pol. Ann. Med.* 2009; 16(1): 128–137.
33. Scheller J., Ohnesorge N., Rose-John S. Interleukin-6 trans-signalling in chronic inflammation and cancer. *Scand. J. Immunol.* 2006; 63(5): 321–329.
34. Keller E.T., Wanagat J., Ershler W.B. Molecular and cellular biology of interleukin-6 and its receptor. *Front. Biosci.* 1996; 1: d340–357.
35. Shih J.Y., Yuan A., Chen J.J.W., Yang P.C. Tumor-Associated Macrophage: Its Role in Cancer Invasion and Metastasis. *J. Cancer Mol.* 2006; 2(3): 101–106.
36. Jackson S.E., Chester J.D. Personalised cancer medicine. *Int. J. Cancer* 2015; 137(2): 262–266, doi: 10.1002/ijc.28940.
37. Tu S.M., Bilen M.A., Tamir N.M. Personalised cancer care: promises and challenges of targeted therapy. *J. R. Soc. Med.* 2016; 109(3): 98–105, doi: 10.1177/0141076816631154.
38. Brittain H.K., Scott R., Thomas E. The rise of the genome and personalised medicine. *Clin. Med. (Lond.)* 2017; 17(6): 545–551, doi: 10.7861/clinmedicine.17-6-545.
39. Sticz T., Molnár A., Dankó T., Hujber Z., Petővári G., Nagy N., Végső G., Kopper L., Sebestyén A. The Effects of Different mTOR Inhibitors in EGFR Inhibitor Resistant Colon Carcinoma Cells. *Pathol. Oncol. Res.* 2018; doi: 10.1007/s12253-018-0434-4.
40. Li B., Gao S., Wei F., Bellail A.C., Hao C., Liu T. Simultaneous targeting of EGFR and mTOR inhibits the growth of colorectal carcinoma cells. *Oncol. Rep.* 2012; 28(1): 15–20, doi: 10.3892/or.2012.1786.
41. Herzig D.O., Tsikitis V.L. Molecular markers for colon diagnosis, prognosis and targeted therapy. *J. Surg. Oncol.* 2015; 111(1): 96–102, doi: 10.1002/jso.23806.
42. Kowalik A. Diagnostyka w medycynie personalizowanej. W: *Medycyna personalizowana. Mity, fakty, rekomendacje.* Red. A. Fronczak. Wyd. Plexus s.c. Łódź 2016, s. 66–68.
43. Brown S.B., Brown E.A., Walker I. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. *Lancet Oncol.* 2004; 5(8): 497–508.
44. Sieroń A., Kwiatek S. Twenty years of experience with PDD and PDT in Poland – Review. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2009; 6(2): 73–78, doi: 10.1016/j.pdpdt.2009.07.003.
45. Kousis P.C., Henderson B.W., Maier P.G., Gollnick S.O. Photodynamic therapy enhancement of antitumor immunity is regulated by neutrophils. *Cancer Res.* 2007; 67(21): 10501–10510.
46. Kawczyk-Krupka A., Sieroń-Stoltny K., Latos W., Czuba Z.P., Kwiatek B., Potempa M., Wasilewska K., Król W., Stanek A. ALA-induced photodynamic effect on vitality, apoptosis, and secretion of vascular endothelial growth factor (VEGF) by colon cancer cells in normoxic environment in vitro. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2016; 13: 308–315, doi: 10.1016/j.pdpdt.2015.09.003.
47. Herrera-Ornelas L., Petrelli N.J., Mittelman A., Dougherty T.J., Boyle D.G. Photodynamic therapy in patients with colorectal cancer. *Cancer* 1986; 57(3): 677–684.
48. Milkvy P., Messmann H., Regula J., Conio M., Pauer M., Millson C.E., MacRobert A.J., Bown S.G. Photodynamic therapy for gastrointestinal tumors using three photosensitizers—ALA induced PPIX, Photofrin and MTHPC. A pilot study. *Neoplasma* 1998; 45(3): 157–161.
49. Milkvy P., Messmann H., Debinski H., Regula J., Conio M., MacRobert A., Spigelman A., Phillips R., Bown S.G. Photodynamic therapy for polyps in familial adenomatous polyposis—a pilot study. *Eur. J. Cancer* 1995; 31A(7–8): 1160–1165.
50. Regula J., MacRobert A.J., Gorchein A., Buonaccorsi G.A., Thorpe S.M., Spencer G.M., Hatfield A.R., Bown S.G. Photosensitisation and photodynamic therapy of oesophageal, duodenal, and colorectal tumours using 5-aminolaevulinic acid induced protoporphyrin IX—a pilot study. *Gut* 1995; 36(1): 67–75.
51. Sun B.O., Li W., Liu N. Curative effect of the recent photofrin photodynamic adjuvant treatment on young patients with advanced colorectal cancer. *Oncol. Lett.* 2016; 11(3): 2071–2074.
52. He J., Yang L., Yi W., Fan W., Wen Y., Miao X., Xiong L. Combination of Fluorescence-Guided Surgery With Photodynamic Therapy for the Treatment of Cancer. *Mol. Imaging* 2017; 16: 1536012117722911, doi: 10.1177/1536012117722911.
53. Kleinovink J.W., van Driel P.B., Snoeks T.J., Prokopi N., Franssen M.F., Cruz L.J., Mezzanotte L., Chan A., Löwik C.W., Ossendorf F. Combination of Photodynamic Therapy and Specific Immunotherapy Efficiently Eradicates Established Tumors. *Clin. Cancer Res.* 2016; 22(6): 1459–1468, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0515.
54. Kaleta-Richter M., Kawczyk-Krupka A., Aebisher D., Bartusik-Aebisher D., Czuba Z., Cieślak G. The capability and potential of new forms of personalized colon cancer treatment – immunotherapy and photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2019; 25: 253–258, doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.01.004.
55. Peng C.L., Lin H.C., Chiang W.L., Shih Y.H., Chiang P.F., Luo T.Y., Cheng C.C., Shieh M.J. Anti-angiogenic treatment (Bevacizumab) improves the responsiveness of photodynamic therapy in colorectal cancer. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2018; 23: 111–118, doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.06.008.