

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Natálie Danešová

Význam mitochondriální DNA u kolorektálního karcinomu

Significance of mitochondrial DNA in colorectal cancer

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Soňa Vodenková, Ph.D.

Praha 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 5.5.2022

Natálie Danešová

Poděkování:

Chtěla bych tímto poděkovat svojí školitelce RNDr. Soně Vodenkové, Ph.D. za její cenné rady, pomoc, čas a trpělivost. Dále svojí rodině za podporu při zpracování bakalářské práce.

Abstrakt

Kolorektální karcinom představuje celosvětově třetí nejčastěji diagnostikované nádorové onemocnění a představuje druhou nejčastější příčinu úmrtí na nádorové onemocnění. Jedná se o heterogenní a multifaktoriální onemocnění, jehož vývoj trvá až 15 let. Mimo genetických rizikových faktorů se na rozvoji onemocnění podílí také vnější, ovlivnitelné faktory. Pacienti jsou často diagnostikováni až v pozdních stádiích onemocnění, čímž značně klesá šance na jejich úspěšnou léčbu. Je proto nutné identifikovat vhodné skriningové, diagnostické, prognostické a prediktivní biomarkery tohoto onemocnění. Mitochondrie jsou orgány vyskytující se u téměř všech eukaryotických buněk a jejich dysfunkce se často podílí na vzniku nádorových onemocnění. Vzhledem k tomu, že mitochondrie mají vlastní DNA, mohla by tato DNA a její změny sloužit jako potenciální biomarker pro bližší pochopení patogeneze a progresu kolorektálního karcinomu. Hlavním cílem bakalářské práce bylo shrnutí dosavadních studií zaměřených na změny mitochondriální DNA u pacientů s kolorektálním karcinomem a jejich možného využití v klinické praxi.

Klíčová slova: Kolorektální karcinom; biomarkery; mitochondrie; mtDNA

Abstract

Colorectal cancer is the third most commonly diagnosed cancer worldwide and the second leading cause of cancer death. It is a heterogeneous and multifactorial disease, the development of which takes up to 15 years. In addition to genetic risk factors, external, influenceable factors also contribute to the development of the disease. Patients are often diagnosed in the late stages of the disease, which significantly reduces the chances of their successful treatment. It is therefore necessary to identify appropriate screening, diagnostic, prognostic and predictive biomarkers of the disease. Mitochondria are organelles found in almost all eukaryotic cells and their dysfunction is often involved in the development of cancer. Because mitochondria have their own DNA its changes could serve as a potential biomarker for a closer understanding of the pathogenesis and progression of colorectal cancer. The main goal of this bachelor thesis was to summarize previous studies focused on mitochondrial DNA changes in patients with colorectal cancer and their possible use in clinical practise.

Keywords: Colorectal cancer; biomarkers; mitochondria; mtDNA

Seznam použitých zkratek

ZKRATKY GENŮ, PROTEINŮ, ENZYMŮ

APC	gen adenomatózní polypózy tlustého střeva
APE1	lidská apurinní /apyrimidinní endonukleáza
BRAF	lidský protoonkogen kódující protein B-Raf
CpG	cytosin-fosfát-guanin
KRAS	izoforma RAS genu popsaná Kirstenem
M2-PK	nádorově specifická M2 izoforma pyruvátkinázy
MLH1	gen MutL homolog 1 kódující opravný protein DNA
MSH2	gen MutS homolog 2 kódující opravný protein DNA
MSH3	gen MutS homolog 3 kódující opravný protein DNA
MSH6	gen MutS homolog 6 kódující opravný protein DNA
MT-ATP6	mitochondriálně kódovaná membránová podjednotka ATP syntázy 6
MT-COI	mitochondriálně kódovaná cytochrom c oxidáza I
MT-ND1	mitochondriálně kódovaná podjednotka NADH-ubichinon oxidoreduktázového řetězce 1
MT-ND6	mitochondriálně kódovaná podjednotka NADH-ubichinon oxidoreduktázového řetězce 6
MYC	rodina genů a protoonkogenů myelocytomatózy
MYH	protein účastnící se opravy DNA
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NDUFS1	gen kódující NADH-ubichinon oxidoreduktázovou podjednotku
NEIL2	Nei Like DNA glykosyláza 2
NRAS	z anglického neuroblastoma RAS viral oncogene homolog
P53	protein p53 kódovaný tumor-supresorem TP53
PIK3CA	fosfatidylinositol-4,5-bisfosfat 3 kinázová katalytická podjednotka
PMS1	gen kódující protein DNA opravy chybného párování bazí
PMS2	gen kódující protein DNA opravy chybného párování bazí
RAS	z anglického rat-sarcoma
TFAM	mitochondriální transkripční faktor A
TGF- β	transformující růstový faktor beta
TP53	tumor-supresor kódující protein p53

TIMP1	inhibitor matrixu metaloproteinázy 1
WNT	signalizační kaskáda Wingless/Int-1
YB-1	Y-box vazebný protein 1

OSTATNÍ ZKRATKY

5-FU	5-fluorouracil
ATP	adenosintrifosfát
BER	bázově excizní oprava bazí
CA19-9	nádorový antigen 19-9
CEA	karcinoembryonální antigen
CMS	konvenční molekulární podtypy KRK
DNA	deoxy-ribonukleotidová kyselina
DSB	oprava dvouřetězcových zlomů
D-smyčka	nekódující smyčka mtDNA
EGFR	receptor epidermálního růstového faktoru
FAP	familiární adenomatózní polypóza
HDR	homologně řízené opravy
HNPCC	hereditární nepolypózní kolorektální karcinom
KRK	kolorektální karcinom
LV	leukovorin
mikroRNA	mikro ribonukleová kyselina
MMR	DNA oprava chybného párování bazí
MMHEJ	mikrohomologicky zprostředkované spojování konců
MSI	mikrosatelitní nestabilita
mtDNA	mitochondriální DNA
mtMSI	mitochondriální mikrosatelitní nestabilita
NHEJ	nehomologní spojování konců
ROS	reaktivní kyslíkaté radikály
RNA	ribonukleová kyselina
rRNA	ribosomální ribonukleová kyselina
TAA	nádorům-přidružené antigeny
TNM	z anglického tumor node metastasis
tRNA	transferová ribonukleová kyselina
VEGF	vaskulární endotelový růstový faktor

OBSAH

1	ÚVOD.....	1
2	KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM.....	2
2.1.	HETEROGENITA ONEMOCNĚNÍ	2
2.2.	INCIDENCE A MORTALITA	3
2.3.	RIZIKOVÉ FAKTORY	4
2.4.	ETIOLOGIE ONEMOCNĚNÍ.....	7
2.5.	MOŽNOSTI LÉČBY	8
2.6.	TYPY LÉČIV A MECHANISMUS JEJICH ÚČINKU	9
3	BIOMARKERY	10
3.1.	OBECNÉ POZNATKY.....	10
3.2.	SKRÍNINGOVÉ A DIAGNOSTICKÉ BIOMARKERY U KRK	11
3.3.	PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ BIOMARKERY U KRK.....	11
3.3.1.	<i>Mikrosatelitní nestabilita.....</i>	<i>12</i>
3.3.2.	<i>Mutační status RAS.....</i>	<i>12</i>
3.3.3.	<i>Mutační status BRAF</i>	<i>12</i>
4	MITOCHONDRIE	13
4.1.	OBECNÉ POZNATKY	13
4.2.	LIDSKÝ MITOCHONDRIÁLNÍ GENOM	14
4.3.	DEFEKTY MTDNA.....	14
4.3.1.	<i>Mitochondriální produkce ROS.....</i>	<i>15</i>
5	ZMĚNY V MITOCHONDRIÁLNÍ DNA A JEJICH ROLE V KRK.....	16
5.1.	ZMĚNA OBSAHU MTDNA.....	16
5.2.	ZMĚNY VE VOLNÉ CÍRKULUJÍCÍ MTDNA	16
5.3.	D-SMYČKA	17
5.4.	MIKROSATELITNÍ NESTABILITA MTDNA.....	17
5.5.	POŠKOZENÍ A MUTACE MTDNA.....	18
5.6.	OPRAVY MTDNA	19
6	SLIBNÉ BIOMARKERY ZALOŽENÉ NA MTDNA PRO POUŽITÍ V BUDOUCNOSTI.....	21
7	ZÁVĚR	22
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	24

1 ÚVOD

Kolorektální karcinom (KRK) je nádorové onemocnění postihující tlusté střevo a konečník. Jedná se o celosvětově třetí nejčastěji diagnostikované nádorové onemocnění a druhou nejčastější příčinu úmrtí na nádorové onemocnění. Zvýšené riziko vzniku maligního karcinomu je z určité části dáno geneticky, ale většina případů vzniká kvůli rizikovým faktorům a jejich kombinacím, kterým lze předcházet. Je to zejména obezita a s tím spojený diabetes, nízká fyzická aktivita, špatná strava zahrnující hodně tučného jídla a červeného masa, kouření, alkohol.

V rámci prevence bylo velmi stěžejní zavedení kolonoskopie. Do dnešní doby bylo určeno několik biomarkerů, které jsou ukazateli buď pro včasnou diagnózu, predikci vhodné léčby nebo pro prognózu pacienta. Nutnost dalších biomarkerů je ale velmi na místě, aby mohlo docházet například k dřívější diagnóze, ke zvolení vhodné léčby a došlo by tedy ke snížení smrtnosti tohoto nádorového onemocnění.

Je známo, že při rozvoji KRK dochází ke změnám jednak v jaderné DNA, tak i v té mitochondriální. Právě změny v mitochondriální DNA (mtDNA) by mohly přinést nějaké významné biomarkery využitelné v budoucnu v klinické praxi.

Tato bakalářská práce je převážně zaměřena na již zmíněné mitochondriální změny u pacientů s KRK, které mají vliv na toto onemocnění a které mohou být využitelné v diagnostice, léčbě a určení prognózy pacientů. První část práce je věnována samotnému onemocnění, jeho incidenci a mortalitě, rizikovým faktorům a možnostem léčby. Následně jsou obecně představeny biomarkery, jejich typy a využití. Poté je velká pozornost věnována zejména mitochondriím, konkrétně tedy změnám v mtDNA, které se specificky vyskytují u KRK, a také tomu, které z těchto defektů se jeví jako slibné pro zavedení do klinické praxe.

Cílem této bakalářské práce je:

Představit změny mtDNA a jejich význam u KRK, ukázat biomarkery založené právě na mtDNA, které jsou slibné pro zavedení do klinické praxe.

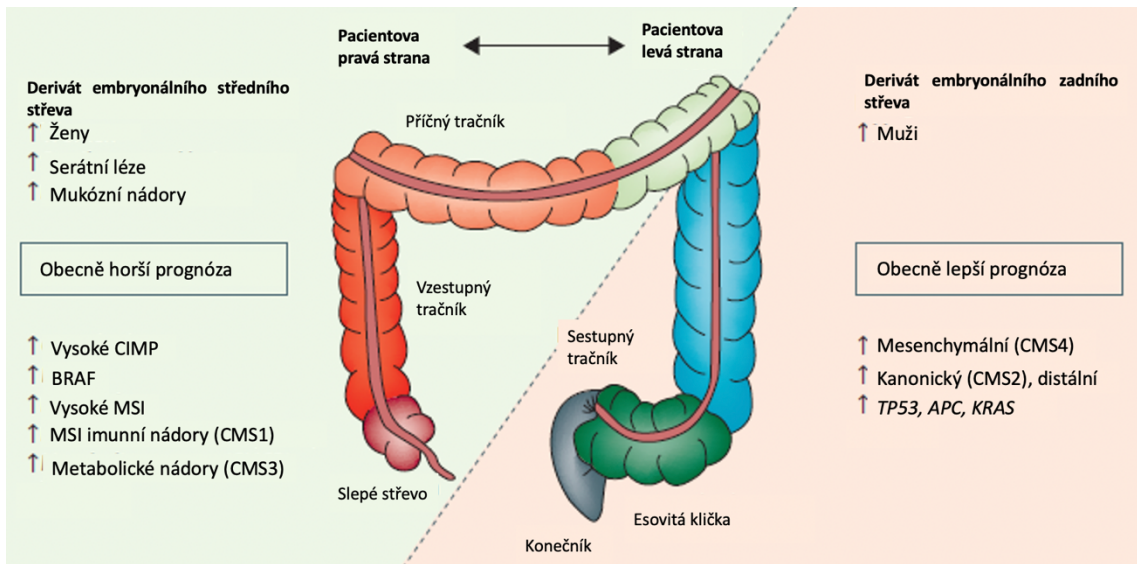
2 KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM

2.1. Heterogenita onemocnění

KRK je heterogenní nádorové onemocnění, které postihuje tlusté střevo (kolon) a konečník (rektum). KRK vzniká díky maligní transformaci epiteliálních buněk, které tvoří výstelku střeva a konečníku. Ve střevním epitelu dochází k rychlé obnově buněk, tudíž se jedná o místo náchylné k maligní transformaci. Většina nádorů se vyvíjí z tzv. prekancerózních lézí – polypů nebo adenomů (Levine a Ahnen 2006).

KRK však není jedním typem nádoru – jeho patogeneze závisí na anatomické lokalizaci nádoru a liší se mezi pravou a levou stranou tlustého střeva a konečníkem (Loree et al. 2018). Pravostranný (proximální) karcinom tlustého střeva byl definován jakožto nádor céka a vzestupného tračníku až po jaterní ohbí. Levostranný (distální) karcinom poté jako karcinom ohybu sleziny a v distálních částech, včetně rekta (Mik et al. 2017). Onemocnění rekta se také často řadí jako samostatný nádor. Příčný tračník je spojením levé a pravé strany, je menší, dochází v něm k méně častému rozvoji tohoto nádorového onemocnění, a nejčastěji je řazen mezi pravostranný karcinom, viz Obrázek 1 (Dekker et al. 2019).

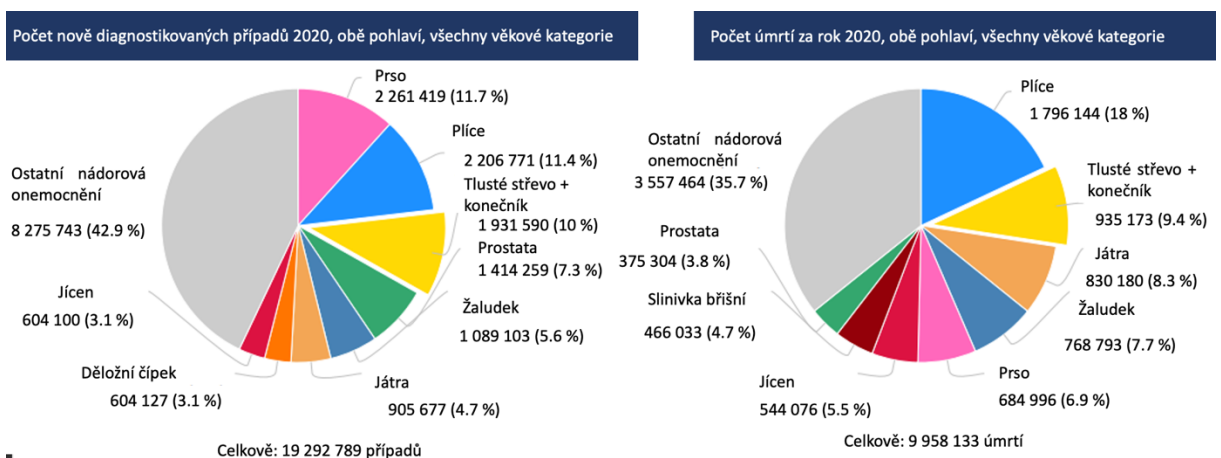
Pravostranný a levostranný KRK a karcinom rekta se liší nejen anatomicky, ale také histologicky, embryonálním původem, mikrobiotickou zátěží, fyziologickými funkcemi a molekulárními charakteristikami (Nawa et al. 2008). Pravostranné nádory se s vyšší pravděpodobností vyvinou u jedinců, kteří mají genetickou predispozici ke KRK, což zahrnuje také pacienty s Lynchovým syndromem či mikrosatelitní nestabilitou (MSI). Současně se také na pravé straně častěji vyskytují nádory spojené s mutacemi *BRAF*, které jsou vnímány jakožto špatný prognostický znak u tohoto onemocnění (Venook 2017). U levostranných nádorů bývají častěji patrné mutace související s chromozomální nestabilitou, jakožto mutace genů *KRAS*, *APC*, *PIK3CA*, *TP53* (Glebov et al. 2003). Dalším rozdílem je, že pravostranné nádory u KRK bývají diagnostikovány v pozdějších stádiích než levostranné. Nádory na levé straně mívají polypoidní charakter a jsou proto diagnostikovány v raných stádiích během kolonoskopie. Pravostranné nádory polypy netvoří a jsou tak hůře detekovatelné (Nawa et al. 2008). Obě skupiny KRK mají také rozdílnou celkovou incidenci a její regionální rozložení, rozdílnou incidenci mezi ženami a muži, rozdílnou odpověď na konkrétní protinádorovou léčbu a rozdílnou prognózu (Loree et al. 2018).



Obrázek 1: Rozdíly mezi pravostranným a levostranným tlustým střevem a konečníkem (upraveno podle (Dekker et al. 2019)). Schéma zobrazuje kolorektum a jeho rozdělení na pravou a levou stranu tlustého střeva a konečník. Dále typické změny vyskytující se u jednotlivých částí. MSI – mikrosatelitní nestabilita, CMS – molekulární subtyp onemocnění, CIMP – methylované CpG ostrůvky.

2.2. Incidence a mortalita

Souhrnné statistiky nádorových onemocnění 2020 (GLOBOCAN 2020) vytvořené Mezinárodní agenturou pro výzkum nádorových onemocnění uvádějí, že v roce 2020 bylo celosvětově diagnostikováno více než 1 900 000 nových případů KRK a 935 000 pacientů na toto nádorové onemocnění zemřelo. Jedná se tak o třetí nejčastější nádorové onemocnění a druhou nejčastější příčinu úmrtí na nádorové onemocnění, viz Obrázek 2 (Sung et al. 2021).



Obrázek 2: Graf incidence a mortality nádorových onemocnění (upraveno podle (Sung et al. 2021)).

Regionální rozložení incidence se mírně liší pro karcinom tlustého střeva a konečníku, přičemž karcinomy tlustého střeva vykazují nejvyšší incidenci v Evropě, Austrálii, na Novém Zélandu a v Severní Americe a karcinomy konečníku ve východní Asii (Sung et al. 2021). Míra výskytu se neustále zvyšuje ve východní a jihovýchodní Evropě vlivem rostoucího indexu lidského rozvoje. Zvyšující se výskyt je připisován především socio-ekonomickému statusu, změně životního stylu vedoucí ke snížené fyzické aktivitě a nadměrné tělesné hmotnosti, což nepochybně přispívá k rozvoji onemocnění (Siegel et al. 2020). Karcinomy tlustého střeva i konečníku se vyskytují spíše sporadicky v Africe a jižní či střední Asii (Sung et al. 2021).

Obecně se incidence tohoto nádorového onemocnění zvyšuje se zvyšujícím se věkem. Zároveň se v posledním letech čím dál tím více objevují nádory kolorekta u stále mladších pacientů (Sung et al. 2021). Došlo ke snížení průměrného věku v době diagnózy ze 72 let na 66 let v průběhu 25 let (<https://seer.cancer.gov/data-software/documentation/seerstat/nov2018/>). Tento věk je nižší u karcinomu konečníku než u karcinomu tlustého střeva (Howlader et al. 2020). Incidence u starší populace je vyšší pro karcinomy lokalizované v proximální části, kdežto u mladší populace se jedná nejčastěji o karcinomy konečníku, následované karcinomy distální části tlustého střeva (Siegel et al. 2020).

Přestože je celoživotní riziko vzniku KRK u mužů (4,4 %) podobné jako u žen (4,1 %), protože ženy mají delší očekávanou délku života, častější výskyt onemocnění, a to o 31 %, lze pozorovat u mužů. Riziko rozvoje onemocnění mezi muži a ženami se však liší v závislosti na věku, přičemž je o 40-50 % vyšší u mužů ve věku 55-74 let než u stejně starých žen. Důvod, proč tomu tak je, není zatím úplně zřejmý, ale odráží vystavení se rizikovým faktorům a nejspíše také pohlavní hormony (Siegel et al. 2020).

Rozdíly jsou také znatelné mezi jednotlivými rasami a etnicitami. Nárůst incidence byl u černošské rasy v letech 2012-2016 o 20 % vyšší než u bělošské a mortalita byla vyšší o téměř 40 %. Důvody rasových rozdílů jsou složité, ale do jisté míry odrážejí rozdíly v prevalenci rizikových faktorů a dostupnosti zdravotní péče, což je způsobeno nízkým socioekonomickým statusem mezi černochoy (Carethers a Doubeni 2020).

2.3. Rizikové faktory

KRK je multifaktoriální onemocnění a zpravidla nevzniká kvůli jediné konkrétní příčině, ale na jeho vzniku se podílejí různé faktory a jejich kombinace, viz Obrázek 3 (Center et al. 2009). Napříč různými epidemiologickými studiemi vykazují mužské

pohlaví a rostoucí věk silné souvislosti s incidencí onemocnění. Svůj podíl na výskytu tohoto onemocnění mají také faktory vnějšího prostředí a dědičné faktory (Dekker et al. 2019). Rovněž pozitivní rodinná anamnéza KRK má svůj podíl u 10-20 % pacientů s tímto onemocněním. Riziko je různé v závislosti na počtu nemocných příbuzných a věku v době diagnózy (Scheuner et al. 2010). Dědičnost KRK byla studována na dvojčatech a ve studiích rodin a odhady se pohybují okolo 12–35 % (Czene et al. 2002; Lichtenstein et al. 2000). Geny asociované s rizikem rozvoje tohoto karcinomu byly sice úspěšně identifikovány, ale většina faktorů, která je za dědičnost odpovědná, je stále ještě předmětem probíhajících studií.

Přibližně 5 % pacientů s KRK je postiženo dědičným syndromem KRK. Tyto syndromy dělíme na dvě kategorie – nepolypózní syndromy (Lynchův syndrom a familiární KRK) a polypózní syndromy (Syngal et al. 2015; Vasen et al. 2013) – podrobněji v kapitole 2.4.

Riziko vzniku KRK se o 3,7 % zvyšuje u pacientů s ulcerózní kolitidou a o 2,5 % u pacientů s Crohnovou chorobou (Eaden 2001; Canavan et al. 2006). Chronický zánět tlustého střeva většinou vede k abnormální produkci buněk neboli dysplazii. Dysplastické buňky ještě nevykazují známky maligní transformace, ale mají větší šanci, že se z nich stanou buňky anaplastické a dojde k rozvoji nádoru (Johns a Houlston 2001). Pacienti trpící diabetem druhého typu jsou také náchylnější k rozvoji KRK. Pokud se totiž toto onemocnění spojí s nějakým dalším rizikovým faktorem (kouření, alkohol, nulová fyzická aktivita apod.), stoupá riziko vzniku KRK v čím dál tím mladším věku (Scherübl 2021).

Rozvoj maligní transformace může být následkem dlouhodobého vystavení se karcinogenům. Velkou roli u KRK hraje strava. Nadměrný příjem červeného masa je spojen se zvýšeným rizikem rozvoje KRK a mnohé studie ukázaly, že vegetariáni vykazují nižší incidenci tohoto karcinomu než lidé, jejichž strava zahrnuje maso (Orlich et al. 2015). Nadměrný příjem masa může indukovat epigenetické a genetické změny v tlustém střevě, které mohou vést ke genomové nestabilitě (Cross et al. 2010; Raskov 2014). V červeném mase lze nalézt nitráty i nitrity, které mohou způsobit bakteriální degradaci a fermentaci vyúsťující ve vznik N-nitroso skupin. Ty pak mohou tvořit DNA adukty způsobující mutace v onkogenech i tumor supresorových genech (Raskov 2014). Karcinogeny jsou rovněž obsaženy v tabákovém kouři, který je složen z více než 7000 různých nebezpečných chemikálií jako jsou například aromatické aminy, nitrosaminy a heterocyklické aminy. Ty mohou ovlivnit správnou funkci tumor supresoru

TP53 nebo onkogenů *KRAS* a *BRAF*. Přibližně 20 % všech případů KRK je spojeno s kouřením (Derry et al. 2013). Kouření je spojené také se sníženou mírou přežití mezi pacienty s nemetastazujícím karcinomem (Walter et al. 2015). Nadměrná konzumace alkoholu ve vztahu k rozvoji KRK byla také předmětem dlouholetého výzkumu. Bylo zjištěno, že nadměrní uživatelé alkoholu mají riziko vzniku KRK vyšší o 60 % v porovnání s abstinenty, nebo občasnými konzumenty (Huxley et al. 2009). Alkohol je bezpochyby významným rizikovým faktorem, ale přesný molekulární mechanismus jeho působení v rozvoji KRK nebyl ještě přesně popsán.

Významným rizikovým faktorem je také nízká fyzická aktivita a obezita. Obézní lidé častěji trpí karcinomem tlustého střeva než konečníku (Dong et al. 2017). Fyzická aktivita může snížit riziko KRK prostřednictvím svých příznivých účinků na motilitu střev, imunitní systém a metabolické hormony (Ruiz-Casado et al. 2017). Dlouhodobé sezení je též významným rizikovým faktorem. Zhoršuje funkci kosterního svalstva a dochází k snazší inzulínové rezistenci, což podporuje vznik KRK (Lynch 2010).

Další výzkumy naznačují, že infekce specifickými druhy bakterií jako je například *Fusobacterium nucleatum* a *Bacteroides fragilis* by mohla také zvyšovat riziko KRK (Kwong et al. 2018).



Obrázek 3: Hlavní Rizikové faktory KRK (upraveno podle <https://www.moh.gov.sa/en/awarenessplatform/ChronicDisease/Pages/ColorectalCancer.aspx>)

2.4. Etiologie onemocnění

Mutace ve specifických genech mohou vést ke vzniku KRK, stejně jako v případě jiných typů nádorů. Tyto mutace se mohou vyskytovat v onkogenech, tumor supresorových genech a genech spojených s opravami DNA. Dle typu změn můžeme KRK dělit na sporadické, dědičné a familiární.

Bodové mutace nejsou asociované s dědičnými typy KRK a postihují pouze jednotlivé buňky, které se následně začnou nekontrolovatelně dělit. Karcinomy vznikající z bodových mutací nazýváme sporadické a představují 70 % všech KRK (Fearon a Vogelstein 1990). Molekulární patogeneze sporadických karcinomů je heterogenní, protože mutace mohou postihovat různé geny. Adenokarcinomy se vyskytují v 98 % všech maligních novotvarů tlustého střeva a konečníku (Lauby-Secretan et al. 2018). Lze rozlišovat 4 různé subtypy – CMS1 (14 % případů) vyznačující se MSI, mutacemi *BRAF* a infiltrací buňkami imunitního systému. CMS2 se vyskytuje ve 37 % a dochází k aktivaci drah Wnt a MYC. CMS3 se vyskytuje ve 13 % případů s proměnlivým MSI statutem, nízkou metylací CpG ostrůvků a mutací *KRAS*. CMS4 (23 % případů) vykazuje časté změny v počtu somatických kopií, dochází k aktivaci dráhy TGF- β a je v nich vysoce aktivní angiogeneze. Dalších 13 % nádorů zůstává neklasifikovatelných (Guinney et al. 2015).

Dědičné karcinomy tvoří pouze 5 % případů KRK (Lynch a De la Chapelle 2003). Jsou způsobeny zděděnými mutacemi, které postihují jednu alelu mutovaného genu, což způsobí, že bodová mutace v druhé alele spustí maligní transformaci buňky, a následně rozvoj karcinomu. Pro vytvoření přesnější klasifikace byly dědičné karcinomy rozděleny na dvě kategorie – polypózní a nepolypózní formy. Polypózní forma zahrnuje především familiární adenomatózní polypózu (FAP), která je charakteristická tvorbou mnohočetných potenciálně maligních polypů v tlustém střevě (Lynch a De la Chapelle 2003). Jedná se o autozomálně dominantní onemocnění. U přibližně 80 % postižených lze identifikovat mutaci v *APC* (Lynch a de la Chapelle 2003; Half a Bresalier 2004). Další podskupina pacientů s FAP má bialelické mutace genu *MYH* (Sieber et al. 2003; Venesio et al. 2004). Pokud se kolorektální adenomy u FAP neléčí, KRK vzniká téměř u všech pacientů do 40 let (Half a Bresalier 2004; Bulow 2004; Parc et al. 2004). Oproti tomu dědičný nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC) souvisí s mutacemi v genech zajišťujících opravu DNA. Jedná se o

autozomálně dominantní onemocnění. Nádory, které vznikají při HNPCC, jsou charakteristické MSI, která napomáhá při stanovení diagnózy. Dochází totiž k častým mutacím v mikrosatelitech, což jsou krátké repetitivní sekvence DNA (Grady 2003). Vznik KRK u HNPCC je 70–85 %. Hlavní příčinou HNPCC je Lynchův syndrom, který je způsoben zděděnými mutacemi v jedné z alel genů kódujících proteiny sloužící pro opravu chybného párování bazí DNA jako jsou *MSH2*, *MLH1*, *MSH6*, *PMS1*, *PMS2*. Lynchův syndrom můžeme nalézt u 2–3 % všech případů KRK (Lynch a de la Chapelle 2003; Umar et al. 2004). MSI není specifická pouze pro Lynchův syndrom, ale vykazuje jí i 15 % sporadických karcinomů (Syngal et al. 2015; Vasen et al. 2013)

Familiární KRK tvoří přibližně 25 % všech případů a je také způsoben dědičnými mutacemi. Nejsou klasifikovány jako dědičné karcinomy, protože nemohou být zahrnuty do žádné z jejich variant (Stoffel a Kastrinos 2014). U tohoto typu je nejdůležitější prevence prostřednictvím kolonoskopie, a to již u jedinců nad 40 let, kteří mají příbuzného trpícího KRK. Kolonoskopický skrínig a odstranění prekancerózních polypů u pacientů pravděpodobně významně přispívá ke snížení incidence KRK v populaci (Rex et al. 2017).

2.5. Možnosti léčby

Léčba KRK tedy spočívá v chirurgickém odstranění nádoru (ať už primárního nádoru nebo metastázy), aplikaci cytotoxických a/nebo cílených biologických látek nebo také radioterapii. Volba léčby u pacientů s KRK zahrnuje přístup založený na charakteristikách nádoru – a to především na stádiu onemocnění (tzv. TNM stádium – z anglického tumor-node-metastasis) a výsledcích histopatologického vyšetření nádoru (biopsie). Dále se berou v úvahu jak přítomnost či nepřítomnost nádorových biomarkerů, tak faktory, které souvisí s pacientem, jako jsou například věk, hmotnost, přidružené choroby, celkový zdravotní stav pacienta apod. Podle těchto kritérií se následně pacienti dělí do čtyř různých skupin s různými léčebnými postupy (Van Cutsem et al. 2010; Van Cutsem et al. 2014).

Pacienti bez metastatického onemocnění/s chirurgicky odstranitelnými metastázemi v játrech či plicích nebo pacienti s příznivou prognózou se řadí do *skupiny 0*. Léčba spočívá v chirurgickém odstranění metastáz. Ukázalo se, že podání chemoterapie u této skupiny nemá výrazný vliv na dobu přežití.

Skupina 1 je tvořena pacienty s potenciálně odstranitelným metastatickým onemocněním. Tito pacienti jsou nejprve léčeni indukční chemoterapií za účelem snížení

velikosti a počtu metastáz, aby bylo následně možné nádor chirurgicky odstranit. Chemoterapie v těchto případech zahrnuje cytotoxický dublet či triplet a může být kombinována s látkami proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (anti-VEGF) nebo proti receptoru epidermálního růstu (anti-EGFR) u pacientů s nemutovaným *KRAS*.

Pacienti s diseminovaným neodstranitelným nádorovým onemocněním se řadí do skupiny 2. Léčba pro tuto skupinu pacientů bývá spíše paliativního charakteru se snahou zmírnit symptomy, agresivitu a rozšíření onemocnění. První linie léčby je podávána za účelem rychlé regrese metastáz. Většinou zahrnuje cytotoxický dublet v kombinaci s látkami anti-VEGF nebo anti-EGFR. U oligometastatických pacientů, kteří reagují na léčbu, lze zvážit další ablativní metody pro prodloužení intervalu bez progresu. V některých případech je zvažováno také kompletní přerušování léčby.

Skupina 3 je složena z pacientů s neodstranitelným onemocněním a nedostatkem intenzivní léčby. Účelem léčby je zabránit šíření nádoru a prodloužit délku života. Nejčastěji používané léčebné strategie zahrnují fluoropyrimidin jako cytotoxickou látku, která může či nemusí být v kombinaci s biologickými cílenými látkami (Van Cutsem et al. 2010; Van Cutsem et al. 2014).

2.6. Typy léčiv a mechanismus jejich účinku

Chemoterapie první linie zahrnuje fluoropyrimidiny (např. 5-fluorouracil – 5-FU nebo kapecitabin) buď samotné, často však v kombinaci s leukovorinem (LV), případně dalšími cytotoxickými činidly jako je oxaliplatin nebo irinotekan. LV snižuje toxicitu léčby, protože se jedná o inhibitor vedlejších účinků způsobených 5-FU. Další cytotoxické látky se přidávají pro zvýšení účinnosti fluoropyrimidinů a zvýšení pravděpodobnosti přežití pacienta (Van Cutsem et al. 2014; Venook 2005).

5-FU je léčivo běžně využívané k léčbě různých maligních nádorů. Jeho hlavním protinádorovým účinkem je inhibice thymidylátsyntázy. To vede k narušení produkce intracelulárních deoxynukleotidů, které jsou nezbytné pro replikaci DNA. Může se též zabudovat do RNA a nahradit tak až 50 % uracilu (Horowitz a Chargaff 1959), což vede k narušení syntézy RNA. Dalším účinkem je inkorporace do DNA, což způsobí její fragmentaci (Daher et al. 1990).

Oxaliplatin tvoří DNA adukty, irinotekan inhibuje topoizomerázu I během replikace a/nebo transkripce vedoucí až k buněčné smrti (Wellstein et al. 2017). Bylo sice zjištěno,

že míra přežití pacientů se přidáním těchto léčiv zvýšila, zároveň však také došlo ke zvýšení toxicity (Boige et al. 2010).

Prognózu zlepšuje kombinace monoklonálních anti-VEGF nebo anti-EGFR protilátek nebo proteinů společně s chemoterapií (Van Cutsem et al. 2014). Nejčastěji se využívá anti-VEGF monoklonální protilátka Bevacizumab, která cílí na angiogenezi, a představuje přínos pro všechny pacienty s metastatickým KRK (Hurwitz et al. 2004). Léčba pomocí anti-EGFR může být použita pouze v nepřítomnosti mutací *KRAS*. Patří sem například Cetuximab a Panitumumab (Van Cutsem et al. 2014).

Radioterapie je další možností léčby pacientů s nádorovým onemocněním konečnicku. Byl prokázán velký přínos předoperační radioterapie ve snížení recidivy (Ma et al. 2017). Úplné snížení rizika ale závisí na klinickém TNM stádiu a úspěšnosti chirurgického odstranění nádoru (Taylor et al. 2011). Chemoradioterapie se používá společně s fluoropyrimidinem jakožto radiačním stabilizátorem (Glynne-Jones et al. 2017). Kompletní odpověď na tuto léčbu nastává u 15-20 % pacientů a u většiny je dosaženo alespoň zmenšení velikosti nádoru. Tento přístup vede k zachování rekta asi u 50-60 % pacientů (Rullier et al. 2017).

3 BIOMARKERY

3.1. Obecné poznatky

Biomarker je definován jako molekula, kterou nacházíme v krvi nebo jiných tělních tekutinách a tkáních, sloužící jako informace o normálním či abnormálním procesu v těle, například o onemocnění (Langan et al. 2013). Definice se vztahuje na DNA, RNA, mikroRNA, epigenetické změny nebo protilátky. Počet biomarkerů, které se využívají v klinické praxi, se stále zvyšuje. Ideální biomarker by měl být minimálně invazivní (např. dostupný z krve) a maximálně senzitivní. Dále by měl být co nejvíce specifický k danému typu onemocnění, měl by predikovat riziko rozvoje onemocnění, stav onemocnění a vývoj léčby. Je nutné, aby biomarkery byly co nejméně finančně nákladné pro jejich celosvětovou dostupnost (Pountos et al. 2013).

Existuje ještě termín nádorový marker, který je často považován za synonymum biomarkeru vztahující se na struktury, které mohou být přičítány vzniku abnormálních buněk nebo karcinogeneze. Největší skupinou klinicky důležitých markerů jsou nádorům-přidružené antigeny (TAAs). Předpokládá se, že koncentrace nádorových markerů napomáhá při časně diagnostice onemocnění a používají se při skriningových testech.

Některé nádorové markery se také využívají k predikci a monitorování účinnosti léčby a sledování recidivy (Lech et al. 2014). Již klinicky využívané biomarkery jsou shrnuty v Tabulce 1.

3.2. Skrínigové a diagnostické biomarkery u KRK

Diagnostický biomarker zjišťuje a potvrzuje přítomnost určitého onemocnění (FDA-NIH Biomarker Working Group 2016). Skrínigový biomarker se používá pro včasnou detekci onemocnění (Califf 2018). Přítomnost skrínigových markerů se v současnosti mimo jiné zjišťuje fekálním DNA testem, který není invazivní (Ahlquist et al. 2008; Diehl et al. 2008). Sekretované biomarkery jsou odvozené přímo z nádoru, a proto jsou markery ze stolice vysoce specifické. Dále dochází u pacientů k vyšším detekcím cirkulující mikroRNA v jejich stolici. Její přínos je stále testován v klinických studiích (Koga et al. 2010; Link et al. 2010). Do této skupiny řadíme i proteinové markery, které dělíme na TAA, protilátky proti TAA a další KRK-relevantní proteiny, které patří mezi markery diagnostické. Z dalších proteinových markerů, které by mohly být použity na skrínig, byly zkoumány nádorově specifická M2 izoforma pyruvátkinázy (M2-PK) ve stolici a tkáňový inhibitor matrixu metaloproteinázy 1 (TIMP1) v krevní plasmě (Koss et al. 2008; Mulder et al. 2007).

3.3. Prognostické a prediktivní biomarkery u KRK

Prognostické biomarkery udávají pravděpodobnou progresi onemocnění, prediktivní předpovídají účinnost léčby (Califf 2018). Některé biomarkery jsou založené na mutaci genů, které jsou klíčové pro karcinogenezi KRK (*NRAS*, *KRAS*, *BRAF*). Jiné jsou spojené s poškozením v systému oprav chybného párování bazí a jsou základním mechanismem určujícím MSI status (Popat et al. 2005). Karcinoembryonální antigen (CEA) byl objeven téměř před 50 lety a stále zůstává jediným nádorovým markerem s uznávanou účinností při monitorování léčby pacientů s KRK (Gold a Freedman 1965). Zvýšená koncentrace CEA je také známkou špatné prognózy u pacientů (Locker et al. 2006) a je detekovatelná pouze v pokročilejších stádiích KRK (Hundt et al. 2007). Jeho vysoká koncentrace v krvi ale není specifická jen pro KRK, ale též pro onemocnění jater, pankreatitidu a další onemocnění. Dalším nádorovým antigenem je CA 19-9, který je ve srovnání s CEA méně senzitivní, ale stále nejlepší pro detekci nádorů slinivky břišní. Pro KRK se využívá primárně v kombinaci s CEA (Gonzalez-Pons a Cruz-Correa 2015).

3.3.1. Mikrosatelitní nestabilita

Nádory s MSI lze nalézt u cca 15 % pacientů (Guinney et al. 2015). MSI status je prognostickým a prediktivním markerem, a to hlavně pro stádium II pacientů s KRK (Petrelli et al. 2019). KRK s MSI často vykazuje rezistenci vůči 5-FU, a bylo zjištěno, že lepší celkové přežití pacientů po léčbě 5-FU je pouze u pacientů bez MSI (Sargent et al. 2010). Navíc se ukázalo, že nádory s defekty systému oprav chybného párování bazí lépe reagují na inhibitory kontrolních bodů buněčného cyklu (Basile et al. 2017), a to pravděpodobně kvůli jejich vyšší mutační zátěži a infiltraci imunitními buňkami (Jin a Yoon 2016). Klinické studie se rovněž zabývají možným využitím prediktivní hodnoty MSI statusu pro léčbu pacientů ve stádiu III a IV (Koncina et al. 2020).

3.3.2. Mutační status RAS

KRAS je efektozem EGFR. Jeho mutace se vyskytují u 45 % pacientů ve stádiu IV a u zhruba 15–37 % pacientů s časnými stádii KRK, přičemž je jeho výskyt častější u nádorů bez MSI (Modest et al. 2016). Prognostická hodnota *KRAS* mutace byla potvrzena u pacientů s KRK stádia III bez MSI (Eklöf et al. 2013), přičemž tito pacienti vykazovali 1,5x vyšší riziko relapsu a úmrtí v porovnání s pacienty bez mutace v *KRAS* (Modest et al. 2016). Bylo zjištěno, že přidání anti-EGFR látky ke standardní chemoterapii zlepšuje přežití pacientů a snižuje riziko progresse onemocnění (Van Cutsem et al. 2014; Taieb et al. 2017; Cunningham et al. 2004). Přínos je ale patrný pouze u pacientů, kteří nevykazují mutace v efektozech EGFR jako jsou právě *KRAS* a *NRAS* (De Roock et al. 2010; Lièvre et al. 2008; Karapetis et al. 2008; Sorich et al. 2015). Vzhledem k tomu, že aktivační mutace *KRAS* se vyskytují u 40 % pacientů a *NRAS* u 7 % pacientů (Zarkavelis 2017), je před léčbou anti-EGFR protilátkami nutná analýza mutací těchto genů.

3.3.3. Mutační status BRAF

BRAF gen je aktivován mutací u 10 % pacientů s KRK (Davies et al. 2002). *BRAF* aktivační mutace se nejčastěji vyskytuje v kodónu 600 (*BRAF* V600E), což představuje téměř 90 % všech *BRAF* mutací (Barras 2015). Tato mutace se vylučuje s mutacemi *RAS* a tím pádem přidání anti-EGFR látek není účinné (De Roock et al. 2010; Punt et al. 2017). Bylo také zjištěno, že přítomnost mutací v *BRAF* snižuje přežití pacientů ve stádiu III a IV, jedná se tedy o negativní prognostický marker (Ulivi et al. 2012; Saridaki et al. 2013).

Kombinace nepřítomnosti MSI a přítomnosti *BRAF* mutace se ukázala být významným prognostickým biomarkerem, přičemž tito pacienti vykazují až 2x vyšší riziko relapsu a úmrtí (Bläker et al. 2019).

Tabulka 1: Typy klinicky využívaných biomarkerů u KRK (upraveno podle (Koncina et al. 2020; Lech 2016)).

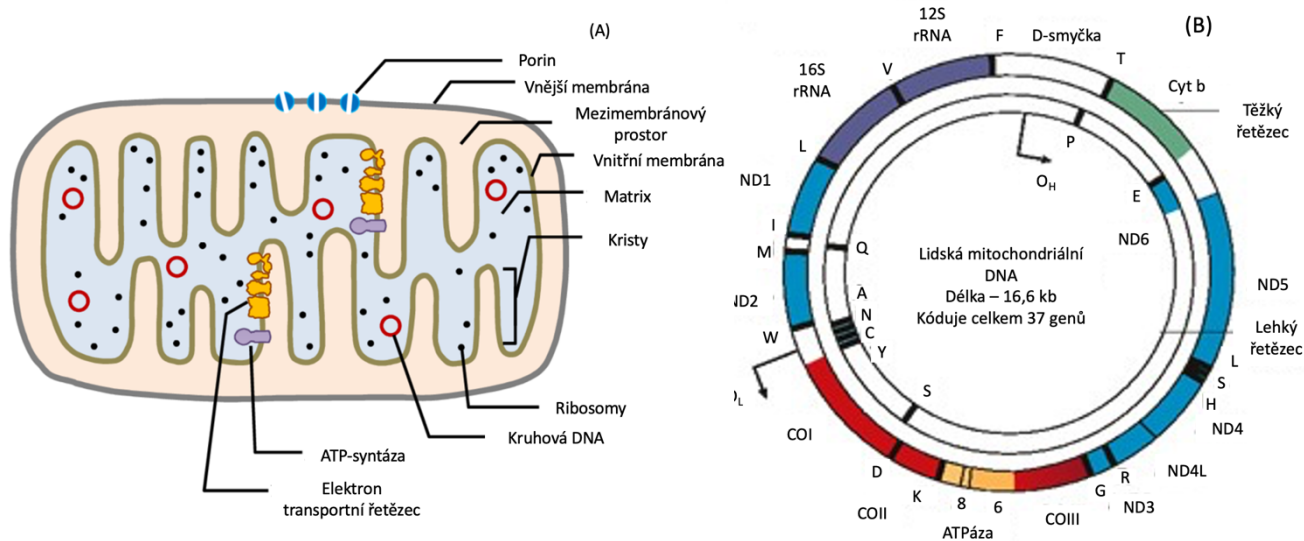
Biomarker	Využití
CEA	Skríningové, prognostické
CA 19-9	Skríningové, prognostické
<i>KRAS</i>	Prognostické, prediktivní
<i>BRAF</i>	Prognostické, prediktivní
MSI	Prognostické, prediktivní

MSI – mikrosatelitní nestabilita, CEA – karcinoembryonální antigen, CA-19-9 – nádorový antigen 19-9, *KRAS* – izoforma RAS genu popsána Kirstenem, *BRAF* – lidský protoonkogen kódující protein B-Raf

4 MITOCHONDRIE

4.1. Obecné poznatky

Mitochondrie jsou specializované organely nacházející se u většiny eukaryotických buněk, viz Obrázek 4A. Jsou zodpovědné za produkci buněčné energie prostřednictvím oxidativní fosforylace. Mitochondrie jsou také klíčové pro signalizaci vápníků, syntézu hemu, steroidů a hlavně pro programovanou buněčnou smrt (apoptózu) (van der Giezen a Tovar 2005). Stejně jako buněčné jádro, tak i mitochondrie obsahují vlastní DNA (Obrázek 4B) a poškození mtDNA často souvisí s různými chorobami např. nádorovými onemocněními, mrtvicí, diabetem nebo neurodegenerativními chorobami (Mishra a Chan 2014).



Obrázek 4: Struktura mitochondrie a mtDNA (upraveno podle (Yusoff et al. 2015; Taylor a Turnbull 2005)).

4.2. Lidský mitochondriální genom

Mitochondriální genom tvoří kruhové, dvouvláknové molekuly DNA (Andrews et al. 1999). Řetězce mtDNA se liší nukleotidovým složením – v těžkém se nachází hodně guaninu, v lehkém naopak hodně cytosinu (Andrews et al. 1999). mtDNA obsahuje málo intronů, je poměrně malá (u lidí 16,6 kb) a v jedné mitochondrii se vyskytuje ve 2-10 kopiích. Vzhledem k tomu, že se mtDNA vyskytuje v mnoha kopiích, umožňuje to netypické způsoby oprav DNA a netypickou formu rekombinace (Kaniak-Golik a Skoneczna 2015). mtDNA je dědičná po matce, přičemž po oplodnění je otcovská mitochondrie degradována (Aanen et al. 2014). mtDNA kóduje 22 tRNA, 2 rRNA a 13 proteinů, které se podílí na syntéze ATP (Suzuki et al. 2011). Obsahuje nekódující (D) smyčku, kde se nacházejí regulační oblasti pro transkripci těžkých a lehkých řetězců, počátek replikace těžkého řetězce a vazebná místa pro transkripční faktor, viz Obrázek 4B (Cook a Higuchi 2012).

4.3. Defekty mtDNA

Četnost mutací mtDNA je výrazně vyšší než u jaderné DNA. Důvodem je to, že mtDNA je náchylnější k mutacím, protože má omezený repertoár systémů oprav DNA. Mitochondrií je také v buňce větší množství, takže dochází k replikacím daleko většího počtu mtDNA molekul.

U nádorových onemocnění hrají mitochondrie opravdu klíčovou roli, a to v přeprogramování metabolismu buněk. Probíhají v nich totiž různé katabolické a anabolické dráhy, jako je syntéza aminokyselin, nukleových kyselin, lipidů a bylo

prokázáno, že jejich poškození vyvolává u několika typů nádorových onemocnění progresi (Sciacovelli et al. 2014). Například mutace nebo delece mtDNA u karcinomu prsu, prostaty a kolorekta jsou spojené s progresí nádoru do horšího fenotypu s nepříznivou prognózou (Cui et al. 2013). Přibližně 43 % hepatocelulárních karcinomů, 52 % karcinomů žaludku, 23 % karcinomů plic a 40 % KRK vykazovalo mutace D-smyčky. Také byl u nich zaznamenán výrazný pokles celkového obsahu mtDNA (Lee et al. 2005). Mutace v mtDNA nádorových buněk můžeme rozdělit na dvě třídy – mutace, které poškozují proces oxidativní fosforylace, sloužící ke stimulaci neoplastické transformace a ty, které pomáhají nádorovým buňkám se adaptovat na nové bioenergetické prostředí.

Mutace mtDNA jsou snadněji detekovatelné než mutace jaderné DNA a to protože má mtDNA daleko více kopií. Díky identifikaci mutací mtDNA by tak mohlo dojít ke zvýšení citlivosti pro diagnózu nádorových onemocnění. Při osekvenování 80 % genomu mtDNA z primárních nádorů byly nalezeny stejné somatické mutace mtDNA rovněž ve vzorcích tělesných tekutin u 64 % případů karcinomu močového měchýře, 46 % případů karcinomu hlavy a krku a 43 % případů karcinomu plic. Mutace se nejčastěji nalézaly v genu podjednotky 4 NADH dehydrogenázy a v oblasti D-smyčky (Fliss et al. 2000).

mtDNA je kondenzována do nukleoidů díky vazbě mitochondriálního transkripčního faktoru A (TFAM). Bylo zjištěno, že některé typy KRK obsahují heterozygotní mutace genu *TFAM*, které jsou spojené s delecí mtDNA (Guo et al. 2011). TFAM je také translokován do jádra buněk nádorů prostaty a jeho nadměrná exprese může vést k buněčné proliferaci (Han et al. 2011).

4.3.1. Mitochondriální produkce ROS

Reaktivní kyslíkové radikály (ROS) jsou molekuly často produkované v mitochondriích během buněčného dýchání na vnitřní membráně způsobující poškození DNA/mtDNA (Savu et al. 2011). Jsou zodpovědné za různé typy oxidativního poškození DNA/mtDNA, jako jsou například modifikace, odstranění bazí nebo zlomy ve dvoušroubovici DNA. Jedinou polymerázou vyskytující se v mitochondriích je DNA polymeráza γ a má se za to, že právě ta je zodpovědná za změny vyskytující se v mtDNA díky své nízké schopnosti oprav (McKinney a Oliveira 2013).

NADPH je molekula velmi důležitá pro redukci H_2O_2 a dalších peroxidů. Když je mitochondriální produkce kyslíkatých radikálů příliš vysoká, stávají se toxické pro buňku a mohou vyvolat apoptózu či nekrózu. Mitochondriální ROS jsou také významné signální

molekuly a silné mitogeny, tudíž když dojde k inhibici apoptózy, mohou kyslíkaté radikály přispět k nádorovému bujení buněk (Gupta et al. 2012). Produkce ROS je regulována elektrochemickým gradientem vnitřní mitochondriální membrány. U různých karcinomů často dochází k inhibici ATP syntázy, což vede ke zvýšené produkci ROS (Sánchez-Cenizo et al. 2010).

5 ZMĚNY V MITOCHONDRIÁLNÍ DNA A JEJICH ROLE V KRK

5.1. Změna obsahu mtDNA

V mtDNA nádorových buněk nedochází pouze ke strukturním změnám, ale také ke změně jejich počtu. V různých studiích byl zjištěn pokles i nárůst kopií mtDNA v nádorových tkáních. Pokles může souviset se snížením počtu proteinů oxidativní fosforylace. Bylo zjištěno, že snížený počet kopií mtDNA souvisel s metastázemi KRK do lymfatických uzlin (Wang et al. 2006). Díky tomuto snížení by mohlo docházet k silnější toleranci k hypoxii a nádor by tedy mohl snížit závislost mitochondrie na oxidativní fosforylaci – hlavním zdrojem energie pro růst nádoru by tedy byl anaerobní metabolismus – glykolýza (Cui et al. 2013). Nádory s vyšším počtem kopií mtDNA jsou totiž méně tolerantní k hypoxii, rostou pomaleji, jsou méně invazivní a citlivější k léčbě a pacienti mají tedy lepší prognózu (Derwinger et al. 2008). Snížení obsahu mtDNA bylo pozorováno u KRK s mutací v genu *BRAF* a s MSI. Naopak u nádorů s mutací *KRAS* byl pozorován vyšší obsah mtDNA (van Osch et al. 2015). Novější *in vitro* studie ale ukázaly, že počet kopií mtDNA v KRK buněčných liniích může být zvýšen vlivem exprese p53 i TFAM (Wen et al. 2016).

5.2. Změny ve volné cirkulující mtDNA

Změny ve volné cirkulující mtDNA byly pozorovány u značného množství nádorových onemocnění. Největší výhodou cirkulující mtDNA je schopnost sloužit jako „tekutá biopsie“, protože je relativně krátká, jednoduše organizovaná a vyskytuje se ve více kopiích, lze ji detekovat v kapalných vzorcích, jako je například sérum či plazma, kde se obecně vyskytuje malé množství DNA (Diaz a Bardelli 2014; Li et al. 2016). Uvolňování mtDNA bylo popsáno u různých klinických stavů, které souvisejí se záněty či nekrózou buněk. Dochází ke ztrátě integrity membrány a k uvolňování intracelulárního obsahu (Kaczmarek et al. 2013). Stres, který způsobují uvolnění mtDNA, může být jak extracelulární, tak intracelulární (Dröse a Brandt 2012). K uvolnění mtDNA dochází

například při poškození tkáně, u pacientů například po operacích, a její rozpoznání imunitními buňkami hraje roli při rozvoji zánětů (Simmons et al. 2013; Zhang et al. 2010). Kromě přítomnosti cirkulující mtDNA u pacientů s velkým traumatem byly její změny zjištěny také v krvi pacientů trpících onemocněním souvisejícím s oxidativním stresem. Pokud při oxidativním stresu dojde k produkci ROS, dochází k hypoxii, což má za následek poškození buněk (Gutteridge 1999). Na poškození a následném uvolňování mtDNA by se mohl podílet také Ca^{2+} . Ten spolu s ROS představuje důležitý mediátor při šíření nekrotického signálu z matrix (Brookes et al. 2004).

Bylo také zjištěno, že jedinci s nižším nebo vyšším počtem kopií mtDNA v periferní krvi mají zvýšené riziko rozvoje KRK (Thyagarajan et al. 2012). Kromě toho bylo také zjištěno, že když leukocyty obsahovaly více kopií mtDNA, prognóza pacientů byla horší (Qu et al. 2015). Další prospektivní studie odhalila, že u žen, které měly nižší obsah kopií mtDNA v periferních leukocytech, se následně rozvinul KRK (Huang et al. 2014).

Přesné buněčné mechanismy, které způsobují kolísání koncentrací cirkulární mtDNA zůstávají stále nejasné, ale jedná se o minimálně invazivní proces pro diagnostiku a prognózu (Yu 2011). Zvýšený obsah cirkulující mtDNA v periferní krvi se ukazuje jako významný diagnostický faktor u KRK (Chen et al. 2011).

5.3. D-smyčka

Úplná nebo částečná sekvence D-smyčky byla široce zkoumána v souvislosti s KRK. Bylo zjištěno, že metylace v oblasti D-smyčky byla v KRK tkáni nižší než v nenádorové tkáni (Feng et al. 2012). Zároveň bylo zjištěno, že mutace D-smyčky se vyskytovala ve výrazně vyšší frekvenci u KRK s mutací p53 (Chang et al. 2009). Dle dostupných studií by mohl haplotyp nukleotidů 16290T v oblasti D-smyčky být využit jakožto biomarker pro hodnocení pooperační prognózy KRK pacientů (Bai et al. 2015). Dále by mutace sekvence D310 mohla být považována za biomarker pro brzkou detekci KRK (Legras et al. 2008). D-smyčka by tedy mohla být využita jako biomarker pro hodnocení rizika a prognózy KRK, ale hlavní bod sporu vyvolává místo mutací D-smyčky a jejich frekvence.

5.4. Mikrosatelitní nestabilita mtDNA

Mitochondriální mikrosatelitní nestabilita (mtMSI) je změna délek sekvencí mikrosatelitů mitochondriální DNA mezi nádorovou a normální tkání a byla často

nalezena u pacientů s KRK. Největší množství mtMSI bylo nalezeno v D-smyčce – u 54,4 % všech zkoumaných pacientů, nejvýrazněji v lokusu D310 (Venderbosch et al. 2015). Variace délek mikrosatelitů vzniká hlavně díky replikačnímu skluzu mtDNA polymerázy a tento proces může ovlivnit replikaci a transkripci mtDNA (Graziewicz 2002). Byly prováděny studie zaměřené na souvislost jaderné MSI a mtMSI u KRK, které ukázaly, že jsou to na sobě nezávislé události a naznačuje to, že jaderné proteiny DNA opravy chybného párování bází (MMR) nejsou odpovědné za opravy chybného párování bází v mitochondriích (Tsai et al. 2009; Guleng et al. 2005).

5.5. Poškození a mutace mtDNA

Mitochondriální delece 4977bp, mimo jiné známá jako běžná delece, je jednou z nejčastěji pozorovaných mutací mtDNA. Delece zahrnuje pět genů tRNA a sedm genů, které kódují podjednotky cytochrom c oxidázy, ATPázy a komplexu I (Dani et al. 2003). Oblast, ve které k deleci dochází, je důležitá pro ochranu tumor-podporujících účinků jiných mutací a zabraňuje tedy neoplastickému růstu (Dani et al. 2003). Byl prokázán nižší výskyt delece 4977bp v nádorové tkáni, oproti normální (Dimberg et al. 2014). Může to být například způsobeno rychlou buněčnou proliferací nebo tím, že buňky obsahující tuto deleci jsou eliminovány apoptózou (Wu et al. 2005). Delece může způsobit nevýhodu proliferujícím buňkám, a proto dochází k její selekci v nádorové tkáni (Dani et al. 2003).

MT-ND1 je gen kódující podjednotku NADH dehydrogenázy I. U KRK byly pozorovány zvýšené hladiny její exprese, spolu s expresí genu *MT-ND6*, který kóduje podjednotku NADH dehydrogenázy VI (Wallace et al. 2016). Jejich mutace by mohly být způsobené ROS a mohly by tedy přerušit dráhu oxidativní fosforylace, poškodit komplexy elektron-transportního řetězce (Akouchekian et al. 2011; Zhang et al. 1990).

Cytochrom b je jedinou podjednotkou komplexu III, která je kódována mtDNA, a je také významnou složkou elektron-transportního řetězce. Je mimo jiné také zodpovědný za tvorbu ROS (Saybaşili et al. 2001). Vyšší hladiny exprese mitochondriálního cytochromu b v nádorech jsou způsobené mutacemi, které vedou ke zvýšení buněčného růstu (Herrmann et al. 2003).

Vzhledem k tomu, že *MT-ATP6* a *MT-COI* jsou geny, které kódují proteiny tvořící těžký a lehký řetězec mitochondriálního genomu (Abril et al. 2008), může být rozdílná exprese těchto genů důsledkem posttranskripčních mechanismů, jako je upregulace, nebo

downregulace mikroRNA. *MT-ATP6* bývá nadměrně transkribována, což je připisováno nutnosti vyšší energie pro rychlý růst buněk nádoru (Wallace et al. 2016).

Dále bylo zjištěno, že podjednotky COI, II, III komplexu IV jsou často mutovány v metastatických KRK (Heerdt et al. 1990).

Tyto závěry tedy naznačují, že změny exprese mitochondriálních genů by se mohly podílet na progresi změny prekancerózových lézí v nádor.

Předpokládalo se, mtDNA u různých nádorových onemocnění bude velmi geneticky nestabilní. Překvapivě ale nádorová tkáň vykazovala sníženou prevalenci náhodných *de novo* substitucí bazí v mtDNA u KRK oproti nenádorové tkáni (Ericson et al. 2012). Rozdíl v mutační zátěži byl způsoben snížením přechodů C:G na T:A, které jsou spojené s oxidačním poškozením. Nižší frekvence nádorových mutací je také způsobena posunem v metabolismu glukózy od oxidační fosforylace k anaerobní glykolýze. Snížení mutagenese mtDNA by mohlo vést ke snížení produkce ROS, což by mohlo podpořit progresi onemocnění. To znamená, že mitochondriálně cílená protinádorová léčba zaměřená na přímé zvýšení poškození mtDNA by mohla účinně potlačit růst nádoru (Ericson et al. 2012).

Pokroky v sekvenování genomu mtDNA odhalily, že u nádorových mtDNA dochází k vyšší míře substituce, delece a změně délky polynukleotidového traktu. Interpretaci těchto dat ale značně komplikuje heteroplazmie a vysoký počet kopií mtDNA.

Mitochondriální dysfunkci mohou způsobovat downregulované komponenty komplexu I, který je součástí dýchacího řetězce. Nádorové buňky, ve kterých byly mutovány geny právě komplexu I vykazovaly zvýšenou odolnost proti záření a také zvýšenou glykolýzu (Shi et al. 2021). Bylo zjištěno, že glykolýza podporuje radiorezistenci (Gustafsson et al. 2018). Přidatná podjednotka komplexu I (*NDUFS1*), která je součástí NADH dehydrogenázy, je spojena při její nízké expresi se špatnou prognózou u pacientů s KRK, kteří podstupovali neoadjuvantní radioterapii. *NDUFS1* by tedy mohla být identifikována jako nový prediktivní biomarker radiosenzitivity v KRK (Shi et al. 2021).

5.6. Opravy mtDNA

V porovnání s mechanismy oprav jaderné DNA jsou možnosti oprav mtDNA méně charakterizovány. Zatímco jaderná DNA je intenzivně a efektivně opravována, mitochondriální je buď opravena nebo degradována (Fontana a Gahlon 2020). mtDNA je

pod přísnou kontrolou počtu kopií, takže pokud dojde k degradaci poškozené mtDNA, následně dojde k replikaci nepoškozené kopie a dosyntetizování mtDNA (Clay Montier et al. 2009). Nejčastějším mechanismem, který je zodpovědný za opravu mtDNA, je báзовě excizní oprava (BER). Stále není jisté, zda mitochondrie vykazují účinnou MMR a opravy dvouřetězcových zlomů DNA (DSB) a jaký význam tyto dráhy mají (Fontana a Gahlon 2020).

BER se podílí na opravě různých typů poškození DNA. Většina proteinů BER se nachází jak v jaderném, tak v mitochondriálním genomu, ale spoustu proteinů zodpovědných za BER u mtDNA se lokalizuje právě v mitochondriích, což zvyšuje účinnost opravy (Fontana a Gahlon 2020). Je negativně regulovaná *TFAM*, který se váže na poškozenou mtDNA a inhibuje aktivaci BER (Canugovi et al. 2010). BER by mohla být zodpovědná za snižování celkové úrovně delece mtDNA a zachování její integrity.

Analýzou mutací mtDNA u KRK byly zjištěné vysoké úrovně MSI, což ukazuje na poruchy MMR (Sancar et al. 2004). Není jisté, zda se MMR podílí na opravě mtDNA, protože nejspíše samotné mitochondrie postrádají proteiny zodpovědné za opravy MMR v jádrech, jako je MSH2, MSH3, MSH6 (Habano et al. 1998). Protein YB-1 je zatím jediným proteinem, který je přímo zapojen do mitochondriální MMR. Je zodpovědný za rozpoznání, navázání nesprávně spárované DNA, rozpletení vláken a za zahájení opravy. Interaguje také s NEIL2 a APE1, což naznačuje možnou spolupráci mezi MMR a BER (de Souza-Pinto et al. 2009). Pokud se tedy MMR podílí na opravách mtDNA, tak je velmi odlišný od toho jaderného (Mason 2003).

Není stále jasné, zda je účinná oprava DSB přítomna v mitochondriích či nikoliv. Experimenty prováděné *in vitro* s mitochondriálními extrakty ale naznačují, že mitochondrie savčích buněk mohou být schopné homologicky řízených oprav (HDR), nehomologního spojování konců (NHEJ) a alternativní dráhy NHEJ nazývané MMEJ – tedy oprav, které jsou charakteristické pro jadernou DNA (Dahal et al. 2018; Coffey et al. 1999; Tadi et al. 2016). Některé opravné faktory těchto opravných drah byly identifikovány v mitochondriích (Coffey et al. 1999; Dmitrieva et al. 2011). Pokud jsou v mitochondriích neopravené DSB, dochází k rozsáhlým delecím mtDNA (Fu et al. 2020).

6 SLIBNÉ BIOMARKERY ZALOŽENÉ NA mtDNA PRO POUŽITÍ V BUDOUCNOSTI

Změna počtu kopií mtDNA by mohla být stanovena jako biomarker pro použití v budoucnosti. Závěry různých studií (zmiňovaných v kapitole výše) se sice hodně různí a samotní autoři se na jeho použití nemohou shodnout, ale počet kopií mtDNA v periferní krvi by mohl být využit jako biomarker pro včasnou detekci KRK.

Mutace v oblastech D-smyčky byly vyhodnoceny jako možný biomarker. Konkrétně haplotyp nukleotidů 16290T by mohl být využitelný jako biomarker pro pooperační prognózu pacientů s KRK. Jako další by mohla být využita mutace sekvence D310, ta by mohla sloužit pro brzkou detekci KRK.

Možnost využití změn mtDNA jako biomarkeru vyvolala mnoho rozporuplných názorů. Kontroverzi vyvolalo hlavně místo a frekvence mutace v KRK. Spousta studií uvádí, že mutace mtDNA by mohla být využita jako biomarker pro diagnostiku a prognózu KRK a určité mutace, jako je mutace genu mitochondriální podjednotky *ND1* a další (uvedené v kapitole 5.5) jsou považovány za důležitý molekulární cíl. Také několik studií naznačovalo, že by mutace mtDNA mohly určovat špatnou prognózu a tumorigenezi.

MSI v jaderném genomu byla již v minulosti potvrzena jako biomarker související s recidivou, prognózou a predikcí léčby KRK. Metaanalýza naznačila, že mtMSI byla vyšší u pacientů s metastatickým KRK, ale nebyla nalezena souvislost s prognózou. MSI status se tedy hodí spíše jako biomarker prediktivní.

NDUFS1, složka dýchacího řetězce (komplexu I), by potenciálně také mohla být dobrým prediktivním biomarkerem radiosenzitivity KRK. To naznačuje, že cílené zvýšení funkce komplexu I by mohlo být dobrou strategií pro zlepšení radiosenzitivity.

Úplný význam volné cirkulující mtDNA u KRK není zatím zřejmý, ale na základě výsledků studií u jiných nádorových onemocnění by mohla být významným minimálně invazivním biomarkerem pro diagnostiku, ale také vhodným prediktivním a prognostickým biomarkerem.

7 ZÁVĚR

Tato práce se věnuje představení KRK, rizikovým faktorům pro jeho vznik a jeho možnostem léčby. Dále se zabývá obecnou charakterizací biomarkerů KRK a shrnutím biomarkerů založených na mtDNA, které jsou slibné pro zavedení do klinické praxe.

KRK je heterogenním onemocněním, které celosvětově patří k nejčastěji se vyskytujícím a fatálním nádorovým onemocněním na světě. Rizikové faktory zahrnují jak genetické faktory, tak především četné vnější, ovlivnitelné faktory, jako je vystavení se různým karcinogenům souvisejícím s kouřením, požíváním alkoholu nebo špatnou stravou. Rizikovým faktorem je též obezita, diabetes a nízká fyzická aktivita. KRK můžeme dělit na 3 skupiny dle typu změn, kvůli kterým vzniká a vyvíjí se – sporadické, familiární a dědičné. Sporadické jsou nejčastější a ty dělíme ještě na několik podtypů, které jsou charakteristické jinými mutacemi – CMS1 se vyznačuje MSI, mutacemi *BRAF*, CMS 2 se vyznačuje aktivací drah Wnt a MYC, CMS 3 proměnlivým MSI statusem, mutacemi *KRAS* a CMS 4 změnami v počtu somatických kopií a aktivací TGF- β . Možnosti léčby jsou v současné době založené na chirurgickém odstranění nádoru, chemoterapii, radioterapii a aplikaci cílených biologických látek. Pro zjištění diagnózy v brzkém stádiu, pro zvolení správné onkologické léčby a pro určení prognózy pacientů je nutné identifikování vhodných biomarkerů, aby mohlo dojít ke snížení smrtnosti tohoto onemocnění. V současné době jsou nějaké biomarkery k dispozici, jako například CEA a CA 19-9, které slouží jako skrínigové a prognostické biomarkery, MSI status a mutace v genech *KRAS* a *BRAF*, které slouží jako prognostické a prediktivní biomarkery.

Mitochondrie jsou orgány, které obsahují vlastní mtDNA a její poškození často souvisí s různými chorobami, například nádorovými, neurodegenerativními, mrtvicí a diabetem. Vzhledem k tomu, že se mtDNA vyskytuje v mnoha kopiích v každé mitochondrii a má omezený repertoár systémů oprav DNA, je daleko náchylnější k mutacím a dalším změnám. Bylo zjištěno, že například delece v mtDNA u KRK jsou spojené s progresí nádoru do horšího fenotypu a horší prognózou, zároveň také často dochází k mutacím v D-smyčce.

Dle dostupné literatury byly shrnuty jednotlivé změny v mtDNA v rámci KRK. Tyto změny zahrnovaly různé mutace mtDNA v D-smyčce, dále delece 4877bp, nebo delece spojené s *MT-ND1*, *MT-ATP6*, *MT-COI* a další. Z dostupné literatury vyplývá, že dochází i k různým dalším poškozením mtDNA, například *NDUFS1*, což je spojeno se špatnou prognózou pacientů, nebo poškozením vlivem mitochondriální produkce ROS.

Dále dochází ke změnám obsahu mtDNA, kdy snížený počet kopií mtDNA souvisí s metastázováním KRK do lymfatických uzlin a kdy snížení či zvýšení počtu kopií mtDNA je spojeno s rizikem rozvoje KRK. Velice významné jsou změny spojené s volně cirkulující mtDNA, jejíž velkou výhodou je využitelnost při tekuté biopsii, což znamená, že je dobře detekovatelná i v malém množství v tělních tekutinách. Má tedy velký potenciál sloužit jako minimálně invazivní a lehce dostupný biomarker.

mtDNA ve vztahu ke KRK je dnes velmi aktuální téma, které má velký potenciál přinést další významné objevy. Změny v mtDNA mají velký potenciál fungovat jako nový biomarker pro KRK a ukazují se jako velmi slibné pro zavedení do klinické praxe.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AANEN DK, SPELBRINK JN a BEEKMAN M, 2014. What cost mitochondria? The maintenance of functional mitochondrial DNA within and across generations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online]. **369**(1646), 20130438. ISSN 0962-8436, 1471-2970. Dostupné z: doi:10.1098/rstb.2013.0438

ABRIL J, DE HEREDIA ML, GONZÁLEZ L et al., 2008. Altered expression of *12S/MT-RNR1*, *MT-CO2/COX2*, and *MT-ATP6* mitochondrial genes in prostate cancer. *The Prostate* [online]. **68**(10), 1086–1096. ISSN 02704137, 10970045. Dostupné z: doi:10.1002/pros.20771

AHLQUIST DA, SARGENT DJ, LOPRINZI CHL et al., 2008. Stool DNA and occult blood testing for screen detection of colorectal neoplasia. *Annals of Internal Medicine* [online]. **149**(7), 441–450, W81. ISSN 1539-3704. Dostupné z: doi:10.7326/0003-4819-149-7-200810070-00004

AKOUCHEKIAN M, HOUSHMAND M, AKBARI MHH et al., 2011. Analysis of mitochondrial ND1 gene in human colorectal cancer. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*. **16**(1), 50–55. ISSN 1735-7136.

ANDREWS RM, KUBACKA I, CHINNERY PF et al., 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics* [online]. **23**(2), 147–147. ISSN 1061-4036, 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/13779

BAI Y, GUO Z, XU J, LIU S et al., 2015. Single nucleotide polymorphisms in the D-loop region of mitochondrial DNA is associated with renal cell carcinoma outcome. *Mitochondrial DNA* [online]. **26**(2), 224–226. ISSN 1940-1736, 1940-1744. Dostupné z: doi:10.3109/19401736.2013.825772

BARRAS D, 2015. *BRAF* Mutation in Colorectal Cancer: An Update: Supplementary Issue: Biomarkers for Colon Cancer. *Biomarkers in Cancer* [online]. **7s1**, BIC.S25248. ISSN 1179-299X, 1179-299X. Dostupné z: doi:10.4137/BIC.S25248

BASILE D, GARATTINI SK, BONOTTO M et al., 2017. Immunotherapy for colorectal cancer: where are we heading? *Expert Opinion on Biological Therapy* [online]. **17**(6), 709–721. ISSN 1471-2598, 1744-7682. Dostupné z: doi:10.1080/14712598.2017.1315405

BLÄKER H, ALWERS E, ARNOLD A et al., 2019. The Association Between Mutations in *BRAF* and Colorectal Cancer–Specific Survival Depends on Microsatellite Status and Tumor Stage. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* [online]. **17**(3), 455-462.e6. ISSN 15423565. Dostupné z: doi:10.1016/j.cgh.2018.04.015

BOIGE V, MENDIBOURE J, PIGNON JP a et al., 2010. Pharmacogenetic Assessment of Toxicity and Outcome in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With LV5FU2, FOLFOX, and FOLFIRI: FFCD 2000-05. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **28**(15), 2556–2564. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2009.25.2106

BROOKES PS, YOON Y, ROBOTHAM JL, ANDERS MW et al., 2004. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* [online]. **287**(4), C817–C833. ISSN 0363-6143, 1522-1563. Dostupné z: doi:10.1152/ajpcell.00139.2004

BULOW S, 2004. Duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. *Gut* [online]. **53**(3), 381–386. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.2003.027771
CALIFF, Robert M, 2018. Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine* [online]. **243**(3), 213–221. ISSN 1535-3702, 1535-3699. Dostupné z: doi:10.1177/1535370217750088

CANAVAN C, ABRAMS KR a MAYBERRY J, 2006. Meta-analysis: colorectal and small bowel cancer risk in patients with Crohn's disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* [online]. **23**(8), 1097–1104. ISSN 0269-2813, 1365-2036. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2036.2006.02854.x

CANUGOVI CH, MAYNARD S, BAYNE AC et al., 2010. The mitochondrial transcription factor A functions in mitochondrial base excision repair. *DNA Repair* [online]. **9**(10), 1080–1089. ISSN 15687864. Dostupné z: doi:10.1016/j.dnarep.2010.07.009

CARETHERS JM a DOUBENI CHA, 2020. Causes of Socioeconomic Disparities in Colorectal Cancer and Intervention Framework and Strategies. *Gastroenterology* [online]. **158**(2), 354–367. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2019.10.029

CENTER MM, JEMAL A, SMITH RA a et al., 2009. Worldwide Variations in Colorectal Cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* [online]. **59**(6), 366–378. ISSN 0007-9235. Dostupné z: doi:10.3322/caac.20038

CLAY MONTIER LL, DENG JJ a BAI Y, 2009. Number matters: control of mammalian mitochondrial DNA copy number. *Journal of Genetics and Genomics* [online]. **36**(3), 125–131. ISSN 16738527. Dostupné z: doi:10.1016/S1673-8527(08)60099-5

COFFEY G, LAKSHMIPATHY U a CAMPBELL C, 1999. Mammalian mitochondrial extracts possess DNA end-binding activity. *Nucleic Acids Research* [online]. **27**(16), 3348–3354. ISSN 0305-1048, 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/27.16.3348

COOK CC a HIGUCHI M, 2012. The awakening of an advanced malignant cancer: An insult to the mitochondrial genome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. **1820**(5), 652–662. ISSN 03044165. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbagen.2011.08.017

CROSS AJ, FERRUCCI LM, RISCH A et al., 2010. A Large Prospective Study of Meat Consumption and Colorectal Cancer Risk: An Investigation of Potential Mechanisms Underlying this Association. *Cancer Research* [online]. **70**(6), 2406–2414. ISSN 0008-5472, 1538-7445. Dostupné z: doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3929

CUI H, HUANG P, WANG Z et al., 2013. Association of decreased mitochondrial DNA content with the progression of colorectal cancer. *BMC Cancer* [online]. **13**(1), 110. ISSN 1471-2407. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2407-13-110

CUNNINGHAM D, HUMBLET Y, SIENA S et al., 2004. Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. **351**(4), 337–345. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa033025

CZENE K, LICHTENSTEIN P a HEMMINKI K, 2002. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish family-cancer database. *International Journal of Cancer* [online]. **99**(2), 260–266. ISSN 0020-7136, 1097-0215. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.10332

DAHAL S, DUBEY S a RAGHAVAN SC, 2018. Homologous recombination-mediated repair of DNA double-strand breaks operates in mammalian mitochondria. *Cellular and Molecular Life Sciences* [online]. **75**(9), 1641–1655. ISSN 1420-682X, 1420-9071. Dostupné z: doi:10.1007/s00018-017-2702-y

DAHER GC, HARRIS BE a DIASIO RB, 1990. Metabolism of pyrimidine analogues and their nucleosides. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. **48**(2), 189–222. ISSN 01637258. Dostupné z: doi:10.1016/0163-7258(90)90080-L

DANI SU, de CASTRO DANI MA a SIMPSON A, 2003. The common mitochondrial DNA deletion Δ mtDNA4977: shedding new light to the concept of a tumor suppressor mutation. *Medical Hypotheses* [online]. **61**(1), 60–63. ISSN 03069877. Dostupné z: doi:10.1016/S0306-9877(03)00105-1

DASGUPTA S, HOQUE MO, UPADHYAY S et al., 2008. Mitochondrial Cytochrome B Gene Mutation Promotes Tumor Growth in Bladder Cancer. *Cancer Research* [online]. **68**(3), 700–706. ISSN 0008-5472, 1538-7445. Dostupné z: doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-5532

DAVIES H, BIGNELL GR, COX CH et al., 2002. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* [online]. **417**(6892), 949–954. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature00766

DE ROOCK W, CLAES B, BERNASCONI D et al., 2010. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *The Lancet Oncology* [online]. **11**(8), 753–762. ISSN 14702045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(10)70130-3

DEKKER E, TANIS PJ, VLEUGELS JLA et al., 2019. Colorectal cancer. *The Lancet* [online]. **394**(10207), 1467–1480. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(19)32319-0

DERRY MM, RAINA K, AGARWAL CH et al., 2013. Identifying Molecular Targets of Lifestyle Modifications in Colon Cancer Prevention. *Frontiers in Oncology* [online]. **3** [vid. 2022-04-01]. ISSN 2234-943X. Dostupné z: doi:10.3389/fonc.2013.00119

DERWINGER K, CARLSSON G a GUSTAVSSON B, 2008. A study of lymph node ratio as a prognostic marker in colon cancer. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)* [online]. **34**(7), 771–775. ISSN 07487983. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejso.2007.11.002

DE SOUZA-PINTO NC, MASON PA, HASHIGUCHI K et al., 2009. Novel DNA mismatch-repair activity involving YB-1 in human mitochondria. *DNA Repair* [online]. **8**(6), 704–719. ISSN 15687864. Dostupné z: doi:10.1016/j.dnarep.2009.01.021

DIAZ LA a BARDELLI A, 2014. Liquid Biopsies: Genotyping Circulating Tumor DNA. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **32**(6), 579–586. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2012.45.2011

DIEHL F, SCHMIDT K, DURKEE KH et al., 2008. Analysis of Mutations in DNA Isolated From Plasma and Stool of Colorectal Cancer Patients. *Gastroenterology* [online]. **135**(2), 489-498.e7. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2008.05.039

DIMBERG J, HONG TT, SKARSTEDT M et al., 2014. Novel and differential accumulation of mitochondrial DNA deletions in Swedish and vietnamese patients with colorectal cancer. *Anticancer Research*. **34**(1), 147–152. ISSN 1791-7530.

DMITRIEVA NI, MALIDE D a BURG MB, 2011. Mre11 is expressed in mammalian mitochondria where it binds to mitochondrial DNA. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* [online]. **301**(3), R632–R640. ISSN 0363-6119, 1522-1490. Dostupné z: doi:10.1152/ajpregu.00853.2010

DONG Y, ZHOU J, ZHU Y et al., 2017. Abdominal obesity and colorectal cancer risk: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Bioscience Reports* [online]. **37**(6), BSR20170945. ISSN 0144-8463, 1573-4935. Dostupné z: doi:10.1042/BSR20170945

DRÖSE S a BRANDT U, 2012. Molecular Mechanisms of Superoxide Production by the Mitochondrial Respiratory Chain. In: Bernhard KADENBACH, ed. *Mitochondrial Oxidative Phosphorylation* [online]. New York, NY: Springer New York, Advances in Experimental Medicine and Biology, s. 145–169 [vid. 2022-05-02]. ISBN 978-1-4614-3572-3. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4614-3573-0_6

EADEN JA, 2001. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* [online]. **48**(4), 526–535. ISSN 00175749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.48.4.526

EKLÖF V, WIKBERG ML, EDIN S et al., 2013. The prognostic role of KRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN in colorectal cancer. *British Journal of Cancer* [online]. **108**(10), 2153–2163. ISSN 0007-0920, 1532-1827. Dostupné z: doi:10.1038/bjc.2013.212

ERICSON NG, KULAWIEC M, VERMULST M et al., 2012. Decreased Mitochondrial DNA Mutagenesis in Human Colorectal Cancer. *PLoS Genetics* [online]. **8**(6), e1002689. ISSN 1553-7404. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pgen.1002689

FDA-NIH BIOMARKER WORKING GROUP, 2016. *BEST (Biomarkers, Endpoints, and other Tools) Resource* [online]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US) [vid. 2022-04-23]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>

FEARON ER a B VOGELSTEIN, 1990. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* [online]. **61**(5), 759–767. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/0092-8674(90)90186-I

FENG S, XIONG L, JI Z et al., 2012. Correlation between increased ND2 expression and demethylated displacement loop of mtDNA in colorectal cancer. *Molecular Medicine Reports* [online]. [vid. 2022-05-02]. ISSN 1791-2997, 1791-3004. Dostupné z: doi:10.3892/mmr.2012.870

FLISS MS, USADEL H, CABALLERO OL et al., 2000. Facile detection of mitochondrial DNA mutations in tumors and bodily fluids. *Science* [online]. **287**(5460), 2017–2019. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z doi:10.1126/science.287.5460.2017

FONTANA GA a GAHLON HL, 2020. Mechanisms of replication and repair in mitochondrial DNA deletion formation. *Nucleic Acids Research* [online]. **48**(20), 11244–11258. ISSN 0305-1048, 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkaa804

FU Y, TIGANO M a SFEIR A, 2020. Safeguarding mitochondrial genomes in higher eukaryotes. *Nature Structural & Molecular Biology* [online]. **27**(8), 687–695. ISSN 1545-9993, 1545-9985. Dostupné z: doi:10.1038/s41594-020-0474-9

GLEBOV OK, RODRIGUEZ LM, NAKAHARA K et al., 2003. Distinguishing right from left colon by the pattern of gene expression. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. **12**(8), 755–762. ISSN 1055-9965.

GLYNNE-JONES R, WYRWICZ L, TIRET E et al., 2017. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* [online]. **28**, iv22–iv40. ISSN 09237534. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdx224

GOLD P a S FREEDMAN, 1965. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *Journal of Experimental Medicine* [online]. **121**(3), 439–462. ISSN 1540-9538, 0022-1007. Dostupné z: doi:10.1084/jem.121.3.439

GONZALEZ-PONS M a CRUZ-CORREA M, 2015. Colorectal Cancer Biomarkers: Where Are We Now? *BioMed Research International* [online]. **2015**, 1–14. ISSN 2314-6133, 2314-6141. Dostupné z: doi:10.1155/2015/149014

- GRADY WM, 2003. Genetic testing for high-risk colon cancer patients¹ 1Abbreviations used in this paper: FAP, familial adenomatous polyposis; HMPS, hereditary mixed polyposis syndrome; HNPCC, hereditary nonpolyposis colon cancer; JPS, juvenile polyposis; MMR, mutation mismatch repair; MSI, microsatellite instability; PJS, Peutz-Jeghers syndrome; TGF, transforming growth factor. *Gastroenterology* [online]. **124**(6), 1574–1594. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-5085(03)00376-7
- GRAZIEWICZ MA, 2002. The mitochondrial DNA polymerase as a target of oxidative damage. *Nucleic Acids Research* [online]. **30**(13), 2817–2824. ISSN 13624962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkf392
- GUINNEY J, DIENSTMANN R, WANG X et al., 2015. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature Medicine* [online]. **21**(11), 1350–1356. ISSN 1078-8956, 1546-170X. Dostupné z: doi:10.1038/nm.3967
- GULENG G, LOVIG T, MELING G et al., 2005. Mitochondrial microsatellite instability in colorectal carcinomas? frequency and association with nuclear microsatellite instability. *Cancer Letters* [online]. **219**(1), 97–103. ISSN 03043835. Dostupné z: doi:10.1016/j.canlet.2004.07.018
- GUO J, ZHENG L, LIU W et al., 2011. Frequent Truncating Mutation of *TFAM* Induces Mitochondrial DNA Depletion and Apoptotic Resistance in Microsatellite-Unstable Colorectal Cancer. *Cancer Research* [online]. **71**(8), 2978–2987. ISSN 0008-5472, 1538-7445. Dostupné z: doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-3482
- GUPTA SC, HEVIA D, PATCHVA S et al., 2012. Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy. *Antioxidants & Redox Signaling* [online]. **16**(11), 1295–1322. ISSN 1557-7716. Dostupné z: doi:10.1089/ars.2011.4414
- GUSTAFSSON NMS, FÄRNEGÅRDH K, BONAGAS N et al., 2018. Targeting PFKFB3 radiosensitizes cancer cells and suppresses homologous recombination. *Nature Communications* [online]. **9**(1), 3872. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-018-06287-x
- GUTTERIDGE JMC, 1999. Does redox regulation of cell function explain why antioxidants perform so poorly as therapeutic agents? *Redox Report* [online]. **4**(3), 129–131. ISSN 1351-0002, 1743-2928. Dostupné z: doi:10.1179/135100099101534819
- HABANO W, NAKAMURA S a SUGAI T, 1998. Microsatellite instability in the mitochondrial DNA of colorectal carcinomas: Evidence for mismatch repair systems in mitochondrial genome. *Oncogene* [online]. **17**(15), 1931–1937. ISSN 0950-9232, 1476-5594. Dostupné z: doi:10.1038/sj.onc.1202112
- HALF EE a BRESAILER RS, 2004. Clinical management of hereditary colorectal cancer syndromes: *Current Opinion in Gastroenterology* [online]. **20**(1), 32–42. ISSN 0267-1379. Dostupné z: doi:10.1097/00001574-200401000-00008

- HAN B, IZUMI H, YASUNIWA Y et al., 2011. Human mitochondrial transcription factor A functions in both nuclei and mitochondria and regulates cancer cell growth. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. **408**(1), 45–51. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2011.03.114
- HEERDT BG, HALSEY HK, LIPKIN M et al., 1990. Expression of mitochondrial cytochrome c oxidase in human colonic cell differentiation, transformation, and risk for colonic cancer. *Cancer Research*. **50**(5), 1596–1600. ISSN 0008-5472.
- HERRMANN PC, GILLESPIE JW, CHARBONEAU L et al., 2003. Mitochondrial proteome: Altered cytochrome c oxidase subunit levels in prostate cancer. *PROTEOMICS* [online]. **3**(9), 1801–1810. ISSN 1615-9853, 1615-9861. Dostupné z: doi:10.1002/pmic.200300461
- HOROWITZ J a CHARGAFF E, 1959. Massive Incorporation of 5-Fluorouracil into a Bacterial Ribonucleic Acid. *Nature* [online]. **184**(4694), 1213–1215. ISSN 0028-0836, 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/1841213a0
- HOWLADER N, FORJAZ G, MOORADIAN MJ et al., 2020. The Effect of Advances in Lung-Cancer Treatment on Population Mortality. *New England Journal of Medicine* [online]. **383**(7), 640–649. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1916623
- HUANG B, GAO Y-T, SHU X-O et al., 2014. Association of Leukocyte Mitochondrial DNA Copy Number with Colorectal Cancer Risk: Results from the Shanghai Women's Health Study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. **23**(11), 2357–2365. ISSN 1055-9965, 1538-7755. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-14-0297
- HUNDT S, HAUG U a BRENNER H, 2007. Blood Markers for Early Detection of Colorectal Cancer: A Systematic Review. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. **16**(10), 1935–1953. ISSN 1055-9965, 1538-7755. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-06-0994
- HURWITZ H, FEHRENBACHER L, NOVOTNY W et al., 2004. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. **350**(23), 2335–2342. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa032691
- HUXLEY RR, ANSARY-MOGHADDAM A, CLIFTON P et al., 2009. The impact of dietary and lifestyle risk factors on risk of colorectal cancer: A quantitative overview of the epidemiological evidence. *International Journal of Cancer* [online]. **125**(1), 171–180. ISSN 00207136, 10970215. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.24343
- CHANG S-Ch, LIN P-Ch, YANG S-H et al., 2009. Mitochondrial D-loop mutation is a common event in colorectal cancers with p53 mutations. *International Journal of Colorectal Disease* [online]. **24**(6), 623–628. ISSN 0179-1958, 1432-1262. Dostupné z: doi:10.1007/s00384-009-0663-9

- CHEN T, HE J, SHEN L et al., 2011. The mitochondrial DNA 4,977-bp deletion and its implication in copy number alteration in colorectal cancer. *BMC medical genetics* [online]. **12**, 8. ISSN 1471-2350. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2350-12-8
- JIN Z a YOON HH, 2016. The promise of PD-1 inhibitors in gastro-esophageal cancers: microsatellite instability vs. PD-L1. *Journal of Gastrointestinal Oncology* [online]. **7**(5), 771–788. ISSN 20786891, 2219679X. Dostupné z: doi:10.21037/jgo.2016.08.06
- JOHNS LE a HOULSTON RS, 2001. A systematic review and meta-analysis of familial colorectal cancer risk. *The American Journal of Gastroenterology* [online]. **96**(10), 2992–3003. ISSN 0002-9270, 1572-0241. Dostupné z: doi:10.1111/j.1572-0241.2001.04677.x
- KACZMAREK A, VANDENABEELE P a KRYSKO DV, 2013. Necroptosis: The Release of Damage-Associated Molecular Patterns and Its Physiological Relevance. *Immunity* [online]. **38**(2), 209–223. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2013.02.003
- KANIAK-GOLIK A a SKONECZNA A, 2015. Mitochondria–nucleus network for genome stability. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. **82**, 73–104. ISSN 08915849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.01.013
- KARAPETIS CHS, KHAMBATA-FORD S, JONKER DJ et al., 2008. *K-ras* Mutations and Benefit from Cetuximab in Advanced Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. **359**(17), 1757–1765. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa0804385
- KOGA Y, YASUNAGA M, TAKAHASHI A et al., 2010. MicroRNA Expression Profiling of Exfoliated Colonocytes Isolated from Feces for Colorectal Cancer Screening. *Cancer Prevention Research* [online]. **3**(11), 1435–1442. ISSN 1940-6207, 1940-6215. Dostupné z: doi:10.1158/1940-6207.CAPR-10-0036
- KONCINA E, HAAN S, RAUH S et al., 2020. Prognostic and Predictive Molecular Biomarkers for Colorectal Cancer: Updates and Challenges. *Cancers* [online]. **12**(2), 319. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers12020319
- KOSS K, MAXTON D a JANKOWSKI JAZ, 2008. Faecal dimeric M2 pyruvate kinase in colorectal cancer and polyps correlates with tumour staging and surgical intervention. *Colorectal Disease* [online]. **10**(3), 244–248. ISSN 1462-8910, 1463-1318. Dostupné z: doi:10.1111/j.1463-1318.2007.01334.x
- KWONG TNY, WANG X, NAKATSU G et al., 2018. Association Between Bacteremia From Specific Microbes and Subsequent Diagnosis of Colorectal Cancer. *Gastroenterology* [online]. **155**(2), 383-390.e8. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2018.04.028
- LANGAN RC, MULLINAX JE, RAIJI MT et al., 2013. Colorectal Cancer Biomarkers and the Potential Role of Cancer Stem Cells. *Journal of Cancer* [online]. **4**(3), 241–250. ISSN 1837-9664. Dostupné z: doi:10.7150/jca.5832

- LAUBY-SECRETAN B, VILAHUR N, BIANCHINI F et al., 2018. The IARC Perspective on Colorectal Cancer Screening. *New England Journal of Medicine* [online]. **378**(18), 1734–1740. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMSr1714643
- LEE H-Ch, YIN P-H, LIN J-Ch et al., 2005. Mitochondrial Genome Instability and mtDNA Depletion in Human Cancers. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. **1042**(1), 109–122. ISSN 00778923. Dostupné z: doi:10.1196/annals.1338.011
- LEGRAS A, LIÈVRE A, BONAÏTI-PELLIÉ C et al., 2008. Mitochondrial D310 mutations in colorectal adenomas: An early but not causative genetic event during colorectal carcinogenesis. *International Journal of Cancer* [online]. **122**(10), 2242–2248. ISSN 00207136. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.23370
- LECH G, SLOTWINSKI R a KRASNODEBSKI IW, 2014. The role of tumor markers and biomarkers in colorectal cancer. *Neoplasma*. **61**(1), 1–8. ISSN 0028-2685.
- LECH G, 2016. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World Journal of Gastroenterology* [online]. **22**(5), 1745. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v22.i5.1745
- LEVINE JS a AHNEN DJ, 2006. Adenomatous Polyps of the Colon. *New England Journal of Medicine* [online]. **355**(24), 2551–2557. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMcp063038
- LI L, HANN H-W, WAN S et al., 2016. Cell-free circulating mitochondrial DNA content and risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic HBV infection. *Scientific Reports* [online]. **6**(1), 23992. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep23992
- LIÈVRE A, BACHET JB, BOIGE V et al., 2008. KRAS Mutations As an Independent Prognostic Factor in Patients With Advanced Colorectal Cancer Treated With Cetuximab. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **26**(3), 374–379. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2007.12.5906
- LICHTENSTEIN P, HOLM NV, VERKASALO PK et al., 2000. Environmental and Heritable Factors in the Causation of Cancer — Analyses of Cohorts of Twins from Sweden, Denmark, and Finland. *New England Journal of Medicine* [online]. **343**(2), 78–85. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM200007133430201
- LINK A, BALAGUER F, SHEN Y et al., 2010. Fecal MicroRNAs as Novel Biomarkers for Colon Cancer Screening. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. **19**(7), 1766–1774. ISSN 1055-9965, 1538-7755. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-10-0027
- LOCKER GY, HAMILTON S, HARRIS J et al., 2006. ASCO 2006 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Gastrointestinal Cancer. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **24**(33), 5313–5327. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2006.08.2644

LOREE JM, PEREIRA AAL, LAM M et al., 2018. Classifying Colorectal Cancer by Tumor Location Rather than Sidedness Highlights a Continuum in Mutation Profiles and Consensus Molecular Subtypes. *Clinical Cancer Research* [online]. **24**(5), 1062–1072. ISSN 1078-0432, 1557-3265. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-2484

LYNCH BM, 2010. Sedentary Behavior and Cancer: A Systematic Review of the Literature and Proposed Biological Mechanisms. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. **19**(11), 2691–2709. ISSN 1055-9965, 1538-7755. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-10-0815

LYNCH HT a DE LA CHAPELLE A, 2003. Hereditary Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. **348**(10), 919–932. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra012242

MA B, GAO P, WANG H et al., 2017. What has preoperative radio(chemo)therapy brought to localized rectal cancer patients in terms of perioperative and long-term outcomes over the past decades? A systematic review and meta-analysis based on 41,121 patients: PRT/PCRT-Perioperative and long-term outcomes over the past decades. *International Journal of Cancer* [online]. **141**(5), 1052–1065. ISSN 00207136. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.30805

MASON PA, 2003. Mismatch repair activity in mammalian mitochondria. *Nucleic Acids Research* [online]. **31**(3), 1052–1058. ISSN 13624962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkg167

MCKINNEY EA a OLIVEIRA MT, 2013. Replicating animal mitochondrial DNA. *Genetics and Molecular Biology* [online]. **36**(3), 308–315. ISSN 1415-4757. Dostupné z: doi:10.1590/S1415-47572013000300002

MIK M, BERUT M, DZIKI L et al., 2017. Right- and left-sided colon cancer – clinical and pathological differences of the disease entity in one organ. *Archives of Medical Science* [online]. **1**, 157–162. ISSN 1734-1922. Dostupné z: doi:10.5114/aoms.2016.58596

MISHRA P a CHAN DC, 2014. Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. **15**(10), 634–646. ISSN 1471-0072, 1471-0080. Dostupné z: doi:10.1038/nrm3877

MODEST DP, RICARD I, HEINEMANN V et al., 2016. Outcome according to KRAS-, NRAS- and BRAF-mutation as well as KRAS mutation variants: pooled analysis of five randomized trials in metastatic colorectal cancer by the AIO colorectal cancer study group. *Annals of Oncology* [online]. **27**(9), 1746–1753. ISSN 09237534. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdw261

MULDER SA, VAN LEERDAM ME, VAN VUUREN A et al., 2007. Tumor pyruvate kinase isoenzyme type M2 and immunochemical fecal occult blood test: performance in screening for colorectal cancer. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* [online]. **19**(10), 878–882. ISSN 0954-691X. Dostupné z: doi:10.1097/MEG.0b013e3282cfa49c

NAWA T, KATO J, KAWAMOTO H et al., 2008. Differences between right- and left-sided colon cancer in patient characteristics, cancer morphology and histology. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* [online]. **23**(3), 418–423. ISSN 0815-9319, 1440-1746. Dostupné z: doi:10.1111/j.1440-1746.2007.04923.x

ORLICH MJ, SINGH PN, SABATÉ J et al., 2015. Vegetarian Dietary Patterns and the Risk of Colorectal Cancers. *JAMA Internal Medicine* [online]. **175**(5), 767. ISSN 2168-6106. Dostupné z: doi:10.1001/jamainternmed.2015.59

PARC Y, PIQUARD A, DOZOIS RR et al., 2004. Long-term Outcome of Familial Adenomatous Polyposis Patients After Restorative Coloproctectomy. *Annals of Surgery* [online]. **239**(3), 378–382. ISSN 0003-4932. Dostupné z: doi:10.1097/01.sla.0000114216.90947.f6

PETRELLI F, GHIDINI M, CABIDDU M et al., 2019. Microsatellite Instability and Survival in Stage II Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Anticancer Research* [online]. **39**(12), 6431–6441. ISSN 0250-7005, 1791-7530. Dostupné z: doi:10.21873/anticancer.13857

POPAT S, HUBNER R a HOULSTON RS, 2005. Systematic Review of Microsatellite Instability and Colorectal Cancer Prognosis. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **23**(3), 609–618. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2005.01.086

POUNTOS I, GEORGOULI T, PNEUMATICOS S et al., 2013. Fracture non-union: Can biomarkers predict outcome? *Injury* [online]. **44**(12), 1725–1732. ISSN 00201383. Dostupné z: doi:10.1016/j.injury.2013.09.009

PUNT CJA, KOOPMAN M a VERMEULEN L, 2017. From tumour heterogeneity to advances in precision treatment of colorectal cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology* [online]. **14**(4), 235–246. ISSN 1759-4774, 1759-4782. Dostupné z: doi:10.1038/nrclinonc.2016.171

QU F, CHEN Y, WANG X et al., 2015. Leukocyte mitochondrial DNA content: a novel biomarker associated with prognosis and therapeutic outcome in colorectal cancer. *Carcinogenesis* [online]. **36**(5), 543–552. ISSN 1460-2180, 0143-3334. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/bgv042

RASKOV H, 2014. Colorectal carcinogenesis-update and perspectives. *World Journal of Gastroenterology* [online]. **20**(48), 18151. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v20.i48.18151

REX DK, BOLAND CR, DOMINITZ JA et al., 2017. Colorectal Cancer Screening: Recommendations for Physicians and Patients From the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Gastroenterology* [online]. **153**(1), 307–323. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2017.05.013

RUIZ-CASADO A, MARTÍN-RUIZ A, PERÉZ LM et al., 2017. Exercise and the Hallmarks of Cancer. *Trends in Cancer* [online]. **3**(6), 423–441. ISSN 24058033. Dostupné z: doi:10.1016/j.trecan.2017.04.007

RULLIER E, ROUANET P, TUECH J-J et al., 2017. Organ preservation for rectal cancer (GRECCAR 2): a prospective, randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet* [online]. **390**(10093), 469–479. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(17)31056-5

SANCAR A, LINDSEY-BOLTZ LA, ÜNSAL-KAÇMAZ K et al., 2004. Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA Damage Checkpoints. *Annual Review of Biochemistry* [online]. **73**(1), 39–85. ISSN 0066-4154, 1545-4509. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.biochem.73.011303.073723

SÁNCHEZ-CENIZO L, FORMENTINI L, ALDEA M et al., 2010. Up-regulation of the ATPase Inhibitory Factor 1 (IF1) of the Mitochondrial H⁺-ATP Synthase in Human Tumors Mediates the Metabolic Shift of Cancer Cells to a Warburg Phenotype. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **285**(33), 25308–25313. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M110.146480

SARGENT DJ, MARSONI S, MONGES G et al., 2010. Defective Mismatch Repair As a Predictive Marker for Lack of Efficacy of Fluorouracil-Based Adjuvant Therapy in Colon Cancer. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **28**(20), 3219–3226. ISSN 0732-183X, 1527-7755. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2009.27.1825

SARIDAKI Z, TZARDI M a SFAKIANAKI M, 2013. BRAFV600E Mutation Analysis in Patients with Metastatic Colorectal Cancer (mCRC) in Daily Clinical Practice: Correlations with Clinical Characteristics, and Its Impact on Patients' Outcome. *PLoS ONE* [online]. **8**(12), e84604. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0084604

SAVU O, SUNKARI VG, BOTUSAN IR et al., 2011. Stability of mitochondrial DNA against reactive oxygen species (ROS) generated in diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* [online]. **27**(5), 470–479. ISSN 15207552. Dostupné z: doi:10.1002/dmrr.1203

SAYBAŞILI H, YÜKSEL M, HAKLAR G et al., 2001. Effect of Mitochondrial Electron Transport Chain Inhibitors on Superoxide Radical Generation in Rat Hippocampal and Striatal Slices. *Antioxidants & Redox Signaling* [online]. **3**(6), 1099–1104. ISSN 1523-0864, 1557-7716. Dostupné z: doi:10.1089/152308601317203602

SCIACOVELLI M, GAUDE E, HILVO M et al., 2014. The Metabolic Alterations of Cancer Cells. In: *Methods in Enzymology* [online]. B.m.: Elsevier, s. 1–23 [vid. 2022-04-05]. ISBN 978-0-12-416618-9. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-416618-9.00001-7

SHI Y, WANG Y, JIANG H et al., 2021. Mitochondrial dysfunction induces radioresistance in colorectal cancer by activating [Ca²⁺]_m-PDP1-PDH-histone acetylation retrograde signaling. *Cell Death & Disease* [online]. **12**(9), 837. ISSN 2041-4889. Dostupné z: doi:10.1038/s41419-021-03984-2

SCHERÜBL H, 2021. Typ-2-Diabetes-mellitus und Krebsrisiko. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift* [online]. **146**(18), 1218–1225. ISSN 0012-0472, 1439-4413. Dostupné z: doi:10.1055/a-1529-4521

SCHEUNER MT, MCNEEL TS a FREEDMAN AN, 2010. Population prevalence of familial cancer and common hereditary cancer syndromes. The 2005 California Health Interview Survey. *Genetics in Medicine* [online]. **12**(11), 726–735. ISSN 10983600. Dostupné z: doi:10.1097/GIM.0b013e3181f30e9e

SIEBER OM, LIPTON L, CRABTREE M et al., 2003. Multiple Colorectal Adenomas, Classic Adenomatous Polyposis, and Germ-Line Mutations in *MYH*. *New England Journal of Medicine* [online]. **348**(9), 791–799. ISSN 0028-4793, 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa025283

SIEGEL RL, MILLER KD, GODING SAUER A et al., 2020. Colorectal cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* [online]. **70**(3), 145–164. ISSN 0007-9235, 1542-4863. Dostupné z: doi:10.3322/caac.21601

SIMMONS JD, LEE Y-L, MULEKAR S et al., 2013. Elevated Levels of Plasma Mitochondrial DNA DAMPs Are Linked to Clinical Outcome in Severely Injured Human Subjects. *Annals of Surgery* [online]. **258**(4), 591–598. ISSN 0003-4932. Dostupné z: doi:10.1097/SLA.0b013e3182a4ea46

SORICH MJ, WIESE MD, ROWLAND A et al., 2015. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Annals of Oncology* [online]. **26**(1), 13–21. ISSN 09237534. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdu378

STOFFEL EM a KASTRINOS F, 2014. Familial Colorectal Cancer, Beyond Lynch Syndrome. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* [online]. **12**(7), 1059–1068. ISSN 15423565. Dostupné z: doi:10.1016/j.cgh.2013.08.015

SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL et al., 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* [online]. **71**(3), 209–249. ISSN 0007-9235, 1542-4863. Dostupné z: doi:10.3322/caac.21660

SUZUKI T, NAGAO A a SUZUKI T, 2011. Human Mitochondrial tRNAs: Biogenesis, Function, Structural Aspects, and Diseases. *Annual Review of Genetics* [online]. **45**(1), 299–329. ISSN 0066-4197, 1545-2948. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-genet-110410-132531

SYNGAL S, BRAND RE, CHURCH JM et al., 2015. ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes. *American Journal of Gastroenterology* [online]. **110**(2), 223–262. ISSN 0002-9270. Dostupné z: doi:10.1038/ajg.2014.435

TADI SK, SEBASTIAN R, DAHAL S et al., 2016. Microhomology-mediated end joining is the principal mediator of double-strand break repair during mitochondrial DNA lesions. *Molecular Biology of the Cell* [online]. **27**(2), 223–235. ISSN 1059-1524, 1939-4586. Dostupné z: doi:10.1091/mbc.e15-05-0260

- TAIEB J, LE MALICOT K, SHI Q et al., 2017. Prognostic Value of *BRAF* and *KRAS* Mutations in MSI and MSS Stage III Colon Cancer. *Journal of the National Cancer Institute* [online]. **109**(5), djw272. ISSN 0027-8874, 1460-2105. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djw272
- TAYLOR FGM, QUIRKE P, HEALD RJ et al., 2011. Preoperative High-resolution Magnetic Resonance Imaging Can Identify Good Prognosis Stage I, II, and III Rectal Cancer Best Managed by Surgery Alone: A Prospective, Multicenter, European Study. *Annals of Surgery* [online]. **253**(4), 711–719. ISSN 0003-4932. Dostupné z: doi:10.1097/SLA.0b013e31820b8d52
- TAYLOR RW a TURNBULL DM, 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics* [online]. **6**(5), 389–402. ISSN 1471-0056, 1471-0064. Dostupné z: doi:10.1038/nrg1606
- THYAGARAJAN B, WANG R, BARCELO H et al., 2012. Mitochondrial Copy Number is Associated with Colorectal Cancer Risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* [online]. **21**(9), 1574–1581. ISSN 1055-9965, 1538-7755. Dostupné z: doi:10.1158/1055-9965.EPI-12-0138-T
- TSAI M-H, FANG W-H, LIN S-W et al., 2009. Mitochondrial Genomic Instability in Colorectal Cancer: No Correlation to Nuclear Microsatellite Instability and Allelic Deletion of hMSH2, hMLH1, and p53 Genes, but Prediction of Better Survival for Dukes' Stage C Disease. *Annals of Surgical Oncology* [online]. **16**(10), 2918–2925. ISSN 1068-9265, 1534-4681. Dostupné z: doi:10.1245/s10434-009-0581-7
- ULIVI P, CAPELLI L, VALGIUSTI M et al., 2012. Predictive role of multiple gene alterations in response to cetuximab in metastatic colorectal cancer: A single center study. *Journal of Translational Medicine* [online]. **10**(1), 87. ISSN 1479-5876. Dostupné z: doi:10.1186/1479-5876-10-87
- UMAR A, BOLAND CR, TERDIMAN JP et al., 2004. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* [online]. **96**(4), 261–268. ISSN 0027-8874, 1460-2105. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djh034
- VAN CUTSEM E, CERVANTES A, NORDLINGER B et al., 2014. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* [online]. **25**, iii1–iii9. ISSN 09237534. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdu260
- VAN CUTSEM E, NORDLINGER B a CERVANTES A, 2010. Advanced colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment. *Annals of Oncology* [online]. **21**, v93–v97. ISSN 09237534. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdq222
- VAN DER GIEZEN M a TOVAR J, 2005. Degenerate mitochondria. *EMBO reports* [online]. **6**(6), 525–530. ISSN 1469-221X, 1469-3178. Dostupné z: doi:10.1038/sj.embor.7400440

- VAN OSCH FHM, VOETS AM, SCHOUTEN LJ et al., 2015. Mitochondrial DNA copy number in colorectal cancer: between tissue comparisons, clinicopathological characteristics and survival. *Carcinogenesis* [online]. bgv151. ISSN 0143-3334, 1460-2180. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/bgv151
- VASEN HFA, BLANCO I, AKTAN-COLLAN K et al., 2013. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts. *Gut* [online]. **62**(6), 812–823. ISSN 0017-5749, 1468-3288. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2012-304356
- VENDERBOSCH S, VAN VLIET S, CRAENMEHR MHC et al., 2015. Mitochondrial microsatellite instability in patients with metastatic colorectal cancer. *Virchows Archiv* [online]. **466**(5), 495–502. ISSN 0945-6317, 1432-2307. Dostupné z: doi:10.1007/s00428-015-1733-8
- VENESIO T, MOLATORE S, CATTANEO F et al., 2004. High frequency of MYH gene mutations in a subset of patients with familial adenomatous polyposis☆. *Gastroenterology* [online]. **126**(7), 1681–1685. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2004.02.022
- VENOOK AP, 2005. Critical Evaluation of Current Treatments in Metastatic Colorectal Cancer. *The Oncologist* [online]. **10**(4), 250–261. ISSN 1083-7159, 1549-490X. Dostupné z: doi:10.1634/theoncologist.10-4-250
- VENOOK AP, 2017. Right-sided vs left-sided colorectal cancer. *Clinical Advances in Hematology & Oncology: H&O*. **15**(1), 22–24. ISSN 1543-0790.
- WALLACE LS, MEHRABI S, BACANAMWO M et al., 2016. Expression of mitochondrial genes MT-ND1, MT-ND6, MT-CYB, MT-COI, MT-ATP6, and 12S/MT-RNR1 in colorectal adenopolyps. *Tumor Biology* [online]. **37**(9), 12465–12475. ISSN 1010-4283, 1423-0380. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-016-5101-3
- WALTER V, JANSEN L, HOFFMEISTER M et al., 2015. Smoking and survival of colorectal cancer patients: Population-based study from Germany: Smoking and colorectal cancer prognosis. *International Journal of Cancer* [online]. **137**(6), 1433–1445. ISSN 00207136. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.29511
- WANG Y, LIU VWS, XUE WC et al., 2006. Association of decreased mitochondrial DNA content with ovarian cancer progression. *British Journal of Cancer* [online]. **95**(8), 1087–1091. ISSN 0007-0920, 1532-1827. Dostupné z: doi:10.1038/sj.bjc.6603377
- WELLSTEIN A, GIACCONE G a ATKINS MB, 2017. Cytotoxic Drugs. In: et al., ed. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13e* [online]. New York, NY: McGraw-Hill Education [vid. 2022-04-04]. Dostupné z: accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1162546947
- WEN S, GAO J, ZHANG L et al., 2016. p53 increase mitochondrial copy number via up-regulation of mitochondrial transcription factor A in colorectal cancer. *Oncotarget* [online]. **7**(46), 75981–75995. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.12514

WU Ch-W, YIN P-H, HUNG W-Y et al., 2005. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in gastric cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer* [online]. **44**(1), 19–28. ISSN 1045-2257, 1098-2264. Dostupné z: doi:10.1002/gcc.20213

YU M, 2011. Generation, function and diagnostic value of mitochondrial DNA copy number alterations in human cancers. *Life Sciences* [online]. **89**(3–4), 65–71. ISSN 00243205. Dostupné z: doi:10.1016/j.lfs.2011.05.010

YUSOFF AAM, AHMAD F, IDRIS Z et al., 2015. Understanding Mitochondrial DNA in Brain Tumorigenesis. In: Terry LICHTOR, ed. *Molecular Considerations and Evolving Surgical Management Issues in the Treatment of Patients with a Brain Tumor* [online]. B.m.: InTech [vid. 2022-04-20]. ISBN 978-953-51-2031-5. Dostupné z: doi:10.5772/58965

ZARKAVELIS G, 2017. Current and future biomarkers in colorectal cancer. *Annals of Gastroenterology* [online]. [vid. 2022-04-30]. ISSN 17927463. Dostupné z: doi:10.20524/aog.2017.0191

ZHANG Q, ITAGAKI K a HAUSER CJ, 2010. Mitochondrial DNA is released by shock and activates neutrophils via P38 MAP kinase. *Shock* [online]. **34**(1), 55–59. ISSN 1073-2322. Dostupné z: doi:10.1097/SHK.0b013e3181cd8c08

ZHANG Y, MARCILLAT O, GIULIVI C et al., 1990. The oxidative inactivation of mitochondrial electron transport chain components and ATPase. *The Journal of Biological Chemistry*. **265**(27), 16330–16336. ISSN 0021-9258.

INTERNOVÉ ZDROJE

<https://www.moh.gov.sa/en/awarenessplatform/ChronicDisease/Pages/ColorectalCancer.aspx>

<https://seer.cancer.gov/data-software/documentation/seerstat/nov2018/>