

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

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



**Kateřina Kalkuřov**

Diagnostick a prognostick význam miR-122 a miR-142 u kolorektálního karcinomu  
Diagnostic and prognostic impact of miR-122 and miR-142 in colorectal cancer

Bakalřsk práce

řkolitel: Mgr. Klára řerven

Praha, 2020



**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, 1. 6. 2020

.....

Kateřina Kalkušová

**Poděkování:**

Touto cestou bych ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce Mgr. Kláře Červené za odborné vedení, čas, ochotu a cenné rady a připomínky, které mi věnovala při zpracovávání této práce. Za mnohé cenné rady také děkuji Ing. Veronice Vymetálkové, Ph.D. jako konzultantce.

## Abstrakt

Kolorektální karcinom neboli rakovina tlustého střeva a konečníku patří mezi nejčtenější nádorová onemocnění a je jednou z nejčastějších příčin úmrtí spojených s nádory. Často je diagnostikován až v pokročilém stádiu, které je spojeno s horší prognózou. Z tohoto důvodu se usiluje o nalezení nových biomarkerů, které by umožnily časnější diagnostiku nádoru. Tyto biomarkery by mohly pomoci také s předpovědí prognózy onemocnění a odpovědi pacientů na vybranou léčbu. Jako slibní kandidáti se jeví krátké nekódující RNA, tzv. mikroRNA, které se podílejí na mnoha buněčných procesech prostřednictvím procesu RNA interference. Cílem této práce je shrnutí poznatků o možnosti využití miR-122 a miR-142 jako diagnostických a prognostických biomarkerů kolorektálního karcinomu.

**Klíčová slova:** mikroRNA, biomarkery, kolorektální karcinom, diagnostika, prognóza

## Abstract

Colorectal carcinoma is one of the most frequent cancers and it is also one of the most common causes of cancer related death. It is often diagnosed at a late stage which is associated with a worse prognosis. Therefore, there is an effort to identify new biomarkers that allow earlier diagnosis. These biomarkers could predict prognosis of disease and patient's response to treatment. Short noncoding RNAs – microRNA - appears to be promising candidates, these molecules are involved in many cellular processes through RNA interference. The aim of this thesis is to summarize knowledge about application of miR-122 and miR-142 as diagnostic and prognostic biomarkers for colorectal cancer.

**Keywords:** microRNA, biomarkers, colorectal cancer, diagnostics, prognosis

## Seznam zkratek

5-FU	5-fluorouracil
ALDOA	aldoláza A
Anti-EGFR	protilátka epidermálního růstového faktoru
ASR (W)	Age Standardized Rate
CEA	karcinoembryonální antigen
CIMP	hypermethylace v CpG ostrůvcích promotorů genů
CIN	chromozomální nestabilita
CLL	chronická leukocytární leukémie
FAP	familiární adenomatózní polypóza
FIT	fekální imunochemický test
FOBT	fekální krevní test
KRA	kolorektální adenom
KRK	kolorektální karcinom
miRNA	mikroRNA
mKRK	metastatický kolorektální karcinom
MMR	mismatch opravy DNA
mRNA	messenger RNA
MSI	mikrosatelitová nestabilita
NO	oxid dusnatý
PKM2	pyruvát kináza
RISC	RNA-included Silencing Complex
SDHB	sukcinát dehydrogenáza B
VEGF	vaskulární endotelový růstový faktor

# Obsah

1 Úvod.....	1
2 Kolorektální karcinom.....	2
2.1 Charakteristika a etiologie kolorektálního karcinomu .....	2
2.2 Epidemiologie kolorektálního karcinomu .....	2
2.3 Formy kolorektálního karcinomu.....	4
2.4 Změny vedoucí ke kolorektálnímu karcinomu.....	4
2.5 Rizika a prevence .....	6
2.6 Skrínink a terapie .....	6
3 Biomarkery.....	9
3.1 Charakteristika a rozdělení biomarkerů .....	9
3.2 Biomarkery kolorektálního karcinomu .....	9
4 MikroRNA .....	11
4.1 Charakteristika mikroRNA .....	11
4.2 Historie mikroRNA .....	11
4.3 Biogeneze a funkce mikroRNA .....	11
4.4 MikroRNA a nádorová onemocnění .....	12
5 MiR-122 a miR-142 .....	14
5.1 MiR-122 .....	14
5.2 MiR-142 .....	17
5.2.1 MiR-142-3p.....	17
5.2.2 MiR-142-5p.....	20
6 Závěr.....	22
7 Seznam literatury.....	23



# 1 Úvod

Rakovina tlustého střeva a konečníku je jedním z nejčastějších nádorových onemocnění vyskytujícím se hlavně ve vyspělých státech, včetně České republiky. Toto onemocnění způsobuje každoročně mnoho úmrtí. Rozvoj karcinomu je několikastupňový dlouhotrvající proces, v jehož průběhu dochází k hromadění genetických poškození u původně normálních buněk. Mimo genetické faktory je jeho rozvoj spjat i s životním stylem. Nádory tlustého střeva a konečníku bývají ve svých raných stádiích často bez příznaků, ty se dostávají až u vyšších stádií karcinomů, kdy je šance na přežití již výrazně nižší. Přestože byl zaznamenán obrovský pokrok v léčbě nádorových onemocnění, včetně kolorektálního karcinomu, velká část pacientů na danou léčbu stále nereaguje.

Z těchto důvodů se v dnešní době usiluje o objevení nové účinné a nejlépe neinvazivní formy skríninku – biomarkerů, které by byly schopny odhalit nádorová onemocnění včas a tím zvýšit šanci na přežití. Zároveň je potřeba nalézt i takové biomarkery, které by mohly pomoci s monitorováním onemocnění, byly by schopné předpovídat odpověď pacientů na léčbu a případně pomoci s výběrem vhodného typu. Přestože několik málo takových bylo již zavedeno do klinické praxe, incidence i úmrtnost onemocnění je stále vysoká, a tak snaha o objevení nových biomarkerů trvá.

Slibným biomarkerem ať už diagnostickým, prognostickým či prediktivním by se mohla stát analýza malých molekul nazývaných mikroRNA. MikroRNA jsou krátké nekódující RNA podílející se na regulaci genové exprese. Díky tomu jsou schopny ovlivňovat celou řadu biologických procesů jako je právě karcinogeneze, kterou mikroRNA regulují na všech jejích úrovních cílením na tumor supresorové geny nebo protoonkogeny. Výhodou využívání mikroRNA jako biomarkerů je možnost neinvazivního testování díky jejich snadnému získání z tělních tekutin. Tato bakalářská práce je zaměřena na miR-122 a miR-142, jejich charakteristiku a význam pro diagnostiku a prognostiku nádorů tlustého střeva a konečníku.

## 2 Kolorektální karcinom

### 2.1 Charakteristika a etiologie kolorektálního karcinomu

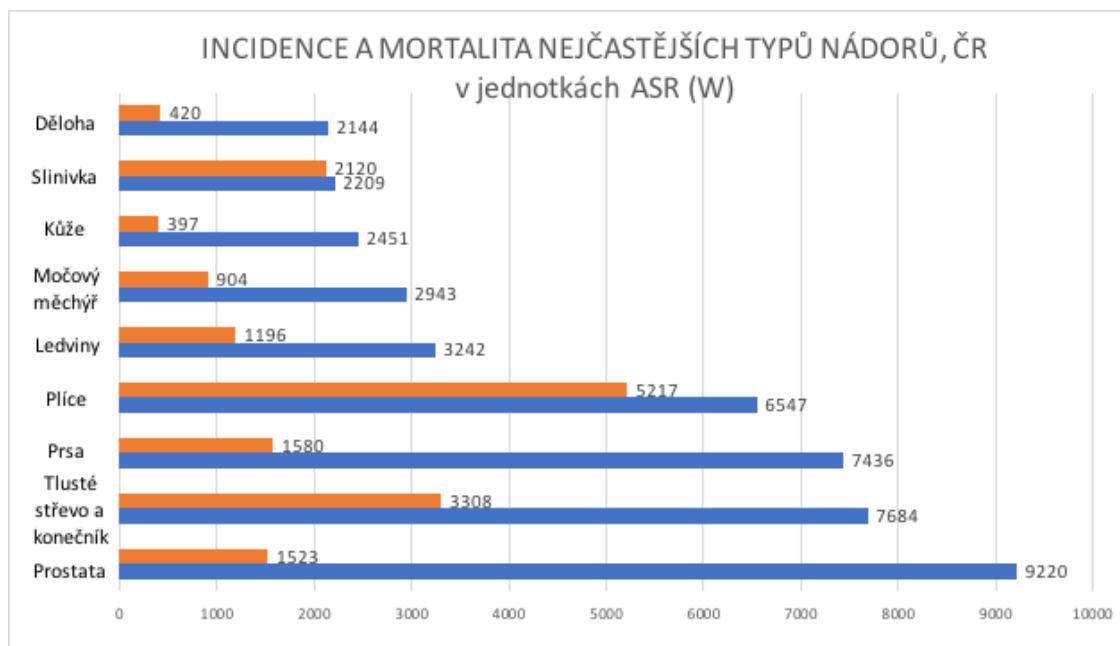
Rakovina tlustého střeva a konečníku neboli kolorektální karcinom (KRK) je nejčastějším nádorovým onemocněním trávicího traktu (Siegel, Miller and Jemal, 2020). Toto civilizační onemocnění postihuje tlusté střevo a konečník a dle umístění nádoru je evidováno pod diagnózami C18 – zhoubný nádor tlustého střeva, C19 – zhoubný nádor rektosigmoideálního spojení a C20 – zhoubný nádor konečníku (ÚZIS, 2020).

### 2.2 Epidemiologie kolorektálního karcinomu

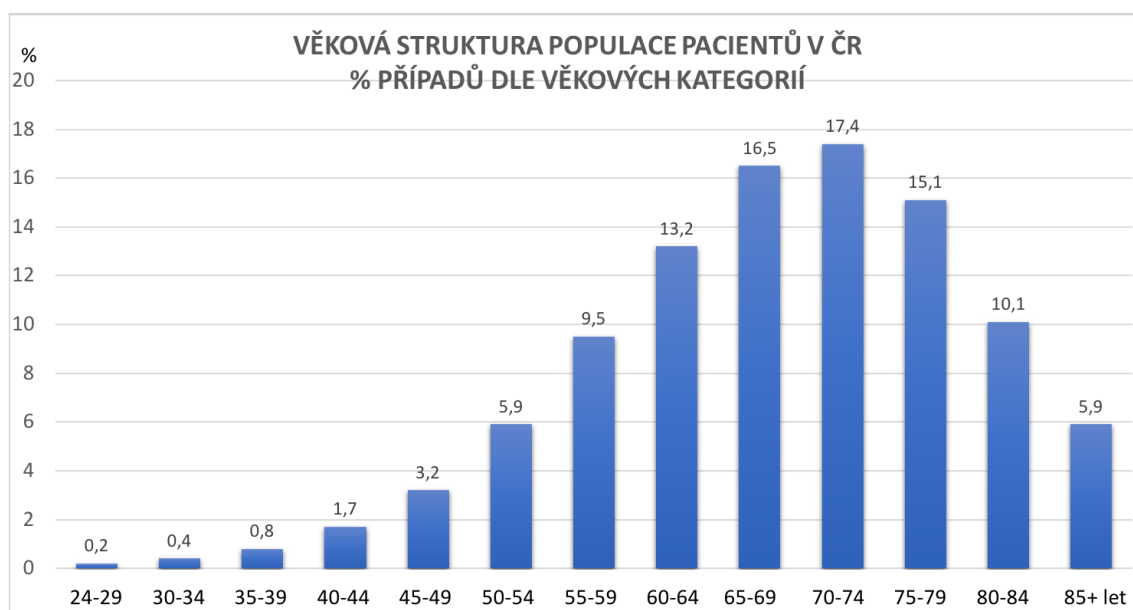
Kolorektální karcinom patří k nejčastějším onkologickým diagnózám, jeho incidence se každoročně zvyšuje a souvisí jak s věkem, tak s životním stylem (Mármol et al., 2017).

KRK se hned po rakovině plic a prsu řadí celosvětově na třetí místo v incidenci a je také druhým nádorovým onemocněním s nejvyšší mortalitou (Rawla, Sunkara and Barsouk, 2019). Podle statistik se počet nových případů za rok 2018 celosvětově přiblížil k 1 850 000 a počet úmrtí přesahoval více než 880 000 lidí. Četnost výskytu kolorektálního karcinomu je odlišná v různých oblastech světa. Incidence tohoto onemocnění je zhruba třikrát až čtyřikrát vyšší ve vyspělých státech oproti zemím Afriky nebo oblastem jižní Asie (Siegel, Miller and Jemal, 2020). Konkrétně je incidence KRK nejvyšší v zemích západní a střední Evropy, Austrálii, Japonsku a Koreji. Jednu z předních pozic v celosvětovém srovnání zaujímá i Česká republika (Globocan, 2018).

V České republice je KRK druhým nejčastějším nádorem, ročně přibývá přes 7 800 případů a zemře více než 3 300 pacientů, čímž se KRK stává také druhou nejčastější příčinou úmrtí spojeného s nádorovými onemocněními u nás (**graf č. 1**) (Globocan, 2018). Riziko vzniku KRK stoupá s rostoucím věkem, nejčastěji se jedná o pacienty ve věku okolo 65 let, jak popisuje **graf č. 2**.



*Graf č. 1: Incidence a mortalita nejčastějších typů nádorů v České republice, Globocan, 2018*  
*ASR (W) = Age standardized rate – vyjadřuje počet případů na 100 000 obyvatel, kdyby zkoumaná populace měla stejnou věkovou strukturu jako populace světového standardu*



*Graf č. 2 Věková struktura populace pacientů v České republice, procenta případů KRK dle věkových kategorií, Svod, 2019*

## 2.3 Formy kolorektálního karcinomu

Podle původu mutace bývá kolorektální karcinom rozdělen na tři typy: sporadický, hereditární a familiární (Calvert and Frucht, 2002). V 75 % případů se jedná o sporadickou formu. Ta bývá způsobena hromaděním získaných mutací, které postupně vedou k formování benigního adenomu, dále ke vzniku karcinomu a později může dojít i k tvorbě metastáz (De Palma, 2019). Tvorba KRK je tedy mnohastupňový proces a jednotlivé cesty vzniku nádoru budou popsány v další podkapitole.

U hereditárních a familiárních forem KRK lze pozorovat vysoký vliv dědičnosti (Macaron, Leach and Burke, 2014). Tyto formy jsou spojené s řadou genetických onemocnění. Řadí se sem familiární adenomatózní polypóza tračníku (FAP), která je charakterizována nálezem více než sta adenomů u mladého pacienta zhruba okolo dvacátého roku života. Dále Lynchův syndrom, ten je spojen s defekty opravy DNA, ale i další vzácné stavy jako např. Gardnerův syndrom (Schneiderová and Bencko, 2016). Dnes lze pomocí genetického testování odhalit tyto známé syndromy a u pacientů jimi trpícími předpovídat zvýšené riziko rozvoje kolorektálního karcinomu (Xue et al., 2008).

## 2.4 Změny vedoucí ke kolorektálnímu karcinomu

Kolorektální karcinom vzniká postupnou kumulací histologických, morfologických, genetických a epigenetických změn. Onemocnění začíná tvorbou benigních adenomatózních polypů, které se přes formu pokročilého adenomu s vysokou dysplazií transformují až do invazivní formy karcinomu (Fearon and Vogelstein, 1990). Karcinom často roste pomalu a symptomy nejsou znatelné až do doby, kdy nádor dosahuje velikosti několika centimetrů, což může vést k problémům s vylučováním, následným křečím, bolesti nebo krvácení (Simon, 2016). Obecně byly popsány tři nejvýznamnější molekulární dráhy vzniku KRK, jejichž schéma zobrazuje **obrázek č. 1** (De Palma et al., 2019).

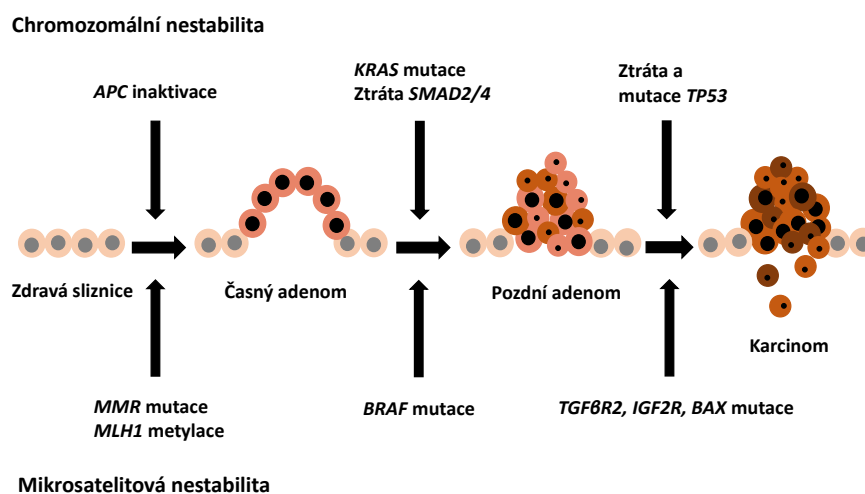
Nejčastější dráhou vzniku sporadického KRK je charakterizována hromaděním strukturních změn chromozomů (Grady and Carethers, 2008). Jedná se o tzv. cestu chromozomální nestability (CIN). Za vznik nádoru je v tomto případě zodpovědná genetická změna v protoonkogenech (např. v genu *KRAS*) a inaktivace několika tumor supresorových genů, nejčastěji se jedná o geny *APC* a *TP53* (Armaghany et al., 2012).

Další cesta k rozvoji sporadického KRK je označována jako cesta mikrosatelitní nestability (MSI). Mikrosatelity jsou DNA elementy složené z krátkých repetitiv (Hause et al.,

2016). V těchto místech dochází nejčastěji k chybnému párování DNA. Pokud toto chybné párování není dostatečně opraveno (např. z důvodu mutace jednoho z genů spojených s opravami), dochází ke změnám počtu repetitivních sekvencí v mikrosatelitech a vzniká MSI (De la Chapelle and Hampel, 2010). U KKRK nejčastěji dochází k poruchám tzv. mismatch repair genů (MMR) - např. gen *MLH1*. Jejich poškození je detekováno zhruba ve 20 % sporadických případů, ale jsou spojovány i s hereditárními formami KKRK, zejména s Lynchovým syndromem (Xue et al., 2018).

Třetí možná cesta tzv. metylátorového fenotypu (CIMP = CpG island methylated phenotype) je spojována s epigenetickou modifikací – metylací. V tzv. CpG ostrůvcích (oblasti bohaté na cytosin a guanin) dochází ke značným metylacím, díky nimž dochází k umlčování stovek genů, včetně těch tumor supresorových, což může vést k následné karcinogenezi (Issa, 2004; Yamagishi et al., 2016).

Kromě metylací, může být genová exprese, a tedy i vznik nádoru, epigeneticky ovlivněna tzv. nekódujícími RNA (ncRNA), které prokazatelně hrají roli v různých biologických procesech a mohou být zapojeny do mnoha patologických procesů jako je například karcinogeneze (Lu et al., 2010; Weber et al., 2010). Tyto ncRNA lze rozdělit na krátké a dlouhé. Jako dlouhé ncRNA jsou označovány takové ribonukleové kyseliny, které přesahují délku 200 nukleotidů a jejichž sekvence není dostačující pro kódování proteinu, často na svém konci nesou polyA konec a mohou být sestříženy podobným způsobem jako messenger RNA (mRNA). Mezi krátké ncRNA řadíme hlavně malé interferující RNA, snoRNA, piwi RNA a mikroRNA (Hombach and Kretz, 2016). Právě tyto mikroRNA jsou náplní dalších částí této práce a budou dále podrobněji popsány.



Obrázek č.1 Schéma změn vedoucích ke vzniku KKRK (De Palma et al., 2019), vlastní zpracování

## 2.5 Rizika a prevence

Pravděpodobnost, že člověk onemocní KRK se pohybuje okolo 4-5 % a je závislá na mnoha faktorech, ať už ovlivnitelných nebo neovlivnitelných, mezi které se řadí např. věk, chronická onemocnění nebo výskyt tohoto onemocnění v rodině (Mármol et al., 2017).

Věk je hlavním faktorem zvyšující riziko rozvoje KRK, k velkému nárůstu případů dochází po padesátém roce života. Přibližně 90 % případů je monitorováno u lidí starších 50 let a 94 % celkového počtu úmrtí spojených s KRK je zaznamenáno právě u starších pacientů (Simon, 2016).

Některé přítomné nebo dříve prodělané nemoci také zvyšují šanci na rozvoj KRK. Mezi ně se řadí skupina onemocnění zvaná „inflammatory bowel disease“ (IBD), ke kterým patří například Crohnova choroba nebo ulcerózní kolitida. Při IBD dochází k abnormálnímu růstu buněk – dysplazii, tyto buňky sice zatím nejsou nádorové, ale riziko transformace v maligní buňky je vyšší (Mármol et al., 2017). U pacientů s IBD je 10 až 15 % úmrtí způsobeno KRK (Keller et al., 2019). Pravděpodobnost rozvoje KRK zvyšují i nemoci spojené se západním životním stylem, mezi které patří diabetes, ischemická choroba srdeční, vysoký krevní tlak a další (Alsheridah and Akhtar, 2018).

Vzniku KRK lze, alespoň částečně, předcházet správnou stravou a dostatečnou pohybovou aktivitou, a naopak nezdravý životní styl může riziko vzniku zvyšovat (Mármol et al., 2017). Rizikovým faktorem může být například nadměrná konzumace červeného masa a nedostatek příjmu ovoce a zeleniny. Naopak jako ochranný faktor může působit vyšší příjem vlákniny, listové zeleniny a vápníku (Simon, 2016).

Vztah mezi sedavým životním stylem a KRK není zatím dostatečně definován, ale fyzická aktivita vede k lepšímu zažívání, dlouhodobě zlepšuje efektivitu metabolismu a snižuje krevní tlak (Robertson, 2012).

## 2.6 Skrínink a terapie

### 2.6.1 Skrínink

Morbidity a mortalita KRK může být snížena skríninkem, a tak včasnou detekcí a vhodnou léčbou (Bedine, 1999; Issa and Nouredine, 2017). Jako skrínink se rozumí plošné vyšetřování populace za účelem detekce léčitelného nádorového onemocnění v jeho časných stádiích, kdy je zatím pacient bez příznaků a potíží. Skrínink u KRK je dnes založen na, nejlépe

pravidelných, testech okultního krvácení do stolice a dále se provádí kolonoskopická vyšetření, která umožňují odebrat i část tkáně (Jech and Hoch, 2004; Diviš et al., 2016).

Metody založené na testování vzorků stolice mají dobré využití při odhalení časného stádia rakoviny nebo pokročilých adenomů a zároveň se jedná o neinvazivní formu testování. Fekální krevní test (FOBT) je založený na detekci pseudoperoxidázové aktivity hemu ve vzorku stolice. Tento test však není zcela druhově specifický, a tak je potřeba před tímto testováním dodržovat třídní dietu. Lidé by měli vynechat některé potraviny a léky, aby nedocházelo k ovlivnění testu jinými zdroji hemoglobinu, a tak k falešně pozitivnímu výsledku. Fekální imunochemický test (FIT) je založený na míře hemoglobinu ve stolici a dají se jím odhalit jak adenomy, tak nádory, které jsou náchylné ke krvácení (Xue et al., 2018). Oproti FOBT má výhodu v použití specifické protilátky proti lidskému globinu (Gonzalez-Pons and Cruz-Correa, 2015).

Široce užívanou metodou testování je kolonoskopie, kromě vysoké senzitivity odhalení nádoru i jemu předcházejícím stádiím, má výhodou terapeutického využití. Během kolonoskopie je možné odhalení nádorů v počátečních stádiích, dokonce i odstranění prekancerózních lézí – polypů. Tato metoda sice patří mezi invazivní, ale zároveň poskytuje vysokou senzitivitu (Moore and Aulet, 2017).

## 2.6.2 Terapie

Způsob léčby KRK je závislý na stádiu a lokaci onemocnění. Základním postupem léčby je chirurgické odstranění nádoru, které je popřípadě (dle stádia) následováno chemoterapií nebo radioterapií (Markowitz and Bentagnolli, 2009). Léčbu KRK rozlišujeme na neoadjuvantní, adjuvantní a paliativní. Pro zmenšení nádoru před chirurgickým zákrokem je využívána neoadjuvantní léčba, která je velmi častá u rektálního karcinomu (neoadjuvantní chemoradioterapie) (Glynne-Jones and Hall, 2015; Grass and Mathis, 2018). Cílem adjuvantní léčby je zničení zbývajících nádorových buněk, které nebyly odstraněny chirurgickým zákrokem a snížit tak riziko recidivy onemocnění (Demols and Van Laethem, 2002). Při pokročilých karcinomech zejména ve čtvrtém stádiu je zařazována také paliativní léčba. Tato léčba prodlužuje délku pacientova života a zároveň zvyšuje jeho kvalitu (Osagiede et al., 2019).

Radioterapie je založena na radiaci, která působí zejména ionizujícími molekulami a jejím působením je mimo jiné poškozena DNA. Důležitý je vznik dvouřetězcových zlomů, které způsobují buněčnou smrt (Minniti, Goldsmith and Brada, 2012).

Při léčbě KRK se dále využívá chemoterapie, kdy se do těla vpravují cytostatika, jejichž funkce spočívá v inhibici proliferace rychle se dělících buněk. Nejčastěji se používá cytotoxický 5-fluorouracil (5-FU), který se v buňce mění na aktivní metabolity a ty následně narušují syntézu DNA při replikaci (Nicum, Midgley and Kerr, 2000; Vodenkova et al., 2019). 5-FU může být podáván i v kombinaci s dalšími látkami jako leukovorin nebo irinotekan, které mohou efekt 5-FU ještě zvýšit, dalším používaným léčivem je oxaliplatina (Kindler and Shulman, 2001; McQuade et al., 2017). Výrazné zvýšení účinnosti terapie založené na 5-FU u pacientů s metastatickým KRK bylo také zaznamenáno při přidání léčiva bevacizumabu, které cílí na vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF) a tím zamezuje tvorbě nových cév – angiogenezi (Hurwitz et al., 2004; Wright Beaty and Ternent, 2017).

U pacientů s metastatickým KRK (stádium IV) je účinná terapie pomocí monoklonálních anti-EGFR protilátek (proti receptoru epidermálního růstového faktoru), tzv. biologická léčba, jako je například cetuximab (Wright, Beaty and Ternent, 2017). EGFR je schopný indukovat buněčnou diferenciaci, proliferaci a růst buněk (Voldborg et al., 1997). Jedná se o léčbu, kdy pomocí těchto protilátek dochází k zablokování zmiňovaného receptoru, a to pak vede k přerušení růstového signálu pro nádorovou buňku. Bohužel pacienti nesoucí častou mutaci v genu *KRAS* jsou vůči této terapii rezistentní (Bhalla, Zulfiqar and Bluth, 2018).



## 3 Biomarkery

### 3.1 Charakteristika a rozdělení biomarkerů

Včasné odhalení onemocnění kolorektálního karcinomu výrazně zvyšuje šance na úspěšnost následné léčby, a proto je snaha najít markery, které by byly schopny detekovat nádor nebo prekancerózní lézi včas. Molekulární biomarker je definován jako molekula, kterou lze označit za měřitelný indikátor, nacházející se v tkáních nebo v tělních tekutinách (krev, moč, ale třeba i mozkomíšní mok) a pomocí kterého lze identifikovat konkrétní patologický nebo fyziologický stav (Das, Kalita and Pal, 2017; Normanno et al., 2018). Ideální biomarker by měl být charakterizován následujícími vlastnostmi: vysokou specifitou a senzitivitou, cenovou dostupností a snadnou měřitelností (Gonzales-Pons and Cruz-Correa, 2015).

Biomarkery lze rozdělit podle informace, kterou nám poskytnou, na následující tři typy: diagnostické, prognostické a prediktivní. Diagnostický biomarker je ten, který pomáhá časně detekovat, popřípadě diagnostikovat onemocnění. Biomarkery mohou být využívány také pro posouzení budoucího onemocnění karcinomem nebo jeho agresivity, v tomto případě se jedná o biomarkery prognostické (Gonzalez-Pons and Cruz-Correa, 2015). Třetím typem biomarkeru je prediktivní biomarker, který je schopný předpovědět citlivost nebo rezistenci pacienta na zvažovanou léčbu, a ulehčuje lékaři rozhodnutí o personalizované léčbě (Gonzalez-Pons and Cruz-Correa, 2015; Cuyle and Prenen, 2017).

### 3.2 Biomarkery kolorektálního karcinomu

V běžné praxi se mezi používané biomarkery u KRK řadí mutační profil genu *KRAS*, karcinoembryonální antigen (*CEA*), určení MSI statusu nebo například *BRAF* mutace.

Mutace v genu *KRAS* může sloužit jako prognostický, ale také i jako prediktivní biomarker. Většina (90 %) mutací v genu *KRAS* se nachází na jeho druhém exonu, a to hlavně na kodónech 12 a 13 a vyskytují se zhruba ve 35 až 45 % případů KRK (Therkildsen et al., 2014; Steele, Whittle and Smith, 2019). Protoonkogen *KRAS* kóduje G protein stejného názvu, ten sehraává důležitou roli v signální dráze Ras/MAPK, která je aktivována právě prostřednictvím EGFR receptoru. Pokud ale dojde k mutaci v genu *KRAS*, dochází ke konstituční expresi a aktivitě RAS tyrosinkinázy nezávislé na aktivaci EGFR, která zapříčiňuje stálou buněčnou proliferaci (Lievre et al., 2006). Pokud má pacient tuto mutaci, není u něj biologická léčba účinná. Přítomnost mutace v genu *KRAS* má tedy prediktivní hodnotu, zdali

daný pacient bude nebo nebude profitovat z biologické léčby (Lievre et al., 2006; Cuyle and Prenen, 2017). Podobně jako *KRAS*, aktivuje Ras/MAP kinázové dráhy také mutovaný *BRAF*, který plní jako biomarker prognostickou funkci (Wright, Beaty and Ternent, 2017)

CEA je jedním ze starších biomarkerů, byl objeven v adenokarcinomu epitelu zažívacího systému již v roce 1969 (Thomson et al., 1969). U zdravého dospělého člověka je jeho hladina velmi nízká, proto jeho zvýšená koncentrace je přímo asociována s pozitivním výsledkem testu (Wright, Beaty and Ternent, 2017). Šance na indikaci KRK pomocí CEA v séru se zvyšuje s rozvinutím nemoci, naopak v časném stádiu je senzitivita této metody nízká (Fakih and Padmanabhan, 2006).

V současné době je testována řada nových molekulárních biomarkerů asociovaných s KRK, ať už se jedná o markery genetické, epigenetické nebo proteinové (Lech, 2016). Vzhledem k časté pozdní diagnostice nádorů kolorekta by objevení nových biomarkerů mohlo vést k výraznému snížení mortality tohoto onemocnění.

## 4 MikroRNA

### 4.1 Charakteristika mikroRNA

MikroRNA (miRNA) jsou malé, okolo 22 nukleotidů dlouhé, nekódující RNA, jejichž funkcí je posttranskripční regulace genové exprese a v buňce patří mezi nejhojnější regulační molekuly (Friedman et al., 2009; Lu and Rothenberg, 2018). Regulace pomocí miRNA je důležitá v mnoha biologických procesech, např. při diferenciaci, proliferaci, apoptóze, buněčném růstu, migraci i přežívání buňky a probíhá díky interakci s messenger RNA (Shirafkan et al., 2018). Ukázalo se, že miRNA a jejich hladiny jsou asociovány s různými patologickými stavy včetně rakoviny a mohou sloužit jako jejich biomarkery (Weber et al., 2010). Celkově mají miRNA regulační vliv zhruba na třetinu až polovinu našich genů (Wu et al., 2006; Friedman et al., 2009).

### 4.2 Historie mikroRNA

Ačkoliv se miRNA dočkaly většího zájmu až po roce 2000, první zmínka o jejich existenci se objevila již v roce 1993, kdy byly studovány geny zapojené do vývoje *Caenorhabditis elegans*. Jedním z těchto genů byl *lin-4*. Autoři zjistili, že tento gen nekóduje přímo protein, ale produkuje dva malé transkripty (o délce 22 a 61 nukleotidů) obsahující sekvence komplementární k repetitivním na 3'UTR (3' untranslated region) mRNA *lin-14*. Zjistilo se, že tyto malé transkripty pomocí interakce RNA-RNA inhibují translaci *lin-14* (Lee, Freinbaum and Ambros, 1993).

O sedm let později byla objevena další miRNA – *let-7*. Ukázalo se, že tato miRNA reguluje mRNA *lin-41*. Spolu s *lin-29* má *lin-41* funkci v regulaci vývojových stádií u *Caenorhabditis elegans*. *Lin-41* funguje jako vývojový přepínač, potlačuje funkci *lin-29*, a tím nedochází k diferenciaci L4 stádia do dospělého. Když je však hladina *lin-41* snížena v důsledku interakce s *let-7*, zvýší se hladina *lin-29* a larva se mění v dospělého jedince (Slack et al., 2000).

Dnes je již známý vysoký počet miRNA účastnících se regulace řady podstatných biologických procesů a funkce různých miRNA jsou dále zkoumány.

### 4.3 Biogeneze a funkce mikroRNA

Biogeneze miRNA je proces o mnoha krocích zahrnující několik enzymatických štěpných procesů a proteinových kofaktorů (Roberts, 2015).

Geny pro miRNA jsou přepisovány RNA polymerázou II do dlouhých primárních transkriptů označovaných jako pri-miRNA, které jsou následně sestříhány ribonukleázou Drosha a jejím kofaktorem DGCR8 (též označovaný jako Pasha) na krátké vlásenkové struktury o délce 60–70 nukleotidů (Lee et al., 2002; Lee et al., 2003; Chen, Li and Bartel, 2004). Drosha a Pasha společně tvoří tzv. microprocessor komplex (Denli et al., 2004). Tyto struktury tvoří prekurzory miRNA a nazývají se pre-miRNA (Lee et al., 2003). Tento děj doposud probíhá v jádře. Pro další zpracování je však potřeba pre-miRNA přepravit do cytoplazmy, kde probíhá její zpracování do formy finálního produktu (Lee et al., 2002). Transport zajišťuje GTP-dependentní protein, Exportin 5, též označovaný jako XPO5. Součástí transportního komplexu je také malý protein Ran s GTPázovou aktivitou (Yi et al., 2003). V cytoplazmě je pre-miRNA dále zpracovávána pomocí enzymu Dicer, ten štěpí vlásenky pre-miRNA, do formy maturovaných dvouřetězcových miRNA (Hammond, 2001; Li and Rana, 2012). Na miRNA se v cytoplazmě naváží proteiny, se kterými společně vytváří tzv. RISC (RNA-induced silencing complex) komplex. Mezi tyto proteiny patří také Argonaut, který rozplétá doteď dvouřetězcovou miRNA a zároveň zůstává na jednom z jejích vláken, zatímco druhé vlákno je degradováno (Hammond, 2001). Maturovaná miRNA v komplexu s RISC se již páruje s komplementární mRNA, na základě přesnosti komplementarity je mRNA buď úplně degradována, to se děje, pokud proběhlo párování s přesnou sekvenční shodou, nebo v případě nižší shody dochází jen k translační represi (Miller and Steele, 2012). MiRNA se mohou navázat kromě 3'UTR i na 5'UTR, tato vazba pak naopak bývá spojena s aktivací translace daného transkriptu (Henke et al., 2008; Moretti, Thermann and Hetze, 2010).

#### 4.4 MikroRNA a nádorová onemocnění

Řada miRNA může hrát při rozvoji nádoru roli podobnou onkogenům nebo tumor supresorům (Wu et al., 2006). MiRNA s funkcí onkogenu negativně regulují tumor supresorové geny, a naopak tumor supresorové miRNA jsou odpovědné za negativní regulaci onkogenů. Při nádorovém onemocnění je hladina onkogenních miRNA obvykle zvýšená, a naopak hladina tumor supresorových miRNA je nižší, než je tomu u nepostížených tkání (Oliveto et al., 2017). MiRNA jsou zapojené do regulace velkého množství nádorových charakteristik jako jsou angiogeneze, neomezený replikační potenciál, soběstačnost v produkci růstových faktorů, necitlivost k faktorům zastavujícím buněčný cyklus, rezistence vůči apoptotickým signálům nebo invazivita. Některé konkrétní miRNA jsou odpovědné dokonce za regulaci více než jednoho takového mechanismu (Slabý et al., 2012).

Jako první miRNA s důležitou regulací nádorové patogeneze byly identifikovány miR-15a a miR-16-1 pocházející z jednoho transkriptu, jehož lokus je poškozen u více než 65 % pacientů trpících chronickou lymfocytickou leukémií (CLL) (Calin et al., 2002). Jedním z transkriptů genů, které tyto dvě miRNA ovlivňují, je *BCL2*, který je zapojen do apoptózy a regulace buněčného cyklu (Calin et al., 2008).

Mezi miRNA s funkcí tumor supresoru jsou řazeny například zmiňované miR-15/16, které jsou spojovány nejen s CLL, ale i s rakovinou tlustého střeva, prsu, vaječníků, plic a dalšími. Dalšími tumor supresory například jsou miR-34, miR-143, miR-145 nebo rodina let-7. MiR-34 je transkripčně aktivována pomocí *TP53* a jejím targetem je antiapoptický protein SIRT1, miR-143 společně a miR-145 pak cílí na gen *KRAS* (Zhu et al., 2011; Li et al., 2013; Navarro and Lieberman, 2015). Cílovými geny rodiny let-7 jsou některé onkogeny jako *MYC*, *KRAS* nebo cyklin D1 (He et al., 2010). Mezi onkogenní miRNA se řadí miR-17/92, miR-222, miR-221, miR-21 a miR-155. Hlavním cílem miR-221 a miR-222 je p27, který je zapojen do regulace buněčného cyklu (Galardi et al., 2007). Dále se podílejí na regulaci genu *KIT*. Inhibicí transkriptu genu *KIT*, dochází ke spuštění apoptózy (Ihle et al., 2015). Onkogenní miR-21 cílí na *PDCD4*, *PTEN* mRNA a další tumor supresorové geny (Zhao et al., 2018). MiR-155a a miR-155b jsou zodpovědné za regulaci mRNA genů spojených s produkcí růstových faktorů a apoptózou (Slabý et al., 2012; Di Leva, Garofalo and Croce, 2014).

Pozměněná hladina určitých miRNA ale není jediným mechanismem spojeným s miRNA vedoucím ke vzniku nádoru. Dalším takovým mechanismem může být například i pozměněná exprese či funkce enzymů miRNA biogeneze, jako Drosha nebo Dicer. Tento jev byl popsán u pacientek s rakovinou vaječníků či pacientů s nádory močového měchýře (Merritt et al., 2008; Zhang et al., 2015).

V dnešní době se počet studií zaměřujících se na některé miRNA jako potenciální biomarkery různých nádorových onemocnění, včetně KRK, zvyšuje. U KRK by miRNA získané například z plazmy či jiných tělních tekutin, mohly sloužit jako neinvazivní a levné biomarkery (Kanaan et al., 2013).

Mezi prognostické a diagnostické biomarkery by se mohly v budoucnu zařadit i miR-122 a miR-142, které dosud ještě nebyly tolik popsány a jsou jedním z primárních zájmů výzkumu Oddělení molekulární biologie nádorů Ústavu experimentální medicíny AV ČR, a budou popsány v následující kapitole.

## 5 MiR-122 a miR-142

### 5.1 MiR-122

MiR-122 je 22 nukleotidová hojně se vyskytující miRNA, která byla popsána především v játrech. Hraje důležitou roli v homeostázi jater a reguluje expresi mnoha genů důležitých pro správnou funkci jater (Thakral and Groshal, 2015). Poprvé byla miR-122 identifikována v roce 2002 při sekvenování myších tkáňových miRNA a již tehdy byla popsána její jaterní specifita (Lagos-Quintana et al., 2002).

Studie zaměřené na miR-122 ve spojitosti s KRK se nejčastěji zabývají profilací expresních hladin metastazujícího KRK a z důvodu její jaterní specifity, právě v jaterních metastázách (Carter et al., 2016; Maierthaler et al., 2016; Vychytilova-Faltejskova et al., 2016; Zhu et al., 2017; Li et al., 2019; Sun et al., 2020). Tyto studie jsou shrnuty v **tabulce č. 1**. Zvýšená hladina miR-122 v tkáních (ale i v séru) byla asociována s výskytem jaterních metastáz u pacientů s KRK (Iino et al., 2013; Liu et al., 2019; Sun et al., 2020). Studie Maierthaler et al. (2016) se zabývala analýzou miRNA v plazmě 543 pacientů s různými stádii KRK (stádia I-IV). Autoři identifikovali jedenáct miRNA, jejichž hladiny se mezi jednotlivými stádii významně lišily. Mezi tyto miRNA se řadila také miR-122. Zvýšená hladina miR-122 byla spojena s horší prognózou pro pacienty s metastazujícím, ale i nemetastazujícím KRK. Tito pacienti byli pak charakterizováni celkově nižším přežíváním a také vyšším rizikem recidivy. Stanovení expresních hladin miR-122 by proto mohlo sloužit k identifikaci KRK pacientů s jaterními metastázemi.

Zvýšená hladinu miR-122 v séru u KRK pacientů s jaterními metastázami (stádium IV) oproti zdravým pacientům byla popsána i ve studii Sun et al. (2020). Tato studie rovněž dokázala, že miRNA se mohou v séru nacházet také zabalené do vesikulů, tzv. exosomů. Zvýšená hladina miR-122 v tkáni byla asociována s horší prognózou onemocnění. Studie Iino et al. (2013) porovnávala expresi miRNA v tkáních pacientů s primárním KRK a pacienty s jaterními metastázami. Expresní hladina miR-122 byla signifikantně vyšší v jaterních metastázách a zároveň v těchto tkáních byla často inhibována exprese kationtového přenašeče aminokyselin označovaného jako CAT1. CAT1 je odpovědný za transport L-argininu – prekursoru oxidu dusnatého (NO). NO je důležitou složkou neadaptivní složky imunity a signální molekulou v různých fyziologických a patofyziologických procesů, dokonce se účastní procesu angiogeneze. Mimo buňky imunitního systému ho mohou produkovat i nádorové buňky, a studie Radomski et al. (1991) dokonce naznačila, že produkce NO nádorovými buňkami může

být nepřímo spojena s jejich metastatickým potenciálem (Ookawauchi et al., 1998; Iino et al., 2013; Su, 2014).

Vyšší expresní hladiny miR-122 byly popsány také u pacientů s KRK asociovaným s IBD oproti zdravým jedincům, a tudíž vyšší hladina této miRNA byla asociována s rozvojem KRK. V té samé studii bylo také popsáno, že miR-122 se účastní regulace transkripčních faktorů dráhy TP53, konkrétně cílí na cyklin G, který je důležitý regulátor buněčného cyklu (Kanaan et al., 2012).

Jako další z cílových transkriptů miR-122 byl studií Li et al. (2019) testován enzym aldoláza A (ALDOA) kódovaný genem *ALDOA*. Studie prokázala, že tento enzym je opravdu přímým cílem miR-122. Umělé navýšení hladiny miR-122 v buňkách, vedlo k potlačení exprese tohoto proteinu, a naopak exprese proteinu proběhla, pokud byla hladina miR-122 snížena. ALDOA je glykolytický enzym účastnící se konverze glukózy na energii, který se podílí na buněčných růstových dráhách a narušení exprese aldolázy přispívá ke tvorbě mnoha různých nádorů. Tato studie ukázala, že miR-122 podporuje invazivitu KRK buněk prostřednictvím utlumení exprese proteinu pro enzym aldolázu.

Několik studií zaměřených na miR-122 poukázalo, že miR-122 může mít vliv i na chemorezistenci buněk vůči některým chemoterapeutikům. Chemorezistence, tedy odolnost nádorových buněk vůči podávanému cytostatiku, je jednou z hlavních překážek úspěšné léčby nádorů. Studie He et al. (2014) se zabývala rezistencí vůči 5-FU spojenou s miR-122. Během této studie byla identifikována nižší exprese miR-122 ve zkoumaných 5-FU rezistentních buněčných liniích, které dokážou snášet větší koncentrace 5-FU než buňky senzitivní. Pokud ale došlo k umělému navýšení exprese této miRNA, buňky přestaly být odolné vůči 5-FU. V této studii také popsali, že miR-122 by mohla cílit na enzym pyruvát kinázu (PKM2). Zvýšením exprese miR-122 se znatelně snížila exprese PKM2. Tento enzym katalyzuje poslední krok glykolýzy, která je klíčová pro růst a metabolismus nádoru, kromě toho má dokonce roli koaktivátoru tumorigeneze a proteinkinázy, která je odpovědná za regulaci buněčné proliferace (Dong et al., 2016). PKM2 jako potenciální cíl miR-122 byl potvrzen i další studií (Wang et al., 2020).

Stejně tak studie Hua et al. (2018) potvrdila vztah miR-122 a citlivosti buněk na léčbu oxaliplatinou. U rezistentních buněk na oxaliplatinu byla naměřena snížená expresní hladina miR-122 oproti buňkám nerezistentním a zvýšená expresní hladina proteinu XIAP, jenž je inhibítozem apoptózy. Po umělém navýšení hladiny miR-122 v těchto rezistentních buňkách, došlo k znovuzískání senzitivity buněk vůči oxaliplatině a zároveň ke snížení expresní hladiny

XIAP. MiR-122 byla popsána také jako regulátor supresorů kaspáz, což jsou enzymy důležité pro spuštění apoptózy (Hua et al., 2018; Asadi et al., 2019).

Tabulka č. 1: Souhrn studií zaměřených na potenciální využití miR-122 v klinické praxi

Reference	Materiál	Počet pacientů/kontrol	Target	Potenciál
(Kanaan et al., 2012)	tkáň buněčná linie	6 IBD	Cyklin G	diagnostický biomarker
(Iino et al., 2013)	tkáň	121 KRK	CAT1	diagnostický biomarker
(He et al., 2014)	buněčná linie	-	PKM2	prediktivní biomarker
(Vychytilova-Faltejskova et al., 2016)	tkáň	86 KRK 86 mKRK	-	diagnostický biomarker
(Mairthaler et al., 2016)	plazma	543 KRK	-	prognostický a diagnostický biomarker
(Carter et al., 2016)	plazma	60 KRK 45 kontrol	-	diagnostický biomarker
(Zhu et al., 2017)	sérum tkáň	193 KRK 138 kontrol	-	diagnostický biomarker
(Hua et al., 2018)	buněčná linie	-	XIAP	terapeutický potenciál
(Li et al., 2019)	tkáň buněčné linie	3 KRK	ALDOA	-
(Liu et al., 2019)	in silico analýza	360 KRK 122 mKRK	-	diagnostický biomarker
(Sun et al., 2020)	sérum tkáň	50 KRK 25 mKRK 50 kontrol	-	diagnostický a prognostický biomarker
(Wang et al., 2020)	tkáň	7 KRK	PKM2	-

KRK – kolorektální karcinom, mKRK – metastazující kolorektální karcinom



## 5.2 MiR-142

MiR-142 stejně jako miR-122 patří ke tkáňově specifickým miRNA, je často exprimována u hematopoetických buněk a je důležitá pro jejich diferenciaci (Chen et al., 2004). Velkou roli hraje v imunomodulačních procesech, podílí se na imunitní odpovědi a zánětu, a má tedy úlohu v patogenezi onemocnění. Z pre-miR-142 se mohou vytvořit dvě funkční formy, a to miR-142-3p a miR-142-5p (Sharma, 2017). Funkce těchto dvou forem je různá. MiR-142-3p je častěji popisována jako možný tumor supresor, zatímco funkce miR-142-5p je více diskutabilní a v různých studiích se liší (Shi et al., 2015; Islam et al., 2018; Zhu et al., 2018).

### 5.2.1 MiR-142-3p

Ve většině studií je miR-142-3p popisována jako tumor supresorová miRNA (Zhu et al., 2018; Gao, Pang and Yu, 2019; Huang et al., 2019). Snížená hladina miR-142-3p byla identifikována v tkáních ale i dalších tělních tekutinách (plazma, sérum) pacientů s KRK v porovnání s kontrolní skupinou (Ghanbari et al., 2015; Cruz et al., 2017; Zhu et al., 2018; Gao, Pang and Yu, 2019). Naopak žádné významné rozdíly expresních hladin miR-142-3p nebyly nalezeny ve stolici pacientů s KRK oproti zdravým kontrolám (Ghanbari et al., 2017). Přehled studií pojednávající o analýze miR-142-3p je shrnut v **tabulce č. 2**.

MiR-142-3p jako potenciální biomarker identifikovala i studie Kanaan et al. (2013), která se snažila nalézt biomarkery pro kolorektální adenomy z řad plazmových miRNA. Skríninková skupina pro tuto studii byla složena z devíti pacientů s kolorektálním adenomem, dvaceti pacientů s KRK a z dvanácti zdravých kontrol. Ze zkoumaných 380 miRNA, autoři našli 8 potenciálních biomarkerů, mezi které patřila právě i miR-142-3p. Změněné expresní hladiny těchto miRNA byly poté ještě ověřeny na větší skupině pacientů a kontrol (16 pacientů s adenomem, 45 KRK a 26 zdravých kontrol). Na základě expresních hladin v plazmě bylo možné od sebe rozlišit zdravého pacienta a pacienta s adenomem, pacienta s pokročilým adenomem a pacienta s KRK se senzitivitou 91 % a specifitou 69 %. Snížené expresní hladiny miR-142-3p v plazmě u pacientů s KRK oproti zdravým kontrolám popsala i další studie (Ghanbari et al., 2015).

Další studie Zhu et al. (2018) zaznamenala výrazně sníženou hladinu miR-142-3p v nádorové tkáni oproti okolní zdravé, a to u více než 70 % pacientů. Pacienti, u kterých naopak hladina této miRNA nebyla snížena dosahovali lepšího přežívání. To napovídá, že v případě

miR-142-3p by se mohlo jednat o tumor supresor. Horší přežívání pacientů se sníženou hladinou miR-142-3 popsala i další studie (Gao, Pang and Yu, 2019).

Naopak studie Gao et al. (2018) pojednává o miR-142-3p jako o možném onkogenu, který podporuje buněčnou migraci a invazi pomocí aktivace RAC1. RAC1 je GTPáza podílející se na buněčné proliferaci a regulaci angiogeneze. V této studii se autoři zabývali vztahem mezi miR-142-3p a RAC1. Do buněk byl přidán plazmid exprimující miR-142-3p, do další buněčné linie pak plazmid s utlumující funkcí miR-142-3p. Expresní hladina RAC1 byla vyšší u buněk, do kterých byl přidán plazmid exprimující miR-142-3p, tyto buňky zároveň vykazovaly lepší schopnost buněčné migrace a invaze. Naopak tomu bylo u buněk s přidaným plazmidovým tlumičem, kdy hladina RAC1 i buněčná migrace a invaze byly sníženy. Výsledky této studie ukazují, že miR-142-3p je ať už přímou nebo nepřímou regulací RAC1 schopna podporovat metastazování. Potlačením exprese miR-142-3p by se dalo dosáhnout snížené schopnosti nádorových buněk metastazovat, což z miR-142-3p dělá potenciální terapeutický cíl pro léčbu KKK.

Tabulka č. 2: Souhrn studií zaměřených na potenciální využití miR-142-3p v klinické praxi

Reference	Materiál	Počet pacientů/kontrol	Target	Potenciál
(Kanaan et al., 2013)	plazma	9 KRA 20 KRK 12 kontrol Validováno: 16 KRA 45 KRK 26 kontrol	-	prognostický biomarker
(Ghanbari et al., 2015)	plazma	37 KRK 24 kontrol Validováno: 61 KRK 24 kontrol	-	diagnostický biomarker
(Ghanbari et al., 2017)	stolice	53 KRK 35 kontrol	-	-
(Cruz-Gil et al., 2017)	buněčná linie	-	Wnt LGR5 ACSL/SCD	-
(Gao et al., 2018)	tkáň buněčná linie	192 KRK	RAC1	terapeutický potenciál
(Zhu et al., 2018)	tkáň	116 KRK	CDK4	terapeutická potenciál
(Gao, Pang and Yu, 2019)	sérum	363 KRK 156 kontrol	-	diagnostický a prognostický biomarker
(Huang et al., 2019)	buněčná linie	-	-	terapeutický potenciál

KRK – kolorektální karcinom, KRA – kolorektální adenom, mKRK – metastazující kolorektální karcinom

### 5.2.2 MiR-142-5p

MiR-142-5p se dle studií jeví kontroverzně. Některé studie prokázaly její zvýšenou expresi v kolorektálních nádorových tkáních, jiné studie zde naopak poukázali na její sníženou hladinu (Shi et al., 2015; Liu et al., 2017; Islam et al., 2018). Souhrnně o studiích zaměřených na miR-142-5p pojednává **tabulka č. 3**.

Zvýšená expresní hladina v nádorové tkáni oproti přilehlé nenádorové tkáni byla popsána ve studii Islam et al. (2018). Se zvýšenou expresí miR-142-5p v KRK buňkách se pojila nadměrná buněčná proliferace, tvorba buněčných kolonií a zlepšené hojení. Studie dokonce navrhuje potlačení miR-142-5p pomocí anti-miRNA činidel jako potenciální terapeutickou strategii při léčbě KRK. V této studii byl zkoumán i vliv miR-142-5p na buněčný cyklus, tato miRNA by mohla ovlivňovat regulaci přechodů mezi G0/G1 a G2/M fázemi buněčného cyklu.

Zvýšenou expresi miR-142-5p v tkáních potvrdila i studie Liu et al. (2017). Tato studie také zaznamenala negativní korelaci mezi miR-142-5p a enzymem sukcinát dehydrogenázou B (SDHB). Tkáně KRK vykazovaly zvýšenou hladinu miR-142-5p a naopak sníženou hladinu SDHB oproti okolní zdravé tkáni. Tento protein se účastní procesů jako Krebsova cyklu, buněčné proliferace či apoptózy, jeho negativní regulací je miR-142-5p schopna ovlivňovat tyto procesy. Při snížení SDHB v buňkách KRK došlo k metabolickému přechodu z oxidativní fosforylace na aerobní glykolýzu, což podporuje proliferaci buněk.

Studie Wang et al. (2014) se zabývala miRNA zapojenými do drah MSI a CIN, které mohou vést ke tvorbě KRK. Mimo jiné zde byla ve zdravé tkáni nalezena pozitivní korelace mezi miR-142-5p a genem *MSH6* – jednoho z hlavních MMR genů zapojených do MSI dráhy tvorby KRK. MiR-142-5p byla také popsána s regulací apoptózy. Vyšší hladiny této miRNA byly spojeny s mírným nárůstem rychlosti navození apoptózy nádorových buněk a mohly by vést dokonce k potlačení nádorového růstu (Shi et al., 2015).

Tabulka č. 3: Souhrn studií zaměřených na potenciální využití miR-142-5p v klinické praxi

Reference	Materiál	Počet pacientů/kontrol	Target	Potenciál
(Wang et al., 2014)	tkáň	8 KRK	<i>MSH6</i>	-
(Shi et al., 2015)	tkáň buněčná linie	80 KRK	EPAS1	prediktivní biomarker
(Liu et al., 2017)	tkáň	27 KRK 23 KRK po chirurgickém zákroku	SDHB	terapeutický potenciál
(Islam et al., 2018)	tkáň buněčná linie	125 KRK	KLF6	terapeutický potenciál
(Kong et al., 2019)	tkáň	-	Tiam1	diagnostický biomarker

KRK – kolorektální karcinom

## 6 Závěr

Kolorektální karcinom je velmi častým nádorovým onemocněním zapříčínujícím vysoký počet úmrtí zejména ve vyspělých státech. Na snížení úmrtnosti má zásadní vliv včasné odhalení, které mohou usnadnit nové biomarkery. Při jejich hledání je potřeba nalézt takový biomarker, který by byl nejlépe neinvazivní, dostatečně specifický a senzitivní a také snadno měřitelný. Právě miRNA jsou považovány za vhodné kandidáty.

Jedním z potenciálních biomarkerů je i miR-122. MiR-122 by mohla najít své využití v identifikaci přítomnosti jaterních metastáz KRK, neboť u pacientů s mKRK bývá hladina této miRNA zvýšená. Většina studií naznačila, že by se mohlo jednat o onkogenní miRNA podporující buněčnou invazi například regulací *ALDOA* a zároveň snížená hladina miR-122 je asociována s rezistencí vůči některým chemoterapeutikům.

MiR-142 je charakterizována dvěma podtypy: miR-142-3p a miR-142-5p. MiR-142-3p je studiem často popisována jako vhodný prognostický a diagnostický biomarker a některé další studie dokonce zmiňují i její možné využití v terapii kolorektálního karcinomu. Naopak od miR-122, vykazuje miR-142-3p v nádorových tkáních, ale i v tělních tekutinách pacientů trpících kolorektálním karcinomem, hladinu sníženou. Svou aktivitou je miR-142-3p mimo jiné schopna ovlivňovat buněčný cyklus cílením na *CDK4*. Dalo by se tedy říci, že působí jako tumorový supresor. Druhý podtyp miR-142 – MiR-142-5p se zatím jeví poněkud kontroverzně, ačkoliv byly popsány některé karcinogenní procesy, do kterých tato miRNA zasahuje, její přesné funkce je stále potřeba více prostudovat.

Studium miRNA je velmi současným tématem a pochopení mechanismů funkce těchto molekul by mohlo být užitečným, a to nejen pro prognostiku, diagnostiku a predikci, ale i při terapii nádorových onemocnění. Obě v této práci popisované miRNA se jeví jako slibní kandidáti na biomarkery KRK, nicméně před jejich potenciálním zavedením do klinické praxe je ještě potřeba mnohých dalších testování včetně klinických studií.

## 7 Seznam literatury

Alsheridah, N. and Akhtar, S., 2018. Diet, obesity and colorectal carcinoma risk: results from a national cancer registry-based middle-eastern study. *BMC cancer*, 18(1), p.1227.

Armaghany, T., Wilson, J.D., Chu, Q. and Mills, G., 2012. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointestinal cancer research: GCR*, 5(1), p.19.

Asadi, M., Talesh, S.T., Gjerstorff, M.F., Shanebandi, D., Baradaran, B., Hashemzadeh, S. and Zafari, V., 2019. Identification of miRNAs correlating with stage and progression of colorectal cancer. *Colorectal Cancer*, 8(2), p.CRC06.

Bedine, M.S., 1999. Colorectal carcinoma: etiology, diagnosis, and screening. *Comprehensive therapy*, 25(3), pp.163-168.

Bhalla, A., Zulfiqar, M. and Bluth, M.H., 2018. Molecular diagnostics in colorectal carcinoma: advances and applications for 2018. *Clinics in laboratory medicine*, 38(2), pp.311-342.

Calin, G.A., Cimmino, A., Fabbri, M., Ferracin, M., Wojcik, S.E., Shimizu, M., Taccioli, C., Zanesi, N., Garzon, R., Aqeilan, R.I. and Alder, H., 2008. MiR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(13), pp.5166-5171.

Calin, G.A., Dumitru, C.D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., Aldler, H., Rattan, S., Keating, M., Rai, K. and Rassenti, L., 2002. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the national academy of sciences*, 99(24), pp.15524-15529.

Calvert, P.M. and Frucht, H., 2002. The genetics of colorectal cancer. *Annals of internal medicine*, 137(7), pp.603-612.

Carter, J.V., Roberts, H.L., Pan, J., Rice, J.D., Burton, J.F., Galbraith, N.J., Eichenberger, M.R., Jordan, J., Deveaux, P., Farmer, R. and Williford, A., 2016. A highly predictive model for diagnosis of colorectal neoplasms using plasma microRNA: improving specificity and sensitivity. *Annals of surgery*, 264(4), p.575.

Chen, C.Z., Li, L., Lodish, H.F. and Bartel, D.P., 2004. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *science*, 303(5654), pp.83-86.

Cruz-Gil, S., Sanchez-Martinez, R., de Cedron, M.G., Martin-Hernandez, R., Vargas, T., Molina, S., Herranz, J., Davalos, A., Reglero, G. and de Molina, A.R., 2018. Targeting the lipid metabolic axis ACSL/SCD in colorectal cancer progression by therapeutic miRNAs: miR-19b-1 role. *Journal of lipid research*, 59(1), pp.14-24.

- Cuyle, P.J. and Prenen, H., 2017. Current and future biomarkers in the treatment of colorectal cancer. *Acta Clinica Belgica*, 72(2), pp.103-115.
- Das, V., Kalita, J. and Pal, M., 2017. Predictive and prognostic biomarkers in colorectal cancer: A systematic review of recent advances and challenges. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, pp.8-19.
- de la Chapelle, A. and Hampel, H., 2010. Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 28(20), p.3380.
- De Palma, F.D.E., D'argenio, V., Pol, J., Kroemer, G., Maiuri, M.C. and Salvatore, F., 2019. The molecular hallmarks of the serrated pathway in colorectal cancer. *Cancers*, 11(7), p.1017.
- Demols, A. and Van Laethem, J.L., 2002. Adjuvant chemotherapy for colorectal cancer. *Current gastroenterology reports*, 4(5), pp.420-426.
- Denli, A.M., Tops, B.B., Plasterk, R.H., Ketting, R.F. and Hannon, G.J., 2004. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*, 432(7014), pp.231-235.
- Di Leva, G., Garofalo, M. and Croce, C.M., 2014. MicroRNAs in cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 9, pp.287-314.
- Diviš, M.P., Divišová, M.K., Katolická, M.J. and Rotnáglová, M.S., 2016. Kolorektální karcinom – současný pohled na diagnostiku a léčbu. *Medicína pro praxi*, 13(1), pp.34-38.
- Dong, G., Mao, Q., Xia, W., Xu, Y., Wang, J., Xu, L. and Jiang, F., 2016. PKM2 and cancer: The function of PKM2 beyond glycolysis. *Oncology letters*, 11(3), pp.1980-1986.
- Fakih, M.G. and Padmanabhan, A., 2006. CEA monitoring in colorectal cancer. *Oncology*, 20(6).
- Fearon, E.R. and Vogelstein, B., 1990. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *cell*, 61(5), pp.759-767.
- Friedman, R.C., Farh, K.K.H., Burge, C.B. and Bartel, D.P., 2009. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome research*, 19(1), pp.92-105.
- Galardi, S., Mercatelli, N., Giorda, E., Massalini, S., Frajese, G.V., Ciafrè, S.A. and Farace, M.G., 2007. miR-221 and miR-222 expression affects the proliferation potential of human prostate carcinoma cell lines by targeting p27Kip1. *Journal of Biological Chemistry*, 282(32), pp.23716-23724.



- Gao, W., Pang, D. and Yu, S., 2019. Serum level of miR-142-3p predicts prognostic outcome for colorectal cancer following curative resection. *Journal of International Medical Research*, 47(5), pp.2116-2125.
- Gao, X., Xu, W., Lu, T., Zhou, J., Ge, X. and Hua, D., 2018. MicroRNA-142-3p promotes cellular invasion of colorectal cancer cells by activation of RAC1. *Technology in cancer research & treatment*, 17, p.1533033818790508.
- Ghanbari, R., Mosakhani, N., Asadi, J., Nouraei, N., Mowla, S.J., Yazdani, Y., Mohamadkhani, A., Poustchi, H., Knuutila, S. and Malekzadeh, R., 2015. Downregulation of plasma MiR-142-3p and MiR-26a-5p in patients with colorectal carcinoma. *Iranian journal of cancer prevention*, 8(3).
- Ghanbari, R., Rezasoltani, S., Hashemi, J., Mohamadkhani, A., Tahmasebifar, A., Arefian, E., Mobarra, N., Asadi, J., Mojarad, E.N., Yazdani, Y. and Knuutila, S., 2017. Analysis of Previously Verified Fecal and Plasma Down-regulated MicroRNAs in FFPE Tissue Samples of CRC Patients. *Archives of Iranian Medicine*, 20(2), pp.0-0.
- Glynne-Jones, R. and Hall, M., 2015. Radiotherapy and locally advanced rectal cancer. *British Journal of Surgery*, 102(12), pp.1443-1445.
- Gonzalez-Pons, M. and Cruz-Correa, M., 2015. Colorectal cancer biomarkers: where are we now?. *BioMed research international*, 2015.
- Grady, W.M. and Carethers, J.M., 2008. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*, 135(4), pp.1079-1099.
- Grass, F. and Mathis, K., 2018. Novelty in treatment of locally advanced rectal cancer. *F1000Research*, 7.
- Hammond, S.M., Boettcher, S., Caudy, A.A., Kobayashi, R. and Hannon, G.J., 2001. Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi. *Science*, 293(5532), pp.1146-1150.
- Hause, R.J., Pritchard, C.C., Shendure, J. and Salipante, S.J., 2016. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. *Nature medicine*, 22(11), p.1342.
- He, J., Xie, G., Tong, J., Peng, Y., Huang, H., Li, J., Wang, N. and Liang, H., 2014. Overexpression of microRNA-122 re-sensitizes 5-FU-resistant colon cancer cells to 5-FU through the inhibition of PKM2 in vitro and in vivo. *Cell biochemistry and biophysics*, 70(2), pp.1343-1350.

He, X.Y., Chen, J.X., Zhang, Z., Li, C.L. and Peng, H.M., 2010. The let-7a microRNA protects from growth of lung carcinoma by suppression of k-Ras and c-Myc in nude mice. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 136(7), pp.1023-1028.

Henke, J.I., Goergen, D., Zheng, J., Song, Y., Schüttler, C.G., Fehr, C., Jünemann, C. and Niepmann, M., 2008. microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA. *The EMBO journal*, 27(24), pp.3300-3310.

Hombach, S. and Kretz, M., 2016. Non-coding RNAs: classification, biology and functioning. In *Non-coding RNAs in colorectal cancer* (pp. 3-17). Springer, Cham.

Hua, Y., Zhu, Y., Zhang, J., Zhu, Z., Ning, Z., Chen, H., Liu, L., Chen, Z. and Meng, Z., 2018. miR-122 targets X-linked inhibitor of apoptosis protein to sensitize oxaliplatin-resistant colorectal cancer cells to oxaliplatin-mediated cytotoxicity. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 51(5), pp.2148-2159.

Huang, Y.J., Yadav, V.K., Srivastava, P., Wu, A.T., Huynh, T.T., Wei, P.L., Huang, C.Y.F. and Huang, T.H., 2019. *Antrodia cinnamomea* enhances chemo-sensitivity of 5-fu and suppresses colon tumorigenesis and cancer stemness via up-regulation of tumor suppressor miR-142-3p. *Biomolecules*, 9(8), p.306.

Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W., Cartwright, T., Hainsworth, J., Heim, W., Berlin, J., Baron, A., Griffing, S., Holmgren, E. and Ferrara, N., 2004. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *New England journal of medicine*, 350(23), pp.2335-2342.

Ihle, M.A., Trautmann, M., Kuenstlinger, H., Huss, S., Heydt, C., Fassunke, J., Wardelmann, E., Bauer, S., Schildhaus, H.U., Buettner, R. and Merkelbach-Bruse, S., 2015. miRNA-221 and miRNA-222 induce apoptosis via the KIT/AKT signalling pathway in gastrointestinal stromal tumours. *Molecular oncology*, 9(7), pp.1421-1433.

Iino, I., Kikuchi, H., Miyazaki, S., Hiramatsu, Y., Ohta, M., Kamiya, K., Kusama, Y., Baba, S., Setou, M. and Konno, H., 2013. Effect of mi R-122 and its target gene cationic amino acid transporter 1 on colorectal liver metastasis. *Cancer science*, 104(5), pp.624-630.

Islam, F., Gopalan, V., Vider, J., Lu, C.T. and Lam, A.K.Y., 2018. MiR-142-5p act as an oncogenic microRNA in colorectal cancer: Clinicopathological and functional insights. *Experimental and molecular pathology*, 104(1), pp.98-107.

Issa, J.P., 2004. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 4(12), pp.988-993.

- Issa, I.A. and Nouredine, M., 2017. Colorectal cancer screening: An updated review of the available options. *World journal of gastroenterology*, 23(28), p.5086.
- Jech, Z. and Hoch, J., 2005. Chirurgická léčba kolorektálního karcinomu. *Interní medicína pro praxi*, 6(2), pp.81-84.
- Kanaan, Z., Rai, S.N., Eichenberger, M.R., Barnes, C., Dworkin, A.M., Weller, C., Cohen, E., Roberts, H., Keskey, B., Petras, R.E. and Crawford, N.P., 2012. Differential MicroRNA expression tracks neoplastic progression in inflammatory bowel disease-associated colorectal cancer. *Human mutation*, 33(3), pp.551-560.
- Kanaan, Z., Roberts, H., Eichenberger, M.R., Billeter, A., Ocheretner, G., Pan, J., Rai, S.N., Jordan, J., Williford, A. and Galandiuk, S., 2013. A plasma microRNA panel for detection of colorectal adenomas: a step toward more precise screening for colorectal cancer. *Annals of surgery*, 258(3), pp.400-408.
- Kindler, H.L. and Shulman, K.L., 2001. Metastatic colorectal cancer. *Current treatment options in oncology*, 2(6), pp.459-471.
- Kong, W., Guang, Y., Yu, P., Zhu, A., Zhang, J. and Ying, R., 2019. Diagnostic Value of miR-142-5p and Tiam-1 in Colon Cancer Patients. *Clinical laboratory*, 65(12).
- Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Yalcin, A., Meyer, J., Lendeckel, W. and Tuschl, T., 2002. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Current biology*, 12(9), pp.735-739.
- Lech, G., Słotwiński, R., Słodkowski, M. and Krasnodębski, I.W., 2016. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World journal of gastroenterology*, 22(5), p.1745.
- Lee, R.C., Feinbaum, R.L. and Ambros, V., 1993. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *cell*, 75(5), pp.843-854.
- Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J., Lee, J., Provost, P., Rådmark, O., Kim, S. and Kim, V.N., 2003. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 425(6956), pp.415-419.
- Lee, Y., Jeon, K., Lee, J.T., Kim, S. and Kim, V.N., 2002. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *The EMBO journal*, 21(17), pp.4663-4670.
- Li, H., Zhang, X., Jin, Z., Yin, T., Duan, C., Sun, J., Xiong, R. and Li, Z., 2019. MiR-122 Promotes the Development of Colon Cancer by Targeting ALDOA In Vitro. *Technology in cancer research & treatment*, 18, p.1533033819871300.

Li, L., Yuan, L., Luo, J., Gao, J., Guo, J. and Xie, X., 2013. MiR-34a inhibits proliferation and migration of breast cancer through down-regulation of Bcl-2 and SIRT1. *Clinical and experimental medicine*, 13(2), pp.109-117.

Li, Z. and Rana, T.M., 2012. Molecular mechanisms of RNA-triggered gene silencing machineries. *Accounts of chemical research*, 45(7), pp.1122-1131.

Liu, J., Li, H., Sun, L., Shen, S., Zhou, Q., Yuan, Y. and Xing, C., 2019. Epigenetic Alternations of MicroRNAs and DNA Methylation Contribute to Liver Metastasis of Colorectal Cancer. *Digestive diseases and sciences*, 64(6), pp.1523-1534.

Liu, S., Xiao, Z., Ai, F., Liu, F., Chen, X., Cao, K., Ren, W., Zhang, X., Shu, P. and Zhang, D., 2017. miR-142-5p promotes development of colorectal cancer through targeting SDHB and facilitating generation of aerobic glycolysis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, pp.1119-1127.

Lievre, A., Bachet, J.B., Le Corre, D., Boige, V., Landi, B., Emile, J.F., Côté, J.F., Tomasic, G., Penna, C., Ducreux, M. and Rougier, P., 2006. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer research*, 66(8), pp.3992-3995.

Lu, T.X. and Rothenberg, M.E., 2018. MicroRNA. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(4), pp.1202-1207.

Lu, Y. and Ma, Y., 2013. Identification of piRNAs in HeLa cells by massive parallel sequencing. In *Next Generation Sequencing in Cancer Research* (pp. 217-231). Springer, New York, NY.

Macaron, C., Leach, B.H. and Burke, C.A., 2015. Hereditary colorectal cancer syndromes and genetic testing. *Journal of surgical oncology*, 111(1), pp.103-111.

Maiertaler, M., Benner, A., Hoffmeister, M., Surowy, H., Jansen, L., Knebel, P., Chang-Claude, J., Brenner, H. and Burwinkel, B., 2017. Plasma miR-122 and miR-200 family are prognostic markers in colorectal cancer. *International journal of cancer*, 140(1), pp.176-187.

Markowitz, S.D. and Bertagnolli, M.M., 2009. Molecular basis of colorectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 361(25), pp.2449-2460.

Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Pradilla Dieste, A., Cerrada, E. and Rodriguez Yoldi, M.J., 2017. Colorectal carcinoma: a general overview and future perspectives in colorectal cancer. *International journal of molecular sciences*, 18(1), p.197.

McQuade, R., Stojanovska, V., Bornstein, J. and Nurgali, K., 2017. Colorectal cancer chemotherapy: the evolution of treatment and new approaches. *Current medicinal chemistry*, 24(15), pp.1537-1557.

- Merritt, W.M., Lin, Y.G., Han, L.Y., Kamat, A.A., Spannuth, W.A., Schmandt, R., Urbauer, D., Pennacchio, L.A., Cheng, J.F., Nick, A.M. and Deavers, M.T., 2008. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*, 359(25), pp.2641-2650.
- Miller, S. and Steele, S., 2012. Novel molecular screening approaches in colorectal cancer. *Journal of surgical oncology*, 105(5), pp.459-467.
- Minniti, G., Goldsmith, C. and Brada, M., 2012. Radiotherapy. *Handbook of clinical neurology*, 104, pp.215-228.
- Moore, J.S. and Aulet, T.H., 2017. Colorectal cancer screening. *Surgical Clinics*, 97(3), pp.487-502.
- Moretti, F., Thermann, R. and Hentze, M.W., 2010. Mechanism of translational regulation by miR-2 from sites in the 5' untranslated region or the open reading frame. *Rna*, 16(12), pp.2493-2502.
- Navarro, F. and Lieberman, J., 2015. miR-34 and p53: new insights into a complex functional relationship. *PloS one*, 10(7).
- Nicum, S., Midgley, R. and Kerr, D.J., 2000. Chemotherapy for colorectal cancer. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 93(8), pp.416-419.
- Normanno, N., Cervantes, A., Ciardiello, F., De Luca, A. and Pinto, C., 2018. The liquid biopsy in the management of colorectal cancer patients: Current applications and future scenarios. *Cancer treatment reviews*, 70, pp.1-8.
- Oliveto, S., Mancino, M., Manfrini, N. and Biffo, S., 2017. Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World journal of biological chemistry*, 8(1), p.45.
- Ookawauchi, K., Saibara, T., Yoshikawa, T., Chun-Lin, L., Yahashi, Y., Hiroi, M., Enzan, H., Fukata, J. and Onishi, S., 1998. Characterization of cationic amino acid transporter and its gene expression in rat hepatic stellate cells in relation to nitric oxide production. *Journal of hepatology*, 29(6), pp.923-932.
- Osagiede, O., Spaulding, A.C., Frank, R.D., Merchea, A., Uitti, R., Ailawadhi, S., Kelley, S. and Colibaseanu, D., 2019. Predictors of palliative treatment in stage IV colorectal cancer. *The American Journal of Surgery*, 218(3), pp.514-520.
- Radomski, M.W., Jenkins, D.C., Holmes, L. and Moncada, S., 1991. Human colorectal adenocarcinoma cells: differential nitric oxide synthesis determines their ability to aggregate platelets. *Cancer research*, 51(22), pp.6073-6078.

- Rawla, P., Sunkara, T. and Barsouk, A., 2019. Epidemiology of colorectal cancer: Incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 14(2), p.89.
- Roberts, T.C., 2015. The microRNA machinery. In *microRNA: Basic Science* (pp. 15-30). Springer, Cham.
- Robertson, D.J. and Imperiale, T.F., 2015. Stool testing for colorectal cancer screening. *Gastroenterology*, 149(5), pp.1286-1293.
- Schneiderová, M. and Bencko, V., 2015. Kolorektální karcinom–současný pohled na rizikové a protektivní faktory, možnosti prevence. *Onkologie*, 9(4), pp.178-182.
- Sharma, S., 2017. Immunomodulation: A definitive role of microRNA-142. *Developmental & Comparative Immunology*, 77, pp.150-156.
- Shi, D., Zhai, B., Zheng, Y., Ren, R., Han, M. and Wang, X., 2015. Transcatheter arterial infusion chemotherapy increases expression level of miR-142-5p in stage III colorectal cancer. *Indian journal of cancer*, 52(6), p.47.
- Shirafkan, N., Mansoori, B., Mohammadi, A., Shomali, N., Ghasbi, M. and Baradaran, B., 2018. MicroRNAs as novel biomarkers for colorectal cancer: New outlooks. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, pp.1319-1330.
- Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A., 2020. Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70(1), pp.7-30.
- Simon, K., 2016. Colorectal cancer development and advances in screening. *Clinical interventions in aging*, 11, p.967.
- Slack, F.J., Basson, M., Liu, Z., Ambros, V., Horvitz, H.R. and Ruvkun, G., 2000. The lin-41 RBCC gene acts in the C. elegans heterochronic pathway between the let-7 regulatory RNA and the LIN-29 transcription factor. *Molecular cell*, 5(4), pp.659-669.
- Steele, C.W., Whittle, T. and Smith, J.J., 2019. KRAS mutations are influential in driving hepatic metastases and predicting outcome in colorectal cancer. *Chinese clinical oncology*, 8(5), pp.53-53.
- Su, Y., 2014. Regulation of endothelial nitric oxide synthase activity by protein-protein interaction. *Current pharmaceutical design*, 20(22), pp.3514-3520.
- Sun, L., Liu, X., Pan, B., Hu, X., Zhu, Y., Su, Y., Guo, Z., Zhang, G., Xu, M., Xu, X. and Sun, H., 2020. Serum exosomal miR-122 as a potential diagnostic and prognostic biomarker of colorectal cancer with liver metastasis. *Journal of Cancer*, 11(3), p.630.

- Thakral, S. and Ghoshal, K., 2015. miR-122 is a unique molecule with great potential in diagnosis, prognosis of liver disease, and therapy both as miRNA mimic and antimir. *Current gene therapy*, 15(2), pp.142-150.
- Therkildsen, C., Bergmann, T.K., Henrichsen-Schnack, T., Ladelund, S. and Nilbert, M., 2014. The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta oncologica*, 53(7), pp.852-864.
- Thomson, D.M.P., Krupey, J., Freedman, S.O. and Gold, P., 1969. The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 64(1), pp.161-167.
- Vodenkova, S., Buchler, T., Cervena, K., Veskrnova, V., Vodicka, P. and Vymetalkova, V., 2020. 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. *Pharmacology & therapeutics*, 206, p.107447.
- Voldborg, B.R., Damstrup, L., Spang-Thomsen, M. and Poulsen, H.S., 1997. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials. *Annals of Oncology*, 8(12), pp.1197-1206.
- Vychytilova-Faltejskova, P., Pesta, M., Radova, L., Liska, V., Daum, O., Kala, Z., Svoboda, M., Kiss, I. and Slaby, O., 2016. Genome-wide microRNA expression profiling in primary tumors and matched liver metastasis of patients with colorectal cancer. *Cancer Genomics-Proteomics*, 13(4), pp.311-316.
- Wang, F., Wong, S.C., Chan, L.W., Cho, W., Yip, S.P. and Yung, B.Y., 2014. Multiple regression analysis of mRNA-miRNA associations in colorectal cancer pathway. *BioMed research international*, 2014.
- Wang, X., Zhang, H., Yang, H., Bai, M., Ning, T., Deng, T., Liu, R., Fan, Q., Zhu, K., Li, J. and Zhan, Y., 2020. Exosome-delivered circRNA promotes glycolysis to induce chemoresistance through the miR-122-PKM2 axis in colorectal cancer. *Molecular Oncology*.
- Weber, J.A., Baxter, D.H., Zhang, S., Huang, D.Y., How Huang, K., Jen Lee, M., Galas, D.J. and Wang, K., 2010. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clinical chemistry*, 56(11), pp.1733-1741.
- Wright, M., Beaty, J.S. and Ternent, C.A., 2017. Molecular markers for colorectal cancer. *Surgical Clinics*, 97(3), pp.683-701.
- Wu, W., Sun, M., Zou, G.M. and Chen, J., 2007. MicroRNA and cancer: Current status and prospective. *International journal of cancer*, 120(5), pp.953-960.

Xue, L., Williamson, A., Gaines, S., Andolfi, C., Paul-Olson, T., Neerukonda, A., Steinhagen, E., Smith, R., Cannon, L.M., Polite, B. and Umanskiy, K., 2018. An Update on Colorectal Cancer. *Current problems in surgery*, 55(3), p.76.

Yamagishi, H., Kuroda, H., Imai, Y. and Hiraishi, H., 2016. Molecular pathogenesis of sporadic colorectal cancers. *Chinese journal of cancer*, 35(1), p.4.

Yi, R., Qin, Y., Macara, I.G. and Cullen, B.R., 2003. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes & development*, 17(24), pp.3011-3016.

Zhang, Z., Zhang, G., Kong, C., Bi, J., Gong, D., Yu, X., Shi, D., Zhan, B. and Ye, P., 2015. EIF2C, Dicer, and Drosha are up-regulated along tumor progression and associated with poor prognosis in bladder carcinoma. *Tumor Biology*, 36(7), pp.5071-5079.

Zhao, M.Y., Wang, L.M., Liu, J., Huang, X. and Zhang, Y.F., 2018. MiR-21 suppresses anoikis through targeting PDCD4 and PTEN in human esophageal adenocarcinoma. *Current medical science*, 38(2), pp.245-251.

Zhu, H., Dougherty, U., Robinson, V., Mustafi, R., Pekow, J., Kupfer, S., Li, Y.C., Hart, J., Goss, K., Fichera, A. and Joseph, L., 2011. EGFR signals downregulate tumor suppressors miR-143 and miR-145 in western diet-promoted murine colon cancer: role of G1 regulators. *Molecular cancer research*, 9(7), pp.960-975.

Zhu, M., Huang, Z., Zhu, D., Zhou, X., Shan, X., Qi, L.W., Wu, L., Cheng, W., Zhu, J., Zhang, L. and Zhang, H., 2017. A panel of microRNA signature in serum for colorectal cancer diagnosis. *Oncotarget*, 8(10), p.17081.

Zhu, X., Ma, S.P., Yang, D., Liu, Y., Wang, Y.P., Lin, T., Li, Y.X., Yang, S.H., Zhang, W.C. and Wang, X.L., 2018. miR-142-3p Suppresses Cell Growth by Targeting CDK4 in Colorectal Cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 51(4), pp.1969-1981.



## Internetové zdroje

Iccp-portal.org. 2020. *GLOBOCAN 2018 | ICCP Portal*. [online] Available at: <<https://www.iccp-portal.org/news/globocan-2018>> [Accessed 26 May 2020].

Old.uzis.cz. 2020. *ÚZIS ČR | Ústav Zdravotnických Informací A Statistiky ČR*. [online] Available at: <<https://old.uzis.cz/en>> [Accessed 26 May 2020].

## Knižní zdroje

Slabý, O. and Svoboda, M., 2012. *Mikrorna V Onkologii*. Praha: Galén.