

**METASTAZUJÍCÍ KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM:
NOVÁ PARADIGMATA, NOVÉ VÝZVY**

Kniha vyšla za laskavé podpory společností:



MERCK



Doc. MUDr. Jan Bauer, CSc., MBA

METASTAZUJÍCÍ KOLOREKTÁLNÍ KARCINOM:

Nová paradigmata, nové výzvy

AUTOR

■ Doc. MUDr. Jan Bauer, CSc., MBA

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ

Autor i nakladatel vynaložili velkou péči a úsilí, aby všechny informace v knize obsažené týkající se dávkování léků a forem jejich aplikace odpovídaly stavu vědy v okamžiku vydání. Nakladatel však za údaje o použití léků, zejména o jejich indikacích, kontraindikacích, dávkování a aplikačních formách, nenese žádnou odpovědnost, a vylučuje proto jakékoli přímé či nepřímé nároky na úhradu eventuálních škod, které by v souvislosti s aplikací uvedených léků vznikly. Každý uživatel je povinen důsledně se řídit informacemi výrobců léčiv, zejména informací přiloženou ke každému balení léku, který chce aplikovat.

Ochranné obchodní známky (chráněné názvy) léků ani dalších výrobků nejsou v knize zvlášť zdůrazňovány. Z absence označení ochranné známky proto nelze vyvozovat, že v konkrétním případě jde o název nechráněný.

Toto dílo, včetně všech svých částí, je zákonem chráněno. Každé jeho užití mimo úzké hranice zákona je nepřípustné a je trestné. To se týká zejména reprodukování či rozšiřování jakýmkoli způsobem (včetně mechanického, fotografického či elektronického), ale také ukládání v elektronické formě pro účely rešeršní i jiné. K jakémukoli využití díla je proto nutný písemný souhlas nakladatele, který také stanoví přesné podmínky využití díla. Písemný souhlas je nutný i pro případy, ve kterých může být udělen bezplatně.

Jan Bauer, Metastazující kolorektální karcinom: Nová paradigmatata, nové výzvy

© Jan Bauer, 2022

© Maxdorf, 2022

Illustrations © Maxdorf, 2022

Cover layout © Maxdorf, 2022

Cover photo © iStockPhoto.com / ktsimage

Vydal Maxdorf s. r. o., nakladatelství odborné literatury, Na Šejdru 247/6a, 142 00 Praha 4

e-mail: info@maxdorf.cz, internet: www.maxdorf.cz

Jessenius® je chráněná značka [No. 267113] označující publikace určené odborné zdravotnické veřejnosti

Odpovědný redaktor: **Ing. Veronika Pátková**

Jazyková redakce: **Mgr. Zuzana Samohylová**

Ilustrace: **Ing. Jaroslav Nachtigall, Ph.D., MUDr. Jan Hugo**

Sazba: **Denisa Honzalová**

Tisk: Books Print s.r.o.

Printed in the Czech Republic

ISBN 978-80-7345-730-3

OBSAH

Předmluva	6
Úvod	10
1 Biologie a imunologie kolorektálního karcinomu	12
1.1 Sporadické, hereditárně podmíněné a s chronickou kolitidou spojené kolorektální karcinomy	13
1.2 Genetické a epigenetické změny	14
1.3 Imunologie kolorektálního karcinomu	24
1.4 Genomické a imunologické klasifikace kolorektálního karcinomu	32
1.5 Buněčné signální cesty podléající se na vzniku kolorektálního karcinomu	36
1.6 Rozdělení kolorektálních nádorů podle lokalizace primárního nádoru. . . .	52
1.7 Mikrobiota, mikrobiom a kolorektální karcinom	57
2 Diagnostika a léčebné cíle u metastazujícího kolorektálního karcinomu	68
2.1 Diagnostická vyšetření před zahájením a v průběhu léčby metastazujícího kolorektálního karcinomu	68
2.2 Strategie protinádorové terapie	76
2.3 Účinnost systémové protinádorové léčby a její hodnocení	84
2.4 Prognostické a prediktivní faktory u metastazujícího kolorektálního karcinomu	94
2.5 Léčebné cíle u metastazujícího kolorektálního karcinomu	97
3 Terapie metastazujícího kolorektálního karcinomu	101
3.1 Postavení a význam chirurgické léčby u metastazujícího kolorektálního karcinomu	103
3.2 Současné možnosti systémové farmakoterapie metastazujícího kolorektálního karcinomu	118
3.3 Inhibitory buněčných signálních cest v léčbě metastazujícího kolorektálního karcinomu	135
3.4 Léčba zacílená na kontrolní body imunity	161
3.5 Současné možnosti systémové léčby metastazujícího kolorektálního karcinomu v kontextu personalizované a precizní medicíny	172
3.6 Toxicita systémové léčby	196

3.7	Systémová léčba v rámci personalizované a precizní medicíny u metastazujícího kolorektálního karcinomu: Souhrn	199
4	Přehled výsledků hodnocení systémové léčby v klinických studiích u metastazujícího kolorektálního karcinomu	207
4.1	Léčba 1. linie	207
4.2	Léčba 2. a 3. linie	255
4.3	Cílená léčba metastazujícího kolorektálního karcinomu s pozitivitou <i>BRAF</i> mutace	268
4.4	Inhibitory kontrolních bodů imunity v léčbě metastazujících kolorektálních karcinomů	271
	Přehled použitých zkratk	284
	Seznam obrázků	288
	Medailonek autora	289
	Rejstřík	290

ÚVOD

Epidemiologie kolorektálního karcinomu

Kolorektální karcinom (CRC) celosvětově odpovídá zhruba 10 % všech nových nádorových onemocnění a 8,5 % nádorových úmrtí. Údaje z Mezinárodní asociace nádorových registrů (IACR) ukazují, že v roce 2018 bylo celosvětově zaregistrováno více než 1,8 milionu nových případů. Tento počet řadí kolorektální karcinom co do celosvětové incidence na 3. místo, za nádory plic a nádory prsu, jejichž počty v roce 2018 překročily 2 miliony nových případů. Počet úmrtí v důsledku CRC činil v roce 2018 zaokrouhleně 0,9 milionu, což činilo z CRC druhou nejčastější příčinu nádorového úmrtí, hned po nádorech plic.

Incidence a mortalita kolorektálního karcinomu v České republice

Podle údajů z Národního onkologického registru České republiky, za období od roku 1997 do roku 2017, je medián počtu nově zjištěných kolorektálních karcinomů 8039 a průměr 7977 nových případů ročně. Zhruba 61 % představují karcinomy tračnicku, 11 % karcinomy esovité kličky a 28 % karcinomy rekta. Kolorektální karcinom je diagnostikován častěji u mužů (60 %) než u žen (40 %), přičemž v případě karcinomu tlustého střeva byl rozdíl mezi muži a ženami nižší (56,9 % vs. 43,1 %) než u karcinomů sigmoidea (63,6 % vs. 36,4 %) či karcinomů rekta (65,3 % vs. 34,7 %). Kumulativní riziko vzniku CRC je do věku 50 let 0,3 % do věku 70 let vzroste na ~4 % a ve věku 80–84 dosáhne hodnoty ~12 %. Medián věku při stanovení diagnózy je ~70 let. Přehled počtu nově diagnostikovaných CRC v různých věkových skupinách ukazuje tabulka 1.

Co se počtu úmrtí týká, v období 1997–2009 se absolutní počty úmrtí pohybovaly, při meziročním kolísání, mezi 4346–4663 případů, avšak od roku 2009 se počty úmrtí postupně snižují. V roce 2017 byl celkový počet zemřelých s diagnózou CRC 3646. Z tohoto počtu bylo 60,6 % mužů a 39,4 % žen. Rozdíl v relativním počtu úmrtí mezi muži a ženami byl menší u karcinomů tlustého střeva (56,9 % vs. 43,1 %) než u karcinomů sigmoidea (61,25 % vs. 38,75 %) a karcinomů rekta (67,3 % vs. 32,7 %).

■ Tabulka 1 Věkové rozložení incidence kolorektálního karcinomu v ČR (SVOD 2017)

Věk	0–19	20–44	45–54	55–64	65–74	75–84	85+
Absolutní počet (n)	16	235	523	1348	2759	1814	639
Relativní počet (%)	0,2	3,2	7,1	18,4	37,7	24,7	8,7

Index mortalita/incidence vykazuje setrvalý pokles a od roku 1997, kdy činil 0,63, poklesl v roce 2017 na 0,497. Nicméně pro metastazující kolorektální karcinom (stadium IV) byla hodnota indexu mortalita/incidence poměrně vysoká (0,832). Vzhledem k tomu, že procentuální zastoupení pokročilých stadií (stadium III, IV a stadium neznámo) se od roku 1997 významně nezměnilo a pohybuje se setrvale mezi 55 % a 60 %, lze usuzovat, že pokles indexu mortalita/incidence je spíše odrazem zlepšené účinnosti léčebné péče než efektivního skríningu.

Metastazující kolorektální karcinom

Metastazující kolorektální karcinom (mCRC) je klasifikován jako stadium IV. V České republice je jako stadium IV nově diagnostikováno v průměru ~20 % ze všech nově diagnostikovaných CRC. Jedná se tedy o primární CRC s již přítomnými, synchronními metastázami. U dalších ~40 % pacientů s onemocněním ve stadiu I-III dojde v průběhu 5 let od resekce primárního nádoru k relapsu a vytvoření metachronních vzdálených metastáz. Celkový roční počet pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem indikovaných k systémové léčbě lze odhadovat na čtyři tisíce.

Stadium IV lze podle TNM/AJCC klasifikace dále rozdělit na stadium IVA, kdy se kolorektální karcinom rozšířil do jedné vzdálené oblasti či orgánu, IVB, kdy jsou metastaticky postiženy ≥ 2 vzdálené oblasti či orgány, a IVC, kdy se nádor rozšířil na peritoneum. Toto podrozdělení stadia IV má prognostický význam – pravděpodobnost dlouhodobého přežití v kontrolovaných klinických studiích je významně vyšší u nádorů stadia IVA než u nádorů stadia IVC. Nejčastěji metastaticky postiženým orgánem jsou játra, následovaná plicemi. Méně často zjišťujeme metastatická postižení vzdálených lymfatických uzlin a peritonea. Ta jsou častější zejména u „pravostranných“ nádorů (cékum, vzestupný a příčný tračník).

V průběhu prvních 5 let od stanovení diagnózy metastazujícího karcinomu počet přežívajících pacientů rychle klesá ze zhruba 80–90 % v prvním roce na 15 % v 5. roce. V dalších letech je křivka úmrtí plochá a 10leté přežití se pohybuje kolem 12 %. Pokud bychom hodnotili nádorově specifické přežití (CSS), kdy jsou započítávána pouze potvrzená úmrtí v důsledku generalizace CRC, pak jsou hodnoty 10letého přežití u stadia IV vyšší zhruba o 4 %. Z toho lze usuzovat, že pokročilý věk a s ním spojená jiná onemocnění, především kardiovaskulární a pneumologická, zásadně neovlivňují míru úmrtnosti u pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem.

REFERENCE

1. SVOD 2017; www.svod.cz
2. Novotvary ČR (2016); www.uzis.cz
3. Compton CC, Hess KR, Sullivan DC, et al. AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York: Springer; 2017. p. 252–4.
4. Weiser MR. AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer. *Annals of Surgical Oncology*. 2018;25:1454–5.

1 BIOLOGIE A IMUNOLOGIE KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU

Karcinomy tlustého střeva a konečníku – kolorektální karcinomy (CRC) – vznikají v důsledku genetických změn, genových a chromosomálních mutací, v epiteliálních buňkách střevní sliznice. V průběhu vývoje primárního nádoru a jeho progresu do nádoru metastazujícího jsou genetické změny často provázeny i změnami epigenetickými, zejména změnami v metylaci promotorových sekvencí DNA a acetylaci bazických regulačních proteinů, histonů. Za hranici letálního rozsahu nádorového onemocnění se počítá nádorová masa v řádu miliardy (10^{12}) nádorových buněk. K dosažení takovéto masy je zapotřebí zhruba 40 zdvojení celkového počtu buněk. Zatímco vývoj od počáteční nádorové transformace do klinicky manifestního nádoru může trvat i desítky let, časový interval progresu do stadia metastazujícího kolorektálního karcinomu je řádově kratší.

MOLEKULÁRNÍ A BIOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU

V obecné rovině můžeme kolorektální karcinomy (CRC) rozdělit na sporadické (~80 %) a dědičně podmíněné (~20 %). Sporadický kolorektální karcinom (sCRC) je definován jako nádor vznikající bez přispění známých zárodečných mutací nebo bez rodinné nádorové anamnézy a jen vzácně se vyskytne ve věku < 40 let. Sporadické CRC vznikají v důsledku nahromadění somatických mutací a epigenetických změn. Podle četnosti mutací můžeme CRC rozdělit na nádory s nízkou (~84 %) nebo vysokou (~16 %) mutační zátěží.

Hypermutované nádory jsou charakterizovány defektem v systému opravy poškozené DNA, což se projeví přítomností mikrosatelitní nestability (MSI) a fenotypem epigenetické hypermetylace (CIMP). Klíčovým faktorem, který vede k rozvoji mikrosatelitní nestability, je porucha systému opravy chybného párování DNA (MMR). U defektního systému (dMMR) je frekvence mutací 100–700× vyšší než u plně funkčního systému (pMMR), přičemž frekvence mutací je v oblasti mikrosatelitů vyšší než v jiných oblastech DNA.

Frekvence nejčastějších genových mutací se výrazně liší mezi karcinomy s mikrosatelitní stabilitou (MSS) a nádory s MSI-H. Zatímco u kolorektálních karcinomu s MSS přesahují frekvenci 10 % pouze mutace *APC*, *TP-53*, *KRAS* a *PIK3CA*, u nádorů s MSI-H jsou to ještě mutace *PTEN*, *BRAF*, *CTNNB1* a *BRCA2*.

Více než 70 % ze všech MSI-H CRC je lokalizováno ve vzestupném, případně příčném tračniku, v sestupném tračniku a esovitě kličce je frekvence MSI-H ~20 % a v konečniku ~10 %. Kolorektální karcinomy s vysokou mikrosatelitní nestabilitou (MSI-H CRC) jsou charakterizovány mucinózní histopatologií, chabou diferenciací a hojnou lymfocytární infiltrací a zvýšenou expresí různých, inhibičně působících molekul kontrolních bodů imunity (např. PD-1, PD-L1 či CTLA-4) v nádorovém mikroprostředí.

Na vzniku a progresivním vývoji CRC se kromě genetických změn podílejí významnou měrou též změny epigenetické, zejména abnormální metylace DNA. U kolorektálního karcinomu se v souvislosti s abnormální metylací CpG ostrůvků DNA hovoří o fenotypu metylátoru, zkráceně CIMP, který lze zjistit zhruba u 17 % CRC.

Kolorektální karcinomy s vysokou mikrosatelitní nestabilitou (MSI-H) téměř bez výjimky vykazují vysokou míru metylace CIMP-H. V důsledku toho je snížena nebo zcela utlumena tvorba proteinu MLH1, který je nepostradatelnou součástí systému opravy chybného párování bázi DNA (mismatch repair/MMR) a je otevřena cesta ke vzniku většího množství mutací.

1.1 SPORADICKÉ, HEREDITÁRNĚ PODMÍNĚNÉ A S CHRONICKOU KOLITIDOU SPOJENÉ KOLOREKTÁLNÍ KARCINOMY

Karcinomy tlustého střeva a konečniku lze v obecné rovině rozdělit na hereditárně podmíněné a sporadické.

Hereditárně podmíněné nádory představují přibližně jednu čtvrtinu všech kolorektálních karcinomů, nicméně pouze 5 % vzniká na podkladě dobře definovaných hereditárních, autozomálně dominantních syndromů (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom – HNPCC, familiární adenomatózní polypóza – FAP, případně Peutzův-Jeghersův syndrom – PJS a syndrom juvenilní polypózy – JPS), či autozomálně recesivního syndromu MUTYH adenomatózní polypózy (MAP). U zbývajících ~20 % hereditárně podmíněných CRC není jejich etiologie zcela objasněna a jejich klasifikace se zatím opírá a charakteristiky zjištěné v populačních rodinných a příbuzenských studiích. Patří sem hereditární smíšený polypózní syndrom (HMPS), PPAP syndrom, NAP syndrom a Cowdenův syndrom.

Sporadické kolorektální karcinomy (sCRC) jsou definovány jako nádory vznikající bez přispění známých zárodečných mutací nebo bez rodinné nádorové anamnézy. Jejich vznik je přičítán dietetickým a jiným faktorům zevního prostředí. Sporadické CRC představují zhruba ¾ ze všech kolorektálních karcinomů. Na rozdíl od hereditárně podmíněných karcinomů, které se často vyskytují ve věku < 40 let, sporadické karcinomy se v mladším věku vyskytují jen zřídka, avšak od 40. roku věku riziko jejich vzniku setrvale roste.

Jako samostatná jednotka se uvádí kolorektální karcinom vznikající v souvislosti s chronickou kolitidou (CAC) – ulcerózní kolitidou, Crohnovou chorobou. Riziko vzniku karcinomu je u pacientů se zánětlivým onemocněním střev (IBD) 1,5–2× vyšší než v běžné populaci a roste s délkou trvání IBD. U pacientů s ulcerózní kolitidou (UC) je riziko vzniku karcinomu odhadováno v rozmezí 0,2–1,6 % při trvání UC 10 let, ale při trvání UC 30 let je odhad výrazně větší, v rozmezí 3–18 %.

Ačkoliv CAC představuje zhruba jen 1 % ze všech CRC, je příčinou úmrtí u 10–15 % pacientů s aktivním zánětlivým onemocněním střev (IBD). Spektrum mutací podílejících se na vzniku CAC je obdobné jako u klasického sporadického CRC (viz dále), nicméně lze zjistit rozdíly v časovém uplatnění řídicích mutací. Kromě toho se na patogenezi CAC významně podílejí prozánětlivé cytokiny IL-6, NFκB a STAT3. Sekvence histopatologických změn u CAC a klasického sporadického CRC se výrazně liší. Prvým rozdílem je to, že u CAC se až u jedné třetiny případů jedná o multifokální nádorové postižení střevní sliznice, zatímco u sporadického CRC se obvykle jedná o vznik monofokální adenomatózní léze progredující do ložiskového adenokarcinomu a frekvence víceložiskového karcinomu se pohybuje pouze mezi 3 a 5 %.

1.2 GENETICKÉ A EPIGENETICKÉ ZMĚNY

1.2.1 Genové mutace

Kolorektální karcinomy vznikají v důsledku nahromadění genetických i epigenetických změn. Odhaduje se, že z celkového počtu ~20 000 dosud identifikovaných genů lidského genomu je se vznikem CRC spojeno 138 řídicích genů (74 onkosupresorických genů a 64 onkogenů).

V roce 1990 Fearon a Vogelstein navrhli lineární model vzniku CRC v sekvenci polyp/adenom/karcinom/metastazující karcinom, který zahrnuje ty nejdůležitější mutace řídicí vývojový cyklus CRC. Tento model je nicméně pouhým zjednodušením značně složitých vztahů mezi genomickými a epigenetickými buněčnými charakteristikami a důležitými signálními cestami, které se na vzniku zhoubného nádoru podílejí.

Četná genomická vyšetření kolorektálních karcinomů v různých stádiích vývoje, včetně metastazujícího CRC, shodně naznačují, že nejčastěji mutovanými geny jsou *APC*, *RAS* a *TP53* (45–75 %), následované geny *SMAD4*, *PIK3CA* a *BRAF* (6–20 %). Mutace jiných genů se u CRC vyskytují s frekvencí ≤ 1 %.

U CRC jsou nejčastějšími mutacemi ty, které postihují onkosupresorický gen *APC* (gen adenomatózní polypózy tlustého střeva). Mutace *APC* jsou u kolorektálních karcinomů považovány za jedny z řídicích mutací, a to jak u sporadických CRC, tak hereditárně podmíněných karcinomů v rámci familiární adenomatózní polypózy (FAP).

Mutace vedou ke ztrátě funkce APC proteinu. Důsledkem je zvýšení aktivity beta-kateninu a s tím související zvýšení buněčné proliferace a snížení mezibuněčné adhezivní v důsledku snížení exprese adhezivní molekuly E-kadherinu na povrchu buněk.

Dalšími řídicími mutacemi, které vedou k progresi benigního adenomu v invazivní a metastazující karcinom, jsou mutace v signální cestě MAPK, zejména mutace genů *KRAS*, *BRAF* a *PIK3CA*. V neposlední řadě lze k řídicím mutacím počítat i mutace genů, jejichž proteiny se podílejí na aktivitě signální cesty TGF β (např. gen *SMAD4*). Rozvoj genomické nestability pak podporují mutace dalšího onkosupresorického genu *TP53* a genu *hMLH1*, který kóduje jeden z kritických proteinů systému opravy chybného spárování DNA (MMR), a *MUTYH*, který kóduje enzym DNA glykosylázu, jež je součástí systému opravy bodových mutací DNA.

V důsledku poruch v systémech reparace poškozené DNA a narůstající genomické i chromosomální nestability se v nádorových buňkách postupně hromadí větší počty různých mutací. Většina z nich jsou tzv. pasažerské mutace, které nádorovým buňkám nepřinášejí žádnou selektivní výhodu z hlediska proliferace a invazivity, ale mohou ovlivňovat některé jiné biologické a funkční vlastnosti nádorových buněk, které jim umožní se lépe přizpůsobit měnícím se podmínkám v prostředí, v němž nádor roste.

Podle četnosti mutací můžeme kolorektální karcinomy rozdělit na nádory s vysokou nebo nízkou mutační zátěží. Nádory s vysokou mutační zátěží (hypermutované) vykazují přítomnost > 12 mutací na milion nukleotidových bází a v absolutním počtu > 700 aktivních mutací. Hypermutované nádory jsou charakterizovány defektem v systému opravy poškozené DNA, což se projeví přítomností mikrosatelitní nestability (MSI) a fenotypem epigenetické hypermetylace (CIMP). Nádory s nízkou mutační zátěží vykazují přítomnost < 8 mutací na milion nukleotidových bází a celkem < 58 aktivních mutací. U CRC s nízkou mutační zátěží se častěji než bodové mutace vyskytují chromosomální aberace, z nichž některé mohou vést k vytvoření fúzních genů s onkogenním potenciálem.

Celková mutační zátěž je výrazně vyšší u pravostranných (nádory céka, vzestupného tračníku a příčného tračníku) než levostranných CRC (nádory sestupného tračníku, esovitě kličky a konečnicku), zejména jedná-li se o hodnocení primárního nádoru. U pravostranných CRC lze mnohem častěji než u levostranných CRC zjistit společnou přítomnost vysoké mutační zátěže (TMB-H) a vysoké mikrosatelitní nestability (MSI-H).

Rovněž frekvence jednotlivých mutací se mohou významně lišit v závislosti na lokalizaci primárního nádoru. To se týká zejména mutace *BRAF*, která se u pravostranných nádorů vyskytuje zhruba 3× častěji než u levostranných CRC. Rovněž *KRAS* mutace je častější u pravostranných než levostranných nádorů. Naopak mutace *TP53* jsou častější u levostranných nádorů. Frekvence mutací ostatních genů se mezi pravostrannými a levostrannými nádory více či méně překrývají. Podrobná analýza frekvence jednotlivých mutací v jednotlivých oblastech tlustého střeva ukázala značnou heterogenitu ve frekvenci jednotlivých mutací v jednotlivých oblastech. To naznačuje, že každý jednotlivý kolorektální nádor je genomicky jedinečný.

Při hodnocení vzorků vzdálených metastáz byly rozdíly v počtu mutací mezi pravostrannými a levostrannými nádory menší, i když i zde byly počty nejvyšší u metastáz pravostranných nádorů (tab. 1.1 a 1.2).

■ **Tabulka 1.1** Počet mutací v nádoru a četnost nádoru s vysokou mutační zátěží (upraveno podle Salem ME, 2018)

	Průměrný počet mutací v nádoru (TMB)	Četnost nádorů s ≥ 17 mutacemi (TMB-H), %
PRIMÁRNÍ NÁDOR (N = 1004)		
pravostranné nádory	14,0	16,9
levostranné nádory	10,9	4,0
nádory rekta	8,2	3,1
VZDÁLENÉ METASTÁZY (N = 489)		
pravostranné nádory	9,8	6,9
levostranné nádory	7,9	2,1
nádory rekta	8,3	2,6

TMB – celková mutační zátěž (absolutní počet mutací v nádoru), TMB-H – nádory s vysokou mutační zátěží (definováno počtem mutací ≥ 17)

■ **Tabulka 1.2** Přehled frekvence nejčastěji detekovaných genových mutací u CRC stadia IV (upraveno podle Loree JM, 2018)

	Celkem CRC	Pravostranné CRC	Levostranné CRC	Rektum*	p (pravostranné vs. levostranné)
Počet vzorků	1876	604	850	422	
FREKVENCE GENOVÝCH MUTACÍ, % (ROZPĚTÍ)[§]					
TP53	65	57 (53–67)	68 (58–74)	69	< 0,0001
KRAS	48	58 (43–66)	40 (38–45)	51	< 0,0001
APC	45	44 (40–56)	46 (43–47)	44	0,63
PIK3CA	15	20 (16–25)	14 (0–26)	10	< 0,0001
SMAD4	12	16 (8–20)	10 (9–14)	11	0,0020
BRAF (V600)	6	13 (6–22)	4 (3–9)	1	< 0,0001
FBXW7	8	7 (3–11)	7 (6–9)	10	0,16
NRAS	4	4 (0–5)	4 (0–5)	5	0,82
PTEN	2	5 (3–6)	2 (1–3)	1	< 0,0001
ATM	2	3 (0–7)	2 (2–4)	2	0,64
CTNNB1	2	3 (1–6)	1 (0–6)	1	0,003
GNAS	2	3 (0–4)	1 (1–3)	1	< 0,0001

* Nádory v oblasti rekta jsou v některých hodnoceních uváděny jako samostatná podjednotka, častěji jsou však zahrnovány do podskupiny levostranných CRC.

[§] Rozpětí se týká frekvence v jednotlivých oblastech lokalizace: u pravostranných nádorů v oblasti céka, vzestupného tračníku, jaterního ohbí, příčného tračníku a slizinného ohbí; u levostranných nádorů sestupného tračníku, esovitě klíčky a rektosigmoidálního přechodu.

Hodnocení shody/neshody v typu a frekvenci mutací mezi primárním nádorem a jeho metastázami ukázala vysokou míru shody (90–100 %) pro mutace *APC*, *TP53*, *RAS* a *BRAF*. Menší shoda byla zjištěna u mutací *SMAD4* (< 80 %) a *PIK3CA* (≤ 50 %).

Počet mutací shodně sdílených primárním nádorem i jeho metastázami byl v průměru 47 % a byl větší u levostranných než pravostranných CRC. Shoda mezi primárním nádorem a jeho metastázami byla celkově větší v případech jaterních než plicních a zejména uzlinových metastáz.

Podíl mutací zjištěných výlučně v primárním nádoru nebo výlučně v metastáze byl shodně zhruba 12 %. Celkový počet nově vzniklých mutací se výrazně nelišil mezi synchronními a metachronními metastázami, ačkoliv u metachronních jaterních metastáz byl zjištěn značný nárůst některých specifických mutací, jejichž frekvence v primárních nádorech je velmi nízká, například mutace genu *BRCA2*.

REFERENCE

- Carethers JM, Jung BH. Genetics and Genetic Biomarkers in Sporadic Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2015;149:1177–90.
- Carethers JM, Stoffel EM. Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: The growing complex landscape of hereditary colon cancer. *World J Gastroenterol*. 2015;21:9253–61.
- Chiba K, Lorbeer FK, Shain AH, et al. Mutations in the promoter of the telomerase gene *TERT* contribute to tumorigenesis by a two-step mechanism. *Science*. 2017;357:1416–20.
- Clevers H. The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell*. 2013;154:274–84.
- De Lerma B, Perletti G, Bonapace IM, Monti E. Inflammatory cues acting on the adult intestinal stem cells and the early onset of cancer. *Int J Oncol*. 2014;45:959–68.
- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61:759–67.
- Jafri MA, Ansari SA, Algahtani MH, Shay JW. Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genom Med*. 2016;8:69.
- Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW: Hereditary and Familial Colon Cancer. *Gastroenterology*. 2010;138:2044–58.
- Kameyama H, Nagahashi M, Shimada Y, et al. Genomic characterization of colitis-associated colorectal cancer. *World J Surg Oncol*. 2018;16:121.
- Král J, Slyšková J, Vodička P, Špičák J. Molecular Pathogenesis of Colorectal Cancer. *Klinická onkologie*. 2016;29:419–27.
- Lorans M, Dow E, Macrae FA, et al. Update on Hereditary Colorectal Cancer: Improving the Clinical Utility of Multigene Panel Testing. *Clinical Colorectal Cancer*. 2018;17:e293–e305.
- Loree JM, Pereira AAL, Lam M, Willauer AN, et al. Classifying Colorectal Cancer by Tumor Location Rather than Sidedness Highlights a Continuum in Mutation Profiles and Consensus Molecular Subtypes. *Clin Cancer Res*. 2018;24:1062–72.
- Maciejowski J, de Lange T. Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2017;18:175–86.
- Mao C, Wu XY, Yang ZY, et al. Concordant analysis of *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* mutations, and *PTEN* expression between primary colorectal cancer and matched metastases. *Scientific Reports*. 2015;5:8065.
- Mogensen MB, Rossing M, Ostrup O, et al. Genomic alterations accompanying tumour evolution in colorectal cancer: tracking the differences between primary tumours and synchronous liver metastases by whole-exome sequencing. *BMC Cancer*. 2018;18:752.
- Nguyen HT, Duong HQ. The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy. *Oncology Letters*. 2018;16:9–18.
- Palles C, Cazier JB, Howarth KM, et al. Germline mutations in the proof-reading domains of *POLE* and *POLD1* predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nature Genetics*. 2013;45:136–44.

18. Peluso G, Incollingo P, Calogero A, et al. Current Tissue Molecular Markers in Colorectal Cancer: A Literature Review. *BioMed Research International*. 2017;2017:2605628.
19. Plevová P. Nové poznatky o geneticky podmíněných nádorech tlustého střeva a polypózách gastrointestinálního traktu. *Klinická onkologie*. 2019;32:97–108.
20. Salem ME, Puccini A, Grothey A, et al. Landscape of Tumor Mutation Load, Mismatch Repair Deficiency, and PD-L1 Expression in a Large Patient Cohort of Gastrointestinal Cancers. *Mol Cancer Res*. 2018;16:805–12.
21. Schweiger T, Liebmann-Reindl S, Glueck O, et al. Mutational profile of colorectal cancer lung metastases and paired primary tumors by targeted next generation sequencing: implications on clinical outcome after surgery. *J Thorac Dis*. 2018;10:6147–57.
22. Sonoshita M, Itatani Y, Kakizaki F, et al. Promotion of colorectal cancer invasion and metastasis through activation of NOTCH–DAB1–ABL–RHOGEF protein TRIO. *Cancer Discov*. 2015;5:198–211.
23. Stanich PP, Owens VL, Sweetser S, et al. Colonic polyposis and Neoplasia in Cowden Syndrome. *Mayo Clin Proc*. 2011;86:489–92.
24. Stoffel EM, Koeppel E, Everett J, et al. Germline Genetic Features of Young Individuals With Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2018;154:897–905.
25. Tauriello DV, Calon A, Lonardo E, Batlle E. Determinants of metastatic competency in colorectal cancer. *Molecular Oncology*. 2017;11:97–119.
26. Todaro M, Gaggianesi M, Catalano V, et al. CD44v6 Is a Marker of Constitutive and Reprogrammed Cancer Stem Cells Driving Colon Cancer Metastasis. *Cell Stem Cell*. 2014;14:342–56.
27. Tominaru Y, Noura S, Ohue M, et al. Metastatic tumor doubling time is an independent predictor of intrapulmonary recurrence after pulmonary resection of solitary pulmonary metastasis from colorectal cancer. *Dig Surg*. 2008;25:220–25.
28. Tomlinson I. An update on the molecular pathology of the intestinal polyposis syndromes. *Diagnostic Histopathology*. 2015;21:147–51.
29. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;339:1546–58.

1.2.2 Mikrosatelity a mikrosatelitní nestabilita u kolorektálního karcinomu

Mikrosatelity jsou krátké tandemově se opakující sekvence 2–6 nukleotidových párů DNA, přičemž počet opakování se pohybuje v rozmezí od 5 do 50. Celková délka mikrosatelitů je inter-individuálně značně variabilní, ale u jedince je jejich délka obvykle shodná. V lidském genomu se mikrosatelity vyskytují v tisících různých lokalizací, převážně v proteiny nekódujících, regulačních sekvencích DNA. Mikrosatelity jsou mimořádně vnímavé ke vzniku chyb v situaci, kdy je narušena funkce genů pro MMR.

Klíčovým faktorem, který vede ke změnám mikrosatelitů, je porucha systému opravy chybného párování DNA (MMR). U defektního systému (dMMR) je frekvence mutací 100–700× vyšší než u plně funkčního systému (pMMR), přičemž frekvence mutací je v oblasti mikrosatelitů vyšší než jinde v částech DNA.

Vyšetření MSI lze provádět buď pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR), kdy se zjišťují mutace v mikrosatelitní DNA, nebo pomocí imunohistochemie (IHC), zaměřené na průkaz změněných proteinů ze systému MMR. V současné době se jako standardní používá metoda PCR. Ta používá standardizované panely pěti mikrosatelitních markerů. V budoucnu by měly být vyvinuty panely vysoce senzitivních a specifických mikrosatelitních markerů umožňujících detekci MSI u celého širokého spektra nádorů, společně s kombinovanými metodami hodnocení.

Při hodnocení stavu mikrosatelitů u nádorů se porovnávají nálezy v nádorových buňkách proti nálezům v normálních, zdravých buňkách. Pokud je počet opakujících se mikrosatelitních sekvencí DNA v nádorových buňkách stejný jako v normálních buňkách hovoříme o mikrosatelitní stabilitě (MSS). Pokud je v nádorových buňkách zjištěn odlišný počet mikrosatelitů než je počet v normálních buňkách, hovoříme o mikrosatelitní nestabilitě (MSI), která je definována jako mutací vyvolaná změna v délce/počtu mikrosatelitů, a to inzercí (zmnožením) nebo delecí (úbytkem) opakujících se sekvencí. MSI se hodnotí pomocí panelů zahrnujících 5 mikrosatelitních markerů:

- vysoká mikrosatelitní nestabilita (MSI-H): ≥ 2 markery jednoho panelu vykazují nestabilitu nebo $> 30\%$ ukazatelů v jiných panelech vykazují nestabilitu
- nízká mikrosatelitní nestabilita (MSI-L): 1 z 5 markerů daného panelu vykazují nestabilitu nebo $< 30\%$ ukazatelů v jiných panelech vykazují nestabilitu
- mikrosatelitní stabilita (MSS): žádný z markerů nevykazuje nestabilitu

U kolorektálních karcinomů za MSI obvykle stojí epigenetická inaktivace *hMLH1* genu způsobená hypermetylací promotorových sekvencí (70–95 % případů). Vysokou mikrosatelitní nestabilitu (MSI-H) lze zjistit až u 20 % kolorektálních karcinomů (CRC). Ve většině se jedná o sporadické CRC. Z hereditárních CRC lze zjistit MSI-H téměř výlučně u hereditárních nepolypózních kolorektálních karcinomů (HNPCC), u nichž je MSI-H přítomna až v 90 % případů. Oproti tomu hereditární karcinomy vznikající v rámci syndromů FAP, MAP, PJS či SPS vykazují až na výjimky MSS či MSI-L. U metastazujících CRC se frekvence MSI-H pohybuje okolo 5 %.

MSI-H CRC jsou charakterizovány mucinózní histopatologií, chabou diferenciací a hojnou lymfocytární infiltrací. Více než 70 % ze všech MSI-H CRC je lokalizováno ve vzestupném, případně příčném tračníku.

U CRC stadií I–III je MSI-H spojena s celkově lepší prognózou ve srovnání s MSS CRC. Lepší prognóza primárního MSI-H CRC nejspíše souvisí s tvorbou pozměněných proteinů, které mohou být rozpoznávány jako nové peptidové antigeny (nádorové neoantigeny), proti kterým může působit buněčná imunita nositele nádoru. Pro to svědčí výrazně zvýšená infiltrace nádoru cytotoxickými CD8+ T buňkami.

Naopak u metastazujícího CRC je přítomnost MSI-H negativním prognostickým ukazatelem. V tomto stadiu zřejmě převažuje negativní vliv změn v kódujících mikrosatelitech, který se projeví útlumem funkce onkosupresorických proteinů. MSI-H lze častěji zjistit u pravostranných nádorů, u nichž je zvýšené riziko relapsu a častější peritoneální metastatické postižení.

Ačkoliv MSI-H je častější u CRC nesoucích mutaci *BRAF* (až 50 %) než u CRC s divokou formou *BRAF* (~9 %), vzájemná závislost přítomnosti MSI-H a mutace *BRAF* nebyla potvrzena. MSI-H nádory jsou mimo jiné charakterizovány výrazně zvýšenou expresí různých inhibičně působících molekul kontrolních bodů imunity (PD-1/PD-L1, CTLA-4, LAG-3 nebo IDO).

1.2.3 Chromosomální nestabilita

Chromosomální nestabilita (CIN) je další charakteristikou nádorových onemocnění a představuje ztrátu přesnosti segregace chromosomů v průběhu mitózy. CIN lze zjistit zhruba u 85 % CRC. V rámci CIN lze rozlišovat numerickou CIN, která je charakterizována ztrátou nebo zmnožením celých chromosomů, nebo strukturální CIN, která je charakterizována ztrátou nebo získáním částí chromosomů. Numerickou CIN nelze zcela ztotožňovat s aneuploidií, neboť ta, přes změněný počet chromosomů, může být stabilizovaná, zatímco termín instabilita naznačuje setrvalou dynamiku změn. Extrémní množství změn v počtu nebo struktuře chromosomů může vyústit v rychlou reorganizaci genomu, kterou označujeme jako genomický chaos. U nádorů CIN vede k nárůstu diverzity karyotypů nádorových buněk a tím i heterogenity nádorové buněčné populace. U kolorektálního karcinomu CIN přispívá k inaktivaci divokých (nemutovaných) alel onkosupresorických genů, jako jsou *APC*, *TP53* nebo *SMAD4*, a také napomáhá nádorovým buňkám se snáze přizpůsobit stresovým podnětům z prostředí nebo vyvolaných protinádorovou cytotoxickou léčbou.

REFERENCE

1. Bagshaw AT. Functional Mechanisms of Microsatellite DNA in Eukaryotic Genome. *Genome Biol Evol.* 2017;9:2428–43.
2. Baudrin LG, Deleuze JF, How-Kit A. Molecular and Computational Methods for the Detection of Microsatellite Instability in Cancer. *Front Oncol.* 2018;8:621.
3. Carethers JM, Jung BH. Genetics and Genetic Biomarkers in Sporadic Colorectal Cancer. *Gastroenterology.* 2015;149:1177–90.
4. Copija A, Waniczek D, Witkos A et al. Clinical Significance and Prognostic Relevance of Microsatellite Instability in Sporadic Colorectal Cancer Patients. *Int J Mol Sci.* 2017;18:107.
5. de Angelis GL, Bottarelli L, Azzoni C, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed.* 2018;89:97–101.
6. Gorbunova V, Beck JT, Hofheinz RD et al. A phase 2 randomised study of veliparib plus FOLFIRI±bevacizumab versus placebo plus FOLFIRI±bevacizumab in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2019;120:183–9.
7. Jang MH, Kim S, Hwang DY, et al. BRAF-Mutated Colorectal Cancer Exhibits Distinct Clinicopathological Features from Wild-Type BRAF-Expressing Cancer Independent of the Microsatellite Instability Status. *J Korean Med Sci.* 2017;32:38–44.
8. Leichman L, Groshen S, O'Neil BH, et al. Phase II Study of Olaparib (AZD-2281) After Standard Systemic Therapies for Disseminated Colorectal Cancer. *Oncologist.* 2016;21:172–77.
9. Lochhead P, Kuchiba A, Imamura Y, et al. Microsatellite Instability and BRAF Mutation Testing in Colorectal Cancer Prognostication. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105:1151–6.
10. Nojadeh JN, Sharif SH, Sakhinia E. Microsatellite instability in colorectal cancer. *EXCLI J.* 2018;17:159–68.
11. Svrcek M, Lascols O, Cohen R, et al. MSI/MMR-deficient tumor diagnosis: Which standard for screening and for diagnosis? Diagnostic modalities for the colon and other sites: Differences between tumors. *Bull Cancer.* 2019;106:119–28.
12. Thompson SL, Bakhoun SF, Compton DA: Mechanisms of Chromosomal Instability. *Curr Biol.* 2010;20:R285–R295.
13. Vargas-Rondón N, Villegas VE, Rondón-Lagois M. The Role of Chromosomal Instability in Cancer and Therapeutic Responses. *Cancers (Basel).* 2018;10:4.
14. Yang G, Zheng R, Jin Z: Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019;145:2891–9.

1.2.4 Epigenetická abnormální metylace DNA (fenotyp CIMP) u kolorektálního karcinomu

V lidských buňkách je metylace DNA zprostředkována aktivitou enzymů metyltransferáz, které přenášejí metylovou skupinu na cytozin, který se v lineárním uspořádání vláknů DNA nachází před guaninem, se kterým je spojen fosfodiesterovou vazbou. V této souvislosti hovoříme o CpG dinukleotidech. Oblasti DNA, ve kterých jsou tyto CpG dinukleotidy hojně zastoupeny, nazýváme CpG ostrůvky. Tyto ostrůvky zahrnují sekvenci 200–2000 nukleotidových bází s $>50\%$ zastoupením dinukleotidů CpG a podílejí se na regulaci transkripční aktivity genů. CpG ostrůvky jsou hojně zastoupeny v promotorových oblastech genů, např. až 60 % genů odpovědných za kontrolu procesu buněčného dělení (onkosupresorické geny).

Methylace CpG ostrůvků potlačuje transkripci příslušných genů nejspíše tím, že umožní navázání tzv. MBD proteinu na DNA v této oblasti. MBD protein brání přístupu aktivačních transkripčních faktorů a tím zabrání transkripci příslušného genu.

DNA metyltransferázy zajišťují metylaci nově syntetizované DNA nebo udržují již existující metylaci v průběhu replikace DNA. V rámci transkripční aktivity genů je zapotřebí odstranit metylovou skupinu z CpG dinukleotidů. K té může dojít pasivně, není-li přítomna aktivita metyltransferázy, nebo aktivně prostřednictvím různých působících enzymů, které souhrnně označujeme jako demethylázy. Předpokládá se, že abnormální demethylace CpG v oblasti promotorových sekvencí proto-onkogenů vede k jejich deregulované aktivaci.

U CRC se v souvislosti s abnormální metylací CpG ostrůvků hovoří o fenotypu metylátoru CpG ostrůvků, zkráceně CIMP. Fenotyp CIMP se rozděluje na CIMP-H, CIMP-L a CIMP-N. Pro rozdělení se používá vyhodnocení počtu hypermetylovaných CpG genových oblastí:

- CIMP-H je definován jako hypermethylace ≥ 5 z 8 nejčastěji metylovaných oblastí
- CIMP-L jako hypermethylace ≤ 4 z 8 nejčastěji metylovaných oblastí
- CIMP-N/CIMP-0 jako nepřítomnost hypermethylace na všech z 8 nejčastěji metylovaných oblastech CpG ostrůvků

Fenotyp CIMP lze zjistit zhruba u 17 % CRC. Sporadické CRC s MSI-H téměř bez výjimky vykazují CIMP-H, s hypermethylací promotorové sekvence genu *MLH1*. CIMP-H je ve ~50 % případů spojen s přítomností mutace *BRAF*. Oproti tomu CRC s fenotypem CIMP-L jsou ve většině případů spojeny s mutací *KRAS* a CRC s fenotypem CIMP-N(0) vykazují vysokou frekvenci výskytu mutací *TP53*.

1.2.5 Epigenetické modifikace histonů

Histony jsou nedílnou součástí chromatinu. Jedná se o silně zásadité proteiny, které zajišťují stabilizaci a prostorové uspořádání DNA a regulují genovou aktivitu. Existuje pět základních typů histonů (H1, H2A, H2B, H3, H4 a H5), které mají různé funkční uplatnění.

Chromatin představuje dynamicky proměnlivou molekulární strukturu, jejíž základní komponentou jsou nukleosomy. Ty jsou tvořeny histonovým oktamerem, který zahrnuje vždy dvě kopie histonů H2A, H2B, H3 a H4, a sekvencí dvoušroubovice DNA obsahující celkem 146 párů nukleotidových bází. DNA je pevně omotána kolem histonového oktameru.

Aktivita histonů je regulována epigeneticky kovalentním napojením různých chemických skupin na volné konce histonů (acetylace, fosforylace, metylace, ubikvitinace atd). Největší pozornost ve vztahu k nádorům je věnována acetylaci, metylaci a fosforylaci histonů.

- Reverzibilní acetylace histonů je rychle se měnící proces acetylace, kterou zajišťují histonové acetyltransferázy (HAT) a deacetylace, kterou provádí histonové deacetylázy (HDAC). Hyperacetylace histonů obvykle vede ke zvýšení genové transkripce, deacetylace histonů naopak transkripční aktivitu tlumí.
- Reverzibilní metylaci histonů zajišťují histonové metyltransferázy (HMT) a demethylaci histonové demethyltransferázy (HDMT). Methylace histonů se týká zejména molekul argininu a lyzinu. Funkční dopad metylace a demethylace histonů je komplikovanější, v závislosti na lokalizaci ovlivňované sekvence. Zatímco metylace v některých histonových sekvencích tlumí transkripční aktivitu genů, metylace v jiném místě může naopak transkripční aktivitu zvyšovat.
- Fosforylace histonů, která vede k rozvolnění spojení histonů a DNA se týká především molekul serinu, treoninu a tyrozinu ve struktuře histonů. Za fosforylaci histonů odpovídají různé typy kináz, mezi nimi to jsou především Aurora kinázy (AK), proteinová kináza B (AKT/PKB), cyklin dependentní kinázy (CDK), proteinová kináza C (PKC), Janusova tyrozinová kináza 2 (JAK2). Z uvedeného je zřejmé, že fosforylace histonů je spojena s aktivací mnoha významných buněčných signálních cest. Fosforylace společně s acetylací histonů vede k uvolnění a zvýšení transkripce specifických genů.

Ačkoliv existují experimentální poznatky o významu i klinická zjištění o zvýšené frekvenci abnormálních epigenetických modifikací histonů ve vztahu k vzniku a progresi nádorů, a přes pozitivní *in vitro* výsledky použití inhibitorů histonových deacetyláz či histonových metyltransferáz u buněčných linií CRC, výsledky několika klinických studií fáze II s inhibitory histonové deacetylázy (entinostat, romidepsin, vorinostat) nepotvrdily jejich klinickou účinnost v léčbě CRC ani v monoterapii, ani v kombinaci s vybranými cytostatiky.

1.2.6 Mikro-RNA

Všechny typy ribonukleové kyseliny (RNA) vznikají přepisem podle vzoru DNA. Existují základní tři typy RNA, které se uplatňují v procesech syntézy proteinů:

- informační mRNA, která zprostředkuje přenos informace z DNA do struktury proteinu
- ribosomální rRNA, která je součástí protein syntetizující jednotky ribosomu a slouží k připojení mRNA na ribozom
- transportní tRNA, která na sebe váže specifickou aminokyselinu, na ribosomu se připojí na specifický nukleotidový triplet mRNA a umožní připojení odpovídající aminokyseliny k vytvářenému proteinovému řetězci

Kromě těchto nejdůležitějších typů RNA existují ještě další typy RNA, které se různým způsobem podílejí na regulaci genové exprese nebo na posttranskripčních modifikacích.

K regulačním typům RNA patří takzvané mikro-RNA (miRNA). Jedná se o malé molekuly jednovláknové nekódující RNA, které regulují genově podmíněnou proteinovou expresi tím, že podněcují degradaci mRNA a znemožní její translaci. Molekuly miRNA jsou komplementární k určitým sekvencím informační mRNA. Podílejí se na regulaci většiny fyziologických procesů (proliferace, diferenciaci, apoptóza, odpověď na stres, atd). Mikro-RNA jsou odpovědné za útlum exprese až 60% proteinů kódujících genů. Jediný typ miRNA může ovlivnit až 200 různých mRNA, ale současně různé miRNA mohou cílit na jedinou cílovou mRNA.

Tvorba miRNA začíná v jádře transkripcí DNA a vytvořením tzv. pri-miRNA, o délce stovek až tisíců nukleotidů. Následně, ještě v jádře, je pri-miRNA zkrácena na pre-miRNA. Pre-miRNA je prostřednictvím jaderného receptorového exportinu 5 transportována do cytoplasmy, kde je komplexem RNA vazebného proteinu TRBP a endoribonukleázy DICER dále redukována na vyzrálou miRNA. Vyzrálá miRNA se v cytoplasmě spojí s proteinem AGO2 a nukleoproteinem RISC (RNA induced silencing complex). Celý tento komplex se váže na cílovou molekulu mRNA a štěpí ji. Tím je potlačen proces translace (přepisu mRNA do proteinu).

V současné době databáze miRNA (miRBase) zahrnuje více než 2800 zralých miRNA.

Ve vztahu k nádorům lze rozlišit dva funkční typy miRNA:

- ty, které brání vzniku nádorů nebo omezují jejich růst (onkosupresorická – TS-miRNA)
- a naopak ty, které vznik a růst nádorů podporují (onkogenní – oncomiRNA)

Ke vzniku a progresi CRC přispívají kromě jiných především miRNA, které tlumí expresi a aktivitu APC proteinu nebo vyvolávají aberantní aktivaci Wnt signalizace, dále ty, které potlačují expresi genu *TP53* a jeho produktu, onkosupresorického proteinu p53. V této souvislosti je důležité i to, že charakter a spektrum miRNA se liší v závislosti na genových mutacích, např. mutacích *KRAS*, *BRAF*, nebo *TP53*. Obdobně se liší i mezi MSS a MSI-H CRC.