

**Univerzita Karlova**

**3. lékařská fakulta**

Disertační práce

**Univerzita Karlova**

**3. lékařská fakulta**

Studijní obor: Preventivní medicína a epidemiologie



**Výzkum onkogenomických faktorů pro prognostiku a prevenci  
karcinomů prsu, ovaria a kolorekta**

Exploration of oncogenomic factors for prognostication and prevention  
of breast, ovarian, and colorectal cancers

Disertační práce

**Mgr. Petr Holý**

Školitel: doc. RNDr. Pavel Souček, CSc.

Praha, 2023

### **Poděkování:**

V první řadě bych chtěl poděkovat doc. RNDr. Pavlu Součkovi, CSc., za spolehlivé a ochotné vedení, za vlídnost, trpělivost, a za všechny příležitosti, které se mi díky němu během studia naskytly. Dále děkuji manželce a rodičům za to, že za mnou vždy stáli v dobrém i zlém, a všem kolegům na Státním zdravotním ústavu a Univerzitě Karlově za zprostředkování příjemného pracovního prostředí založeného na vzájemné podpoře a za jejich kvalitní odbornou spolupráci.

Poděkování patří i grantovým agenturám za nezbytnou finanční podporu: Agentura zdravotnického výzkumu Ministerstva zdravotnictví ČR (AZV, č. projektů 17-28470A, NV19-08-00113, NU20-09-00174, NU22-08-00281), Evropská unie (projekty COST CA17118 a CA17104, Horizon 2020 č. 856620), Grantová agentura České republiky (P303/12/G163), Grantová agentura Univerzity Karlovy (GAUK, projekty č. 698119 (studentský grant Mgr. Petra Holého), UNCE/MED/006 a Cooperatio Surgical Disciplines č. 207043 a 207035) a Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy (LO1503, Inter-Cost LTC19015, START/MED/033).

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 29. 6. 2023

PETR HOLÝ



**Identifikační záznam:**

HOLÝ, Petr. *Výzkum onkogenomických faktorů pro prognostiku a prevenci karcinomů prsu, ovaria a kolorekta. [Exploration of oncogenomic factors for prognostication and prevention of breast, ovarian, and colorectal cancers]*. Praha, 2023. Počet stran: XXX, počet příloh: 6. Disertační práce. Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta. Školitel: doc. RNDr. Pavel Souček, CSc.

**Klíčová slova:**

karcinom prsu, kolorektální karcinom, ovariální karcinom, prognóza, prevence, oxysteroly, sekvenování, genomika, transkriptomika, multiomika [breast carcinoma, colorectal carcinoma, ovarian carcinoma, prognosis, prevention, oxysterols, sequencing, genomics, transcriptomics, multiomics]

# Obsah

<b>Obsah</b> .....	<b>6</b>
<b>Seznam použitých zkratk</b> .....	<b>8</b>
<b>Souhrn (Abstrakt)</b> .....	<b>12</b>
<b>Summary (Abstract)</b> .....	<b>14</b>
<b>1. Úvod do problematiky a literární přehled</b> .....	<b>16</b>
1.1. Epidemiologie a prevence nádorových onemocnění .....	16
1.2. Karcinom prsu .....	17
1.2.1. Diagnostika a klasifikace karcinomu prsu .....	17
1.2.2. Epidemiologie, rizikové faktory a prevence karcinomu prsu .....	20
1.3. Karcinom ovarií.....	22
1.3.1. Diagnostika a klasifikace karcinomu ovarií .....	22
1.3.2. Deriváty platiny v léčbě ovariálního karcinomu .....	26
1.3.3. Epidemiologie, rizikové faktory a prevence karcinomu ovarií.....	27
1.4. Karcinom kolorekta .....	29
1.4.1. Diagnostika a klasifikace karcinomu kolorekta.....	29
1.4.2. Epidemiologie, rizikové faktory a prevence kolorektálního karcinomu.....	31
1.5. Genomika jako nástroj personalizované onkologie .....	33
1.6. Oxysteroly a jejich význam v onkologii .....	37
1.6.1. Úvod do problematiky oxysterolů .....	37
1.6.2. Role oxysterolů v terapii nádorových onemocnění .....	38
1.6.3. Oxysterolové geny a dráhy – zárodečné varianty ovlivňující nádorová onemocnění ..	42
.....	.....
<b>2. Hypotézy a cíle práce</b> .....	<b>49</b>
<b>3. Materiál, metody a pacienti</b> .....	<b>50</b>
3.1. Pacienti .....	51
3.2. Izolace a zpracování genetického materiálu .....	51
3.3. Sekvenování DNA a RNA.....	52
3.3.1. Příprava knihoven a sekvenace.....	52
3.3.2. Bioinformatické zpracování sekvenačních dat .....	53
3.4. Měření exprese transkriptomu miRNA pomocí mikročipů .....	54
3.5. Terciární bioinformatická analýza a statistické vyhodnocení.....	55
3.5.1. Sledovaná klinická data .....	55
3.5.2. Analýza genomických a transkriptomických výstupů .....	56
3.5.3. Statistické metody.....	57
3.5.4. Dostupnost dat .....	57

<b>4. Výsledky</b> .....	<b>58</b>
4.1. Studie úlohy genů oxysterolové signalizace u karcinomu prsu .....	58
4.1.1. Přehledové články .....	58
4.1.2. Studie zárodečných a somatických variant ve vztahu ke klinickým parametrům....	58
4.1.3. Integrační studie mRNA-miRNA profilů a somatických variant oxysterolových genů .....	63
4.2. Studie mutačních profilů u pacientek s karcinomem ovarií s rozdílnou citlivostí na terapii platinovými deriváty .....	70
4.2.1. Studie celoexomových profilů .....	70
4.2.2. Studie vybraných genů pomocí panelového sekvenování.....	78
4.3. Studie celoexomových mutačních profilů kolorektálních karcinomů a jejich synchronních jaterních metastáz.....	81
4.3.1. Komplexní srovnání primárních nádorů a metastáz.....	81
4.3.2. Srovnání dle odpovědi na léčbu a délky přežívání pacientek .....	86
<b>5. Diskuze</b> .....	<b>90</b>
5.1. Role a interakce genů oxysterolové signalizace u karcinomu prsu.....	90
5.2. Studie celoexomových mutačních profilů a vybraných genů u pacientek s karcinomy ovarií s rozdílnou odpovědí na léčbu platinovými deriváty.....	94
5.3. Srovnání celoexomových mutačních profilů kolorektálních karcinomů a jejich synchronních jaterních metastáz .....	97
<b>6. Závěr</b> .....	<b>100</b>
<b>Seznam publikací autora</b> .....	<b>102</b>
<b>Seznam použité literatury</b> .....	<b>106</b>
<b>Seznam příloh</b> .....	<b>140</b>

## Seznam použitých zkratk

Pozn.:

Zkratky všech genů v této práci jsou uvedeny dle standardizované nomenklatury Human Genome Organisation Gene Nomenclature Committee (HGNC, Tweedie et al. 2021).

<b>22(R)-HC</b>	22(R)-hydroxycholesterol
<b>24,25-EC</b>	24,25-epoxycholesterol
<b>24-HC</b>	24(S)-hydroxycholesterol
<b>25-HC, 25-OHC</b>	25-hydroxycholesterol
<b>27-HC, 27-OHC</b>	27-hydroxycholesterol
<b>4<math>\beta</math>-OHC</b>	4 $\beta$ -hydroxycholesterol
<b>5-FU</b>	5-fluorouracil
<b>5<math>\alpha</math>,6<math>\alpha</math>-EC</b>	5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxycholesterol
<b>5<math>\beta</math>,6<math>\beta</math>-EC</b>	5 $\beta$ ,6 $\beta$ -epoxycholesterol
<b>7-KC</b>	7-ketocholesterol
<b>7<math>\alpha</math>-HC, 7<math>\alpha</math>-OHC</b>	7 $\alpha$ -hydroxycholesterol
<b>7<math>\beta</math>-HC</b>	7 $\beta$ -hydroxycholesterol
<b>AACR</b>	American Association for Cancer Research
<b>ABC</b>	angl. ATP-binding cassette
<b>AEBS</b>	angl. antiestrogen binding site
<b>AML</b>	akutní myeloidní leukémie
<b>BAF</b>	angl. B-allele frequency
<b>BMI</b>	index tělesné hmotnosti, angl. body mass index
<b>CA</b>	angl. cancer antigen
<b>cDNA</b>	komplementární DNA
<b>CEA</b>	angl. carcinoembryonic antigen
<b>CETP</b>	cholesteryl-ester transferový protein
<b>CI</b>	konfidenční interval
<b>CIN</b>	chromozomální nestabilita, angl. chromosomal instability
<b>CML</b>	chronická myeloidní leukémie

<b>CMS</b>	konzenzuální molekulární subtyp, angl. consensus molecular subtype
<b>CN</b>	mutační podpis dle CNV, angl. copy number signature
<b>CNV</b>	varianta v počtu kopií, angl. copy number variant
<b>COSMIC</b>	Catalogue of Somatic Mutations in Cancer
<b>CRC</b>	kolorektální karcinom
<b>CT</b>	počítačová tomografie
<b>CTC</b>	cirkulující nádorové buňky
<b>ctDNA</b>	cirkulující nádorová DNA
<b>DBS</b>	mutační podpis dle dvounukleotidových substitucí, angl. double base substitution
<b>DDA</b>	dendrogenin A
<b>DFS</b>	přežití bez onemocnění, angl. disease-free survival
<b>DIABLO</b>	Data Integration Analysis for Biomarker discovery using Latent variable approaches for Omics studies
<b>EK</b>	etická komise
<b>ER</b>	estrogenový receptor
<b>ERBB2</b>	receptor tyrosin-protein kinázy erbB-2 (také HER2)
<b>FDR</b>	míra falešně pozitivních nálezů, angl. false discovery rate
<b>FFPE</b>	formalin-fixed paraffin-embedded
<b>FIGO</b>	Mezinárodní federace gynekologie a porodnictví, angl. International Federation of Gynecology and Obstetrics
<b>FXR</b>	farnesoid X receptor
<b>GWAS</b>	angl. genome-wide association study
<b>HER2</b>	receptor tyrosin-protein kinázy erbB-2 (ERBB2)
<b>HGNC</b>	Human Genome Organisation Gene Nomenclature Committee
<b>HGSC</b>	serózní karcinom s vysokým grade, angl. high grade serous carcinoma
<b>HRD</b>	porucha homologní rekombinace, angl. homologous recombination deficiency
<b>HRR</b>	oprava DNA homologní rekombinací, angl. homologous recombination repair

<b>HRT</b>	menopauzální hormonální terapie, angl. menopausal hormone replacement therapy
<b>ChEH</b>	cholesterol-5,6-epoxide hydroláza
<b>ChT</b>	cholestan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol
<b>ID</b>	mutační podpis dle insercí a delecí (indelů)
<b>KEGG</b>	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
<b>LGSC</b>	serózní karcinom s nízkým grade, angl. low grade serous carcinoma
<b>LXR</b>	Liver X receptory
<b>MDR</b>	angl. multidrug resistance
<b>MMR</b>	angl. mismatch repair
<b>MR</b>	magnetická rezonance
<b>MSI</b>	mikrosatelitová nestabilita (popř. vysoká MSI – MSI-H)
<b>NCI</b>	National Cancer Institute (USA)
<b>NGS</b>	sekvenování nové generace, angl. next-generation sequencing
<b>NHEJ</b>	proces opravy DNA nehomologním spojováním konců (angl. non-homologous end-joining)
<b>NSAID</b>	nesteroidní protizánětlivá léčiva, angl. non-steroidal anti-inflammatory drugs
<b>NTRK</b>	neurotrofická tyrosin receptor-kináza
<b>OR</b>	angl. odds ratio
<b>OS</b>	celkové přežití, angl. overall survival
<b>OSBPs</b>	proteiny vázající oxysteroly, angl. oxysterol-binding proteins
<b>PANTHER</b>	Protein Analysis Through Evolutionary Relationships
<b>PARPi</b>	poly(ADP-ribóza)-polymeráza – inhibitor
<b>PCA</b>	Principal Component Analysis
<b>PCR</b>	polymerázová řetězová reakce, angl. polymerase chain reaction
<b>PET CT/MR</b>	pozitronová emisní tomografie a počítačová tomografie nebo magnetická rezonance
<b>PFI</b>	progression-free interval nebo platinum-free interval, v závislosti na kontextu (v textu vysvětleno)
<b>PR</b>	progesteronový receptor
<b>PXR</b>	pregnane X receptor

<b>RECIST</b>	Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
<b>RFS</b>	přežití bez relapsu, angl. relapse-free survival
<b>RIN</b>	číslo integrity RNA, angl. RNA integrity number
<b>ROR</b>	angl. retinoic acid receptor-related orphan receptors
<b>ROS</b>	reaktivní formy kyslíku, angl. reactive oxygen species
<b>RR</b>	relativní riziko
<b>RS</b>	mutační podpis dle velkých strukturních změn, angl. rearrangement signatures
<b>RSS</b>	přežití chorobově-specifické, angl. disease-specific survival
<b>SBS</b>	mutační podpis dle jednonukleotidových substitucí, angl. single base substitution signature
<b>SERM</b>	selektivní modulátor estrogenového receptoru, angl. selective estrogen receptor modulator
<b>SNP</b>	jednonukleotidový polymorfismus
<b>SZÚ</b>	Státní zdravotní ústav
<b>TCGA</b>	The Cancer Genome Atlas
<b>TMB</b>	mutační zátěž nádoru, angl. tumor mutation burden
<b>TOK</b>	test na okultní krvácení
<b>TPM</b>	počet transkriptů na milion, angl. transcripts per million
<b>WHO</b>	Světová zdravotnická organizace, angl. World Health Organization

## Souhrn (Abstrakt)

Nádorová onemocnění dnes představují nejčastější příčinu úmrtí v ekonomicky rozvinutých zemích, přičemž epidemiologické ukazatele setrvale rostou v měřítku globálním. To je následkem především socioekonomického a demografického vývoje, zejména stárnutí populace nebo změn v životním stylu v některých populacích. Zároveň s absolutní incidencí a mortalitou ale roste i prevalence probíhajících nádorových onemocnění, představující obrovskou společenskou a ekonomickou zátěž. Velká pozornost vědecké komunity se upíná k onkologickému výzkumu, přičemž největšího rozvoje v poslední době dosáhla zejména oblast molekulární genetiky. Díky moderním metodám analýzy genomu, tzv. genomiky a jiných „omických“ disciplín, bylo odhaleno mnoho biomarkerů pro lepší diagnostiku, prognostiku a účinnější léčbu se sníženým výskytem nežádoucích účinků. K realizaci myšlenky personalizované onkologie, tj. precizního terapeutického přístupu přizpůsobeného na míru individuálnímu pacientovi, ale ještě zbývá dlouhá cesta.

Tato práce se zabývá třemi typy solidních nádorů. Za prvé karcinomem prsu, který vykazuje nejvyšší světovou incidenci u žen, dokonce i celkově. Dalším je karcinom kolorekta, který je světově na druhém místě u žen, resp. třetím u mužů, a který je v ČR častější ve srovnání se zbytkem světa. Posledním zkoumaným typem je karcinom ovarií, který sice nepatří mezi nejčastější nádory, ale jehož prognóza je velmi špatná a léčba problematická, zejména v důsledku častého výskytu rezistence na chemoterapii. Cíle této práce zahrnují molekulární charakterizaci pacientů se zmíněnými nádory a jejich nádorové tkáně za účelem odhalení nových genomických biomarkerů s potenciálem pro zlepšení prognostiky nebo predikce odpovědi na léčbu.

U karcinomu prsu byl pomocí masivně paralelního sekvenování DNA analyzován panel 113 genů, podílejících se na oxysterolové signalizaci. Oxysteroly jsou početnou skupinou oxidovaných derivátů cholesterolu, pro něž byla dokázána schopnost modulovat chování nádorů, zejm. karcinomu prsu, ale jejichž role v nádorových onemocněních byly z genomického hlediska dosud zcela neprobádané. Byla zjištěna asociace somatických variant (variant získaných nádorem) s kratším přežíváním pacientek, a to v genu *CYP46A1*, devíti funkčně souvisejících genech a panelu dvaceti genů individuálně asociovaných s expresí progesteronového receptoru. Tato studie pak byla rozšířena o data o expresi genů oxysterolové signalizace (RNA sekvenování) a miRNA na celotranskriptomové úrovni (mikročipy) a byla zpracována v multiomické integrační studii, jejímž hlavním výsledkem byla interakční síť, komplexně mapující korelace mezi mRNA oxysterolových genů a regulačních miRNA. Zejména osa genů *ESR1-CH25H-INSIG1-ABCA9* a sedm miRNA, které je propojují, jsou nadějným základem pro budoucí zaměřené funkční studie.



Protože pro karcinom ovarii zatím není znám biomarker rezistence na chemoterapii, byla provedena studie srovnávající celoexomové mutační profily pacientek rezistentních a senzitivních na deriváty platiny, často používaná chemoterapeutika. U senzitivních pacientek byla v nádorech nalezena signifikantně vyšší mutační zátěž v genu *TP53*, ale zároveň nižší v několika genech signalizační dráhy Hippo. Četnost somatických mutací v genech dráhy oprav DNA homologní rekombinací umožnila úspěšnou predikci senzitivity pacientek na léčbu, přičemž kombinace somatických a zárodečných variant predikci ještě zpřesnila. Menší rozdíly mezi pacientkami dělenými dle rezistence, subtypu onemocnění nebo délky přežívání pak byly pozorovány v míře mutovanosti genů *PABPC1*, *PABPC3* a *TFAM*, v mutačních podpisech a v celkové mutační zátěži.

Komplexní porovnání celoexomových mutačních profilů bylo provedeno rovněž u unikátní skupiny párových vzorků primárních karcinomů kolorekta a jejich synchronních jaterních metastáz. Metastázy jsou v literatuře oproti primárním nádorům podstatně méně prostudované, ačkoli jsou klíčové pro letalitu onemocnění. Byla potvrzena známá asociace mutací v genu *KRAS* v primárních nádorech s kratší dobou do relapsu, ale v metastázách byly navíc nalezeny potenciální negativní prognostické faktory v genech *ATM*, *DNAH11* a *MUC5AC*, a v mutačním podpisu SBS24.

Aplikací genomických metod byly v kohortách karcinomu prsu, ovarii a kolorekta nalezeny možné nové, popř. potvrzeny kandidátní, prognostické a prediktivní biomarkery s potenciálem zlepšit efektivitu terapie těchto onemocnění.

## Summary (Abstract)

Cancer is now the leading cause of death in economically developed countries, with epidemiological indicators rising steadily on a global scale. This is mainly a result of socio-economic and demographic developments, particularly ageing populations or changes in lifestyle in some populations. Meanwhile, as absolute incidence and mortality rates are rising, the prevalence of cancer is also increasing, representing a heavy social and economic burden. Cancer research has received a great deal of attention from the scientific community, with molecular genetics in particular making the greatest recent progress. Thanks to modern methods of genome analysis, so-called genomics and other 'omics' disciplines, many biomarkers have been discovered, leading to better diagnosis, prognosis and more effective treatment with reduced incidence of adverse effects. However, there is still a long way to go in order to make the idea of personalised oncology, i. e., a precise therapeutic approach tailored to the individual patient, a reality.

This paper examines three types of solid tumours. Firstly, breast cancer, which has the highest incidence worldwide in women, even overall. The next is colorectal cancer, which is the second and third most common cancer in women and men, respectively, and more common in the Czech Republic compared to the rest of the world. The last type studied is ovarian cancer, which, although not being a particularly common type of tumor, has a very poor prognosis and problematic treatment, especially due to the high frequency of resistance to chemotherapy. The objectives of this work include molecular characterization of patients with the aforementioned tumors and their tumor tissue with the aim of discovering novel genomic biomarkers with the potential to improve prognosis or predict response to treatment.

A panel of 113 genes involved in oxysterol signaling was analyzed in breast cancer using massively parallel DNA sequencing. Oxysterols are a large group of oxidized cholesterol derivatives that have been shown to modulate tumor behavior, particularly in breast cancer, but whose roles in cancer have been genomically unexplored. Somatic variants (variants gained by tumors) have been associated with shorter survival in patients, namely in the *CYP46A1* gene, nine functionally related genes, and a panel of twenty genes individually associated with progesterone receptor expression. This study was then expanded to include data on the expression of oxysterol signaling genes (RNA sequencing) and miRNAs at the transcriptome-wide level (microarray) and was conducted as a multi-omic integration study, the main outcome of which was an interaction network comprehensively mapping the correlations between oxysterol gene mRNAs and regulatory miRNAs. In particular, the *ESR1-CH25H-INSIG1-ABCA9* gene axis and the seven miRNAs linking them provide a promising basis for future focused functional studies.

Since a biomarker of resistance to chemotherapy is not yet known for ovarian cancer, a study comparing the genome-wide mutational profiles of patients resistant and sensitive to

platinum derivatives, frequently used chemotherapeutic agents, was performed. Significantly higher mutational burden in the *TP53* gene was found in the tumors of sensitive patients, simultaneously with lower mutational burden in several genes of the Hippo signaling pathway. The frequency of somatic mutations in DNA repair pathway genes by homologous recombination allowed successful prediction of patients' sensitivity to treatment, while the combination of somatic and germline variants further refined the prediction. Minor differences between patients divided by resistance, disease subtype, or survival were then observed in the mutation rates of the *PABPC1*, *PABPC3*, and *TFAM* genes, mutational signatures, and overall mutational burden.

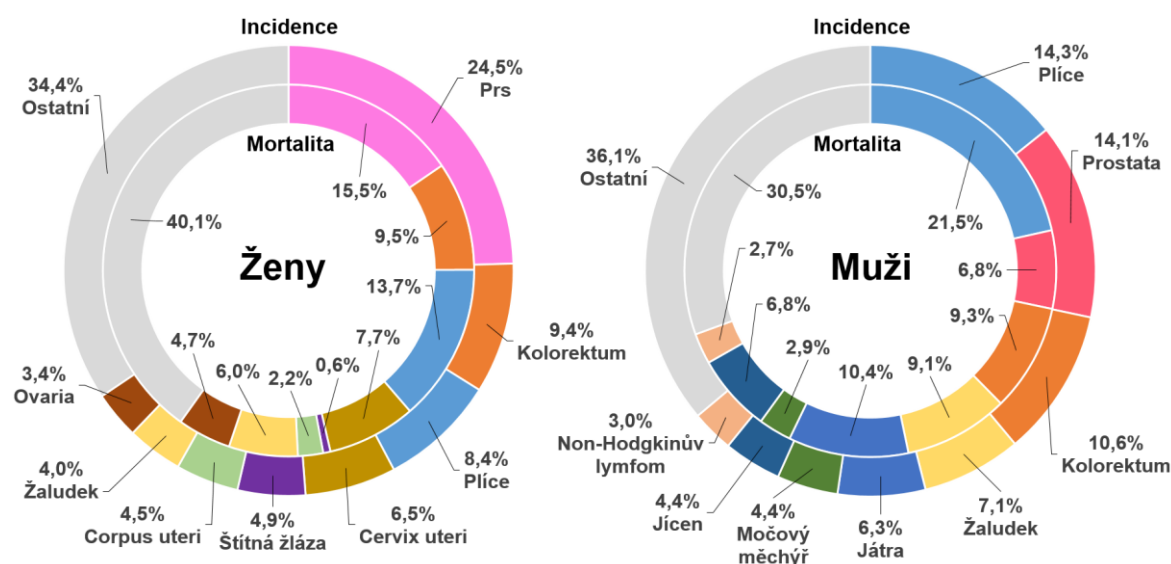
A comprehensive comparison of whole-exome mutation profiles was also performed in a unique group of paired samples of primary colorectal cancers and their synchronous liver metastases. Metastases are much less studied in the literature compared to primary tumors, although they are key for disease lethality. The known association of mutations in the *KRAS* gene in primary tumors with shorter time to relapse was confirmed, but in addition, potential negative prognostic factors were found in metastases in the *ATM*, *DNAH11* and *MUC5AC* genes, and in the SBS24 mutational signature.

The application of genomic methods in breast, ovarian and colorectal cancer cohorts has identified novel putative, or confirmed candidate, prognostic and predictive biomarkers with the potential to improve the effectiveness of therapy for these diseases.

# 1. Úvod do problematiky a literární přehled

## 1.1. Epidemiologie a prevence nádorových onemocnění

Nádorová onemocnění jsou jednou z nejčastějších příčin úmrtí ve většině zemí světa, včetně ČR, a to nejen u seniorní populace, ale i u populace mladší 70 let (Sung et al. 2021; Bray et al. 2021). Absolutní incidence a mortalita setrvale stoupají zejména v důsledku stárnutí populace a rostoucí prevalence environmentálních a socioekonomických rizikových faktorů v řadě zemí (Sung et al. 2021). Nejnovější světová data pochází z roku 2020 (Sung et al. 2021). Zdaleka nejčastějším nádorem u žen je karcinom prsu, jehož incidence je tak vysoká, že je zároveň nejčastějším karcinomem celkově. Prvním u mužů je pak karcinom plic (třetí u žen, druhý celkově). Celkově třetím nejčastějším je pak karcinom kolorekta (druhý u žen, třetí u mužů). Karcinomy plic a kolorekta zároveň představují první, resp. druhé místo v celkové mortalitě. Karcinomy prsu a prostaty mají navzdory své vysoké incidenci relativně nižší mortalitu vzhledem k příznivější prognóze (Gandaglia et al. 2021; Arnold et al. 2022; Sung et al. 2021). Podrobné srovnání světové incidence a mortality jednotlivých typů nádorů u žen a u mužů je na **Obrázku 1**. Aktuální detailní epidemiologická data karcinomu prsu, ovaria a kolorekta ve světovém i domácím měřítku jsou popsána v příslušných kapitolách této práce.



**Obrázek 1:** Podíl jednotlivých typů nádorových onemocnění na světové incidenci (vnější prsteneček) a mortalitě (vnitřní prsteneček), dle pohlaví.

Zdroj dat: GLOBOCAN 2020 (Sung et al. 2021).

Důležitým nástrojem pro snížení incidence a mortality onemocnění, stejně jako kvality života pacientů, a tím i neustále rostoucí socioekonomické zátěže, je prevence

(Kisling a M Das 2023). Pojmem primární prevence obecně rozumíme snižování rizikových faktorů vzniku onemocnění. V kontextu onkologie jde například o opatření snižující kouření a spotřebu alkoholu v populaci, vakcinaci pro hepatitidám a papilomavirům, nebo kontinuální monitoring životního prostředí a produktů z hlediska karcinogenity (Collatuzzo a Boffetta 2023). Sekundární prevence se zabývá brzkým záchytem onemocnění v časném stádiu, a tedy s výrazně lepší prognózou, širšími možnostmi léčby, a s pacientem v lepším zdravotním stavu. Hlavním nástrojem jsou zde pravidelná vyšetření praktickým nebo specializovaným lékařem a screeningová vyšetření (více v dalších kapitolách), a dále např. dispenzarizace jedinců se zvýšeným rizikem vzniku nádoru na základě rodinné anamnézy nebo genetického vyšetření (Loomans-Kropp a Umar 2019). Cílem terciární prevence je snížit morbiditu a zvýšit kvalitu života pacientů během léčby nebo v remisi, a to mimo jiné rehabilitací a psychologickou pomocí (Jacobsen a Andrykowski 2015; Kisling a M Das 2023). Cílem je také zachytit případnou rekurenci onemocnění co nejdříve, čímž se výrazně zvyšuje šance na vyléčení. Zde jsou zásadní pravidelné kontroly u onkologa a jiných specialistů, a pokračování ve screeningových vyšetřeních i původně nepostižených orgánů (Vorlíček et al. 2009). Nakonec můžeme hovořit o prevenci kvartérní, tj. předvídání a předcházení dopadům léčby. Existuje především snaha o prevenci nedostatečné (tzv. „undertreatment“) nebo naopak příliš drastické (tzv. „overtreatment“), popř. jinak nevhodné léčby, nebo upuštění od zbytečného testování, představujícího zátěž pro pacienta i zdravotnický systém (Martins et al. 2018; Norman a Tesser 2019). V některých zdrojích je kvartérní prevence zahrnuta do definice prevence terciární (Blackburn 2010).

Výzkum molekulárních biomarkerů se dotýká všech zmíněných oblastí prevence nádorových onemocnění. Díky moderním technologiím studia lidského genomu máme možnost dosáhnout značných pokroků zejména v prevenci terciární a kvartérní skrze koncept tzv. personalizované onkologie, tj. léčby „šité na míru“ každému pacientovi.

## **1.2. Karcinom prsu**

### **1.2.1. Diagnostika a klasifikace karcinomu prsu**

Nádory prsu lze odhalit palpačně (rezistence v prsní tkáni), popř. se projevují bolestí nebo výtokem z bradavky. Důležitou roli proto hrají rutinní samovyšetření pacientky a klinická vyšetření v rámci pravidelných gynekologických prohlídek, s případnou indikací vyšetření zobrazovacími metodami. Nejdůležitější zobrazovací metodou je mamograf, úspěšně využívaný pro plošný screening, dále pak sonografie, užitečná zejména u mladších pacientek. V některých případech má smysl i použití pozitronové emisní tomografie s počítačovou tomografií nebo magnetickou rezonancí (PET CT/MR). Při podezření na

nádor musí následovat biopsie a komplexní histopatologické a molekulární vyšetření (Daneš 2021).

Nádory prsu jsou ve většině případů benigní cysty nebo fibroadenomy, popř. karcinomy *in situ*, tj. prekancerózní nálezy (tzv. stádium 0), s potenciálem změny na invazivní malignanci. Karcinomy (invazivní i *in situ*) se dělí na duktální nebo lobulární, popř. tubulární, medulární nebo mucinózní. Nejčastějším typem zhoubného nádoru prsu je invazivní duktální karcinom (70-85 % případů). Pro určení stádia (I-IV) karcinomu prsu je tradičně využívána klasifikace založená na klinickém hodnocení rozsahu primárního tumoru (T), postižení lymfatických uzlin (N) a přítomnosti vzdálených metastáz (M), zvaná TNM (**Tabulka 1**). Obdobou tohoto hodnocení pro patologii je pak systém pTNM. Agresivita nádoru je vyjadřována histopatologickým posouzením tzv. grade (1-3) (WHO 2019a).

**Tabulka 1:** Určení stádia karcinomu prsu dle TNM klasifikace.

Stádium	T	N	M
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA</b>	T1, T1mi	N0	M0
<b>IB</b>	T0, T1	N1mi	M0
<b>IIA</b>	T0, T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N0	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0, T1, T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
<b>IIIB</b>	T4	M0, N1, N2	M0
<b>IIIC</b>	jakékoli T	N3	M0
<b>IV</b>	jakékoli T	jakékoli N	M1

*Zdroj: Světová zdravotnická organizace (WHO 2019a). Tis – karcinom in situ, Tmi – mikroinvaze velikosti 1 mm nebo menší, T0 – nenalezen primární nádor, T1 – nádor < 2 cm, T2 – 5 cm < nádor > 2 cm, T3 – nádor > 5 cm, T4 – nádor rozšířen do hrudní stěny nebo kůže, N0 – lymfatické uzliny bez metastáz, N1-3 – metastázy v postupně vzdálenějších uzlinách, N1mi – mikrometastáza (> 0,2 mm a/nebo 200 buněk, ale < 2 mm), M0 – vzdálené metastázy nenalezeny, M1 – vzdálené metastázy.*

Pokroky v molekulárně genetickém výzkumu karcinomu prsu vedly k objevu řady molekulárních markerů a stratifikaci pacientů dle molekulárních profilů. V současnosti je rutinně klinicky využívána klasifikace karcinomu prsu do molekulárních subtypů, umožňující cílenou léčbu. Schéma molekulárně-genetické klasifikace s obecným doporučením systémové léčby je uvedeno v **Tabulce 2**, str. 19.

**Tabulka 2:** Molekulární subtypy a doporučení pro systémovou léčbu karcinomu prsu

Subtyp	Definice subtypu	Typická léčba
<b>Luminální A</b>	ER poz. a/nebo PR poz., HER2 neg., Ki-67 < práh, grade < 3	hormonální, většinou pouze adjuvantní
<b>Luminální B HER2 negativní</b>	ER poz. a/nebo PR poz., HER2 neg., Ki-67 > práh, grade > 1	chemoterapie + hormonální
<b>Luminální B HER2 pozitivní</b>	ER poz. a/nebo PR poz., HER2 poz.	chemoterapie + anti-HER2
<b>Neluminální HER2 pozitivní</b>	ER neg. a PR neg., HER2 poz.	chemoterapie + anti-HER2
<b>Triple negativní</b>	ER neg. a PR neg., HER2 neg.	chemoterapie

Zdroj: (Kiss et al. 2023). ER – estrogenový receptor, PR – progesteronový receptor, HER2 – receptor tyrosin-protein kinázy *erbB-2* (*ERBB2*).

Nejdéle studovaným molekulárním biomarkerem karcinomu prsu je estrogenový receptor (ER), jenž je ve zvýšené míře exprimovaný u zhruba 75% pacientů. ER pozitivní pacientky mají zpravidla více diferencovaný a méně agresivní nádor, lepší prognózu a delší dobu celkového přežití (Hou et al. 2022). Navíc ER pozitivita slouží jako prediktivní biomarker pro cílenou hormonální léčbu. Progesteronový receptor (PR) zatím sám o sobě nenabízí možnost cílené léčby, ukazuje se ale jako důležitý prognostický faktor, kdy pacienti s PR negativním nádorem, kteří jsou zároveň ER pozitivní, mají horší prognózu než pacienti s pozitivitou obou receptorů. Expres androgenového receptoru není běžně klinicky měřena, ale má rovněž prognostický potenciál pro některé specifické molekulární subtypy (Lamb et al. 2019). Důležitým faktorem je zvýšená exprese HER2 proteinu, vyskytující se u asi 15-20 % pacientů, nesoucí vyšší agresivitu nádoru a horší prognózu s kratším přežitím a vyšším rizikem relapsu (Engel a Kaklamani, 2007). Díky pokrokům v léčbě cílené na tento receptor však bylo v posledních dvaceti letech dosaženo významného zvýšení efektivity léčby a prognózy těchto pacientů (Loibl a Gianni, 2017). Expres proteinu Ki-67 je ukazatelem míry proliferace nádorových buněk a zejména v brzkém stádiu nemoci je tak užitečným prognostickým biomarkerem. Zatím u něj nebyla spolehlivě prokázána obecná prediktivní role pro terapii, i když roste množství důkazů naznačujících jeho potenciál jako prediktoru rezistence pro specifické molekulární subtypy (Kreipe et al. 2022; Yerushalmi et al. 2010).

V případě genetických biomarkerů je třeba uvažovat jak o zárodečných (dědičných, germinálních) variantách v genech, tak o somatických (získaných v cílové tkáni během nádorového bujení). Mezi prediktivní biomarkery se řadí např. alterace v genech zodpovědných za opravu dvouvláknových zlomů DNA pomocí homologní rekombinace a nehomologního spojování konců (angl. „non-homologous end-joining“, NHEJ). Jedná se především o *BRCA1* a *BRCA2*, dále *RAD51C* a *RAD51D*, a reparaci aktivující kinázy *ATM* a *CHEK2* (mimo jiné). Figuruje zde pochopitelně i nejznámější tumor supresor, *TP53*

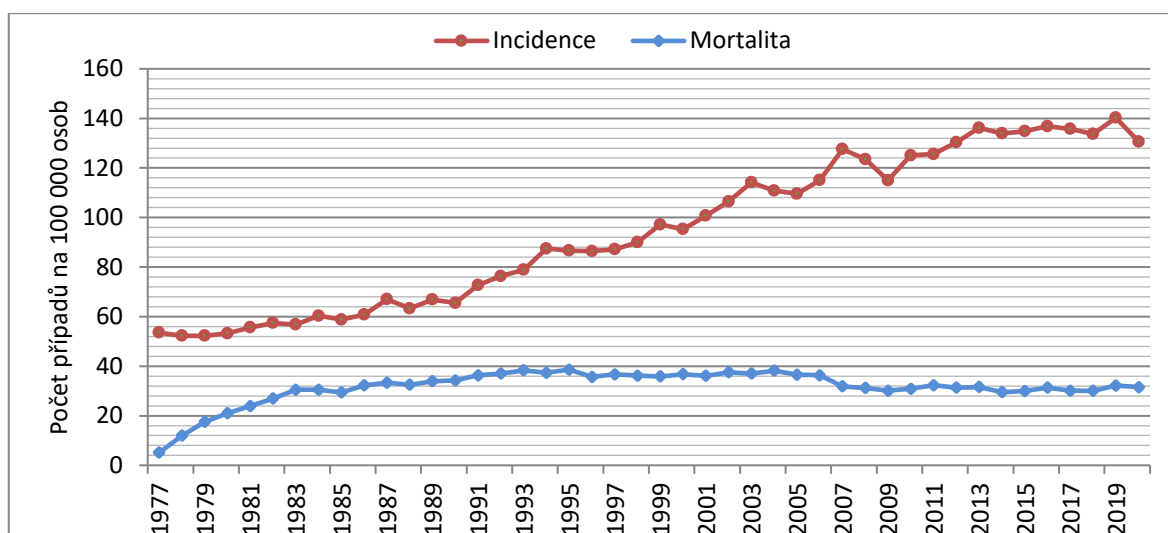
(Gudmundsdottir a Ashworth, 2006; Hu et al., 2020). Mutační profily těchto genů jsou například důležitými prediktory pro použití cílených inhibitorů poly(ADP-ribóza)-polymerázy (PARPi), např. olaparibu, u pacientek s pokročilým nebo metastatickým HER2 negativním karcinomem prsu, ale důležitou roli hrají i v karcinomu ovarií (Menezes et al. 2022).

Využívá se i sérových markerů, zejména proteinů CEA (z angl. „carcinoembryonic antigen“) a CA (angl. „cancer antigen“) 15-3 nebo CA 27-29, sloužících pro prognostiku a postoperační sledování, a u metastatického onemocnění pro monitoring odpovědi na léčbu. Intenzivní výzkum dále probíhá v oblastech cirkulujících nádorových buněk (CTC), cirkulující nádorové DNA (ctDNA) a dalších (Seale a Tkaczuk 2022).

### 1.2.2. Epidemiologie, rizikové faktory a prevence karcinomu prsu

Karcinom prsu je dlouhodobě nejčastěji diagnostikovaným maligním novotvarem u žen, vzácně se ale může vyskytovat i u mužů. V ČR incidence zhoubného karcinomu dlouhodobě mírně stoupá, ale v několika posledních letech lze pozorovat zpomalení růstu a náznak stabilizace (**Obrázek 2**, str. 21). Mortalita po poklesu v první dekádě 21. století v posledních deseti letech vykazuje spíše stagnaci (**Obrázek 2**, str. 21). V roce 2020 dosahovala incidence 130,6 a mortalita 31,5 případů na 100 000 osob (ÚZIS ČR 2022). Výsledkem stále rostoucí incidence a stagnující mortality je pochopitelně vytrvale rostoucí prevalence v populaci. Většina pacientek se nachází v době diagnózy v intervalu 60-74 let věku, v posledních letech ale setrvale roste podíl pacientek mladších šedesáti let. V roce 2016 podíl činil 34,6 %, v roce 2018 pak 35,4 % a v roce 2020 stoupl až na 38,0 % pacientek (ÚZIS ČR 2022). Incidence a mortalita v ČR je podobně vysoká i v měřítku evropském a světovém (1. nejčastěji diagnostikovaný zhoubný nádor u žen v obou případech). V ekonomicky nejvyspělejších zemích západní Evropy a Severní Ameriky mortalita klesá rychleji než v ČR, zejména díky úspěšné prevenci (Sung et al. 2021). Zatímco hodnoty relativní mortality budou v globálním měřítku dlouhodobě nejspíše pokračovat v poklesu, v důsledku populačního růstu a stárnutí populace lze očekávat setrvalý růst absolutní incidence a absolutní mortality nejméně do roku 2040 (Arnold et al. 2022).





**Obrázek 2:** Incidence a mortalita zhoubných nádorů prsu v České republice v letech 1977-2020 (bez karcinomu *in situ*) (ÚZIS ČR 2022).

V etiologii onemocnění se uplatňuje řada faktorů, např. atypický nález při předchozí biopsii prsu (relativní riziko, RR, 4-5), zejména pak nález lobulárního karcinomu *in situ* (RR 16), věk (RR 5-10 pro věk vyšší než 64 let), věk první menstruace nižší než 11 let (RR 3), blízký příbuzný s karcinomem prsu (RR 1,5-3), obezita (RR 2 pro postmenopauzální BMI > 35), dále menopauza ve věku vyšším než 54 let (RR 1,2-2), zvýšená konzumace alkoholu (RR 1,2), a užívání hormonů po dobu delší než 5 let (RR 1,2) (Bozzuto 2022). Důležitou roli také hrají genetické predispozice, zvyšující pravděpodobnost vzniku karcinomu prsu. Nejvyšší riziko nesou mutace v genech s vysokou penetrancí, jako *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN* a *TP53* (riziko vzniku v průběhu života > 60%), dále pak *CDH1*, *PALB2*, *STK11* (riziko 41-60 %) a např. *ATM* nebo *RAD51C/D* (riziko až 40 %) (Bozzuto 2022).

Primární prevencí karcinomu prsu je podobně jako u jiných typů nádorových onemocnění i úprava životního stylu. Doporučovaná dieta by měla obsahovat vysoké procento ovoce, zeleniny, cereálií a luštěnin, a omezení příjmu červeného masa, soli, jednoduchých cukrů a trans mastných kyselin a samozřejmě alkoholu (Schüz et al. 2015; Scoccianti et al. 2016). Kromě obezity, metabolických poruch a zvýšeného množství karcinogenů v organismu může vést nesprávná dieta i k reverzibilním epigenetickým změnám podporujícím onkogenezi, jako je např. hypermethylace promotorových regionů tumor supresorových genů, vedoucí k jejich umlčení, popř. abnormální modifikace histonů (Barrero et al. 2022; Rodríguez-Miguel et al. 2015). Nedílnou součástí primární (a terciární) prevence je i dostatečná fyzická aktivita (Zhu et al. 2022).

Za účelem primární prevence lze u žen s výrazně zvýšeným rizikem karcinomu prsu, např. kvůli genetické predispozici, uvažovat o intervenčních opatřeních pro snížení rizika. Jednou z prokázané účinných možností je profylaktické podávání hormonálních preparátů (tamoxifen, raloxifen, aromatázové inhibitory), které s sebou ale pochopitelně přináší

vedlejší účinky (Mocellin et al. 2019). V případech extrémního rizika je možné provést i chirurgické odstranění prsní tkáně, vedoucí ke snížení rizika až o 90 % (Hartmann et al. 1999; Hooks 2010).

Nástrojem sekundární prevence karcinomu prsu je především průběžný screening, umožňující včasné odhalení nádoru v nižším stádiu progresu a dřívější zahájení léčby. Nejčastějšími metodami jsou zde mamografie, klinické vyšetření prsu a samovyšetření prsu (NCI 2022). Užívá se rovněž ultrasonografie a zobrazování na principu magnetické rezonance (Kolak et al. 2017). V ČR je mamografie prsu v rámci plošného screeningu prováděna u žen starších 45 let v intervalu dvou let, popř. po indikaci gynekologem, praktickým lékařem, onkologem nebo chirurgem (MZ ČR 2021).

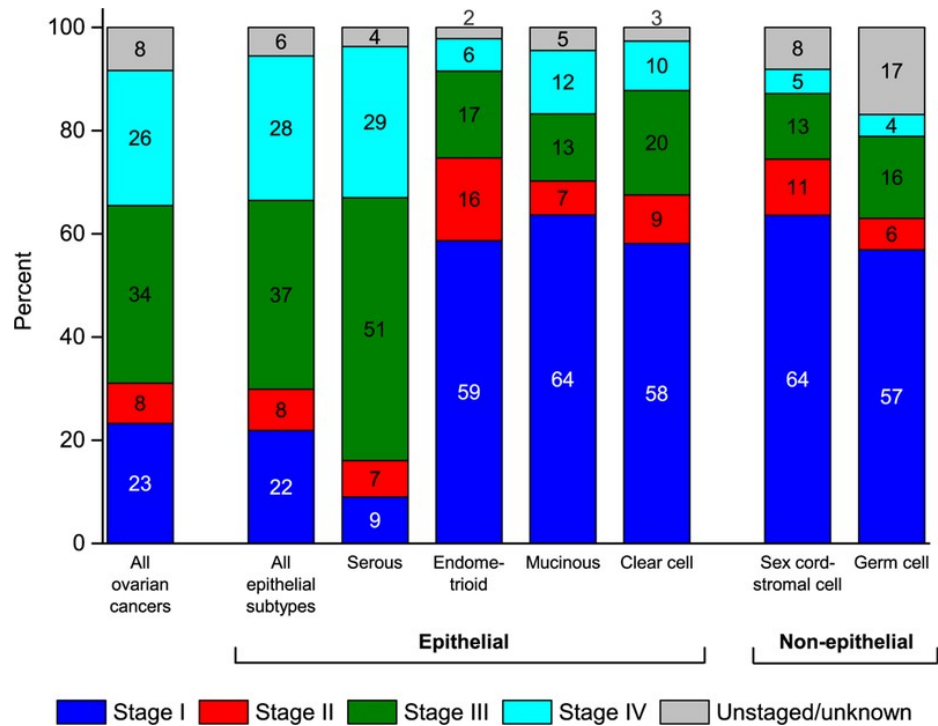
Za účelem terciární prevence, tj. snahy o maximalizaci efektivity léčby a minimalizaci vedlejších účinků, jsou stále častěji studovány molekulární biomarkery (viz předchozí kapitola 1.2.1).

### **1.3. Karcinom ovarií**

#### **1.3.1. Diagnostika a klasifikace karcinomu ovarií**

Dosud nebyla vyvinuta spolehlivá metoda screeningu ovariálního karcinomu (OVC) a vzhledem k tomu, že onemocnění většinou dlouho probíhá bez specifických příznaků, bývá diagnostikováno zpravidla až v pokročilých stádiích (**Obrázek 3**, str. 23). To značně snižuje naději na uzdravení (Torre et al. 2018). Pro diagnostiku se využívá skiagramu hrudníku a sonografie, popř. doplněné o CT nebo MR. Stanovují se rovněž sérové markery CA-125, HE4 aj.

Morfologicky můžeme nejběžnější nádory ovarií rozdělit na serózní (cca 75 %), dále endometroidní (cca 10 %), světlobuněčný (ang. „clear cell“, cca 10 %) a mucinózní (< 3 %), přičemž všechny tyto nádory jsou epiteliálního původu (**Tabulka 3**, str. 24). Zbytek tvoří nádory původu germinálního. Na **Obrázku 3**, str. 23, je jasně patrné vysoké zastoupení pozdních stádií u serózního typu, který zároveň představuje většinu všech nádorů ovarií (high grade, HGSC, cca 70 % a low grade, LGSC, cca 5 %) (McCluggage 2011; Torre et al. 2018). Všechny tyto typy mají odlišnou prognózu, přičemž HGSC ji má nejhorší, zatímco endometroidní a mucinózní karcinom mají prognózu nejlepší (**Tabulka 3**, str. 24).



**Obrázek 3:** Relativní zastoupení stádií ovariálního karcinomu v době diagnózy, dále dělené dle typu nádoru. *Data pro USA, roky 2007-2013. Převzato (Torre et al. 2018).*

Pro HGSC je charakteristická inaktivace tumor supresorového proteinu p53 (gen *TP53*) a *BRCA1/2* (Harbin et al. 2022). Charakteristické molekulární abnormality ale byly nalezeny i u dalších typů epitelových ovariálních nádorů (**Tabulka 3**, str. 24).

**Tabulka 3:** Přehled nejčastějších typů epitelových karcinomů ovarií a jejich vlastností

Typ →	HGSC	LGSC	Endometroidní	Světlobuněčný	Mucinózní	Nezávisle na histologii
<b>Procento všech</b>	70	<5	10	10	3	
<b>Senzitivita k chemoterapii</b>	vysoká	střední	vysoká	nízká	nízká	
<b>Prognóza</b>	špatná	střední	dobrá	střední/špatná	dobrá	
<b>Molekulární abnormality</b>	<i>TP53</i> (96%) <i>BRC A1/2</i> (22%) CIN <i>NF1</i> <i>RB1</i> <i>CDK12</i>	<i>BRAF</i> (38%) <i>KRAS</i> (19%) <i>NRAS</i> HER2 <i>FGFR2</i> <i>PIK3CA</i>	<i>CTNNB1</i> MSI-H (12-20%) <i>PTEN</i> (20%) <i>ARID1A</i> <i>KRAS</i> <i>PIK3CA</i>	<i>ARID1A</i> (50 %) <i>PIK3CA</i> <i>PTEN</i> mTOR <i>KRAS</i>	<i>KRAS</i> HER2	TMB-H MSI-H dMMR
<b>Cílená terapie</b>	PARP inhibitory	MEK inhibitory Fulvestrant Hormonální terapie				Pembrolizumab

*CIN* – chromozomální nestabilita, *MSI-H* – vysoká mikrosatelitová nestabilita, *TMB-H* – vysoká mutační zátěž, *dMMR* – dysfunkce dráhy mismatch repair (MMR, jedna z drah oprav DNA). Převzato a upraveno (Dundr a Němejcová 2022; Harbin et al. 2022).

Pro klasifikaci podle klinických parametrů se kromě TNM kategorií používají stádia dle Mezinárodní federace gynekologie a porodnictví (FIGO, z angl. „International Federation of Gynecology and Obstetrics“). Definice těchto stádií jsou uvedeny v **Tabulce 4**, str. 25. Podobně jako u jiných solidních nádorů, i zde se histopatologicky určuje grade (1-3).

**Tabulka 4:** TNM a FIGO klasifikace karcinomu ovaríí (WHO 2020).

TNM kategorie <sup>1</sup>	Stádium dle FIGO <sup>1</sup>	Definice
<b>TX</b>		primární nádor nelze posoudit
<b>T0</b>		primární nádor neprokázán
<b>T1a</b>	IA	postižení jednoho ovaria, pouzdro intaktní, bez nádoru na povrchu ovaria, negativita ascitu nebo laváže
<b>T1b</b>	IB	postižení obou ovaríí, dále jako T1a
<b>T1c</b>	IC	postižení jednoho nebo obou ovaríí, ruptura pouzdra / nádor na povrchu, pozitivita ascitu nebo laváže
<b>T2</b>	II	šíření nádoru v pánvi
<b>T2a</b>	IIA	šíření na dělohu/tubu, negativita ascitu nebo laváže
<b>T2b</b>	IIB	šíření na jiné pánevní tkáň, negativita ascitu nebo laváže
<b>T2c</b>	IIC	šíření na jiné pánevní tkáň, pozitivita ascitu nebo laváže
<b>T3</b>	III	peritoneální metastázy mimo pánev
<b>T3a</b>	IIIA	mikroskopické peritoneální metastázy mimo pánev
<b>T3b</b>	IIIB	makroskopické ( $\leq 2$ cm) peritoneální metastázy mimo pánev
<b>T3c</b>	IIIC	makroskopické ( $> 2$ cm) peritoneální metastázy mimo pánev
<b>N1</b>	IIIC	metastázy pouze v retroperitoneálních lymfatických uzlinách
<b>M1</b>	IV	vzdálené metastázy

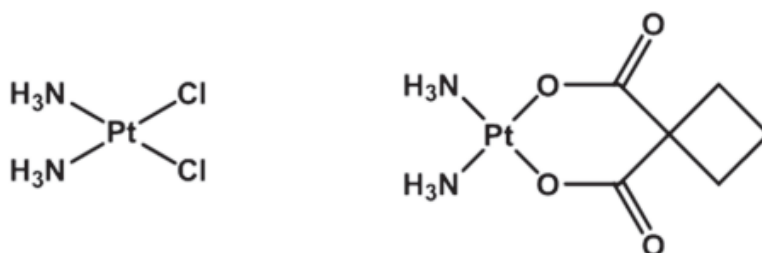
<sup>1</sup>Pro zjednodušení vynechány některé podkategorie/stádia. Pro podrobnější dělení viz zdroj (WHO 2020).

Ačkoli nádory ovaria jsou většinou chemosenzitivní, nejsou chemokurabilní (Richardson et al. 2023), proto je ve většině případů léčba chirurgická, následována chemoterapií. V mnoha případech je doprovázena léčbou cílenou na receptor VEGF-A (např. bevacizumab) a/nebo PARPi (např. olaparib). Indikace cílené léčby se odvíjí od posouzení mutací germinálních nebo somatických v genech *BRCA1* a *BRCA2*, popř. v dalších genech opravy DNA pomocí homologní rekombinace (angl. „homologous recombination deficiency“, HRD) (Kiss et al. 2023).

Klinicky zatím málo uplatněné je dělení HGSC na 4 subtypy pomocí transkriptomických profilů, a to na typy imunoreaktivní, proliferativní, diferencovaný a mesenchymální, který má nejhorší prognózu (Hu et al. 2020b). Rovněž probíhá výzkum profilů deregulovaných miRNA v jednotlivých subtypech, přičemž již byly pozorovány specifické expresní profily jednotlivých miRNA nebo klastrů miRNA pro jednotlivé typy OVC (Ravindran et al. 2021).

### 1.3.2. Deriváty platiny v léčbě ovariálního karcinomu

Studie OVC v této práci jsou motivovány hledáním biomarkerů rezistence na deriváty platiny, budou zde proto stručně představeny. Organické deriváty platiny jsou poměrně širokou skupinou látek, přičemž první derivát, cisplatina (**Obrázek 4**), byl syntetizován již v polovině 19. století. Jako protinádorová léčiva se ale začaly používat až v sedmdesátých letech 20. století. Principem jejich účinku je tvorba aduktů na DNA, zabraňujících replikaci buňky (Desoize a Madoulet 2002; Gheorghe-Cetean et al. 2017).

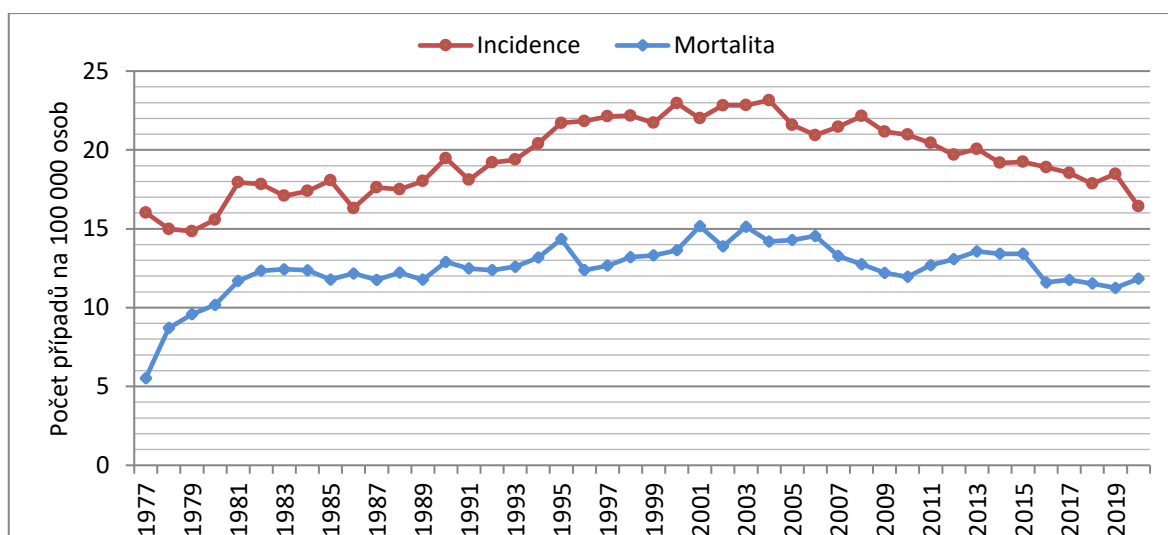


**Obrázek 4:** Strukturní vzorce cisplatiny (vlevo) a karboplatiny (vpravo), které jsou nejpoužívanějšími deriváty platiny v léčbě karcinomu ovarií. *Převzato (Shaili 2014).*

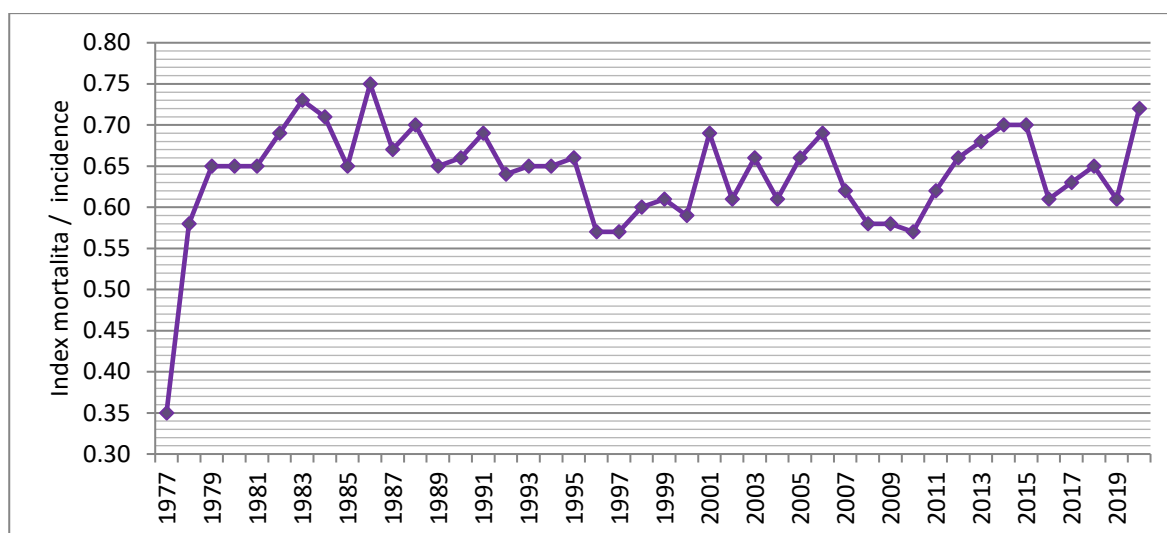
Standardní léčba OVC se skládá z cytoreduktivního chirurgického zásahu a adjuvantní chemoterapie. Každá pacientka je navíc indikována k vyšetření zárodečných a/nebo somatických variant v genech BRCA1 a BRCA2 pro případné nasazení PARPi, jak už bylo zmíněno dříve (Kiss et al. 2023). U pacientek ve špatném celkovém stavu neumožňujícím operaci, nebo v případě onemocnění v pokročilých stádiích, kdy je na základě výsledků zobrazovacích vyšetření nízká pravděpodobnost nulového makroskopického rezidua po operaci, je nejčastěji nasazena neoadjuvantní léčba kombinací paklitaxelu s karboplatinou. Kombinace paklitaxelu (popř. docetaxelu) a karboplatiny (popř. cisplatiny, **Obrázek 4**) je rovněž základem chemoterapie adjuvantní. Pacientky, kterým je diagnostikována recidiva nebo progresse onemocnění po více než šesti měsících po ukončení předchozí léčby platinovými deriváty, se označují jako pacientky s předpokladem odpovědi na platinové deriváty (senzitivní). Těm jsou deriváty platiny nasazovány i v dalších liniích (Kiss et al. 2023). Příčiny chemorezistence ovariálních nádorů a hledání jejich biomarkerů jsou v současnosti předmětem intenzivního výzkumu (Chandra et al. 2019; Christie a Bowtell 2017; Abildgaard et al. 2019; Atallah et al. 2023).

### 1.3.3. Epidemiologie, rizikové faktory a prevence karcinomu ovarií

OVC je druhou nejčastější gynekologickou malignancí v USA a v západní Evropě a je zodpovědný za více úmrtí než všechny ostatní gynekologické nádory dohromady (Khazaei et al. 2021). Nejvyšší světová incidence v roce 2020 byla v Evropě, konkrétně v regionu střední až východní Evropy, který měl zároveň i jednu z nejvyšších úrovní mortality na světě (Cabasag et al. 2022). Ve světě (Sung et al. 2021) i v ČR ale v posledních dvaceti letech incidence i mortalita setrvale klesají, přičemž v roce 2020 dosahovaly v ČR 16,4, resp. 11,8 případů na 100 000 osob (**Obrázek 5**). Nicméně podíl mortality/incidence dlouhodobě kolísá v okolí hodnoty 0,65 a v klouzavém průměru stagnuje (**Obrázek 6**, str. 28). Mezi lety 2019 a 2020 došlo v důsledku prudkého poklesu incidence a mírného růstu mortality k výraznému zvýšení tohoto poměru, a to z hodnoty 0,61 na 0,72, což je nejvyšší hodnota od roku 1986 (**Obrázek**, str. 28) (ÚZIS ČR 2022).



**Obrázek 5:** Incidence a mortalita zhoubných nádorů vaječnicků v České republice v letech 1977-2020 (ÚZIS ČR 2022).



**Obrázek 6:** Vývoj poměru mortality/incidence zhoubných nádorů vaječníků v České republice v letech 1977-2020 (ÚZIS ČR 2022).

Pokles incidence v mnoha zemích je částečně vysvětlován rozšířením hormonální antikoncepce, již je přisuzována schopnost snížit riziko vzniku OVC až o 20 % za každých 5 let užívání (Webb et al. 2017), a rovněž pokles v užívání menopauzální hormonální terapie (angl. „menopausal hormone replacement therapy“, HRT), která naopak riziko zvyšuje, a to až o 40 % (Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer 2015).

Z nejnovější „umbrella“ analýzy dostupné literatury vyplývá řada potvrzených rizikových faktorů pro vznik OVC. Největší množství důkazů existuje pro obezitu dle BMI (RR 1,27) a tělesnou výšku (RR 1,16 za každých 10 cm), a dále pro již zmiňovanou HRT (RR 1,20 až 1,44 dle definice). Hormonální antikoncepce pak riziko snižuje (RR 0,74 pro jakékoli užívání vs. žádné). Rovněž užívání metforminu, léčiva pro diabetes typu 2, snižuje riziko (RR až 0,18), ale diabetes mellitus ho naopak zvyšuje (RR 1,32) (Whelan et al. 2022; Khanlarkhani et al. 2022). Mezi důležité rizikové faktory patří i blízký příbuzný s OVC nebo předčasné zahájení menstruace (Gong et al. 2013), pozdní menopauza a endometrióza, přičemž zde jsou velké rozdíly v RR pro jednotlivé subtypy OVC (Temkin et al. 2017; Whelan et al. 2022).

Důkazy o vlivu stravy (kromě nepřímého vlivu skrze obezitu) pak jsou spíše slabšího charakteru, a naznačují zvýšení rizika konzumací mléčných výrobků a zpracovaného masa, a jeho snížení konzumací vyššího množství zeleniny, čaje a vápníku (Whelan et al. 2022). Z hlediska životního stylu tedy nejsou doporučení specifická pro primární prevenci OVC, platí zde podobná doporučení jako u jiných nádorových onemocnění.

Z genetických rizikových faktorů je třeba zmínit mutace v genech zodpovědných zejména za opravy DNA. Tyto a jiné rizikové geny jsou uvedeny v **Tabulce 3** (str. 24, kapitola 1.3.1). Zpravidla platí, že pacientky se zárodečnými mutacemi v těchto genech je možné považovat za vysoce rizikové. V takovém případě je možno přistoupit k redukci



rizika chirurgickým odebráním jednoho nebo obou vaječníků, popř. vejcovodů (salpingo-oophorektomie). Operace se provádí zpravidla ve věku 35-40 let, zejména u pacientek s mutací genu *BRCA1*, u kterých je medián věku v době diagnózy velmi nízký – pravděpodobnost prudce vzrůstá po 30 letech věku a dosahuje až 10 % v 50 letech (2-3 % u *BRCA2* mutovaných). Nechirurgického snížení rizika lze dosáhnout již diskutovanou orální hormonální antikoncepcí. V současnosti se rovněž studuje potenciál nehormonálních látek, např. syntetického analogu vitamínu A, nebo nesteroidních protizánětlivých léčiv (NSAID), popř. statinů (Temkin et al. 2017).

## **1.4. Karcinom kolorekta**

### **1.4.1. Diagnostika a klasifikace karcinomu kolorekta**

V časném stádiu je kolorektální karcinom (CRC) asymptomatický, v pozdějším stádiu se projevuje nespecificky – změnou rytmu defekace, popř. bolestmi břicha nebo anemickým syndromem. K prvotnímu odhalení karcinomu může pomoci test na okultní krvácení, ale zlatým standardem diagnostiky je kolonoskopie. Obě tyto metody jsou používány v plošném screeningu CRC (následující kapitola 1.4.2). V případě nalezení nádoru pak následuje histologická charakterizace, zobrazení břicha a možných míst diseminace pomocí ultrasonografie, MR a CT. Využívá se rovněž kombinace PET/MR a PET/CT. Pro monitoring efektu léčby jsou využívány sérové onkomarkery CEA a CA 19-9. Podobně jako u jiných typů nádorů, pro brzkou detekci onemocnění a monitoring léčby mají v budoucnu potenciál CTC (Vasseur et al. 2021) a ctDNA (Osumi et al. 2019).

Více než 90 % CRC jsou z histologického hlediska adenokarcinomy epiteliálního původu, tj. pocházející ze střevní mukózy. Další, většinou vzácné subtypy jsou CRC mucinózní, skvamózní, adenoskvamózní, z prstenčitých buněk aj. Míra dediferenciace se jako obvykle stanovuje ukazatelem grade 1-3 (Fleming et al. 2012). Stanovení stádia dle klinických parametrů se řídí údaji v **Tabulce 5**, str. 30.

**Tabulka 5:** Určení stádia karcinomu kolorekta dle TNM klasifikace (WHO 2019b).

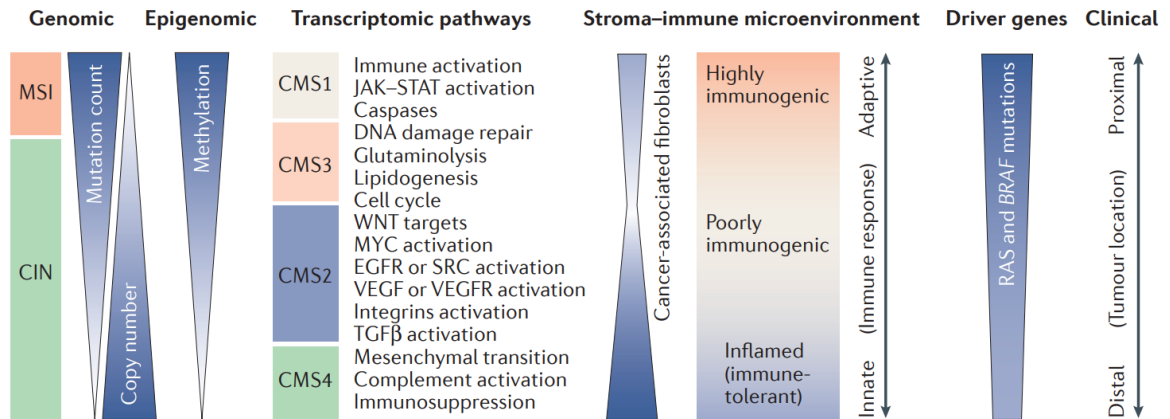
Stádium	T – primární nádor	N – lymfatické uzliny	M – vzdálené metastázy
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>I</b>	T1, T2	N0	M0
<b>II</b>	T3, T4	N0	M0
<b>IIA</b>	T3	N0	M0
<b>IIB</b>	T4a	N0	M0
<b>IIC</b>	T4b	N0	M0
<b>III</b>	jakékoli T	N1, N2	M0
<b>IIIA</b>	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
<b>IIIB</b>	T1, T2	N2b	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T3, T4a	N1	M0
<b>IV</b>	jakékoli T	jakékoli N	M1
<b>IVA</b>	jakékoli T	jakékoli N	M1a
<b>IVB</b>	jakékoli T	jakékoli N	M1b
<b>IVC</b>	jakékoli T	jakékoli N	M1c

*Tis – karcinom in situ, T1 – průnik do submukózy, T2 – průnik do muscularis propria, T3 – průnik do subserózy, perikolické nebo perirektální tkáň, T4a – průnik do viscerálního peritonea, T4b – průnik do jiných orgánů nebo struktur, N0 – bez postižení lymfatických uzlin, N1a – 1 regionální uzlina, N1b – 2-3 regionální uzliny, N2a – 4-6 regionálních uzlin, N2b – 7 a více regionálních uzlin, M0 – bez vzdálených metastáz, M1 – vzdálené metastázy, M1a – metastázy v jednom orgánu (játra, plíce, vaječníky,...) bez peritoneálních, M1b – metastázy ve více orgánech bez peritoneálních, M1c – metastázy v peritoneu bez nebo včetně metastáz v dalších orgánech.*

Díky pokrokům v molekulární analýze CRC je dnes možné onemocnění charakterizovat skupinou molekulárních subtypů. Molekulární charakteristiky můžeme dělit na genomické, epigenomické, transkriptomické a imunitní (**Obrázek 7**, str. 31). Z hlediska genomiky můžeme kromě klasických mutací v driver genech RAS (*KRAS*, *NRAS*) a *BRAF* pozorovat nestabilitu mikrosatelitních úseků (MSI, oproti chromozomální nestabilitě, CIN), korelující s celkovým počtem mutací a snižujícím se množstvím variant v počtech kopií (CNV, angl. „copy number variants“). Ty zároveň korelují s úrovní metylace, specifickými transkriptomickými subtypy definovanými rozdílnou expresí různých signálních a metabolických drah (CMS, z angl. „consensus molecular subtype“), a s komplexními profily imunitní odpovědi v interakci s tumorovým mikroprostředím. Zároveň bylo pozorováno, že zastoupení těchto subtypů závisí na poloze nádoru, tj. jsou jasné rozdíly mezi nádory proximální a distální části střeva (Dienstmann et al. 2017). MSI vzniká z narušení systému oprav DNA, zvaného MMR (z angl. „mismatch repair“), založeného na genech

*MLH1, MSH2, MSH6, PMS2* a *EPCAM* (Vilar a Gruber 2010), a vyskytuje se zhruba u 15 % CRC, častěji ale u nižších stádií oproti vyšším (Martelli et al. 2022).

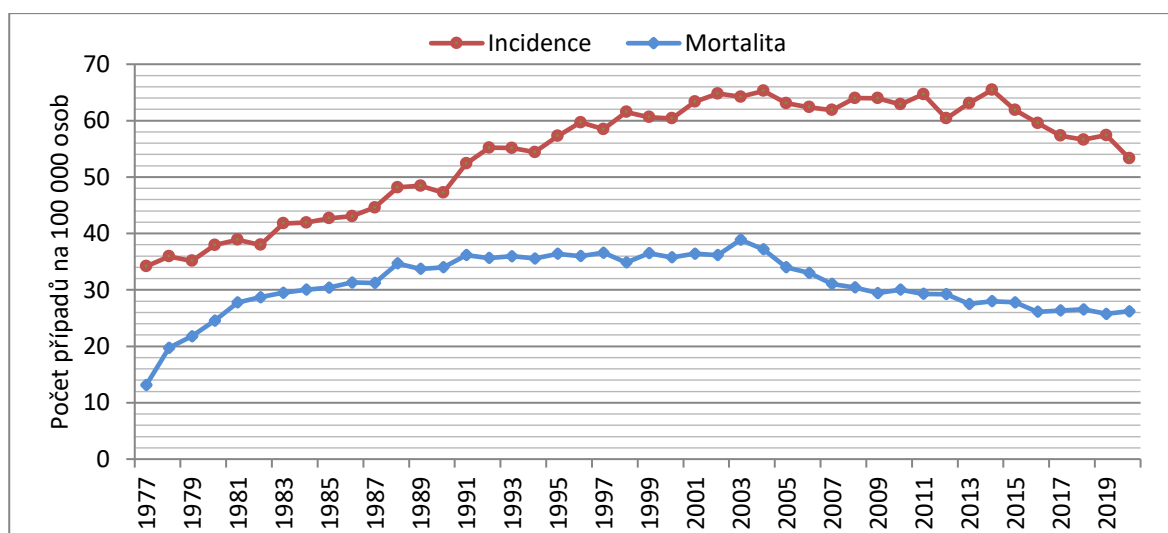
Cílená léčba propojující a využívající tyto poznatky zatím nepronikla do klinické praxe. Ta se zaměřuje na driver geny *KRAS, NRAS* a *BRAF* (mutace V600E), v kombinaci s chemoterapií a imunoterapií. Na obzoru je využití mutací v receptoru HER2, již známém markeru karcinomu prsu a ovarií, a dále velmi vzácné fúze NTRK (neurotrofická tyrosin receptor-kináza) genů (Martelli et al. 2022; Riedesser et al. 2022).



**Obrázek 7:** Schematické znázornění molekulárních subtypů kolorektálního karcinomu. *CIN* – chromozomální nestabilita, *MSI* – mikrosatelitová nestabilita, *CMS* – „consensus molecular subtype“. Převzato (Dienstmann et al. 2017).

#### 1.4.2. Epidemiologie, rizikové faktory a prevence kolorektálního karcinomu

CRC je jedním z nejčastěji diagnostikovaných nádorů celosvětově (3. nejčastější) i v ČR, přičemž ČR v této statistice každoročně patří mezi státy s nejvyšší incidencí (Rawla et al. 2019; Sung et al. 2021). V ČR je druhým nejčastějším novotvarem u mužů i u žen (ÚZIS ČR 2022). Incidence a mortalita v ČR dosahovaly v roce 2020 hodnot 53,3; resp. 26,2 případů na 100 000 osob. Po jejich setrvalém růstu zhruba do roku 2000 mezi lety 2000 a 2010 incidence stagnovala a mortalita klesala, a v posledních deseti letech obě statistiky setrvale klesají (**Obrázek 8**, str. 32) (ÚZIS ČR 2022). Incidence CRC ale v globálním měřítku roste a očekává se, že v příštích dekádách bude představovat stále významnější problém vzhledem k tomu, že je do určité míry spjata se západním stylem života, který se bude nadále šířit v ekonomicky se rozvíjejících zemích s vysokými počty obyvatel (Xi a Xu 2021).



**Obrázek 8:** Incidence a mortalita zhoubných nádorů kolorekta v České republice v letech 1977-2020 (ÚZIS ČR 2022).

Etiologie onemocnění je ovlivněna řadou rizikových faktorů. Nejpodstatnějším je věk pacienta, kdy po 50. roce věku stoupají incidence i mortalita mnohonásobně (Xi a Xu 2021). Je ale nutné zmínit v současnosti prudce rostoucí incidenci, stejně jako vyšší agresivitu a vyšší stádia nádorů, u mladých pacientů, zejména co se týče karcinomu rekta (Siegel et al. 2023; Vuik et al. 2019; Campos 2017). U mužů jsou incidence a mortalita tradičně vyšší než u žen (Sung et al. 2021; ÚZIS ČR 2022), přičemž rozdíl je větší u karcinomu rekta než u karcinomu tlustého střeva (Xi a Xu 2021). Zhruba 35-40 % pacientů vykazuje tzv. susceptibilitu k dědičným faktorům, tj. rodinnou anamnézu, a/nebo genetickou predispozici, jakou je třeba Lynchův syndrom (Keum a Giovannucci 2019; Lichtenstein et al. 2000). Zhruba 60-65 % případů CRC je sporadických (někdy až 80 %, v závislosti na definici), tj. bez rodinné anamnézy nebo dědičných genetických změn (Keum a Giovannucci 2019; Tian et al. 2019).

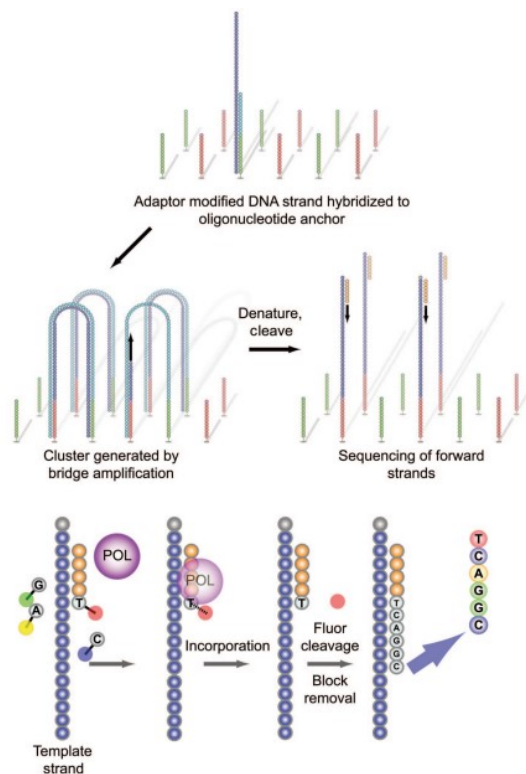
Mezi rizikové faktory vycházející z životního stylu pak patří nízká fyzická aktivita (RR cca 1,5) (Ruiz-Casado et al. 2017; Schmid a Leitzmann 2014), obezita (RR cca 1,5) (Dong et al. 2017; Ye et al. 2020), vysoký příjem alkoholu (Choi et al. 2017; Rossi et al. 2018), kouření (Hamada et al. 2019; Murphy et al. 2019; Secretan et al. 2009), chronická zánětlivá onemocnění střev (RR cca 2,4) (Jess et al. 2012; Lutgens et al. 2013; Nadeem et al. 2020), a složení střevního mikrobiomu (Cao et al. 2018; Zhang et al. 2019). Vliv stravy je tedy přímý (karcinogenní látky), nebo nepřímý právě přes ovlivnění mikrobiomu nebo tělesné hmotnosti, popř. podporu zánětu. Z hlediska stravy je tedy vhodné v zájmu primární prevence respektovat obecná pravidla zdravé stravy, přičemž u CRC oproti jiným nádorům je ještě zásadnější postavení vysokého množství vlákniny, umožňující snazší posun stolice střevem (kratší doba expozice), omezující přímý kontakt karcinogenů s mukózou, a podporující bakteriální anaerobní fermentaci, produkující mastné kyseliny s krátkým

řetězcem. Ty mohou mít protektivní efekt omezením proliferace a indukcí apoptózy některých buněk. Snížení množství konzumovaného masa, zejména červeného a vysoce zpracovaného pomocí nitrátů nebo nitritů, má rovněž protektivní vliv, jelikož hemová skupina, zejména v nitrosylované formě, je vysoce účinným katalyzátorem tvorby nitrosových sloučenin, známých karcinogenů (Bouvard et al. 2015; Norat et al. 2015; 2002; Tabung et al. 2018). Vysoký příjem vlákniny také může snižovat koncentraci cirkulujícího estrogenu (Monroe et al. 2007; Maskarinec et al. 2006).

Od roku 2014 probíhá v ČR plošný screening za účelem včasného záchytu onemocnění, tedy když ještě nejsou pozorovatelné příznaky. Základem screeningu je pravidelný test na okultní krvácení (TOK, 50-54 let věku, jednou ročně, poté jednou za dva roky) a/nebo screeningová kolonoskopie. Ta může být indikována praktickým lékařem nebo gastroenterologem v případě pozitivního TOK, nebo jako jeho alternativa, a od 50 let věku je hrazena z veřejného zdravotního pojištění. V případě negativního nálezu je opakována nejpozději po 10 letech (Masarykova univerzita 2022). Ročně je odstraněno díky screeningu asi 13 tisíc adenomových polypů, tedy potenciálních prekanceróz. Do roku 2019 bylo pokrytí populace nad 50 let kolem 30 %, poté v důsledku pandemie COVID-19 kleslo (Analýza Masarykovy univerzity 2021).

## 1.5. Genomika jako nástroj personalizované onkologie

Vzestup výkonu a dostupnosti sekvenování nové generace (NGS, angl. „next-generation sequencing“), především platformy Illumina (dříve Solexa), založeného na principu vysoce paralelizovaného sekvenování pomocí postupné syntézy komplementárních vláken DNA s následným čtením (**Obrázek 9**, str. 34), umožnily, zejména v posledních deseti letech, překotný rozvoj genomiky. Genomika je vědní obor hromadně analyzující velké množství genetických dat v jednotlivém vzorku nebo souboru vzorků najednou, na rozdíl od tradiční genetiky, která se zabývá analýzou jednotlivých genů. Vznikly ale tak zároveň nové požadavky na náročnou bioinformatickou analýzu a uložení velkého množství dat a zejména jejich interpretaci pro optimální využití v klinické praxi.



**Obrázek 9:** Princip sekvenování pomocí syntézy, platforma Illumina.

Po hybridizaci fragmentu DNA jsou jednotlivé fragmenty amplifikovány pomocí tzv. bridge PCR a tvoří samostatné klastry. Jednovláknové fragmenty v klastrech jsou následně pomocí polymerázy (POL) přeměňovány na dvouvláknové, a to postupnou syntézou komplementárního vlákna bázi po bázi, za použití nukleotidů blokových fluorescenčních skupin se specifickou barvou. Po navázání nukleotidu následuje odštěpení blokační skupiny a fluorescenční signál nukleotidu je zaznamenán kamerou. Celý proces se teoreticky opakuje až do připojení posledního nukleotidu. V případě párového sekvenování je fragment posléze opět převeden na jednovláknový, je „otočen“ a sekvenace probíhá v opačném směru, čímž se získaná informace téměř zdvojnásobí. Převzato (Voelkerding et al. 2009).

Ačkoli celogenomové sekvenování je každým rokem dostupnější, v klinické praxi i ve výzkumu se z důvodu nižší ceny a možnosti detailnější analýzy stále velmi často používá tzv. cílené sekvenování, tj. sekvenování pouze vybrané části genomu (popř. celého exomu), která je před sekvenací ve vzorku nabohacena.

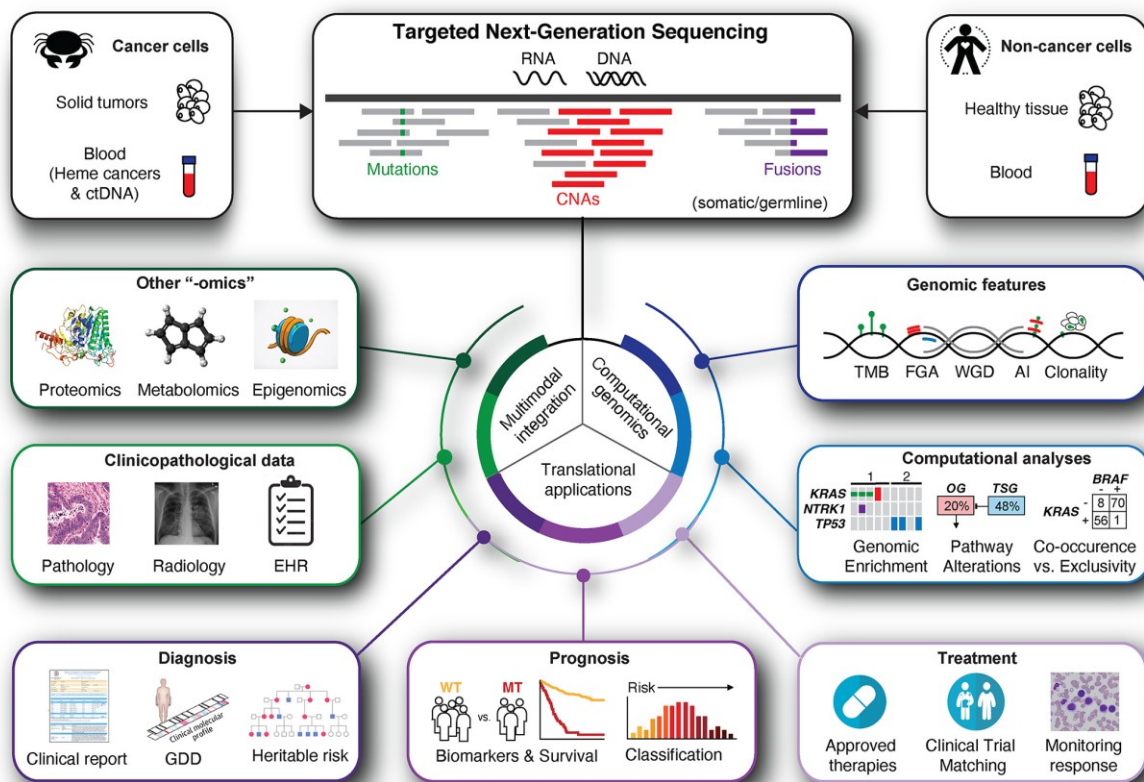
V případě sekvenace transkriptomu, která je možná po předchozí reverzní transkripci RNA na komplementární DNA (cDNA), je cílené nabohacení specifického panelu genů (transkriptů) rovněž možné, ale v mnoha případech není nutné, z důvodu nižší sekvenační náročnosti oproti sekvenaci celého genomu. Zpravidla je ale třeba ze vzorku odfiltrovat ribozomální RNA (pokud není cílem), která jinak vzhledem ke své vysoké koncentraci zahrnuje analýzu. To je často řešeno tzv. ribodeplecí, popř. při sekvenování pouze mRNA její izolací ze vzorku skrze sondy specificky vázající poly(A) úseky na 3' konci (Zhao et al. 2014). Rychlejší metodou je pak použití primerů, specificky nasedajících na poly(A) konce, takže je mRNA ve vzorku nabohacena pomocí PCR již na začátku postupu (použito v této práci). V nejběžnějším použití RNA sekvenování nabízí velmi výhodnou alternativu kvantitativní PCR nebo mikročipů ke stanovení exprese genů vzhledem k tomu, že je schopna zachytit celý transkriptom (včetně nekódujících RNA) najednou a není potřeba pro jednotlivé transkripty vytvářet specifické primery nebo sondy. Pomocí RNA sekvenování je rovněž možné odhalit např. i fúze genů a mnoho dalších typů mutací (Solomon et al. 2020; Zheng et al. 2014; Zhu et al. 2019).

Typický protokol přípravy vzorku k DNA sekvenaci (tvorba tzv. sekvenační knihovny) nejprve obnáší fragmentaci dostatečně kvalitní DNA na fragmenty specifické délky, a to pomocí mechanické nebo enzymatické metody. Na fragmenty jsou poté postupně připojeny adaptérové sekvence, umožňující navázání na povrch sekvenační cely, a indexové sekvence, umožňující tzn. multiplexing, tj. sekvenování více vzorků najednou. Tyto sekvence poté slouží k bioinformatickému rozřídění dat pro jednotlivé vzorky. Knihovny jsou v průběhu přípravy zpravidla amplifikovány pomocí PCR. Po sekvenaci následuje bioinformatická analýza, v první fázi zahrnující převod vizuální informace ze záznamu snímače na informaci o sekvenci jednotlivých fragmentů DNA. Tuto fázi provádí sekvenátor automaticky a nazývá se primární bioinformatickou analýzou. Druhá fáze analýzy (sekundární) obnáší mnoho kroků, ale zásadě je vždy cílem dopracovat se od rozsáhlého souboru krátkých osekvenovaných fragmentů, obsahujících chyby a nežádoucí informace, k detailně popsanému (anotovanému) a ověřenému seznamu variant. Nejprve se jedná o odstranění adaptérových sekvencí a sekvencí s nízkou kvalitou čtení (tzv. „trimming“), dále odstranění duplikátů vzniklých v průběhu přípravy knihovny nebo sekvenování (deduplikace), a poté tzv. „alignment“, tj. porovnávání fragmentů s referenční sekvencí a sestavení konsenzuální sekvence. Posledním krokem v případě klasického sekvenování genomické DNA za účelem odhalení genetických variant je tzv. „variant calling“, který detekuje odlišnosti v sekvenci oproti referenci, a nakonec anotace dat, tj. přiřazení kontextu k nalezeným variantám na základě známých informací z databází. Takto je možné odhalit především krátké varianty, ale i varianty v počtu kopií genu, popř. větší strukturní aberace (Cheng et al. 2015; Zehir et al. 2017). V případě nádorů je třeba rozlišit varianty zárodečné, tj. dědičné, které jsou získány zpravidla z krve nebo z nenádorového vzorku pacienta, a varianty somatické, tj. varianty identifikované sekvenací nádorové DNA, a které vznikly v nádorové tkáni (Luthra et al. 2022). V případě nejběžnější formy RNA sekvenování za účelem kvantifikace genových transkriptů (jako v této práci), je základní postup v mnohém podobný (softwarové nástroje mohou být specifické), přičemž hlavní rozdíl spočívá v kvantifikaci jednotlivých transkriptů namísto detekce variant.

Vzestup genomiky umožnil rozsáhlý výzkum mnoha molekulárních aspektů vzniku a progresu onkologických onemocnění, vzhledem k jejich genetické podstatě. Vedl také k velkému množství objevů nových cílů pro cílenou terapii. V dnešní době se onkogenomické metody již běžně uplatňují i v klinické praxi, kdy často přináší zlevnění a urychlení původních přístupů, nebo zcela nové možnosti (Berger a Mardis, 2018). Umožňují např. stratifikaci pacientů podle jejich molekulárních profilů a detekci prognostických a prediktivních biomarkerů, čímž zpřesňují a zkvalitňují léčbu (Chakravarty a Solit 2021; Hyman et al. 2017). Screening dědičných zárodečných variant umožňuje identifikovat pacienty se zvýšeným rizikem vzniku nádoru (Cheng et al. 2017).



Kromě zmíněných poznatků umožňují genomika a transkriptomika i integraci s dalšími „omics“ vědami, např. proteomikou, metabolomikou, epigenomikou apod., čímž lze získat výrazně komplexnější přehled o vzájemně provázaných aspektech onemocnění, ačkoli analýza a interpretace takových dat, zejména při kombinaci třech a více typů, je zpravidla velmi obtížná. Možnosti využití cíleného sekvenování v klinické praxi, v kombinaci s klinickými daty pacientů, je shrnuta v **Obrázku 10**.



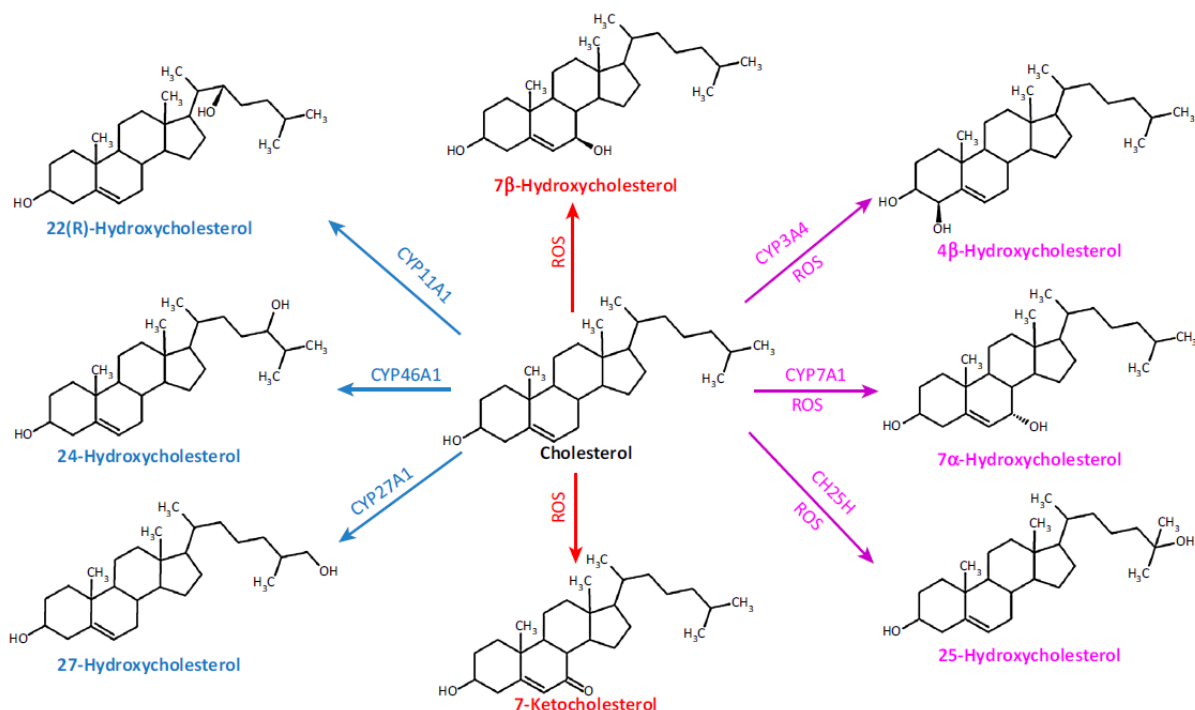
**Obrázek 10:** Aspekty onkogenomiky v současnosti používané ve výzkumu a klinické praxi, s důrazem na cílené panelové sekvenování. *FGA* – frakce genomu ovlivněná variantami v počtech kopií, *AI* – alelická nerovnováha, angl. *allelic imbalance*, *GDD* – angl. *genome-directed diagnosis*, *NGS* – angl. *next-generation sequencing*, *OG* – onkogen, *TMB* – mutační zátěž nádoru, angl. *tumor mutation burden*, *TSG* – tumor supresorový gen. Převzato (Luthra et al. 2022).



## 1.6. Oxysteroly a jejich význam v onkologii

### 1.6.1. Úvod do problematiky oxysterolů

Oxysteroly jsou skupinou oxidovaných derivátů cholesterolu nebo některých jeho prekurzorů (Schroepfer 2000). Oxygenované formy fytoosterolů a cholestanových kyselin je taktéž možno počítat do této skupiny (Griffiths et al. 2016; Hovenkamp et al. 2008). Endogenně v těle vznikají enzymatickou cestou nebo autooxidací, popř. jsou do organismu přijímány skrze stravu. Enzymatická cesta s sebou nese vyšší pravděpodobnost oxidace postranního řetězce molekuly, zatímco autooxidace, nejčastěji způsobená radikálovou reakcí s reaktivními formami kyslíku, častěji vede k oxidaci na kruhu (Iuliano, 2011; Murphy a Johnson, 2008). Některé oxysteroly ale mohou být produkovány oběma cestami. Mezi nejznámější příklady oxysterolů s modifikovaným postranním řetězcem patří 22(R)-hydroxycholesterol (22(R)-HC), 24(S)-hydroxycholesterol (24-HC), nebo 27-hydroxycholesterol (27-HC), zatímco 7 $\alpha$ / $\beta$ -hydroxycholesterol (7 $\alpha$ / $\beta$ -HC) a 7-ketocholesterol (7-KC) jsou známí zástupci oxysterolů s modifikovaným sterolovým kruhem (konkrétně kruhem B, **Obrázek 11**).



**Obrázek 11:** Příklady struktur běžných oxysterolů a způsob jejich vzniku.

ROS – z angl. „reactive oxygen species“, tj. reaktivní formy kyslíku. Převzato (Kloudova et al. 2017).

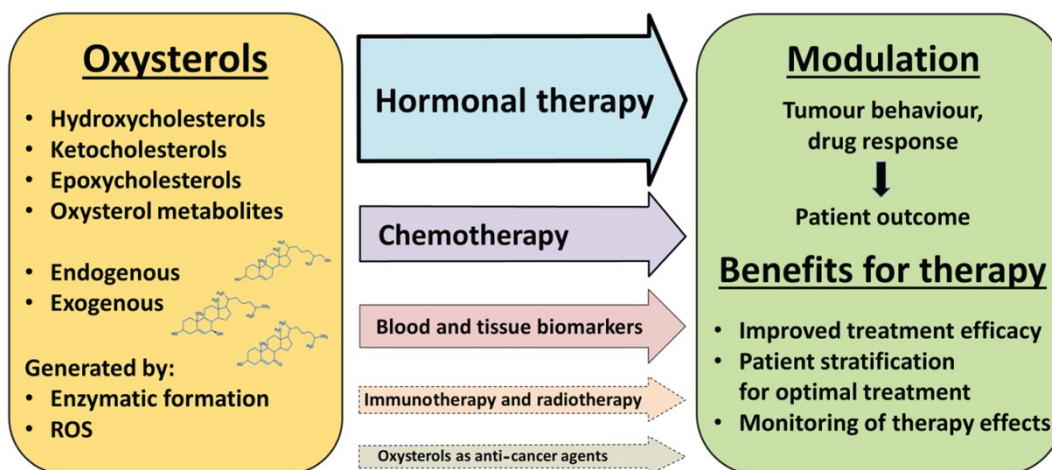
Oxysteroly jako skupina molekul jsou známy již více než 40 let (Kandutsch et al. 1978) a dobře je popsána jejich klíčová funkce v udržování buněčné homeostázy

cholesterolu, kde fungují jako signální molekuly zodpovědné za omezování biosyntézy cholesterolu, snižování příjmu exogenního cholesterolu buňkou a stimulaci vyplavování cholesterolu ven z buňky (Howe et al. 2016). Významné jsou i pro strukturu buněčné membrány (Kulig et al. 2016b; 2016a), ve fyziologii imunitního systému a v zánětlivých procesech (Bah et al. 2017; de Freitas et al. 2022), a v diferenciaci mesenchymálních kmenových buněk (Levy et al. 2017). Jsou součástí řady důležitých signálních drah, např. Hedgehog (Corcoran a Scott 2006; Dwyer et al. 2007; Gorojankina 2016), Wnt (de Weille et al. 2013), mTOR (Wang et al. 2017b; 2013b) nebo Notch (Kim et al. 2010). V posledních letech se množí důkazy, spojující oxysteroly s širokým spektrem patologických jevů a onemocnění, např. s neurodegenerativními procesy, stárnutím, makulární degenerací a tvorbou kataraktu (de Medina et al. 2022; Doria et al. 2016; Javitt a Javitt 2009; Jeitner et al. 2011; Zarrouk et al. 2014), nebo aterosklerózou (Zmyslowski a Szterk 2017). Velkou skupinou onemocnění, v jejímž kontextu jsou oxysteroly stále častěji studovány, jsou onemocnění nádorová (Kloudova et al. 2017).

Zatímco v průsečíku onkologického a oxysterolového výzkumu existuje řada studií, drtivá většina se zabývá především oxysteroly jako takovými a jejich vlivem na nádorové buňky *in vitro*, výrazně méně často pak *in vivo* v myších modelech. Studie na pacientech se orientují především na měření koncentrace oxysterolů v krvi, popř. v tkáních. Opomíjen je potenciál genetické variability genů zapojených do biologických účinků oxysterolů, popř. mechanismů, jimiž tato variabilita ovlivňuje nádorové buňky pacienta nebo léčbu. Moderní genomické metody teoreticky mohou poskytnout nové poznatky v této neprobádané oblasti.

### **1.6.2. Role oxysterolů v terapii nádorových onemocnění**

V poslední době přibývají důkazy toho, že oxysteroly mohou přímo ovlivňovat efektivitu onkologické léčby. Navíc existují i první indicie, že by oxysteroly mohly být využitelné jako nádorové biomarkery, popř. jako protinádorová léčiva (**Obrázek 12**, str. 39) (Kloudova-Spalenkova et al. 2021).



**Obrázek 12:** Schematické znázornění množství důkazů v jednotlivých oblastech, spojujících oxysteroly s dopady na nádorové buňky a/nebo léčbu pacienta.

Velikost a výraznost šipky zhruba odpovídá množství a kvalitě důkazů. Převzato z vlastní publikace (Kloudova-Spalenkova et al. 2021).

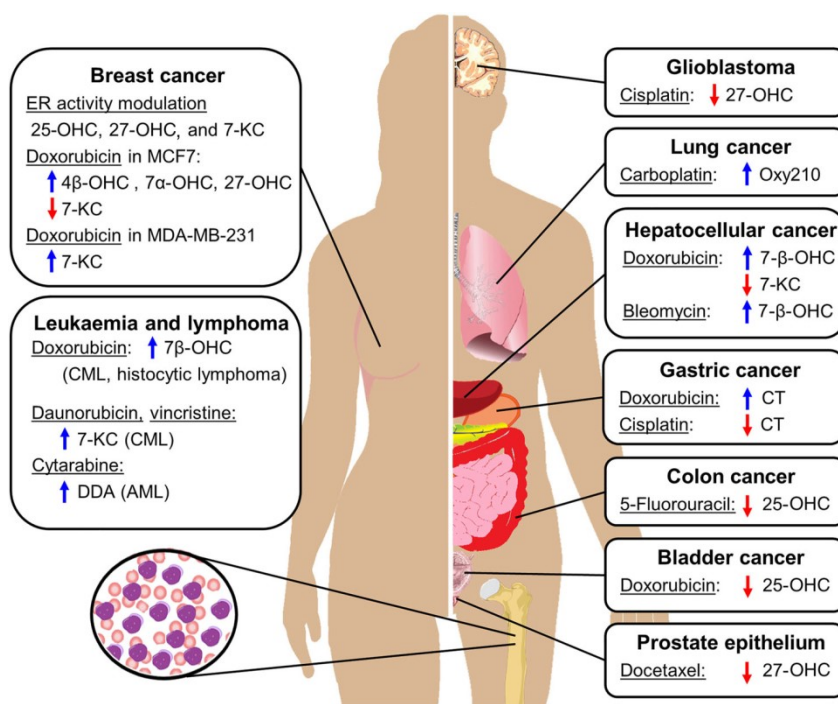
### 1.6.2.1. Vliv oxysterolů na onkologickou léčbu

Hlavní a nejlépe prozkoumanou oblastí vlivu oxysterolů na onkologickou léčbu je nepřekvapivě hormonální terapie karcinomu prsu, z důvodu interakce oxysterolů s hormonálními receptory, zejména  $ER\alpha$  a  $ER\beta$ . 27-HC může svým aktivačním efektem narušovat funkci tamoxifenu, široce používaného terapeutika (He a Nelson 2017; Kloudova et al. 2017; Nelson 2018). Dále bylo například ukázáno, že 27-HC a 25-hydroxycholesterol (25-HC) mohou *in vitro* obnovit proliferaci buněk potlačenou léčivem fulvestrant (Simigdala et al. 2016). Rovněž 7-KC byl popsán jako aktivátor ER (Wang et al. 2017b). Tamoxifen navíc přispívá ke vzniku některých epoxycholesterolů blokací komplexu AEBS/ChEH, což v důsledku napomáhá jeho protinádorovému účinku a čímž se možné mechanismy vlivu oxysterolů komplikují (Segala et al. 2013).

Druhou rozsáhlou oblastí je oblast chemoterapie. Zde je nutno podotknout, že v podstatě všechny důkazy existují pouze *in vitro*, ale na druhou stranu jich existuje poměrně hodně. Výsledky se ale často zcela odlišují v závislosti na použitých buněčných liniích, oxysterolech a terapeutikách (Kloudova-Spalenkova et al. 2021). Hodí se tedy spíše vyjmenovat kombinace, které dosud byly zkoumány. Nejvíce zkoumaným je vliv na účinek doxorubicinu, kde bylo u několika oxysterolů ukázáno, že mohou snižovat nebo zvyšovat jeho účinek, a to v buňkách karcinomu prsu (Wang et al. 2017b), jater (Wang et al. 2013b), močového měchýře (Wang et al. 2020), tlustého střeva (Carvalho et al. 2010) nebo chronické myeloidní leukémie (Hyun et al. 2002). Dalšími studovanými chemoterapeutiky jsou například 5-fluorouracil (5-FU), etoposid, daunorubicin nebo vincristin (Hyun et al. 2002; Rosa Fernandes et al. 2017). Účinky cisplatinu v kombinaci s oxysteroly byly zkoumány

v buňkách karcinomu tlustého střeva (Carvalho et al. 2010) a v buňkách glioblastomu (Liu et al. 2019). V buňkách karcinomu žaludku byla studována kombinace 25-HC a 5-FU, kdy došlo ke snížení citlivosti buněk na léčivo a zvýšení jejich proliferace (Wang et al. 2019b). Oxysterol dendrogenin A (DDA) v buňkách akutní myeloidní leukémie (AML) zvyšoval účinnost cytarabinu (Serhan et al. 2020). Pestrost vlivu oxysterolů na účinek různých chemoterapeutik na různé typy nádorových buněk je ilustrována na **Obrázku 13**.

Určité nepřímé důkazy ukazují na možný vliv oxysterolů na imunoterapii a radioterapii, ale zatím nelze mluvit o jasném potvrzení existence těchto jevů (Kloudova-Spalenkova et al. 2021).



**Obrázek 13:** Vliv oxysterolů na účinek chemoterapeutických léčiv u různých typů nádorových buněk.

Zvýšení účinku – šipka nahoru. Snížení účinku – šipka dolů. 4β-OHC - 4β-hydroxycholesterol. 7α-OHC - 7α-hydroxycholesterol. 7-KC - 7-ketocholesterol. 25-OHC - 25-hydroxycholesterol. 27-OHC - 27-hydroxycholesterol. AML - akutní myeloidní leukémie. CML - chronická myeloidní leukémie. DDA - dendrogenin A. Převzato z vlastní publikace (Kloudova-Spalenkova et al. 2021).

### 1.6.2.2. Potenciál oxysterolů jako biomarkerů a protinádorových léčiv

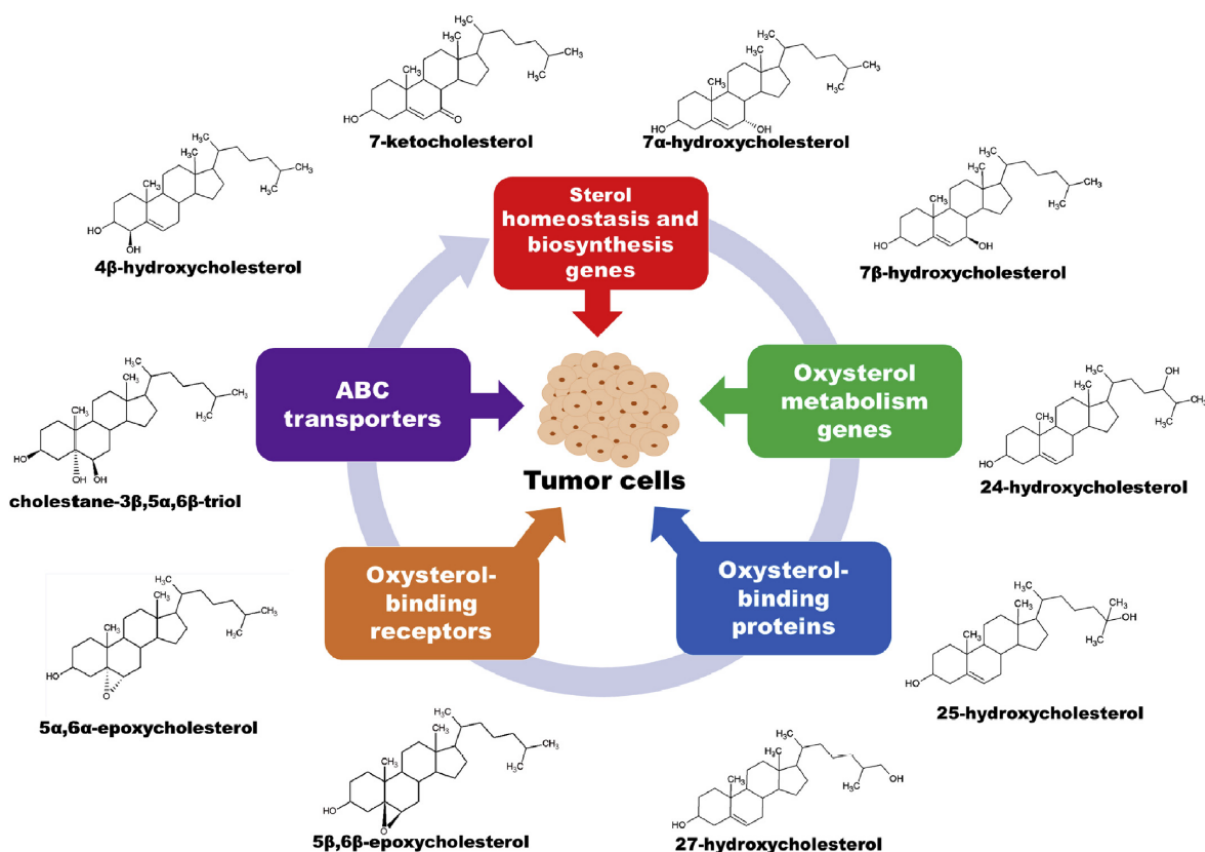
V poslední době jsou oxysteroly zkoumány z hlediska jejich potenciálního využití jako biomarkerů pro diagnostiku, určení prognózy a pro predikci účinku terapie nádorových onemocnění. Studie zpravidla měří hladiny jednotlivých oxysterolů v séru, popř. plazmě, nebo v tkáni onkologických pacientů a kontrolních zdravých dobrovolníků. Zde je zdaleka nejzkoumanější molekulou 27-HC. Dvě studie zaměřené na jeho hladiny v krvi pacientek

s nádorem prsu neodhalily jasnou asociaci s onemocněním nebo rizikem jeho vzniku, ale v jednom případě byl pozorován mnohem větší rozptyl hodnot u pacientek oproti kontrolám (Wu et al. 2013) a v druhém byla pozorována negativní asociace hladiny 27-HC a rizika vzniku nádoru u postmenopauzální podskupiny pacientek (Lu et al. 2019). V nedávné studii hladiny oxysterolů 27-HC a 7 $\alpha$ -HC v séru asociovaly s velikostí nádoru prsu, hladiny cholestan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triolu (ChT) a 5 $\beta$ ,6 $\beta$ -EC se stádiem nemoci, a hladina ChT navíc s délkou přežívání pacientek (Kloudova-Spalenkova et al. 2020). Dále bylo pozorováno, že hladiny řady oxysterolů se mohou významně měnit u pacientek s karcinomem prsu po léčbě tamoxifenem, popř. po chirurgické resekci nádoru (Dalenc et al. 2017; Soucek et al. 2018). 25-HC byl navržen jako biomarker progresu karcinomu prsu (Dalenc et al. 2017). V metabolické studii rozdělila hladina 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -EC pacienty s karcinomem pankreatu a zdravé kontroly (Gangi et al. 2016). 7 $\beta$ -HC byl navržen jako biomarker rizika vzniku karcinomu plic (Linseisen et al. 2002). Další typy onemocnění, kde byly studovány hladiny oxysterolů v krvi pacientů, je karcinom žaludku (Guo et al. 2018), tlustého střeva a konečníku (Rossin et al. 2019), močového měchýře (Wang et al. 2020), a glioblastomu (Liu et al. 2019). Výzkum v této oblasti je bohužel značně komplikován tím, že metody stanovení oxysterolů jsou velmi obtížné a existují velké rozdíly v protokolech (a výsledcích) jednotlivých laboratoří (Kloudova-Spalenkova et al. 2021).

Již před více než dvaceti lety byly poprvé popsány proapoptotické a protinádorové účinky oxysterolů (Bischoff et al. 2000). Ve studii osmi endogenních a 22 syntetických oxysterolů byla pozorována vysoká cytotoxická aktivita dvou endogenních a jednoho syntetického oxysterolu proti leukemickým buňkám LAMA-84 (Carvalho et al. 2010). V rozsáhlejší studii na sedmi nádorových a dvou nenádorových buněčných liniích stejní autoři ukázali pět oxysterolových derivátů, které byly selektivně více cytotoxické vůči nádorovým buňkám než buňkám nenádorovým (Carvalho et al. 2011). Protože 20 $\alpha$ ,22(R)-dihydroxycholesterol je schopen inhibovat dráhu Hh v myším modelu fibroblastů (Wang et al. 2017a), byla na jeho základě provedena screeningová studie 70 strukturních analogů, jejímž výsledkem byla syntéza Oxy186, nového oxysterolu, u něhož byla posléze dokázána inhibiční funkce dráhy Hedgehog v buňkách karcinomu plic a pankreatu *in vivo* (Wang et al. 2019a). Druhou nadějnou molekulou je Oxy210, jenž inhibuje Hedgehog, ale navíc i TGF-Beta dráhu v buňkách karcinomu plic, a navíc zesiluje anti-proliferační účinek karboplatiny (Stappenbeck et al. 2019). Zajímavou látku představuje oxysterol dendrogenin A (DDA), který se ukázal jako tumor-supresor *in vitro* a *in vivo* (de Medina et al. 2021; 2013; Poirot a Silvente-Poirot 2018).

### 1.6.3. Oxysterolové geny a dráhy – zárodečné varianty ovlivňující nádorová onemocnění

Pro genomický výzkum role oxysterolů v onkologických onemocněních je nejprve nutné znát, které geny nebo jejich produkty s oxysteroly přímo interagují. Somatické varianty byly dosud zřídka zkoumány v kontextu oxysterolových drah a navíc poměrně krátkou dobu. Pro podstatně déle studované varianty zárodečné již řada výsledků existuje (viz dále), ačkoli jde zpravidla o vedlejší nálezy ze studií bez přímého zaměření na oxysterolovou problematiku. Zlepšit tuto situaci je jedním z cílů této disertační práce.



**Obrázek 14:** Schematické znázornění pěti hlavních skupin genů/molekul interagujících s oxysteroly, které teoreticky mohou mít vliv na chování nádorové buňky.

*Převzato z vlastní publikace (Holy et al. 2018).*

Geny interagující s oxysteroly můžeme zhruba rozdělit do pěti skupin (**Obrázek 14**). Jedná se zaprvé o geny zodpovědné za homeostázu a biosyntézu sterolů, dále geny přímo metabolizující oxysteroly, skupinu proteinů vázajících oxysteroly (angl. „oxysterol-binding proteins, OSBPs), skupinu receptorů vázajících oxysteroly, a nakonec ABC transportéry (z angl. „ATP-binding cassette“), které oxysteroly přenáší nebo jsou jimi ovlivněny. Skupinu ABC transportérů je možno zahrnout rovněž do skupiny první. V této kapitole budou

představeny jen nejdůležitější geny z těchto skupin, u nichž byl prokázán vztah mezi jednonukleotidovým polymorfismem (SNP), popř. jinou krátkou zárodečnou variantou, a nádorovým onemocněním. Nejčastěji jde o asociaci s rizikem vzniku onemocnění nebo s jeho prognózou, a varianty tedy mají potenciál jako prediktivní nebo prognostické biomarkery.

### 1.6.3.1. Faktory zodpovědné za biosyntézu, homeostázu a transport sterolů

Vzhledem k tomu, že cholesterol je zásadní pro tvorbu biologických membrán a řadu dalších procesů, není překvapivé, že jeho metabolismus je deregulován v nádorových buňkách (Kuzu et al. 2016). Zvýšené hladiny cholesterolu oproti nenádorovým buňkám byly nalezeny v řadě nádorů (Smith a Land 2012, s. 1) a akumulace intracelulárního cholesterolu přispívá k potlačování proapoptotických signálů a přispívá k chemorezistenci (Kuzu et al. 2016; Montero et al. 2008).

Geny zásadní pro biosyntézu cholesterolu se v řadě případů ukázaly rovněž jako schopné interakce s oxysteroly. Například hydroxymethylglutaryl koenzym A reduktáza (*HMGCR*) klíčová v tzv. mevalonátové dráze biosyntézy cholesterolu (Buhaescu a Izzedine, 2007), obsahuje vazné místo pro oxysteroly (konkrétně 25-HC a 27-HC), které mohou svou přítomností podpořit ubiquitinaci *HMGCR* a jeho následnou proteolytickou inaktivaci (Lange et al. 2008; Sever et al. 2003; Song a DeBose-Boyd 2004). Nejedna varianta v *HMGCR* byla studována v souvislosti s nádory, především kolorekta a prostaty (Bull et al. 2016; Lipkin et al. 2010; Medina 2010; Orho-Melander et al. 2017). Gen *DHCR7*, jehož proteinový produkt mimo jiné katalyzuje přeměny některých epoxycholesterolů a dihydroxycholesterolů (de Medina et al. 2010; Newman et al. 2005), je studován velmi často, vzhledem k jeho zásadnímu postavení jako posledního enzymu tvorby cholesterolu a v dráze vitamínu D (Moebius et al. 1998; Prabhu et al. 10). V komplexu s proteinem EBP (z angl. „emopamil binding protein“) zvaném AEBS (angl. „antiestrogen binding site“) je mediátorem efektů tamoxifenu (těch nezávislých na estrogenovém receptoru), léčiva často používaného pro terapii karcinomu prsu (Kedjouar et al. 2004). Na AEBS se navíc dokáží navázat některé oxysteroly a měnit jeho aktivitu (de Medina et al., 2011; Hwang a Matin, 1989). Varianty v *DHCR7* tedy mají tedy teoreticky potenciál ovlivňovat chování nádorových buněk vystavených chemoterapii, popř. jejich chování obecně.

Regulace homeostázy cholesterolu je zajištěna především takzvanou dráhou SREBP (z angl. „sterol regulatory element-binding protein“), která je lokalizována hlavně v endoplasmatickém retikulu buňky. SREBP (geny *SREBF1* a *SREBF2*) jsou proteiny dimerizující s proteinem Scap v případě nízké hladiny cholesterolu v buňce. Tento komplex poté cestuje do Golgiho aparátu, kde je proteolyticky aktivován proteázami MBPTS1 a MBPTS2. Doména SREBP představující transkripční faktor je poté translokována do jádra,

kde indukuje transkripci genů zodpovědných za biosyntézu a import cholesterolu do buňky. Pokud je cholesterolu nadbytek, tato doména naopak váže protein Scap a znemožňuje mu přejít do Golgiho aparátu. Místo toho se tento dimer váže na proteiny Insig (*INSIG1* a *INSIG2*), které představují další důležitou součást systému. Zde se projevuje zásadní vliv oxysterolů (rovněž přítomných při nadbytku cholesterolu), které se váží na vzniklý neaktivní trimer Scap-SREBP-Insig a dále ho stabilizují. SREBP je tím udrženo v endoplazmatickém retikulu (Howe et al. 2016; Sato 2010). Dalšími komponentami jsou protein erlin 1 (*ERLIN1*) a erlin 2 (*ERLIN2*), které jsou rovněž schopny vázat SREBP a podpořit jeho inaktivaci (Howe et al. 2016; Huber et al. 2013). Varianty v genech SREBP systému mají v některých studiích, zejména celogenomových asociačních (angl. „genome-wide association study“, GWAS), slabé, ale nezanedbatelné vazby na karcinom endometria (*SREBF1*) (Qiu et al. 2014), jícnu (*INSIG2*) (Chattopadhyay et al. 2010), popř. prostaty nebo plic (*ERLIN1*) (Barnett et al. 2014; McKay et al. 2017).

Důležitou skupinou molekul pro transport cholesterolu a jeho derivátů jsou ABC transportéry. Tato rozsáhlá skupina obsahuje sedm rodin, z nichž rodiny A, B, C, D a G transportují lipidy (Pohl et al. 2005; Quazi a Molday 2011). Co se týče transportu oxysterolů, jen u dvou ABC transportérů je přímo prokázáno, že transportují oxysteroly (25-HC přes ABCA1 (Aye et al. 2010; Quazi a Molday 2011) a několik oxysterolů přes ABCG2 (Aye et al. 2010; Engel et al. 2014; 2007)). Pro ABCG5 a ABCG8, které ve formě heterodimeru transportují cholesterol, a teoreticky by mohly být schopny přenášet i oxysteroly (Hovenkamp et al. 2008), to ale dosud nebylo prokázáno. Aktivita řady dalších ABC transportérů, např. *ABCA1* (Costet et al. 2000; Hozoji et al. 2008; Venkateswaran et al. 2000), *ABCB1* (ElAli a Hermann 2012), *ABCC1* (ElAli a Hermann 2012), *ABCC2* (Chisaki et al. 2009), *ABCG1* (Venkateswaran et al. 2000), *ABCG4* (Engel et al. 2001), *ABCG5* (Repa et al. 2002), *ABCG8* (Repa et al. 2002), je oxysteroly ovlivněna. Studovaným v kontextu onkologie je za prvé ABCA1 (gen *ABCA1*), jenž se podílí na vyplavování chemoterapeutik a jeho varianty ovlivňují odpověď na chemoterapeutickou léčbu, popř. přežití pacientů s několika typy nádorů (viz citace v přehledovém článku (Holy et al. 2018)). ABCB1 (gen *ABCB1*), neboli P-glykoprotein, popř. MDR1 (z angl. „multidrug resistance protein 1“) je nejznámějším ABC transportérem a podílí se na transportu obrovského množství látek, mimo jiné léčiv, ven z buňky. Proto je (nejen) geneticky zdaleka nejprostudovanějším ABC transportérem a jeho vazba na onkologii je velmi silná v mnoha směrech (Ankathil 2017; Tulsyan et al. 2016; Wolking et al. 2015). Příbuzné ABCC1 (angl. „multidrug resistance-associated protein 1“, MRP1; gen *ABCC1*) a *ABCC2* (MRP2; gen *ABCC2*) rovněž ovlivňují nádorová onemocnění ve velké míře (Bruhn a Cascorbi, 2014; Kunická a Souček, 2014; van der Schoor et al., 2015).



### 1.6.3.2. Enzymy metabolizující oxysteroly

Enzymy participující na metabolismu oxysterolů lze rozdělit na dvě skupiny, a to transferázy nebo oxidoreduktázy. Z transferáz stojí za zmínku sterol-*O*-acyltransferázy 1 a 2 (geny *SOAT1* a *SOAT2*), provádějící esterifikaci cholesterolu a oxysterolů, a lecithin-cholesterol acyltransferáza (*LCAT*) (Brown et al. 2000; Brown a Jessup 2009; Russell 2000). Sulfotransferázy kódované dvěma geny (*SULT2A1* a *SULT2B1*) figurují v řadě onkologicky zaměřených studií zárodečných variant. *SULT2A1* je klíčová pro syntézu žlučových kyselin, zatímco *SULT2B1b* sulfatuje cholesterol. Kromě cholesterolu ochotně sulfatuje i mnoho ketocholesterolů, hydroxycholesterolů a epoxycholesterolů (Brown et al. 2000). *SULT2A1* a *SULT2B1a* rovněž sulfatují oxysteroly, ale s nižší afinitou a rychlostí (Fuda et al. 2007). Mutace v *SULT2B1* jsou studovány v souvislosti s nádory prsu, endometria a prostaty (Holy et al. 2018).

Z oxidoreduktáz metabolizujících oxysteroly je třeba zmínit cholesterol 25-hydroxylázu (*CH25H*) (Russell 2000), cytochrom P450 46A1 (*CYP46A1*), hydroxylující pozici 24 v cholesterolu (Russell 2000), a 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenázu typ 7 (*HSD3B7*) (Russell 2003), využívající oxysteroly pro syntézu žlučových kyselin.

Cytochromy P450 3A4 a 3A5 (*CYP3A4* a *CYP3A5*) jsou blízce příbuzné enzymy, exprimované především v játrech a tenkém střevě, a oxidující široké spektrum substrátů. Jsou klíčovými enzymy první fáze metabolismu xenobiotik a lipidů, mimo jiných (Wilkinson 1996). Figurují ale i v chemické karcinogenezi, kde aktivují prokarcinogeny jako benzo[*a*]pyren (Shimada et al. 1989). Oxysterol 4 $\beta$ -HC je produkován těmito enzymy z cholesterolu a je endogenním indikátorem jejich aktivity (Bodin et al. 2002; 2001; Diczfalussy et al. 2011; Mao et al. 2017). *CYP3A4* a *CYP3A5* dohromady metabolizují více než 50% všech léčiv, včetně onkologických léčiv jako docetaxel, paclitaxel, doxorubicin, irinotecan, vinblastin, vincristin, cyklofosfamid, etoposid, gefitinib, imatinib nebo sunitinib (Deenen et al. 2011; Guengerich 1999; Flockhart 2007). Kvůli vysoké důležitosti těchto enzymů je historicky výzkum jejich polymorfismů velmi aktivní. Navzdory tomu význam velké části variant pro onkologii zůstává kontroverzní. Určitou, ale stále nepřesvědčivou shodu našly meta-analýzy u vlivu *CYP3A4\*1B* (rs2740574) na riziko vzniku karcinomu prostaty (He et al. 2014; Wang et al. 2013a; Zhou et al. 2013).

Cytochromy P450 7A1 (*CYP7A1*), 11A1 (*CYP11A1*), 27A1 (*CYP27A1*) a 39A1 (*CYP39A1*) se různými způsoby podílejí na tvorbě hydroxylových a/nebo ketonových derivátů cholesterolu oxidací různých pozic jak na kruzích, tak na postranních řetězcích. Spojitosti SNP v *CYP7A1* a *CYP39A1* s nádorovými onemocněními nebyly dosud spolehlivě popsány, ačkoli některé menší studie se o to pokoušely. Mnohem větší množství studií ale existuje v případě *CYP11A1*, jehož produkt se rovněž občas nazývá P450sc (z ang. „side-chain cleavage cytochrome P450“), který je mimo jiné zásadním enzymem biosyntézy

pregnenolonu z  $20\alpha,22\beta$ -dihydroxycholesterolu (Burstein et al. 1975; Mast et al. 2011), a studován je tedy v souvislosti s hormonálně řízenými nádory. Ačkoli byla řada variant v mnoha studiích asociována s různými aspekty chování (zejména rizika vzniku) nádorů prsu, prostaty a endometria, důkazy jsou spíše roztržitého charakteru a neexistuje jasný konsenzus, který by mohl v blízké době vést k využití těchto variant jako biomarkerů v klinické praxi (Holy et al. 2018). Cytochrom P450 27A1 (*CYP27A1*) je obdobně studován v souvislosti s jeho funkcí přeměny cholesterolu na 27-HC, což je první krok v jedné z drah tvorby žlučových kyselin. Katalyzuje ale i širokou řadu dalších reakcí cholesterolových derivátů (Bodin et al. 2002; Cali a Russell 1991; Endo-Umeda et al. 2014), a mimo jiné se podílí i na metabolismu vitamínu D (Jones et al. 2014). Mutace v tomto genu způsobují zvýšení ukládání cholesterolu a cholestanolu v tkáních, což může vést k mnoha neurologickým i jiným problémům (Cali et al. 1991; Nie et al. 2014). Ačkoli byla provedena řada studií, zatím se nepodařilo spolehlivě potvrdit vazbu některého SNP k onkologickému onemocnění (Holy et al. 2018).

### 1.6.3.3. Proteiny vázající oxysteroly (OSBPs)

Tzv. protein vázající oxysteroly (z angl. „oxysterol-binding proteins“, OSBPs) jsou skupinou zatím dvanácti proteinů, které obsahují specifickou OSBP, popř. ORD/OHD (OSBP homolog) doménu, schopnou vázat oxysteroly a cholesterol, popř. ergosterol nebo glycerofosfolipidy (Jaworski et al. 2001; Olkkonen a Li 2013). OSBPs se jako nitrobuňkové senzory podílejí na širokém spektru fyziologických procesů, např. transportu lipidů a sterolů a jejich metabolismu, signalizaci, buněčné adhezi, nebo vesikulárním transportu látek (Olkkonen a Li 2013). Studovány jsou i ve spojitosti s onkologickými ukazateli, jako je růst a invazivita nádorových buněk, popř. progresse nádorového onemocnění (Du et al. 2017). Rozdíly v expresi některých OSBPs byly pozorovány např. u pankreatického duktálního karcinomu (Li et al. 2017), cholangiokarcinomu (Loilome et al. 2012), nebo karcinomu žaludku (Guo et al. 2016). Ačkoli z genetického hlediska byla zatím tato skupina poměrně málo studovaná ve spojitosti s nádory, existují určité nadějně indície, že varianty např. v *OSBPL3* mohou ovlivňovat karcinom prsu (Lefebvre et al. 2016), nebo že by varianty v *OSBPL10* mohly představovat potenciální biomarkery pro karcinom prostaty (Dmitriev et al. 2015).

#### 1.6.3.4. Receptory vázající oxysteroly

Receptory vázající oxysteroly jsou dvojího druhu: jaderné receptory (transkripční faktory) a membránové receptory (různé signalizační role).

Nejznámějšími, a takzvanými kanonickými receptory oxysterolů jsou LXR (z angl. „Liver X receptors“), zásadní senzory cholesterolové homeostázy. Vyskytují se ve dvou izoformách, a to LXR $\alpha$  (gen *NR1H3*) a LXR $\beta$  (gen *NR1H2*). Mezi jejich agonisty a antagonisty patří desítky oxysterolů (Komati et al. 2017; Mutemberezi et al. 2016). LXR se dimerizují s retinoidovým X receptorem (RXR) a společně nasedají na promotéry cílových genů, čímž aktivují jejich transkripci (Fessler 2018). LXR jsou klíčové pro regulaci biosyntézy, metabolismu a transportu cholesterolu skrze stimulaci tvorby enzymů, membránových transportérů a řady jiných proteinů (Ma et al. 2017). Kromě metabolismu lipidů figurují LXR i v mechanismech imunitního systému a zánětlivých procesů (Fessler 2018; Ma et al. 2017; Schulman 2017; Waddington et al. 2015), a endokrinního systému (Maqdasý et al. 2016). Studují se ale i kontextu onkologickém, kde představují slibné terapeutické cíle (Bovenga et al. 2015; De Boussac et al. 2013; Ju et al. 2017; Lin et al. 2016). Pokud jde o roli zárodečných variant v genech *NR1H3* a *NR1H2* v nádorech, mnoho vztahů zatím zdokumentováno nebylo, kromě výjimek (Chen et al. 2016; Sharma et al. 2014; 2013).

Naprosto nejzásadnějšími jadernými receptory interagujícími s oxysteroly jsou ale estrogenové receptory alfa (ER $\alpha$ , gen *ESR1*) a beta (ER $\beta$ , gen *ESR2*). Oba tyto receptory zprostředkovávají estrogenovou signalizaci v tkáních a jejich funkce se do určité míry překrývají. Jsou mezi nimi ale i rozdíly, např. ER $\alpha$  se více podílí na buněčném růstu, zatímco ER $\beta$  figuruje více v signalizačních drahách, apoptóze a kontrole buněčného cyklu (Jia et al. 2015). Z hlediska oxysterolů je nejpodstatnější interakce s 27-HC, který může sloužit jako selektivní modulátor estrogenového receptoru (SERM) (Lee et al. 2014; Umetani et al. 2007). Kromě toho bylo ukázáno, že i 7-KC a 25-HC mohou s ER interagovat (Lappano et al. 2011; Wang et al. 2017b). Rozsah výzkumu polymorfismů v *ESR1* a *ESR2* je obrovský (Figtree et al. 2009; Khan et al. 2022). Hlavním typem zkoumaného nádorového onemocnění je karcinom prsu, kde SNP ovlivňují především efektivitu hormonální terapie (Alluri et al. 2014; Daniyal et al. 2021; Fuqua et al. 2014; Hwang a Stabile 2021; Jeselsohn et al. 2017; Tabarestani et al. 2016; Thomas a Gustafsson 2015), dále pak karcinom prostaty, kde mění riziko jeho vzniku a jsou potenciálními prognostickými faktory (Sun et al. 2015; Wang et al. 2013c). Důkazy existují i pro OVC (Kyriakidis a Papaioannidou 2016). Dále jsou tyto varianty spojovány s nádory v mnoha GWAS (Holy et al. 2018).

Receptory ROR (z angl. „retinoic acid receptor-related orphan receptors“), důležité pro metabolismus lipidů a glukózy, se podílí i na regulaci cirkadiálního rytmu a tvorbě pomocných T lymfocytů (Jetten 2009; Zhang et al. 2015). Dva ze tří ROR, a to ROR $\alpha$

(*RORA*, dříve *NR1F1*) a  $ROR\gamma$  (*RORC*, dříve *NR1F3*) vážou celou řadu oxysterolů, přičemž kompatibilní oxysteroly a jejich účinky jsou stejné pro oba receptory. Pro *RORA* byla nalezena celá řada spojitostí s onkologickými ukazateli, a to s prognózou karcinomu prsu (Rafiq et al. 2013) nebo rizikem jeho vzniku (Benna et al. 2017; Taheri et al. 2017; Truong et al. 2014), a dále s rizikem vzniku karcinomu plic (Wang et al. 2015) nebo pankreatu (Cotterchio et al. 2015), popř. melanomu (Li et al. 2018a).

Receptor PXR (z angl. „pregnane X receptor“, gen *NR1I2*) je známým senzorem xenobiotik a reguluje transkripci mnoha enzymů metabolizujících léčiva (např. *CYP3A4*), nebo jejich transportérů (např. *ABCB1*). Rovněž se podílí na metabolismu glukózy a lipidů (Chai et al. 2013; He et al. 2017; Koutsounas et al. 2013b). V důsledku vysokého množství ligandů a funkcí PXR, je tento receptor často studován ve spojitosti s onkologií. Změny exprese a polymorfismy PXR mají rozsáhlé dopady na karcinogenezi, proliferaci, metastazování, zánětlivé procesy a oxidativní stres (Koutsounas et al. 2013b; 2013a; Pondugula et al. 2016; Pondugula a Mani 2013). Rovněž mají vliv na chemoterapii (Zhuo et al. 2014), např. farmakokinetiku a farmakodynamiku docetaxelu a irinotekanu (Pondugula et al. 2016). Potenciál PXR jako prediktoru odpovědi na chemoterapii, popř. jako terapeutického cíle, je nesporný (Koutsounas et al. 2013a; Pondugula et al. 2016; Pondugula a Mani 2013). SNP v tomto genu jsou navíc spojovány přímo s rizikem vzniku nádorů, např. plic, tlustého střeva a konečníku, lymfatického systému, nebo jícnu (Pondugula et al. 2016).

Z několika membránových receptorů interagujících s oxysteroly je nejdůležitějším G-proteinový receptor Smoothened (Smo, gen *SMO*), klíčový protein signální dráhy Hedgehog, zodpovědné za embryonální vývoj, ale jejíž inhibice je používána jako terapeutický zásah v různých typech nádorů (Dong et al. 2018; Wu et al. 2017; Xin et al. 2018). Smo je aktivován několika oxysteroly (Daggubati et al. 2022). Dopad polymorfismů *SMO* je velmi široký, ale z nádorů se jedná spíše o ty vzácnější (Otsuka et al. 2015; Pellegrini et al. 2017; Yuzawa et al. 2016).

## 2. Hypotézy a cíle práce

1) Vzhledem k prokázaným vlivům oxysterolů na různé aspekty karcinomu prsu je možné, že rovněž genetická variabilita v genech oxysterolových drah má vliv na onemocnění nebo jeho léčbu.

**Cílem č. 1 je proto porovnat profily zárodečných a somatických variant v těchto genech u souboru patientek s karcinomem prsu, rozděleného podle klinických faktorů, včetně délky přežívání.**

2) Protože genetická variabilita je pouze jedním aspektem možného působení oxysterolových genů, je potenciálně výhodné genomická data doplnit o data exprese mRNA těchto genů, popř. o data exprese regulačních molekul jako miRNA.

**Cílem č. 2 je zjistit, zda kombinace těchto dat může vést k odhalení funkčních mechanismů, popř. k zpřesnění prediktivního nebo prognostického potenciálu variant.**

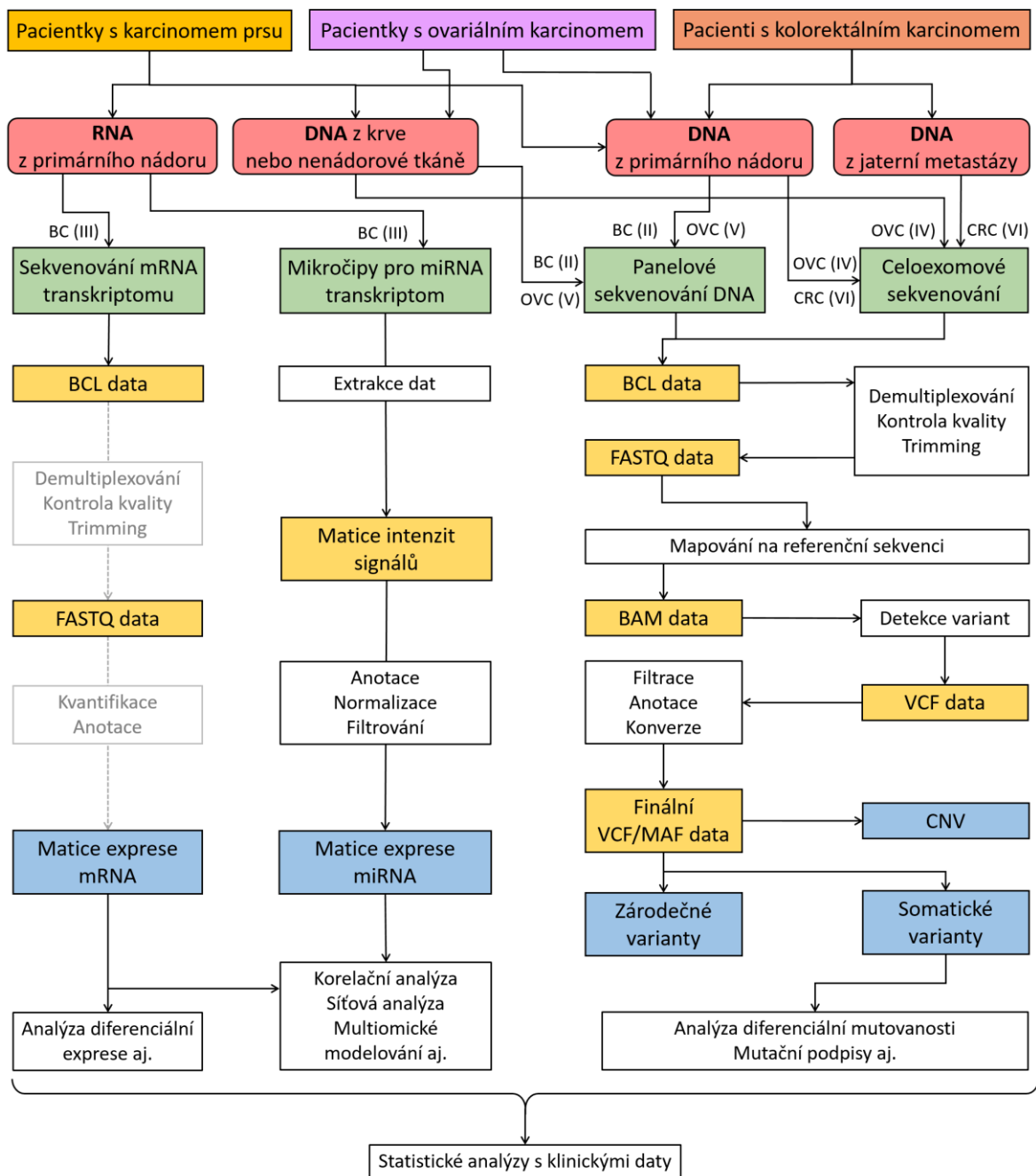
3) V oblasti OVC dochází v poslední době k doplňování a zpřesňování molekulární charakterizace a klasifikace. Stále ale chybí mimo jiné genomické biomarkery umožňující predikci odpovědi na léčbu deriváty platiny.

**Cílem č. 3 je proto komplexní porovnání mutačních profilů patientek citlivých a rezistentních na léčbu, které by mohlo poskytnout kandidátní geny nebo dráhy.**

4) Pro predikci a prognostiku u CRC rovněž chybí spolehlivé genomické biomarkery. Výzkum v této oblasti je soustředěn zejména na primární nádory a často opomíjí metastázy, které jsou zásadní pro letalitu onemocnění.

**Cílem č. 4 je komplexní porovnání mutačních profilů v poměrně vzácných párových vzorcích primárních nádorů a metastáz, podrobná dokumentace rozdílů a poskytnutí základu pro další studie v této oblasti.**

### 3. Materiál, metody a pacienti



**Obrázek 15:** Schematické znázornění postupů při zpracování vzorků a dat ve studiích, které jsou podkladem této práce.

Kroky označené šedou barvou neprováděl autor. BC – karcinom prsu, OVC – ovariální karcinom, CRC – kolorektální karcinom. V závorce uvedeno číslo přílohy disertační práce, která náleží k příslušné studii.

V této kapitole jsou stručně shrnuty metody, které byly prováděny v rámci řešení výzkumných cílů předkládaných v této práci. Všechny práce prováděl autor, není-li uvedeno jinak. Podrobnější popisy metod, materiálů a pacientů zahrnutých ve studiích, jsou uvedeny

v příslušných publikacích a jejich suplementech, jenž představují přílohy této práce. Schematické znázornění použitých postupů je vykresleno na **Obrázku 15**, str. 50.

### **3.1. Pacienti**

Ve studiích řešených v rámci této disertační práce byly využity vzorky krve a tkání (nenádorová, primární nádorová, metastatická) pacientů s karcinomem prsu, ovarií nebo kolorekta. Vzorky byly získány v rámci spolupráce s Fakultní nemocnicí Královské Vinohrady, Fakultní nemocnicí v Motole, Fakultní nemocnicí v Plzni, Fakultní nemocnicí v Hradci Králové a Nemocnicí EUC Zlín. Všichni pacienti byli předem informováni o charakteru studií a podepsali Informovaný souhlas pacienta o zařazení do probíhajících studií. Všechny postupy proběhly v souladu s Helsinskou deklarací z r. 1964 a byly schváleny Etickými komisemi (EK) příslušných nemocnic, případně navazujících lékařských fakult, a Státního zdravotního ústavu (SZÚ). Detailní data o pacientech, stejně jako konkrétní schvalovací čísla EK, jsou uvedeny v jednotlivých publikacích, které jsou přílohami této práce. Pro validaci některých výsledků byla využita veřejně dostupná genomická data z projektů TCGA (Ellrott et al. 2018; Weinstein et al. 2013) a z projektu GENIE verze 13.0 (AACR Project GENIE Consortium 2017).

### **3.2. Izolace a zpracování genetického materiálu**

Izolaci DNA a RNA ze vzorků od pacientek s karcinomem prsu a ovaria prováděl kolektiv kolegů ze SZÚ, včetně autora. DNA z krve byla získána standardní metodou fenol/chloroformové extrakce a precipitací etanolem (Topić a Gluhak 1991), nebo pomocí magnetické separace přístrojem Kingfisher mL (Thermo Fisher Scientific). DNA z čerstvě zamražené (uchované při -80 °C) nádorové i nenádorové tkáně byla izolována, po rozdrcení v třecí misce s tloučkem pod tekutým dusíkem, metodou fenol/chloroformové extrakce a precipitací etanolem, a dále kity AllPrep DNA/RNA/Protein Mini Kit (QIAGEN), DNEasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN). DNA byla kvantifikována pomocí Quant-iT PicoGreen dsDNA Reagent Kit (Invitrogen/Thermo Fisher Scientific) a destičkového fluorescenčního spektrofotometru Infinite M200 (Tecan Group Ltd.) nebo Qubit dsDNA Assay na přístroji Qubit 4 (oboje Thermo Fisher Scientific).

Izolaci DNA z kolorektálních karcinomů a jejich metastáz prováděly kolegyně Ing. Simona Šušová a MVDr. Lenka Červenková (Lékařská fakulta Univerzity Karlovy) z parafinových bloků po fixaci formalínem (angl. „formalin-fixed, paraffin-embedded“, FFPE). K tomu byl použit RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE (Thermo Fisher Scientific). DNA byla kvantifikována pomocí kitu FFPE QC Kit (Agilent) nebo Qubit dsDNA Assay.

Celková RNA ze vzorků karcinomu prsu a ovarií byla izolována kitem AllPrep DNA/RNA/Protein Mini Kit. Ke kvantifikaci byl použit Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) na přístroji Infinite M200. Přístroj Bioanalyzer 2100 a kit RNA 6000 Nano (oboje Agilent) byly použity ke stanovení kvality RNA, tj. čísla integrity (angl. „RNA integrity number“, RIN).

Čistota DNA a RNA byla kontrolována poměrem absorbancí při 260 a 280 nm (také 260 a 230 nm) a v celém měřitelném absorpčním spektru přístrojem NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific).

### **3.3. Sekvenování DNA a RNA**

#### **3.3.1. Příprava knihoven a sekvenace**

Příprava knihoven pro DNA sekvenování kity společnosti Agilent (viz dále) nebyla původně na pracovišti zavedena. Autor metodu zavedl a optimalizoval v rámci řešení úkolů této práce. Přípravu knihoven pro panelové DNA sekvenování provedl autor, v případě ovariálních vzorků ve spolupráci s kolegyní Ing. Simonou Šušovou. Přípravu knihoven pro celoexomové sekvenování provedl kolega Mgr. Viktor Hlaváč, Ph.D. Přípravu knihoven pro sekvenování RNA z karcinomu prsu provedl autor, z karcinomu ovaria pak Mgr. Karolína Šeborová, Ph.D. Sekvenace proběhly ve spolupráci s Ústavem molekulární genetiky Akademie věd ČR v Praze a firmou Institute of Applied Biotechnologies v Olomouci.

Knihovny pro panelové DNA sekvenování vzorků pacientek s karcinomem prsu, a pro celoexomové sekvenování, byly připraveny ze 100-200 ng genomické DNA pomocí kitu SureSelect XT Low Input Target Enrichment System for Illumina Paired-End Multiplexed Sequencing Library (Agilent) dle manuálu výrobce. Knihovny pro panelové sekvenování vzorků od pacientek s karcinomem ovarií byly připraveny kitem SureSelect XT HS2 (Agilent), kdy byl oproti návodu výrobce snížen počet cyklů PCR při amplifikaci knihoven před nabohacením o čtyři až pět v důsledku vysoce efektivní amplifikace a za účelem snížení počtu duplikátů v sekvenaci. Oba postupy obnáší cílené nabohacení žádoucích sekvencí DNA pomocí specifických sond vázaných na magnetické kuličky. V případě panelového sekvenování se jednalo o Custom SureSelect XT Capture Library (Agilent), v případě celoexomového pak o SureSelect XT Human All Exon V7 Capture Library (Agilent). Sekvenace směsi knihoven byla provedena na platformě NextSeq 500 (Illumina) s MidOutput kitem nebo NovaSeq 6000 s SP Reagent kitem (čtení 2x150 bází) v případě panelového sekvenování a na přístroji NovaSeq 6000 s S4 Reagent kitem (Illumina, 2x150 bází) pro celoexomové sekvenování.

Knihovny pro RNA sekvenování byly připraveny z 500 ng celkové RNA pomocí kitu QuantSeq 3' mRNA-Seq Library Prep FWD for Illumina (Lexogen) dle návodu výrobce.



Vzorky s RIN >3,5 byly zpracovány dle standardního protokolu, zatímco malá část vzorků s RIN <3,5 byla zpracována protokolem pro RNA s nízkou kvalitou. Sekvence ekvimolární směsi knihoven byla provedena na platformě NextSeq 500 (Illumina) s High Output kitem (čtení 1x75 bází) a cílem 5-6 milionů čtecích fragmentů na vzorek.

Kontrola kvality během přípravy a po přípravě knihoven z DNA i RNA byla provedena pomocí přístroje Bioanalyzer 2100 s kitem DNA1000, potažmo High Sensitivity DNA (Agilent) a kvantifikace pomocí kvantitativní PCR (Viia7 – Thermo Fisher Scientific) dle KAPA Library Quantification Kit for Illumina Platforms (Roche) a fluorescenčně s využitím přístroje Qubit 4 a Qubit DNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific).

### 3.3.2. Bioinformatické zpracování sekvenačních dat

Tato kapitola uvádí souhrnný výčet metod a nástrojů použitých pro bioinformatickou analýzu sekvenačních dat. Verze jednotlivých nástrojů a detailní popis parametrů, specifických pro jednotlivé aplikace a studie (panelové nebo celoxomové sekvenování, karcinomy prsu, ovaria a kolorekta, různé typy vzorků, různé verze referenčního genomu, aj.), jsou uvedeny v příslušných publikacích, jež představují přílohy této práce.

#### 3.3.2.1. DNA sekvenování

Bioinformatickou analýzu dat z panelových sekvenování provedl autor. Analýzy celoxomového sekvenování provedl autor společně s kolegou Mgr. Viktorem Hlaváčem, Ph.D.

Demultiplexování, tj. roztřídění datových souborů pro jednotlivé vzorky na základě shody indexových sekvencí obsažených ve fragmentech DNA, bylo provedeno nástrojem *bcl2fastq* (Illumina). Kontrola kvality dat byla provedena nástroji *FastQC* ([www.bioinformatics.babraham.ac.uk](http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk)) a *MultiQC* (Ewels et al. 2016). Adaptérové sekvence a báze s nízkou kvalitou čtení byly odstraněny pomocí programu *AGenT Trimmer* (Agilent) nebo *Trimmomatic* (Bolger et al. 2014). Mapování na referenční sekvenci (GRCh37 nebo GRCh38), tzv. „alignment“, bylo provedeno pomocí nástroje *Burrows-Wheeler Aligner* (Li a Durbin 2009; Li 2013). Deduplikace byla provedena softwarem *AGenT LocatIt*, nebo *AGenT CReaK* (Agilent) v závislosti na kitu použitém pro přípravu knihoven. Ke kontrole kvality souborů BAM byly použity nástroje *Qualimap* (Okonechnikov et al. 2016) a *Samtools* (Danecek et al. 2021). Pro detekci variant a řadu filtračních kroků (viz přílohy) byly použity nástroje balíku *Genome Analysis Toolkit 4* (*GATK*, Broad Institute) (Van der Auwera et al. 2013). Pro detekci somatických variant byl použit nástroj *Mutect2* a pro zárodečné varianty pak *HaplotypeCaller* dle nejaktuálnějších doporučených postupů GATK

Best Practices (DePristo et al. 2011). Pro čtení a manipulaci se soubory VCF, obsahujícími nalezené varianty, byly použity nástroje *vcftools* a *bcftools* (Danecek et al. 2011; 2021). Pro anotaci variant byly použity nástroje *Annotator* (Wang et al. 2010), *Funcotator* (GATK), *Variant Effect Predictor* (McLaren et al. 2016) a *SnpEff* (Cingolani et al. 2012). Převod variant do formátu MAF byl proveden pomocí *vcf2maf* (Cyriac Kandoth et al. 2018).

Analýzu CNV provedl kolega Mgr. Viktor Hlaváč, Ph.D. Detekce byla provedena nástrojem *CNVkit* (Talevich et al. 2016). Signifikantní nálezy byly hodnoceny na základě průměrné hloubky čtení a tzv. frekvencí B-alely (BAF) jednotlivých segmentů. BAF byla spočítána z VCF souborů pomocí nástrojů *VarDict* (Lai et al. 2016) a *ExomeDepth* (Plagnol et al. 2012). U vzorků CRC a metastáz, kde nebyl k dispozici kontrolní nenádorový vzorek, byly požadované rozsahy BAF vypočítány z informací o čistotě vzorku nádorové tkáně, která byla pro každý vzorek stanovena podrobnou patologickou analýzou (MVDr. Lenka Červenková).

### 3.3.2.2. RNA sekvenování

Kvalita nezpracovaných sekvenačních dat byla kontrolována nástroji *fastp* (Chen et al. 2018) a *FastQC*. Transkripty byly anotovány referenčním transkriptomem GENCODE v35 (GRCh38.p13) a kvantifikovány nástrojem *kallisto* (Bray et al. 2016), pracujícím na principu tzv. pseudoalignmentu. Výše uvedené provedla Mgr. Karolína Šeborová, Ph.D. Pro analýzy (kromě analýzy diferenciální exprese) byla data normalizována aktuálně nejčastěji používaným způsobem, to jest na transkripty na milion (angl. „transcripts per million“, TPM), a transformována logaritmem dvou.

## 3.4. Měření exprese transkriptomu miRNA pomocí mikročipů

Tato kapitola popisuje postup celotranskriptomové kvantifikace exprese miRNA pomocí mikročipů, a to v DNA z tumorů prsu. Laboratorní část byla provedena kolegyní Mgr. Veronikou Bouškovou, Ph.D., s přispěním MUDr. Vojtěcha Haničince a ve spolupráci s autorem. Zpracování a vyhodnocení dat provedl autor.

Pro měření exprese miRNA v rozsahu celého transkriptomu byl použit miRNA Microarray System s miRNA Complete Labeling and Hyb Kit a SurePrint G3 Unrestricted miRNA 8x60K v19.0 microarray slides (Agilent) dle manuálu výrobce. Celková RNA (100 ng na vzorek, RIN $\geq$ 5) byla defosforylována, označena značkou Cyanine 3-pCp, hybridizována, omyta, a snímána pomocí přístroje SureScan Microarray Scanner se softwarem *Scan Control*, extrakce dat pak proběhla přes software *Feature Extraction* (vše Agilent).

Pro počáteční kontrolu kvality, filtrování a anotaci byl použit software *GeneSpring* (Agilent). Hodnoty byly kvantilově normalizovány dle standardního postupu a transformovány přes logaritmus dvou. Pomocí trojrozměrné PCA (angl. Principal Component Analysis) byly vyloučeny vysoce odlehlé vzorky, vzniklé přesycením mikročipu. Dále byly eliminovány miRNA s nízkými hodnotami exprese, které by mohly být zkresleny pozadím. Toho bylo dosaženo zachováním pouze těch, jejichž hodnoty dosáhly alespoň dvacátého percentilu. Zároveň byly vyloučeny ty miRNA, jež byly exprimovány v méně než 25 % souboru, aby se předešlo statistickým výsledkům (zejména korelacím) založeným na příliš malých počtech pacientek. Data byla dále upravena nástrojem *ComBat* za účelem potlačení tzv. „batch“ efektů, tj. systematickým chybám způsobeným původem vzorků (drobné odlišnosti v postupech různých zdrojových nemocnic) a osobami provádějícími měření (Johnson et al. 2007; Chen et al. 2011).

### **3.5. Terciární bioinformatická analýza a statistické vyhodnocení**

Tzv. terciární bioinformatická analýza pracuje s finálními výstupy předchozích částí analýzy, tj. s finálními spektry variant, maticemi exprese, popř. metylace aj. Cílem terciární analýzy je interpretace a validace výsledků, stejně jako propojení s dalšími typy dat, jako jsou data klinická.

#### **3.5.1. Sledovaná klinická data**

Klinická data sledovaná ve studiích zahrnovala všechny běžné klinické a epidemiologické parametry, jako pohlaví, věk pacienta v době diagnózy, u žen menopausální status, histologický typ a grade onemocnění, stádium, přítomnost metastáz či zasažení lymfatických uzlin, residuum po operaci, režim léčby chirurgické, onkologické (neoadjuvantní, adjuvantní, paliativní), popř. radiologické. V závislosti na diagnóze pak byla sledována exprese molekulárních markerů (u karcinomu prsu ER, PR, HER2, Ki-67, molekulární subtyp), míra odpovědi na léčbu, lokalizace nádoru u CRC, případně způsob metastatického postižení (synchronní vs metachronní) tamtéž aj. U všech pacientů byla sledována délka celkového přežití a délka přežití od chirurgického odstranění nádoru do progresu onemocnění. V případě ovariálních nádorů byly pacientky rozděleny dle tzv. „platinum-free interval“ (PFI, nezaměňovat s „progression-free interval“, rovněž uváděno jako PFI) na dobře odpovídající („platinum-sensitive“, PFI > 12 měsíců) a špatně odpovídající („platinum-resistant“, PFI < 6 měsíců a PFI 6-12 měsíců). V případě CRC pak byli pacienti klasifikováni dle odpovědi na paliativní léčbu na základě pravidel RECIST (Schwartz et al. 2016) na kompletně nebo částečně odpovídající (CR – complete response,

resp. PR – partial response) a neodpovídající (SD – stable disease, PD – progressive disease). Pro podrobnosti viz jednotlivé přiložené publikace.

### 3.5.2. Analýza genomických a transkriptomických výstupů

Metody analýzy variant byly odlišné v jednotlivých studiích a detaily postupů jsou uvedeny v přiložených publikacích. Obecně byly vyhodnocovány jak jednotlivé varianty (především u zárodečných), tak frekvence alterací v jednotlivých genech, skupinách genů, nebo dráhách (především somatické varianty a CNV). Varianty byly mimo jiné klasifikovány na základě predikce závažnosti (ovlivnění proteinového produktu). Rovněž byly klasifikovány pomocí systému PANTHER (Mi et al. 2013) a databáze KEGG (Kanehisa a Goto 2000). Byly srovnávány rozdíly v mutačních profilech sledovaných skupin pacientů, popř. mezi vzorky primárního nádoru a synchronní jaterní metastázy (studie CRC), stejně jako rozdíly v klinických parametrech mezi pacienty mutovanými a nemutovanými. Analýza somatických variant využívala především nástroje *maftools* (Mayakonda et al. 2018). Pro detekci driver genů byly využity softwary *MutSigCV*, *MutSig2CV* a *GenePattern* (Lawrence et al. 2013; Reich et al. 2006). K vizualizaci CNV byl použit nástroj *GenVisR* (Skidmore et al. 2016).

Na základě somatických variant nalezených pomocí celoexomového sekvenování byly vyhodnocovány tzv. SBS mutační podpisy (z angl. „single base substitution“, jednonukleotidové substituce). Mutační podpisy jsou specifické kombinace typů mutací v kontextu jejich bezprostředního okolí (trinukleotid), které jsou charakteristické pro řadu mutačních procesů v nádorové buňce (Koh et al. 2021). Jejich evidencí a popisem se zabývá především databáze COSMIC (Forbes et al. 2017). Ačkoli známy jsou rovněž jiné typy podpisů (dvounukleotidové substituce – DBS, indelové – ID, podpisy dle CNV – CN, podpisy dle strukturních změn – RS, angl. „rearrangement signatures“), v této práci byly vyhodnocovány pouze SBS podpisy, které jsou metodicky i interpretačně nejlépe prostudované a exomová data obsahují dostatek informace pro jejich stanovení. Tradičně je stanovení podpisů prováděno *de novo* na datech celogenomového a celoexomového sekvenování velkého počtu vzorků obtížnou a výpočetně náročnou metodou (Alexandrov et al. 2020), ale v našem případě byla zvolena metoda tzv. refittingu, tj. srovnávání nalezených mutačních spekter se známým katalogem podpisů. Tento přístup je vhodnější při malých počtech vzorků a limitacích celoexomového sekvenování, a to nástrojem *decompTumor2sig* (Krüger a Piro 2019) a *sigminer* (Wang et al. 2021). Diferenciální exprese mRNA byla vyhodnocena nástrojem *EdgeR* (Robinson et al. 2010).

### 3.5.3. Statistické metody

Pro analýzu nalezených dat ve vztahu ke klinickým údajům byly použity zejména metody hodnocení přežívání, tj. grafy dle Kaplana a Meiera (Kaplan a Meier 1958) s log-rank nebo Breslowovým testem signifikance, a Coxův model poměru rizik (Katz a Hauck 1993), a to v programech *survival* pro R a SPSS (SPSS, Inc.). Pro srovnávání kategorických proměnných byl použit Pearsonův  $\chi^2$  test (Pearson 1900) a kategorických nebo spojitých proměnných se spojitými pak neparametrický test dle Manna a Whitneyho (Mann a Whitney 1947). Pro analýzy diferenciální mutovanosti a společné přítomnosti (ang. „co-occurrence“) variant byl použit Fisherův exaktní test (Fisher 1992). Analýza korelace spojitých proměnných (např. exprese miRNA a mRNA) byla vzhledem k rozdělení dat významné odchýleného od normality (ověřeno testem dle Shapira a Wilka (Shapiro a Wilk 1965)) provedena metodou Spearmanovy korelace na základě pořadí hodnot (Schober et al. 2018). Úprava p-hodnot v důsledku mnohočetného testování (korekce FDR, angl. „false discovery rate“) pak byla provedena metodou Benjaminiho a Hochberga (Benjamini a Hochberg 1995). To, zda je p-hodnota upravena či nikoliv, je vždy v této práci, stejně jako v příložených publikacích, u příslušné hodnoty uvedeno. Pro tvorbu, hodnocení a vizualizaci integračních multiomických prediktivních modelů byl použit balík nástrojů *mixOmics* (Rohart et al. 2017), zejména metoda „multiblock sparse Partial Least Squares – Discriminant Analysis“ (DIABLO) (Singh et al. 2019).

### 3.5.4. Dostupnost dat

Původní data z DNA sekvenování byla uložena ve veřejně dostupné databázi Sequence Read Archive (Leinonen et al. 2011): studie karcinomu prsu – PRJNA802324, celoxomová studie OVC – PRJNA814851, studie CRC – PRJNA866168). Data z RNA sekvenování v původní i zpracované formě byla v souladu s pravidly MINSEQE (Brazma et al. 2012) uložena v databázi Gene Expression Omnibus (GEO) pod kódem GSE225327. Data z mikročipů v původní i zpracované formě byla uložena v GEO pod kódem GSE225292 v souladu s pravidly MIAME (Brazma et al. 2001).

## 4. Výsledky

### 4.1. Studie úlohy genů oxysterolové signalizace u karcinomu prsu

#### 4.1.1. Přehledové články

K tématu relevance oxysterolů a genů s nimi interagujících pro nádorová onemocnění, (kapitola 1.6), byly v rámci řešení této práce publikovány dva přehledové články. První článek, publikovaný v časopise *Biochimie* (**Příloha I**), obšírně shrnuje dostupnou literaturu, spojující zárodečné varianty v genech oxysterolových drah s veškerými aspekty nádorových onemocnění, zejména s rizikem jejich vzniku, progresí nebo prognózou (Holy et al. 2018). Tento článek byl zásadní pro definici souboru genů pro následné studium vlivu jejich variability na prognózu onemocnění (kapitola 4.2.1).

V druhém článku, publikovaném v časopise *British Journal of Pharmacology*, jsme se pak zaměřili na možné role oxysterolů v terapii, zejména pak na ovlivnění účinnosti chemoterapeutik jako doxorubicin, cisplatina, 5-fluorouracil a dalších. Byly ale nalezeny i množící se důkazy o potenciálu oxysterolů jako prediktivních a prognostických biomarkerů v krvi i tkáních pacientů, a dokonce jako kandidátních protinádorových léčiv (Kludova-Spalenkova et al. 2021).

#### 4.1.2. Studie zárodečných a somatických variant ve vztahu ke klinickým parametrům

V následující genomické studii, publikované v časopise *Biochimie* (**Příloha II**), jsme se zaměřili na panel 113 genů interagujících s oxysteroly, vybraných po předchozí důkladné řešerši literatury a databázi. Šlo o první studii tohoto typu, dedikovanou oxysterolovým genům (Holý et al. 2022).

Geny byly osekvenovány panelovým DNA sekvenováním s velmi vysokým pokrytím v párových vzorcích nádorových a nenádorových u 101 pacientek (99 párů, samostatné 2 vzorky krve) s ER pozitivním luminálním karcinomem prsu ve stádiu nižším než III. Nízké stádium bylo vybráno z důvodu vyloučení vysoce mutovaných vzorků, které by mohly výrazně zkreslit analýzu. Nenádorové vzorky dosahovaly v průměru pokrytí  $187 \pm 39$  ( $81 \pm 9$  % pokryto alespoň 100krát) a nádorové  $666 \pm 238$  ( $87 \pm 9$  % pokryto alespoň 300krát).

Celkem bylo u 101 pacientek nalezeno 96411 zárodečných variant, tedy  $955 \pm 46$  na pacientku. Z těchto variant bylo 5042 unikátních, a z nich 587 do té doby nepopsaných. Všechny nalezené variaty byly podrobně popsány a klasifikovány (pro detaily viz **Příloha II**). Pro účely hledání statisticky signifikantních asociací byly varianty nejprve filtrovány

tak, aby jejich frekvence v kohortě dosahovala alespoň 5%, data existovala pro alespoň 90 % vzorků, a aby neodporovaly zákonu Hardyho a Weinberga (Waples 2015). Výsledný soubor 67288 variant pak byl použit pro hledání asociací s přežíváním pacientek a se všemi dostupnými kategorickými klinickými daty. Hlavním výsledkem byla řada 15 variant v 12 genech (**Tabulka 6**), asociovaných s kratším nebo delším přežitím bez progresu (angl. „disease-free survival“, DFS) nebo přežitím celkovým (angl. „overall survival“, OS). Bohužel žádná z těchto variant neprošla korekcí pro mnohočetné testování, takže nebyly dále zkoumány (**Příloha II**).

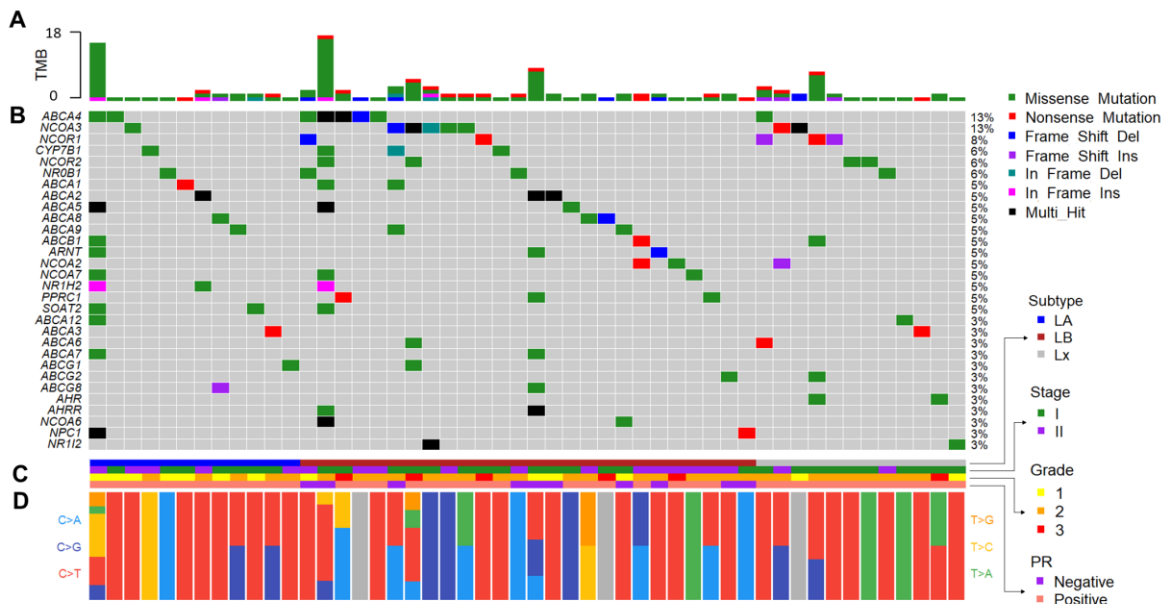
**Tabulka 6:** Výčet krátkých zárodečných variant asociovaných s přežíváním pacientek s karcinomem prsu

Gen	Kód varianty <sup>1</sup>	Alela	Dopad na transkripci	Dopad na přežívání <sup>2</sup>	Typ přežívání	Skupina pacientek	p-hodnota <sup>3</sup>
<i>ABCA1</i>	rs2066714	T>C	missense	-	DFS	adjHT	0,005
<i>ABCA8</i>	rs4147957	A>G	intron	+	DFS/OS	všechny (pouze DFS); adjHT	0,007; 0,006/0,005
<i>ABCA8</i>	rs4147967	C>T	intron	-	DFS/OS	všechny; adjHT (pouze OS)	0,006/5,30E-04; 0,002
<i>ABCC1</i>	rs45511401	G>T	missense	-	DFS	adjHT	0,009
<i>ABCG2</i>	rs2231156	C>A	intron	+	DFS	všechny; adjHT	0,009; 0,010
<i>GPR183</i>	rs2230342	C>A	synonymní	-	OS	adjHT	0,008
<i>HSD3B7</i>	rs17849880	C>T	synonymní	+	DFS	všechny	0,010
<i>LDLR</i> <i>/MIR6886</i>	rs1003723	C>T	intron /miRNA	-	DFS/OS	všechny	0,006/0,003
<i>LDLR</i>	rs6413504	A>G	intron	-	OS	všechny	0,003
<i>MBTPS1</i>	rs11607	C>T	3'UTR	-	OS	adjHT	0,001
<i>MBTPS1</i>	rs7206438	G>T	intron	-	OS	adjHT	0,009
<i>NR1I2</i>	rs3732359	G>A	3'UTR	-	OS	adjHT	0,009
<i>OSBPL2</i> <i>/MIR1-1HG-AS1</i>	rs3833323	G>-	3'UTR /miRNA	-	OS	adjHT	0,007
<i>OSBPL3</i>	rs7810587	A>C	intron	-	DFS	všechny; adjHT	0,005; 0,009
<i>OSBPL5</i>	rs3217567	->C	3'UTR	-	DFS	adjHT	0,007

<sup>1</sup>Referenční číslo v databázi dbSNP 153 (Sherry et al. 2001). <sup>2</sup>„+“ = pozitivní; „-“ = negativní. <sup>3</sup> log rank test, hodnota zaokrouhlena; jsou uvedeny pouze asociace s  $p \leq 0,01$ . Žádná hodnota nebyla signifikantní po úpravě na mnohočetné testování. adjCT – skupina léčená adjuvantní chemoterapií (nevylučuje hormonální léčbu). adjHT – skupina léčená adjuvantní hormonální terapií. DFS – přežívání bez návratu onemocnění (angl. „disease-free survival“). OS – celkové přežití (angl. „overall survival“). Missense – substituce vedoucí k inkorporaci nesprávné aminokyseliny. UTR – netranslatovaný region. Nezkračovaná verze tabulky v publikaci (**Příloha II**).

U 99 úspěšně sekvenovaných nádorů (po odfiltrování zárodečných variant díky párovým vzorkům normální DNA) bylo nalezeno 1177 variant, z nich 1087 unikátních. Z toho vyplývá, že drtivá většina variant byla nalezena pouze u jedné pacientky a jednalo se o privátní, zřejmě pasażérské alterace. Vzhledem k tomu byly asociativní analýzy prováděny ne pro konkrétní jednotlivé varianty, jako tomu bylo v případě variant zárodečných, ale pro mutovanost jednotlivých genů a skupin genů, definovaných na základě jejich funkční souvislosti (známá signalizační dráha nebo *in silico* predikce) nebo strukturní či funkční

podobnosti. Zároveň byly nalezeny dvě hypermutované pacientky, které společně představovaly téměř polovinu všech nalezených variant. Všechny analýzy tedy byly prováděny dvakrát – bez těchto pacientek a včetně. Grafické zobrazení typů mutací (pouze exonové) u pacientek v třiceti nejmutovanějších genech, s anotací stádia, grade, molekulárního subtypu a exprese PR, je na **Obrázku 16**.

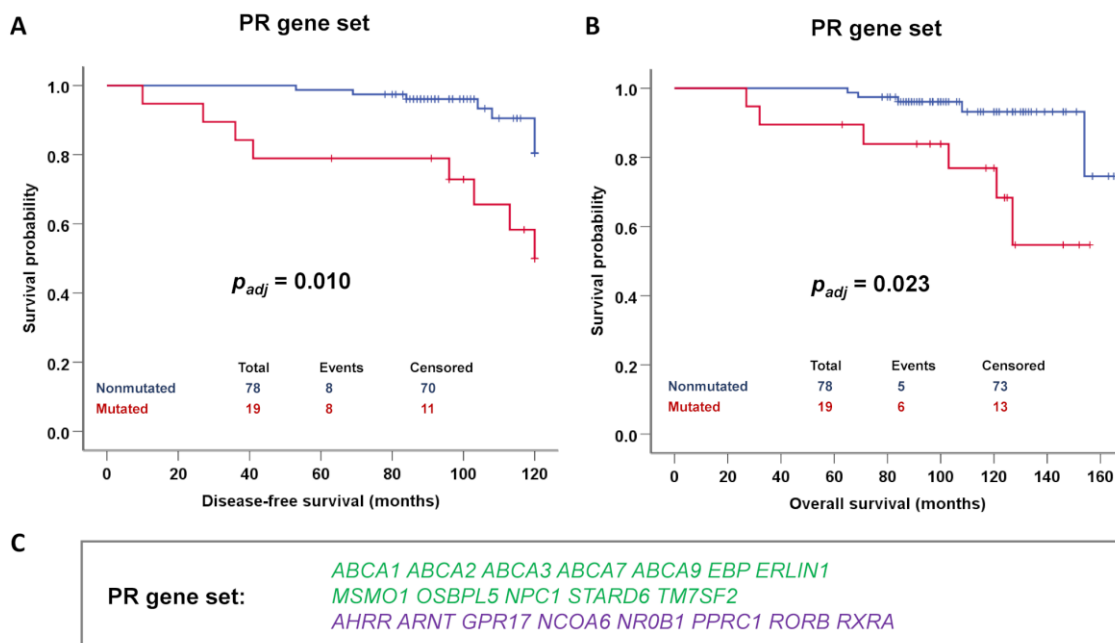


**Obrázek 16:** Typy exonových somatických mutací u pacientek s karcinomem prsu.

Uvedeno 30 nejmutovanějších oxysterolových genů. Sloupce – pacientky, řádky – geny. (A) TMB – mutační zátěž (angl. „tumor mutation burden“) na pacientku. (B) přehled genů. (C) Vybraná klinická data, pacientky seskupeny dle molekulárního subtypu. (D) přehled typů transverzí a tranzic. Multi\_Hit – více mutací u jedné pacientky najednou. PR – progesteronový receptor.

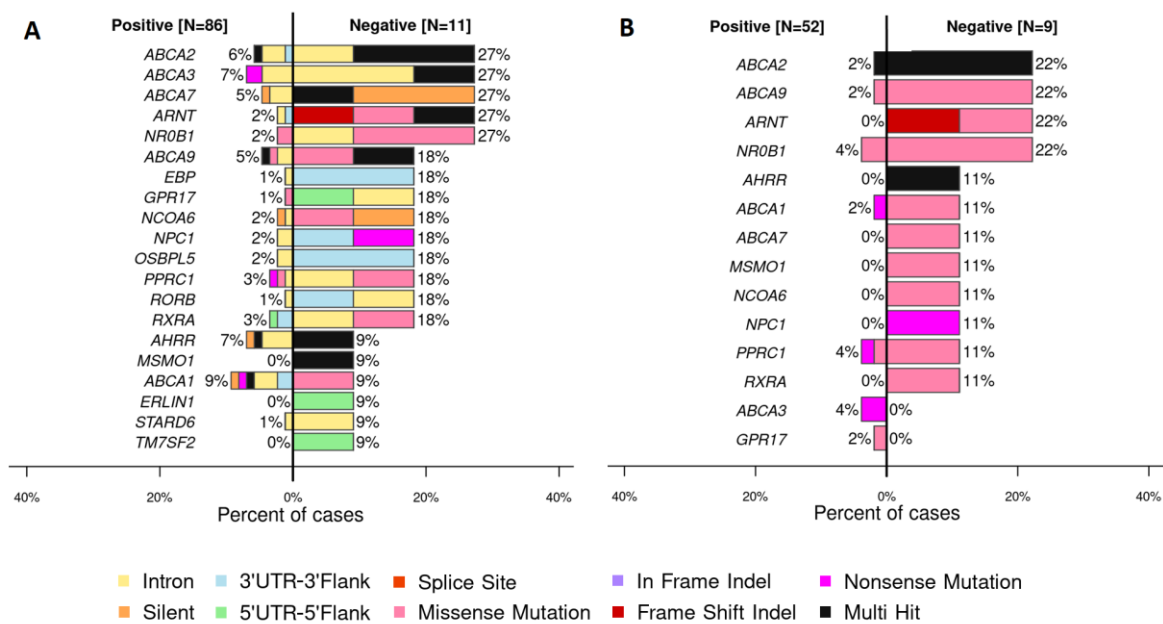
Z výsledků pro jednotlivé geny byly nejzajímavější asociace mutací v *CYP46A1* s kratším OS a DFS a *OSBPL3* a *GPR17* s kratším OS. Tyto výsledky, ačkoli signifikantní po FDR korekci, je ale třeba interpretovat s opatrností, jelikož byly založeny pouze na třech mutovaných jedincích (pro grafy viz **Příloha II**). Podstatně robustnější byla ale asociace mutovanosti panelu 20 genů, které byly seskupeny na základě jejich společné asociace s expresí PR, s kratším DFS i OS („PR gene set“, **Obrázek 17**, str. 61).





**Obrázek 17:** Přežívání pacientek mutovaných v panelu genů asociovaných s expresí PR. (A) přežití bez progresse/rekurence. (B) celkové přežití. (C) seznam genů v panelu. Zelená – geny transportu a homeostázy (oxy)sterolů, fialová – geny oxysterolových receptorů a jejich modulátorů.

Pozoruhodným byl i rozdíl v mutovanosti těchto genů mezi skupinami PR pozitivních a PR negativních pacientek. Všechny PR negativní pacientky měly alespoň jednu mutaci alespoň v jednom genu z PR skupiny (11 z 11, 100 %), zatímco to platilo pouze pro 44 % (38 z 86) PR pozitivních pacientek ( $P=0,001$  po korekci na FDR, **Obrázek 18A**, str. 62). Naopak u všech ostatních genů v panelu rozdíly v mutovanosti nebyly nalezeny (91 % v PR neg. vs 95 % v PR poz.). Rozdíl byl ještě výraznější, pokud byly započítány pouze nesynonymní exonové varianty, tj. varianty ovlivňující protein (**Obrázek 18B**, str. 62). PR negativní pacientky byly v PR skupině mutované z 91 % (10 z 11), a PR pozitivní z 12 % (10 z 86,  $P=1,15E-06$  po korekci na FDR), zatímco pro zbytek genů to bylo 91 %, resp. 55 % ( $P=1,0$  po korekci na FDR).

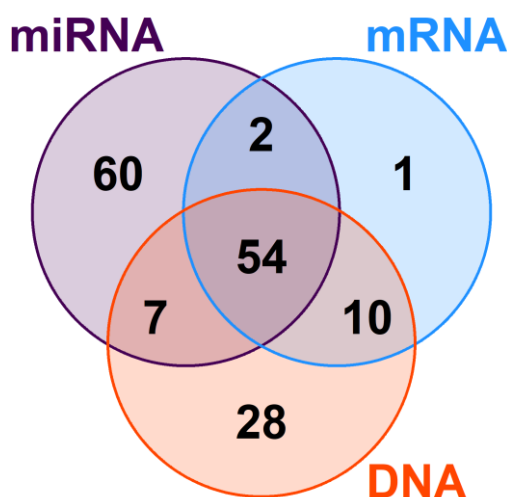


**Obrázek 18:** Procentuální rozdíly v mutovanosti vybraných genů u pacientek s PR pozitivními a PR negativními nádory prsu.

(A) varianty všech typů. (B) varianty se středním (missense, in frame) nebo vysokým (frame shift, nonsense) dopadem na protein. Multi Hit – více mutací u jedné pacientky najednou.

#### 4.1.3. Integrační studie mRNA-miRNA profilů a somatických variant oxysterolových genů

Data z genomické studie byla následně využita jako základ výrazně komplexnější studie, kombinující data o somatických variantách oxysterolových genů (n=99) s daty o expresi jejich mRNA (n=67) a s daty o expresi celého miRNA transkriptomu (n=125), a to pro překrývající se kohorty pacientek (**Obrázek 19**). Cílem bylo především zmapovat interakce specifických mRNA z vybraného panelu 113 genů oxysterolové signalizace se všemi známými miRNA. Dále jsme chtěli zdokumentovat možný vliv somatické variability na expresi panelu genů a odhalit v kombinaci s klinickými daty potenciální multiomické biomarkery využitelné pro predikce a prognostiku, tj. terciární prevenci onemocnění. Příslušný článek (**Příloha III**) byl v době odevzdání disertační práce v recenzním řízení.

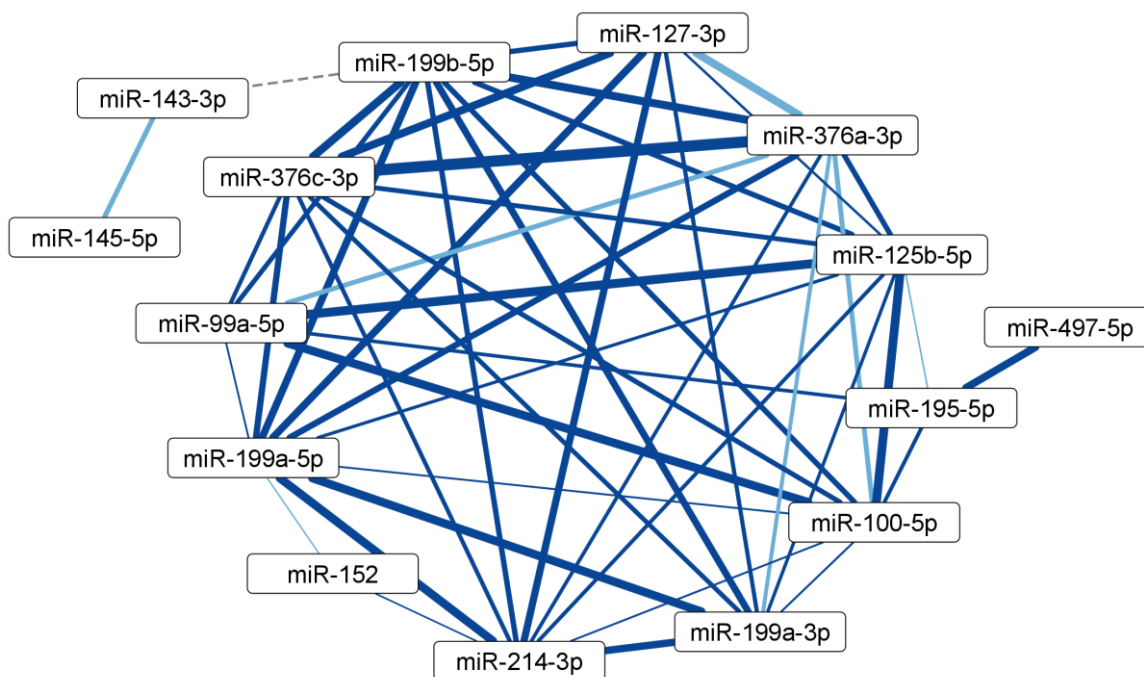


**Obrázek 19:** Překryvy kohort, u nichž bylo úspěšně provedeno příslušné měření.

*DNA – panelové sekvenování somatických variant v 113 oxysterolových genech. mRNA – sekvenování mRNA transkriptomu za účelem kvantifikace transkriptů 113 oxysterolových genů. miRNA – měření exprese celého miRNA transkriptomu pomocí mikročipů.*

Laboratorní část projektu se vydařila pro všechny vzorky nádorové RNA kromě měření miRNA u dvou vzorků ze 125, které byly vyřazeny pro odlehlost hodnot. Data pro 2027 miRNA byla následně filtrována a korigována (kapitola 3.4) na 280 miRNA, splňujících kvalitativní požadavky pro korelační analýzy. Data pro expresi mRNA byla zúžena na 113 zkoumaných genů. Normalizovaná data (viz kapitoly 3.3.2 a 3.4) byla následně korelována a byly vytvořeny interakční sítě, mapující jak silně korelované (koexpimované) miRNA (pro 123 pac.), tak mRNA-miRNA páry (pro 56 pac.). Výsledky byly následně ověřovány na veřejně dostupných datech dvou skupin pacientek (TCGA, n=374 a n=157) redukováných tak, aby dosahovaly maximální klinické podobnosti s našimi kohortami.

Jako kritérium pro klastrování miRNA jsme zvolili minimální korelační koeficient ( $r$ )  $\leq -0,8$  nebo  $\geq 0,8$ , čili silnou negativní nebo pozitivní korelaci. Toto kritérium splňovalo celkem 230 interakcí s FDR upravenou  $p < 0,05$ , z nichž všechny byly kladné, tj. jednalo se o koexpresi miRNA. Spojení těchto vazeb do sítí ukázalo dvě velké skupiny o 41 a 15 koexprimovaných miRNA, a dále pět skupin o pěti až osmi miRNA, tři skupiny po třech, a 19 párů miRNA. Z celkových 230 interakcí bylo 79 ověřeno (signifikantní po FDR korekci) v obou kohortách TCGA, 17 pouze v jedné z nich, a 134 nalezeno nebylo. Důležitým zjištěním bylo, že to, zda byla interakce signifikantní ve více kohotách, bylo do velké míry společné pro jednotlivé skupiny. Největší skupina koexprimovaných miRNA s nejsilnějšími vazbami, a zcela validována, je znázorněna na **Obrázku 20**. Ostatní skupiny jsou v **Příloze III**. Korelační analýza mRNA oxysterolových genů ukázala  $r$  mezi  $-0,42$  a  $0,74$ , žádné mRNA tedy nebyly velmi silně koexprimovány (**Příloha III**).



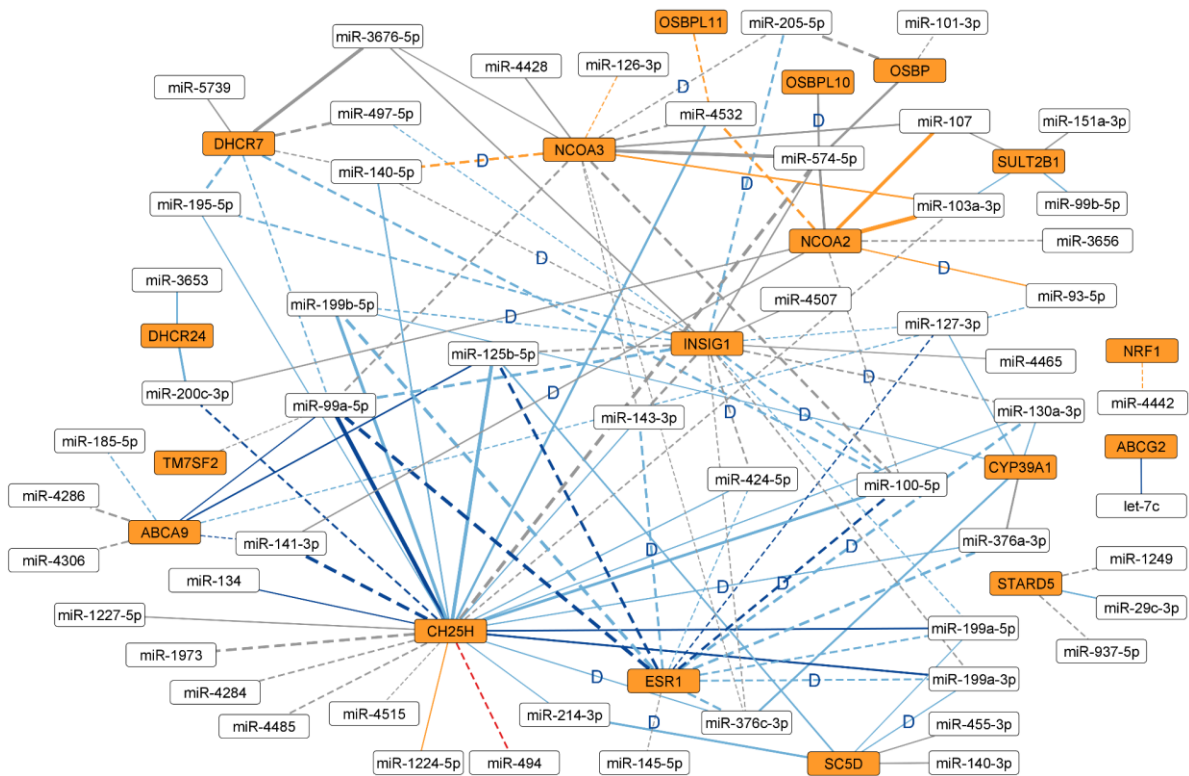
**Obrázek 20:** Největší skupina nejsilněji koexprimovaných miRNA.

*Tloušťka čáry odpovídá síle korelace (koeficient mezi 0,80 a 0,99). Tmavě modrá – validováno v obou kohortách. Světle modrá – validováno pouze v jedné kohortě. Šedá, přerušovaná čára – nevalidováno ani v jedné kohortě.*

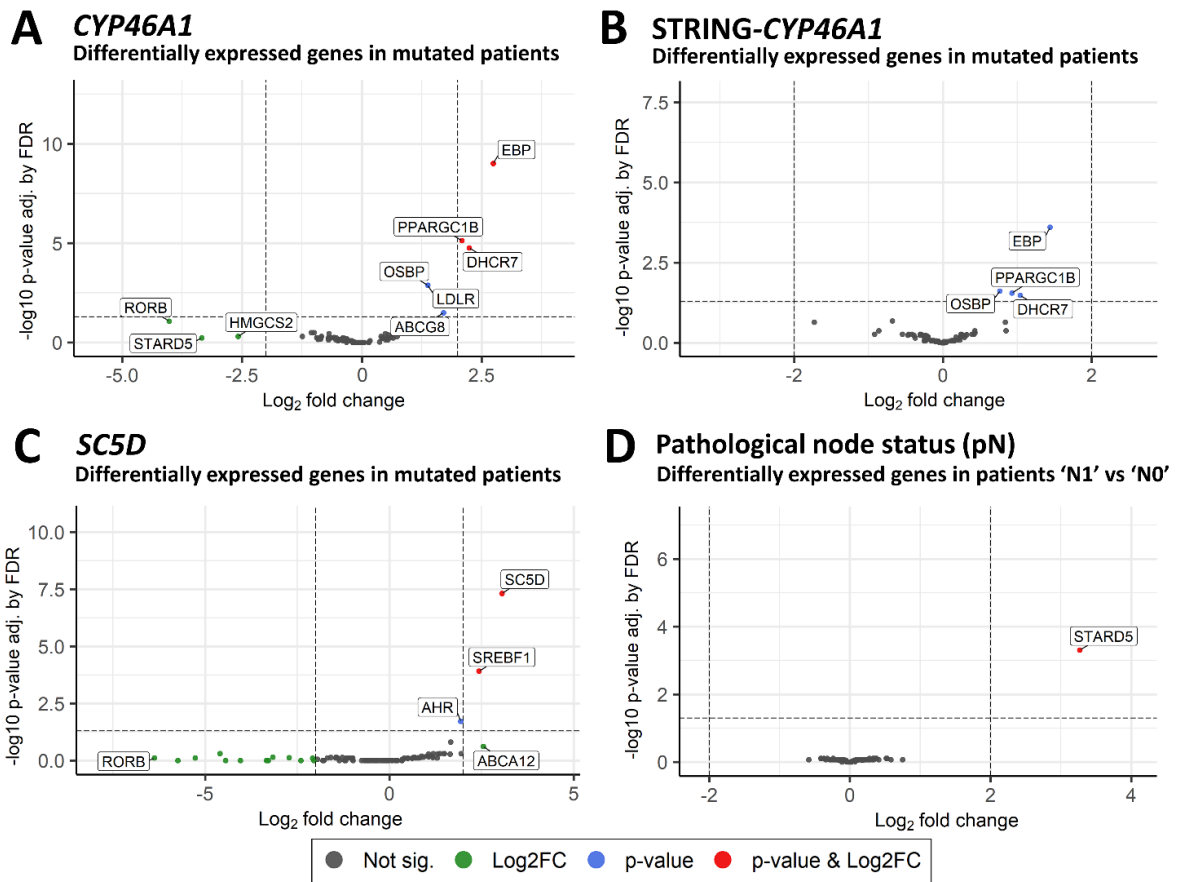
Klíčovou analýzou studie byla korelace miRNA s mRNA oxysterolových genů opět s validací ve dvou kohortách TCGA, a rovněž srovnáním s daty v 11 databázích mRNA-miRNA interakcí. Celkem bylo nalezeno 123 interakcí signifikantních po korekci na mnohočetné testování, z nichž 14 se nacházelo alespoň v jedné databázi *in silico* predikcí a devět alespoň v jedné databázi experimentálně validovaných interakcí. Čtyři interakce, a to *ESR1* s miR-130a-3p a miR-145-5p, *INSIG1* s miR-130a-3p, a *NCOA2* s miR-200c-3p, se nacházely v obou typech databází. Validace v TCGA datech potvrdila 14 interakcí v obou

kohortách, 46 pouze v jedné kohortě, a vyvrátila (opačná tendence korelace) jednu interakci v obou kohortách a deset interakcí v právě jedné z kohort. Nebylo potvrzeno ani vyvráceno celkem 52 interakcí. Největší počet signifikantních interakcí, a interakcí potvrzených v TCGA a v databázích, vykazovaly geny *CH25H*, *ESR1* a *INSIG1*. Výsledná síť interakcí, včetně stavu validace, síly korelace, a dalších parametrů, je na **Obrázku 21**, str. 66.

Následně jsme provedli analýzu diferenciální exprese (z neupravených dat počtů detekovaných transkriptů) u pacientek rozdělených dle přítomnosti somatických mutací v jednotlivých genech nebo skupinách genů, které vycházely z poznatků z předchozí studie (**Příloha II**), a těch, které figurovaly v interakčních sítích. Dále byly pacientky děleny dle klinických faktorů, jako velikost a typ nádoru, postižení lymfatických uzlin, molekulární subtyp, exprese HER2 a PR. Většina těchto analýz přinesla minimum významných vztahů, což však neplatilo pro mutace, které byly v předchozí studii asociovány s kratším přežíváním pacientek, konkrétně v genu *CYP46A1* a skupině STRING-CYP46A1 (deset funkčně souvisejících genů). Tyto byly asociovány s největším počtem diferenciálně exprimovaných genů, konkrétně pak se zvýšenou expresí *EBP*, *DHCR7*, *PPARGC1B*, *OSBP*, *LDLR* a *ABCG8* (**Obrázek 22A a 22B**, včetně p-hodnot, str. 67). Mutace v genu *SC5D* byla asociována s jeho vysokou expresí, méně pak se zvýšenou expresí genů *SREBF1* a *AHR* (**Obrázek 22C**, str. 67). Mutace v *ABCA9* byly rovněž asociovány s vyšší expresí *SC5D* (FDR kor. P=0,028), a mutace v *ESR1* pak s vyšší expresí *NCOR1* (FDR kor. P=7,85E-05) (**Příloha III**). Jediným klinickým parametrem, který rozděloval pacientky na skupiny s rozdílnou v expresí oxysterolových genů, byla patologicky stanovená pozitivita lymfatické uzliny (pN), pro níž byla nazelena vysoce zvýšená exprese pouze jediného genu, a to *STARD5* (**Obrázek 22D**, str. 67).



**Obrázek 21:** Interakční síť vycházející z korelační analýzy mRNA oxysterolových genů a miRNA. mRNA – oranžová, miRNA – bílá. Přerušovaná čára – negativní korelace. Plná čára – pozitivní korelace. Tmavě modrá čára – validováno v obou TCGA kohortách. Světle modrá čára – validováno v pouze jedné kohortě TCGA. Oranžová čára – v rozporu s jednou validací. Červená čára – v rozporu s oběma validacemi. “D” uprostřed čáry – interakce nalezena alespoň v jedné z 11 databází predikovaných nebo validovaných interakcí.



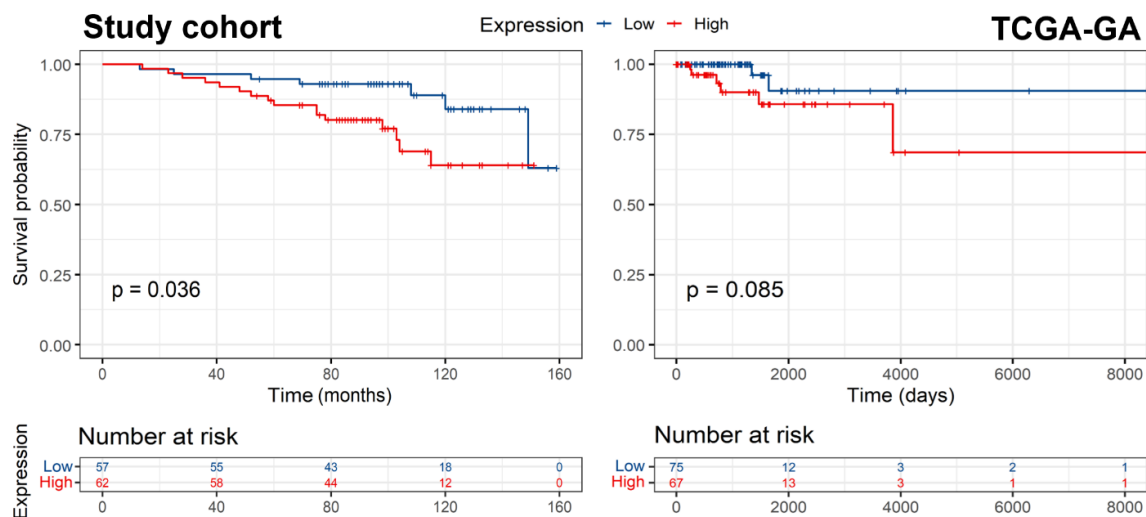
**Obrázek 22:** Volcano ploty diferenciálně exprimovaných genů mezi pacienty. Rozdělení dle přítomnosti somatických mutací v genu *CYP46A1* (A), skupině genů *STRING-CYP46A1* (B) a genu *SC5D* (C). (D) dělení dle pozitivivity lymfatických uzlin (pN). Vertikální čáry ukazují orientační hranici velmi vysoce rozdílné exprese ( $\log_2$  fold change = 2), horizontální pak hranici statistické significance ( $p \leq 0.05$  po korekci na mnohočetné testování).

Dále byl posouzen vliv exprese všech jednotlivých mRNA, stejně jako miRNA, na přežívání pacientek. Srovnávány byly pacientky s expresí nad a pod medián v souboru ( $n=67$  pro mRNA,  $n=123$  pro miRNA). V případě málo exprimovaných mRNA, kde by medián byl roven nule ( $n=20$ ), byly posuzovány pacientky s nulovou vs nenulovou expresí. Z mRNA byla vysoká exprese asociována s kratším přežíváním pro *LDLR* (OS  $P=0,003$ ; DFS  $P=0,020$ ) a *PPARGCIA* ( $P>0,05$ ; DFS  $P=0,020$ ), podobně jako nenulová exprese *CYP3A4* (OS  $P=0,017$ ; DFS  $P=0,015$ ). Žádný z těchto výsledků ale nebyl signifikantní po korekci na mnohočetné testování a nepotvrdil se ve validační kohortě TCGA. Vysoká exprese osmi miRNA byla asociována s delším (miR-106b-5p, miR-3653, miR-6069, miR-6515-3p) nebo kratším OS (miR-23b-3p, miR-4459, miR-4497, miR-4745-5p). Sedm miRNA pak bylo asociováno delším (miR-222-3p, miR-1587, miR-4449, miR-4687-3p, miR-6069) nebo kratším (miR-19b-3p, miR-4745-5p) DFS. Výsledky byly opět nesignifikantní po FDR korekci. Vysoké exprese miR-19b-3p, asociovaná s kratším DFS ( $P=0,036$ ), byla taktéž asociována stejným směrem v jedné z TCGA kohort, ačkoli nesignifikantně ( $n=157$ ,

P=0,085, **Obrázek 23**). Podobné asociace ale byly nalezeny i pro OS v naší kohortě, stejně jako v obou validačních (P=0,17; P=0,14 a P=0,05). Dále byla nalezena obdobná asociace s kratším chorobově-specifickým přežitím (DSS, angl. „disease-specific survival“) v jedné z validačních kohort (n=374), ale opět nesignifikantní (P=0,080, více v **Příloze III**).

Z deseti testovaných klinických parametrů pak jedině patologicky stanovená velikost nádoru (<pT1) vedla k významnému prodloužení přežití v naší kohortě (OS P=0,004, n=157; DFS P=0,012, n=158).

### Disease-free survival – hsa-miR-19b-3p

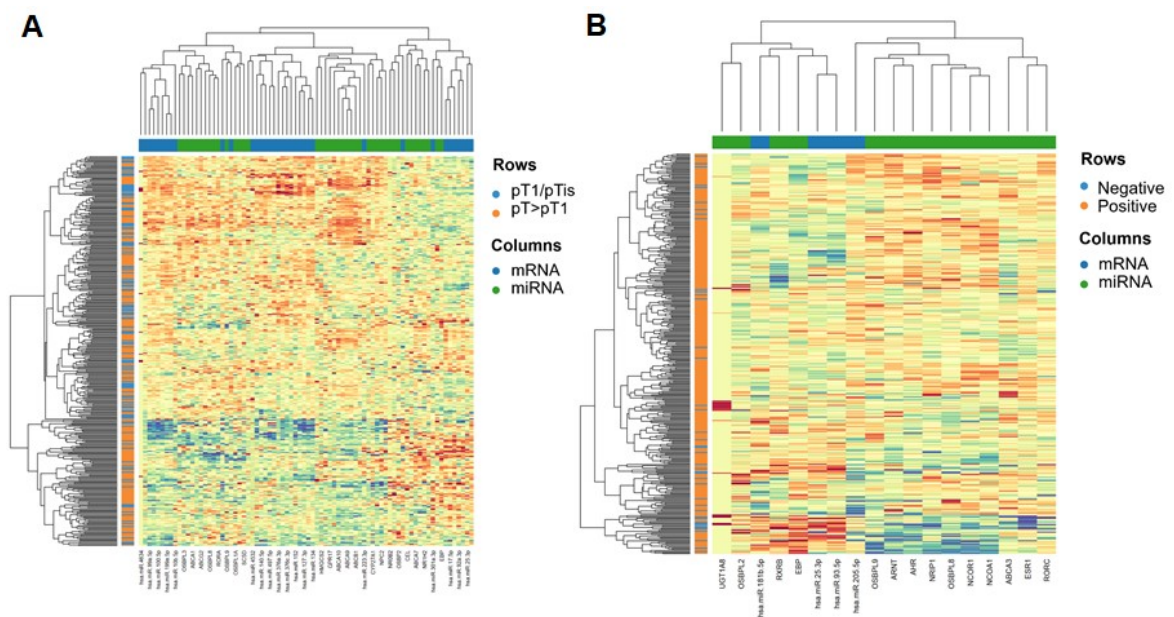


**Obrázek 23:** Přežívání pacientek bez onemocnění v kohortě studované (vlevo) a validační (vpravo) pro expresi miR-19b-3p.

Červená, high – nad medián. Modrá, low – nad medián.



Nakonec jsme se pokusili o konstrukci multiomického diskriminačního modelu DIABLO (kapitola 3.5.3), který dokáže kombinovat teoreticky neomezený počet typů omických dat a vytvořit z nich predikční vzorec na známou kategorickou proměnnou. Na základě tréninku na datech původních pak dokáže předpovídat proměnnou v datech nových, a to pomocí zúženého podpisu kombinujícího např. mRNA a miRNA. Již průvodní analýza našich dat a obou kohort TCGA pomocí PCA (analýza hlavních komponent, angl. „Principal Component Analysis“) ukázala, že vzorky výrazně neklastují podle žádného testovaného klinického parametru, a to ani v datech pro mRNA, ani v datech pro miRNA (pro detaily viz **Příloha III**). Data proto pravděpodobně nejsou vhodná pro spolehlivou predikci vybraných klinických parametrů (stádium, pN, pT, OS, PR). Navzdory tomu jsme se pokusili tyto modely vytvořit, a to na datech největšího souboru (TCGA, n=374), u něhož byla největší šance na vznik efektivního modelu. Ani nejlepší model bohužel nedosahoval lepšího procenta chybovosti než 40 %. Na hierarchicky klastrovaných mapách integrovaných mRNA-miRNA podpisů je ale přesto vidět určitá tendence ke klastrování vzorků s pT>pT1 k sobě (podpis 42 mRNA a 36 miRNA, **Obrázek 24A**), podobně jako vzorků PR negativních (podpis 14 mRNA a 4 miRNA, **Obrázek 24B**).



**Obrázek 24:** Hierarchické klastrování integrovaných mRNA-miRNA podpisů jako prediktorů v modelech DIABLO.

(A) patologická velikosti nádoru (pT, řádky). (B) exprese progesteronového receptoru (PR, řádky).

## 4.2. Studie mutačních profilů u pacientek s karcinomem ovarii s rozdílnou citlivostí na terapii platinovými deriváty

### 4.2.1. Studie celoexomových profilů

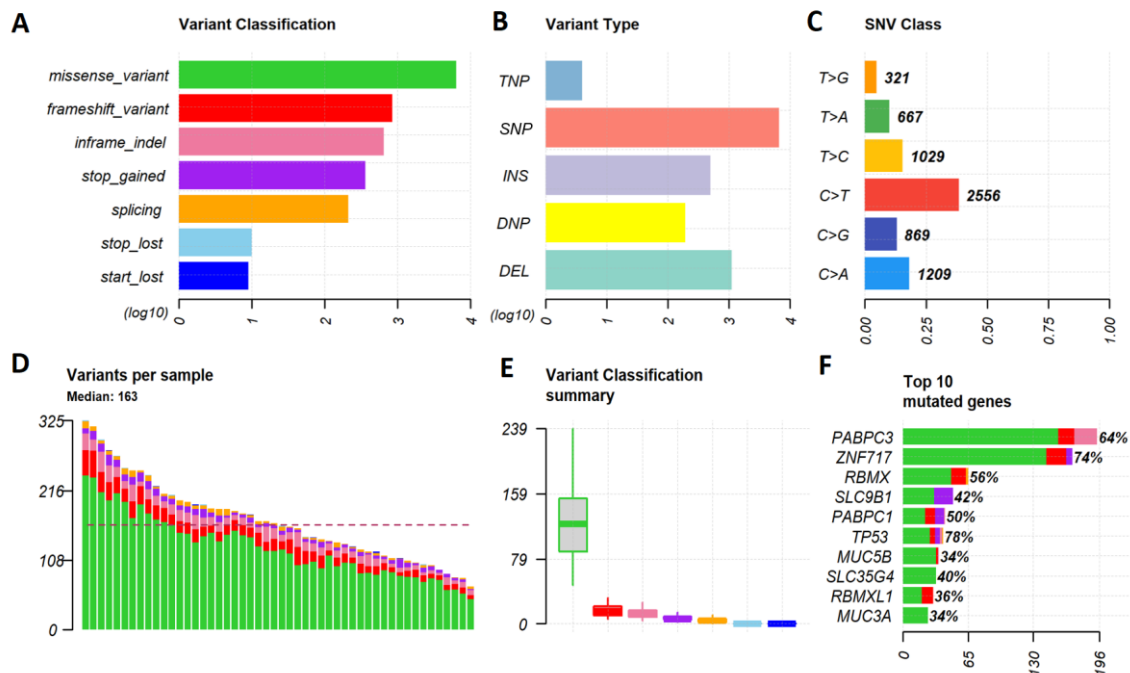
Cílem studie OVC bylo srovnat celoexomové mutační profily mezi pacientkami s epiteliálními OVC dobře a špatně odpovídajícími na léčbu platinovými deriváty (senzitivní a rezistentní, kapitola 3.1), a odhalit nové, popř. validovat již popsání genomické biomarkery rezistence a odpovědi na podanou léčbu. Pro tuto studii bylo vybráno celkem 50 pacientek s epiteliálním OVC, z nichž většina měla onemocnění stádia III a subtypu HGSC (angl. „high grade serous carcinoma“, serózní karcinom s vysokým grade). Celkem 30 pacientek pak bylo klasifikováno jako senzitivní na platinové deriváty a 20 jako rezistentní. Pro páry vzorků DNA z nádoru (čerstvě zamražená tkáň) a krve bylo provedeno celoexomové sekvenování. Studie (**Příloha IV**) byla publikována v časopise *Life Science Alliance* (Hlaváč et al. 2022).

#### 4.2.1.1. Obecná analýza variant

Průměrná hloubka pokrytí u nádorových vzorků byla  $243 \pm 29$  a 96 % bází bylo pokryto alespoň 50krát. Nenádorová DNA z krve pak měla průměrné pokrytí  $35 \pm 6$  a 92 % bází bylo pokryto alespoň 10krát.

Celkový počet nalezených somatických variant byl  $1781 \pm 282$  na vzorek. Tyto varianty byly poté poměrně přísně filtrovány (viz publikace), aby byl minimalizován počet falešně pozitivních nálezů. Průměrně  $478 \pm 133$  variant na vzorek prošlo těmito filtry. Pro většinu následujících analýz jsme se zaměřili na tyto varianty, a to pouze ty nesynonymní exonové nebo obecně ty, u kterých lze předpokládat signifikantní dopad na proteinový produkt (tedy tzv. střední nebo vysoká závažnost). Přehled typů, tříd a počtů variant pro jednotlivé vzorky, s výčtem nejčastěji mutovaných genů, je na **Obrázku 25**, str. 71.

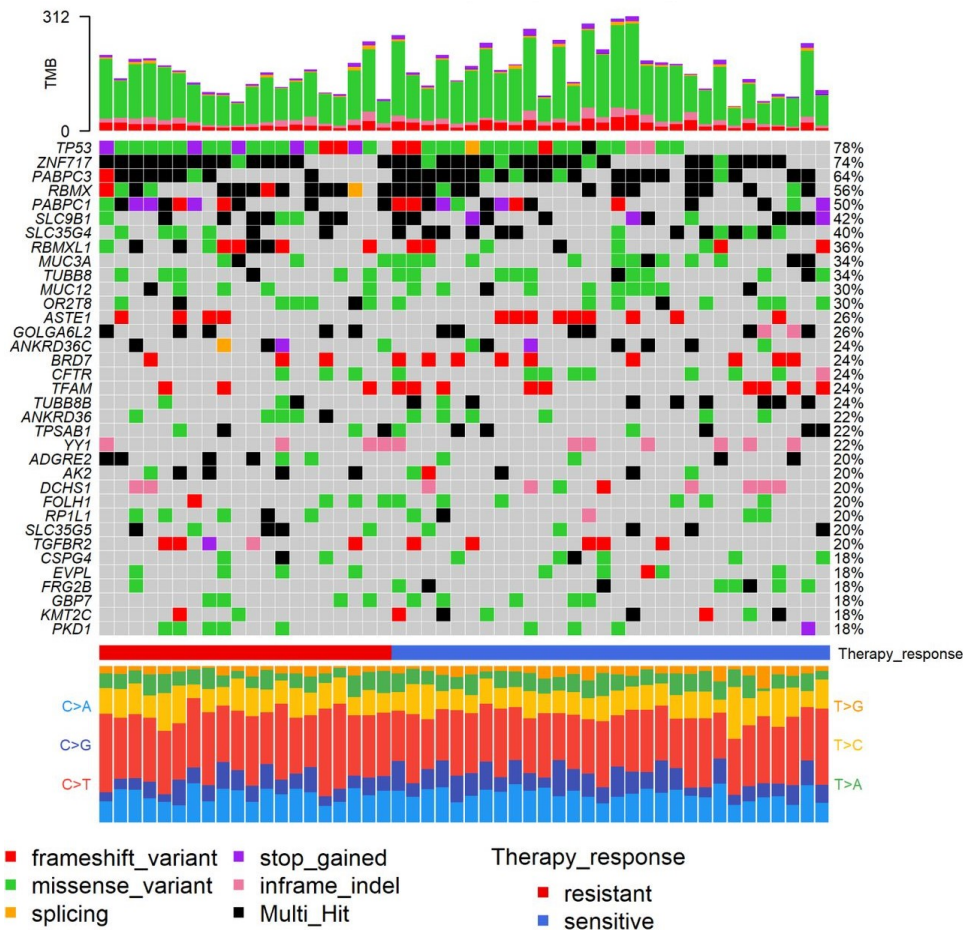
Obdobně byly zmapovány zárodečné varianty ( $39054 \pm 793$  na pac.,  $33992 \pm 1495$  po filtraci), které ale nebyly v této studii dále analyzovány, kromě post-hoc analýzy genů dráhy oprav DNA homologní rekombinací (HRR, viz dále), a také CNV ( $159 \pm 99$  na pac.).



**Obrázek 25:** Distribuce variant studované kohorty pacientek s ovariálním karcinomem.

(A) klasifikace variant s počty na ose x. (B) typy variant – TNP – trinukleotidová varianta, SNP – jednonukleotidové varianta, INS – inserce, DNP – dinukleotidová varianta, DEL – delece. (C) počty mutací dle typu jednonukleotidové záměny. (D) počty mutací na vzorek. (E) počty mutací celkově dle klasifikace. (F) deset genů s nejvyššími počty mutací na ose x a procentem mutovanosti kohorty pro každý gen. Barvy v obrázcích D, E a F odpovídají kategoriím v obrázku A.

Nejčastěji somaticky mutovaným (78 % kohorty) genem byl *TP53*. Nejvíce mutované geny v kohortě a doplňující informace, včetně odpovědi pacientek na léčbu, jsou znázorněny na **Obrázku 26**, str. 72.

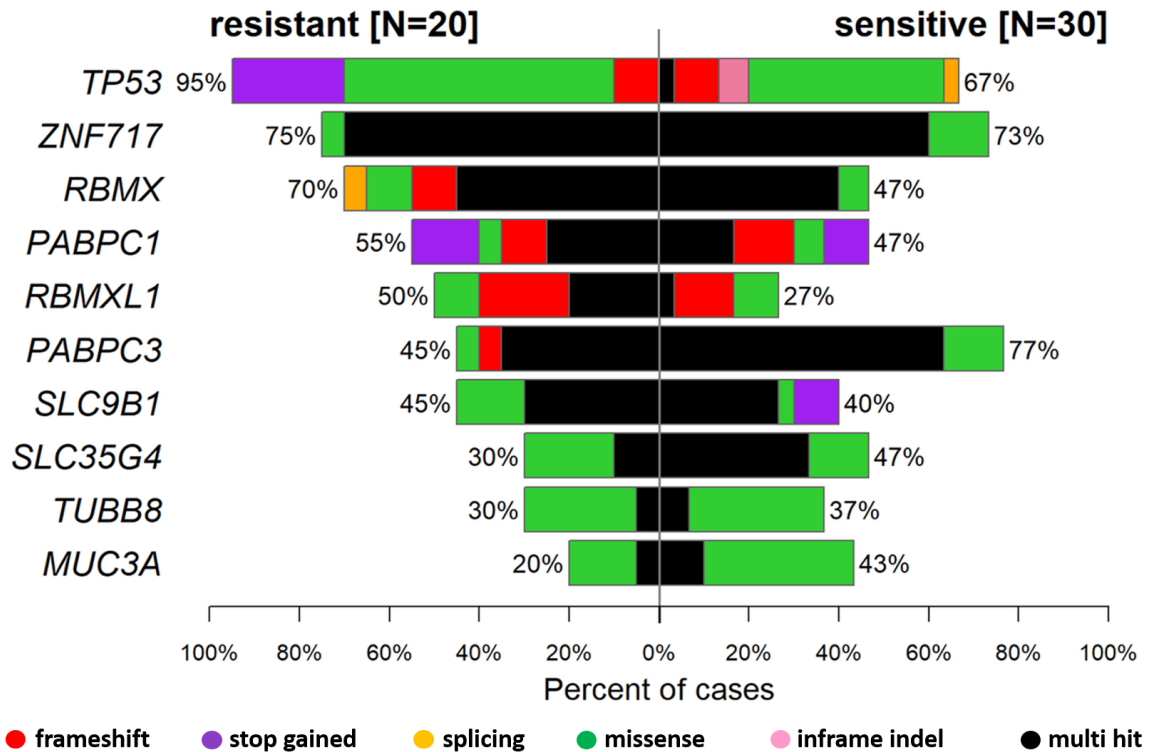


**Obrázek 26:** Typy somatických mutací se střední nebo vysokou závažností u pacientek s karcinomem ovarií.

Uvedeno 35 nejčastěji mutovaných genů. Sloupce – pacientky, řádky – geny. TMB – mutační zátěž (angl. „tumor mutation burden“) pacientky. Multi\_Hit – více mutací najednou. Pacientky seskupeny dle odpovědi na léčbu.

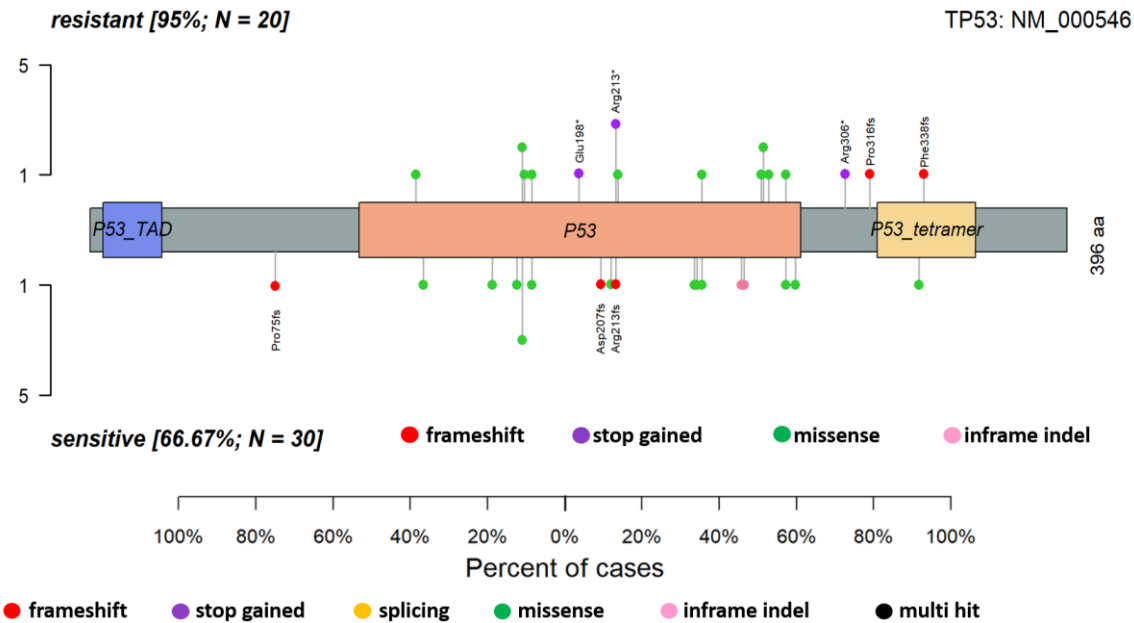
#### 4.2.1.2. Srovnání dle odpovědi na léčbu platinovými deriváty

U rezistentních pacientek byla statisticky signifikantně zvýšená frekvence mutací v genu *TP53*, a snižená v *PACBPC3* (Obrázek 27). Rozdíly byly patrné, i když ne statisticky signifikantní, i v řadě dalších genů, např. *FRG2B*, *KDM6B*, *MAGEL2*, *PI4KA* a *SLIT1*.



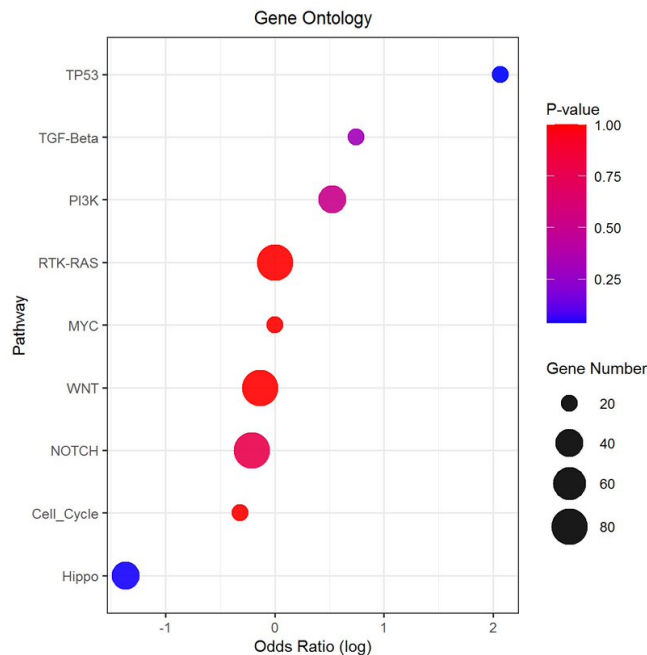
**Obrázek 27:** Typy somatických mutací se střední nebo vysokou závažností u pacientek s karcinomem ovarii, rozdělených dle odpovědi na léčbu platinovými deriváty. Uvedeno 10 genů s nejvyššími počty mutací. Multi hit – více mutací u jedné pacientky najednou.

Rezistentní pacientky měly rovněž větší zastoupení funkčně důležitých typů mutací v *TP53*, jako stop-gained (nonsense, varianta ukončující transkripci) a frameshift (varianta posunující čtecí rámec, **Obrázek 28**, str. 74).



**Obrázek 28:** Topologie somatických mutací v genu *TP53* se střední nebo vysokou závažností u pacientek s OVC, rozdělených dle odpovědi na léčbu platinovými deriváty.

Z analýz diferenciální mutovanosti nádorových signálních drah vyplynulo, že zatímco pacientky mutované v dráze *TP53* jsou s vyšší pravděpodobností rezistentní (OR = 7,87; 95% CI = 0,94-374,58), tak naopak ty mutované v dráze Hippo jsou rezistentní s pravděpodobností sníženou (OR = 0,26; 95% CI = 0,06-0,96, **Obrázek 29**).

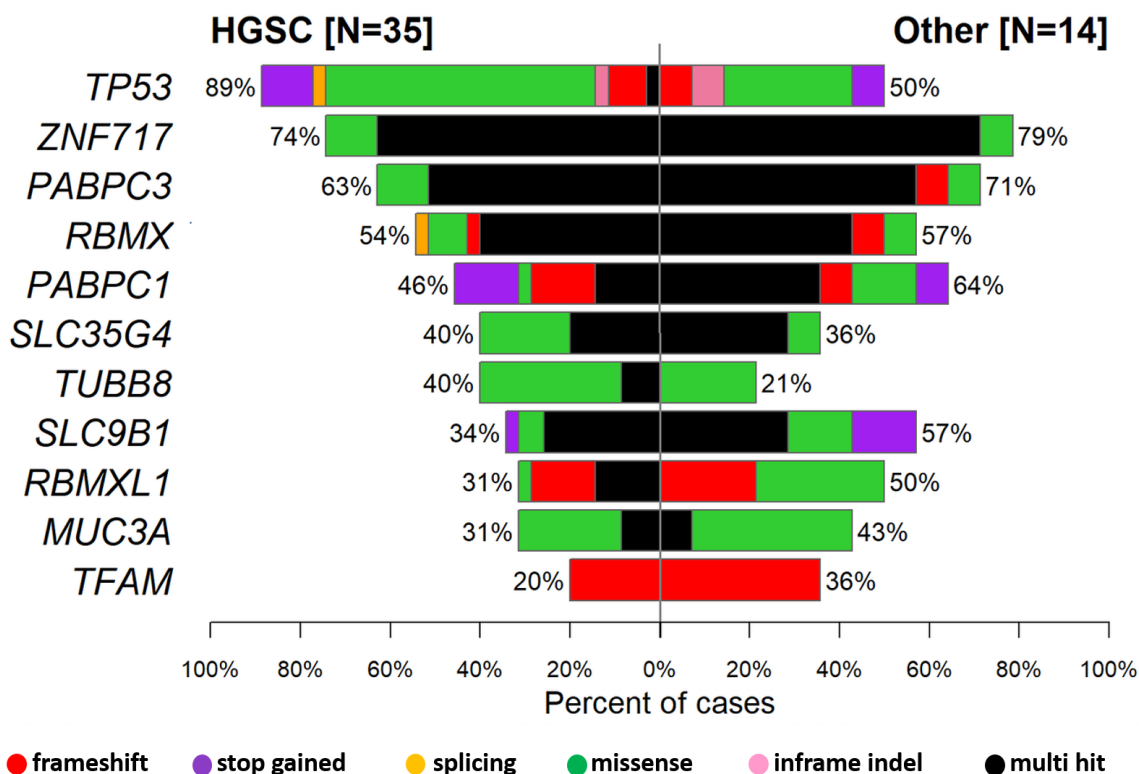


**Obrázek 29:** Vizualizace nabohacení mutací v deseti kanonických onkogenních dráhách u pacientek rezistentních na platinové deriváty oproti senzitivním.

Rozdíly ve spektrech CNV ani v TMB mezi rezistentními a senzitivními pacientkami nebyly pozorovány. Analýza mutačních podpisů ukázala vyšší podíl podpisu SBS6 v rezistentních pacientkách, i když ne po FDR korekci.

#### 4.2.1.3. Asociace s dalšími klinickými daty včetně délky přežívání

Dále byly provedeny všechny zmíněné analýzy pro dělení pacientek dle stádia nemoci, grade, molekulárního subtypu nádoru, přítomnosti distálních metastáz, a residua po operaci. Pouze dělení dle histologického subtypu odhalilo signifikantní rozdíly (**Obrázek 30**). Pacientky se subtypem HGSC měly, oproti všem ostatním, výrazně vyšší počet mutací na vzorek před i po filtračních krocích ( $1837 \pm 269$  oproti  $1645 \pm 289$  a  $310 \pm 91$  oproti  $228 \pm 130$ ). Pacientky se somatickými mutacemi v *TP53* rovněž měly vyšší šanci na subtyp HGSC (OR = 7,34; 95% CI = 1,42-44,93). Tato signifikance se ještě zvýšila při započtení celé dráhy *TP53* (OR = 9,98; 95% CI = 1,76-75,39). Drobné rozdíly mezi HGSC a ostatními subtypy byly rovněž nalezeny v mutačních podpisech SBS34 a SBS17b. Subtyp HGSC měl rovněž vyšší frekvenci ( $179 \pm 83$  oproti  $113 \pm 126$ ) i délku CNV.

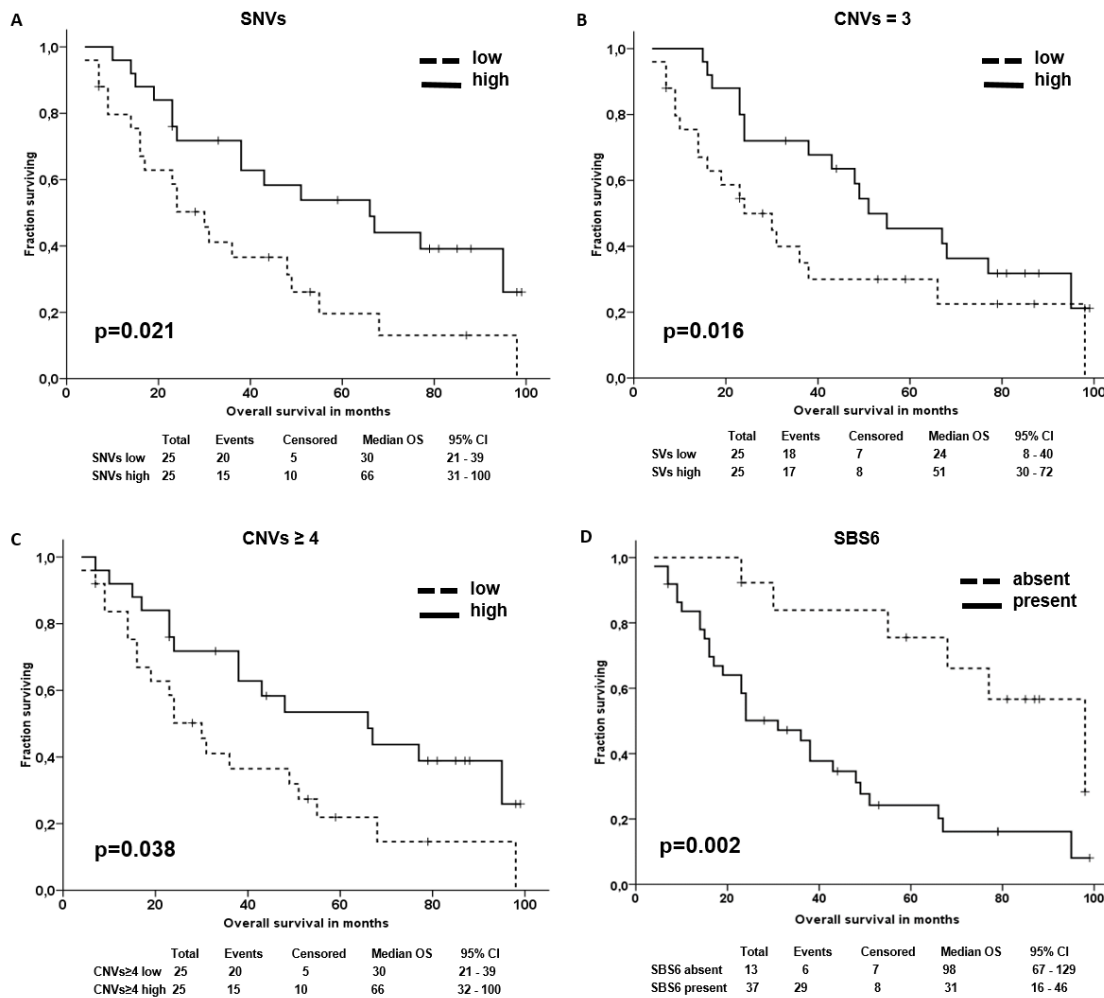


**Obrázek 30:** Typy somatických mutací se střední nebo vysokou závažností u pacientek s karcinomem ovaria, rozdělených dle histologického subtypu.

Uvedeno 10 genů s nejvyššími počty mutací. Multi hit – více mutací u jedné pacientky najednou.



Pacientky s počtem somatických mutací vyšším než medián, a také ty s počtem vícenásobných CNV (3-4 a více kopií) nad medián, měly signifikantně delší OS. Podobně pak pacientky, u nichž byl nalezen podpis SBS6 (Obrázek 31).



**Obrázek 31:** Přežívání pacientek rozdělených dle mediánu (vyšší/nížší) počtu somatických mutací (A), CNV (B a C) a přítomnosti mutačního podpisu SBS6 (D).

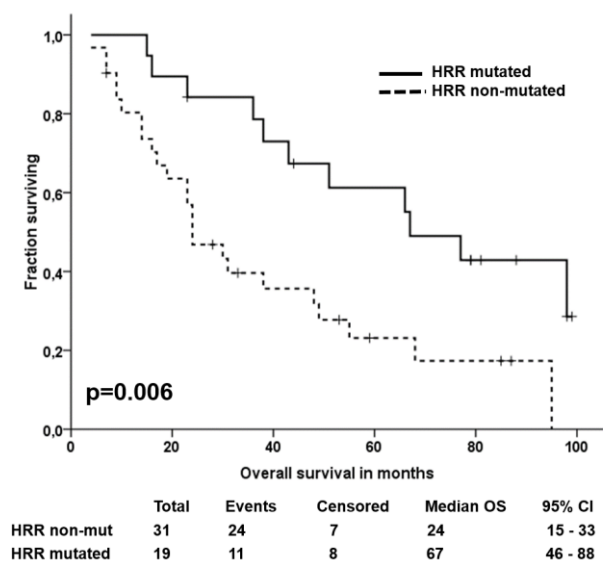


#### 4.2.1.4. Asociace dráhy oprav DNA homologní rekombinací

Specificky jsme se zaměřili na 16 genů z dráhy HRR, která je klíčová pro OVC. V tomto případě jsme analyzovali i zárodečné mutace. Pacientky se zárodečnými a/nebo somatickými variantami v těchto genech byly signifikantně častěji senzitivní na deriváty platiny (**Tabulka 7**). Takto mutované pacientky měly rovněž delší OS (**Obrázek 32**).

**Tabulka 7:** Rozdílné počty mutovaných pacientek senzitivních nebo rezistentních na léčbu platinovými deriváty

<u>Pacientky dle mutací v HRR</u>	<u>Odpoověď na platinové deriváty</u>		<u>p-hodnota rozdílu</u>
	<u>Rezistentní</u>	<u>Senzitivní</u>	
Somaticky mutované	0	7	0,033
Bez somatické mutace	20	23	
Zárodečně mutované	2	12	0,026
Bez zárodečně mutace	18	18	
Zárodečně nebo somaticky mutované	2	17	0,001
Bez zárodečně nebo somatické mutace	18	13	

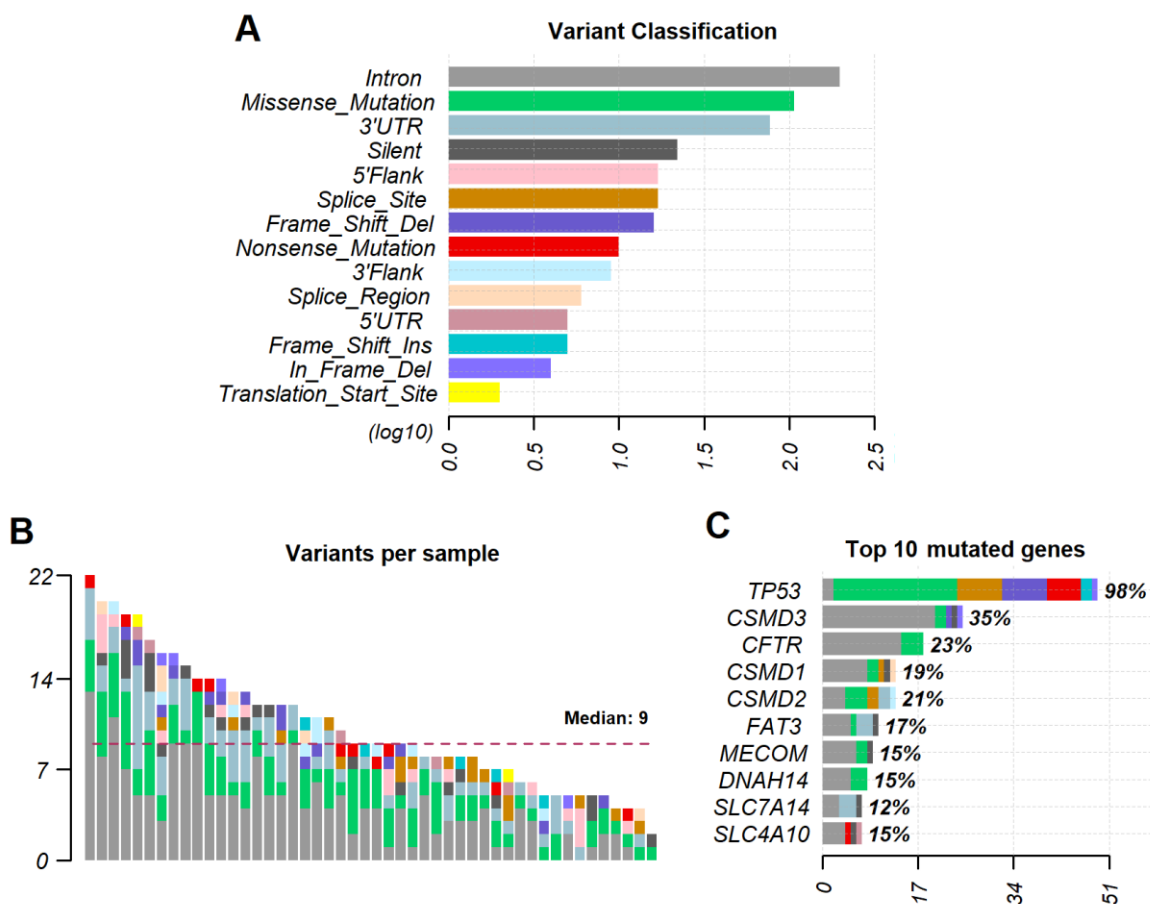


**Obrázek 32:** Přežívání pacientek rozdělených dle mutovanosti (zárodečné + somatické varianty) genů dráhy opravy DNA homologní rekombinací (HRR).

#### 4.2.2. Studie vybraných genů pomocí panelového sekvenování

Na předchozí pilotní studii jsme navázali studií na 48 pacientkách s OVC (opět páry vzorků nádor-krev), obdobně rozdělených na platinově senzitivní (n=26) a rezistentní (n=22) pacientky, a s použitím téměř identické metodologie jako u celoexomové studie (viz příslušné kapitoly). Celkem šest pacientek bylo společných pro obě studie. Zásadní rozdíl byl v tom, že bylo použito panelové sekvenování 144 genů s vysokým pokrytím a byly analyzovány jak somatické varianty, tak varianty zárodečné, a to aktualizovaným bioinformatickým protokolem vycházejícím z předchozí studie na pacientkách s karcinomem prsu (kapitoly 3.3.2.1 a 4.1.2). Geny do panelu byly vybrány jako potenciálně důležité pro etiologii, prognostiku a predikci odpovědi na léčbu u OVC, a to na základě rešerše v literatuře, databázích a výsledků předchozích studií na pracovišti (Seborova et al. 2019; Elsnerova et al. 2016; Brynychova et al. 2016; Ehrlichova et al. 2013). Cílem studie bylo porovnat somatické a zárodečné profily pacientek celkově i v závislosti na rezistenci, poskytnout detailnější pohled na vybrané geny oproti celoexomovému přístupu a srovnat získané výsledky s těmi z předchozí studie a z veřejně dostupných databází. **Příloha V** obsahuje tabulku pacientek a výčet studovaných genů. Analýzy nebyly v době odevzdání disertační práce dokončeny, budou zde proto pouze uvedeny základní charakteristiky somatické variability a srovnání mutací v *TP53* s daty z jiných studií.

Hloubka pokrytí cíleného panelu (1,3 Mb) byla průměrně  $164 \pm 67$  pro DNA z krve (medián 154, mediánově 94 % pokryto alespoň 50x) a  $537 \pm 120$  pro DNA z nádoru (medián 537, mediánově 80 % pokryto alespoň 150x). Bylo nalezeno 494 somatických variant, z nich 111 se střední závažností a 50 se závažností vysokou (**Obrázek 33A**, str. 79). Nejvíce mutovaný vzorek měl 22 variant a nejméně mutovaný pouze dvě varianty (medián 9, **Obrázek 33B**, str. 79). Zdaleka nejčastěji mutovaným genem byl *TP53*, u něhož byla drtivá většina variant střední a vysoké závažnosti (**Obrázek 33C**, str. 79).

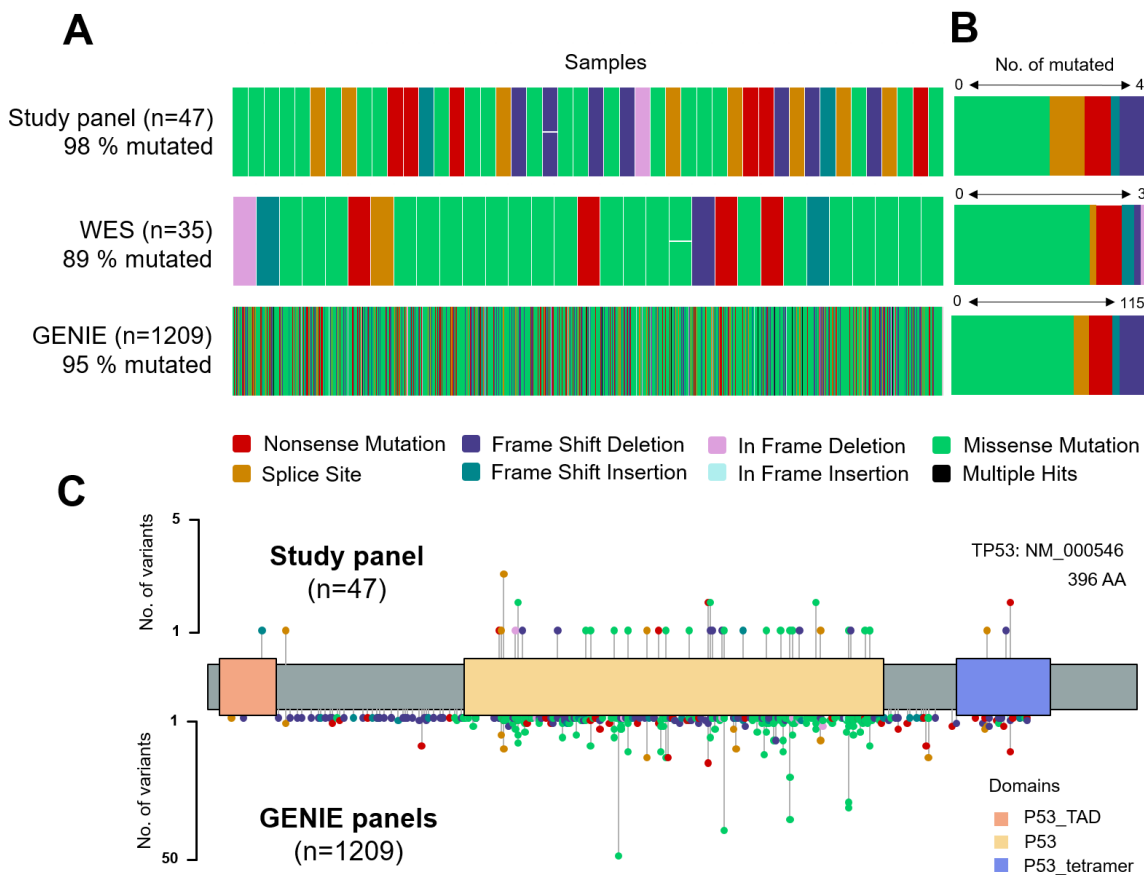


**Obrázek 33:** Distribuce somatických variant v panelovém sekvenování 144 genů u pacientek s karcinomem ovarií.

(A) počet variant dle jejich klasifikace (logaritmická stupnice). (B) počet variant na vzorek. (C) deset nejmutovanějších genů. Barvy obrázků B a C odpovídají barvám kategorií v obrázku A.

Při srovnání somatických mutačních profilů mezi touto studií a studií celoexomového sekvenování, pro sledovaných 144 genů, byl na první pohled patrný vyšší počet mutací ovlivňujících sestřih mRNA („Splice\_Site“, varianta se závažným dopadem produkt) genu *TP53* v datech z panelového sekvenování (8 ze 48 pacientek oproti 1 z 50 pacientek u celoexomového sekvenování). Žádná z těchto variant se ale nenacházela u šesti pacientek sdílených oběma studiemi, takže nebylo možné přímé srovnání spolehlivosti jejich detekce oběma metodami. Oba soubory byly dále redukovány na pacientky se subtypem HGSC (n=47 pro panelové sekvenování a n=35 pro celoexomové) a mutace v *TP53* byly srovnány s těmi v 1209 vzorcích primárních nádorů typu HGSC z projektu GENIE 13.0 (AACR Project GENIE Consortium 2017), vycházející z klinicky rutinně používaných panelů v předních světových onkologických centrech, která byla získána redukcí souboru více než 148 tis. vzorků nádorů různého původu (Obrázky 34A a 34B, str. 80). Výsledná data pro *TP53* vycházela z 36 panelů, přičemž pro každý bylo ověřeno, že obsahuje *TP53* a

data jsou proto srovnatelná. Zatímco v HGSC vzorcích naší kohorty neslo variantu v místě sestřihu 8 ze 47 pacientek (17,0 %), v kohortě celoexomového sekvenování to byly 2 pacientky z 35 (5,7 %) a v kohortě GENIE to bylo 88 pacientek z 1209 (7,3 %), což je statisticky signifikantně méně ( $P=0,023$ ; Fisherův exaktní test). Ačkoli varianty v sestřihových místech v genu *TP53* se v souboru GENIE nacházely na první pohled v podobných místech (**Obrázek 34C**), detailnější pohled ukázal, že pouze čtyři z osmi mutací v našem souboru našly svůj protějšek ve zcela stejném místě v sekvenci, přičemž jen v jednom případě šlo o zcela stejnou mutaci.



**Obrázek 34:** Srovnání středně a vysoce závažných somatických variant v genu *TP53* v nádorech pacientek s karcinomem ovarií subtypu HGSC.

(A) Grafické zobrazení jednotlivých pacientek dle typu varianty. WES – celoexomové sekvenování z naší předchozí studie (Hlaváč et al. 2022). (B) sloupcové zobrazení relativního podílu typů variant na celkovém počtu mutovaných pacientek. (C) topologie proteinu *TP53* s vyznačením polohy a počtu variant v naší studii (nahore) a v souboru GENIE (dole). Zdroj externích dat: konsorcium GENIE (AACR Project GENIE Consortium 2017).

### 4.3. Studie celoexomových mutačních profilů kolorektálních karcinomů a jejich synchronních jaterních metastáz

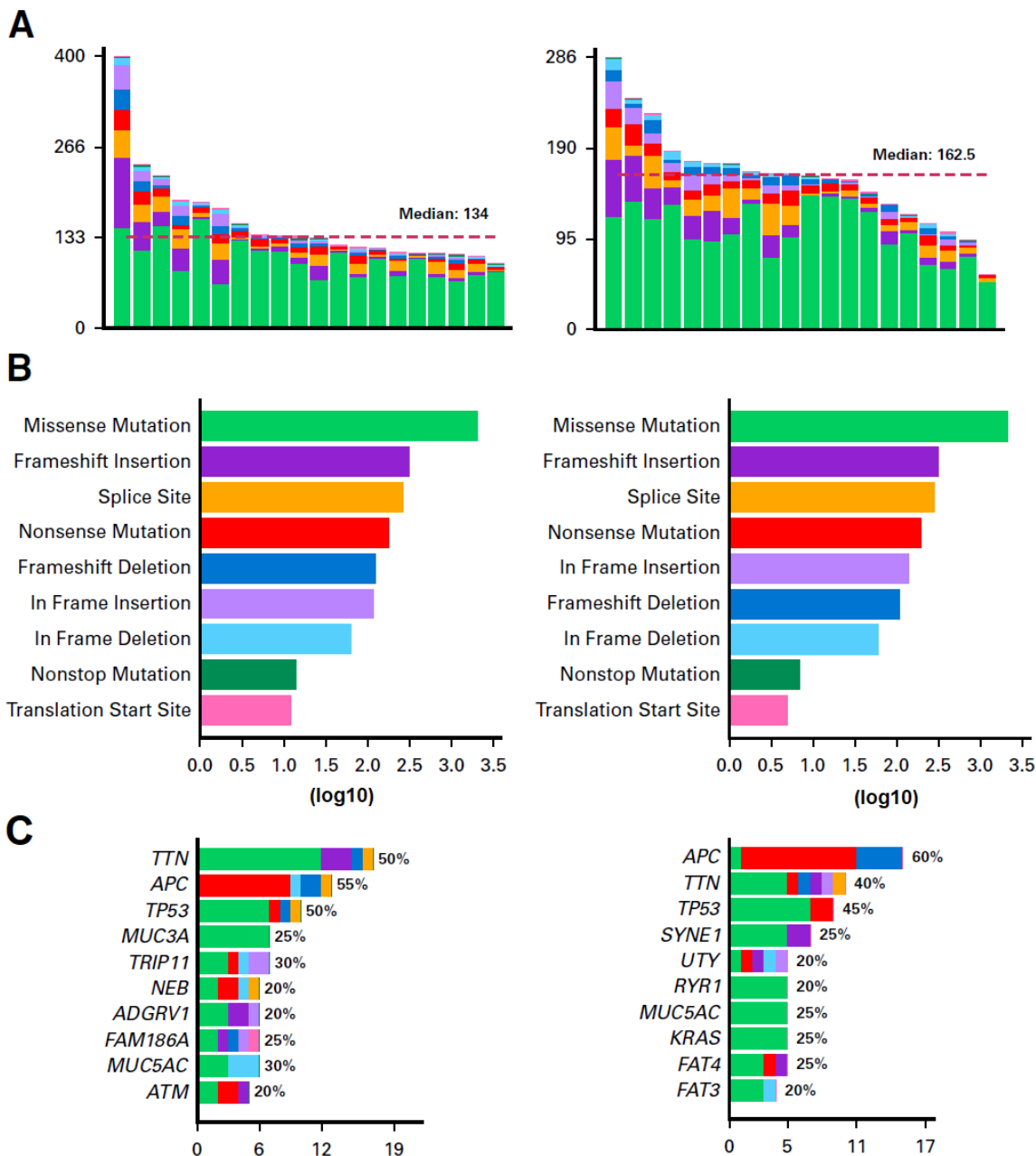
Postupy celoexomové sekvenace a vyhodnocení dat, zavedené při řešení předchozí studie OVC, byly v rozšířené a optimalizované formě aplikovány v následující studii, jejímž cílem bylo komplexně porovnat mutační profily 20 pacientů s CRC, kteří byli diagnostikováni se synchronním postižením jaterními metastázami. V této studii jsme měli k dispozici unikátní soubor párových vzorků primárního nádoru a metastatických ložisek od stejných pacientů. Pro detailní klinické parametry pacientů viz článek (**Příloha VI**), publikovaný v časopise *JCO Precision Oncology* (Hlaváč et al. 2023).

Vzorky tkáně pocházely z parafinových bloků (FFPE, z angl. „formalin-fixed paraffin-embedded“), které jsou běžnou metodou uchovávání tkání v klinickém prostředí, ale poskytují DNA relativně nízké kvality, což je třeba zohlednit při laboratorním a bioinformatickém zpracování i při interpretaci výsledků.

Průměrná hloubka pokrytí u primárních nádorů a u metastáz byla  $199 \pm 126$  (medián 165), resp.  $187 \pm 105$  (medián 136). V mediánu bylo alespoň 30krát pokryto 54 % (min. 5%-max. 92%) bází v primárních nádorech a 45% (6%-85%) bází v metastázách. Vzhledem k vysokému počtu falešně pozitivních nálezů, vyplývajícího z povahy vzorků tkáně, byla provedena velmi přísná filtrace variant na základě řady kvalitativních indikátorů (viz **Příloha VI**). Tímto filtrováním došlo k výraznému přiblížení absolutních počtů a zastoupení typů variant k referenčnímu validačnímu souboru TCGA-COADREAD. Rovněž klesla záporná korelace mezi kvalitou vstupní DNA vzorku a nalezenými počty variant na vzorek. Po filtraci bylo zachováno v průměru  $207 \pm 72$  (medián 183) a  $208 \pm 53$  (medián 210) variant na vzorek primárního nádoru, resp. metastázy.

#### 4.3.1. Komplexní srovnání primárních nádorů a metastáz

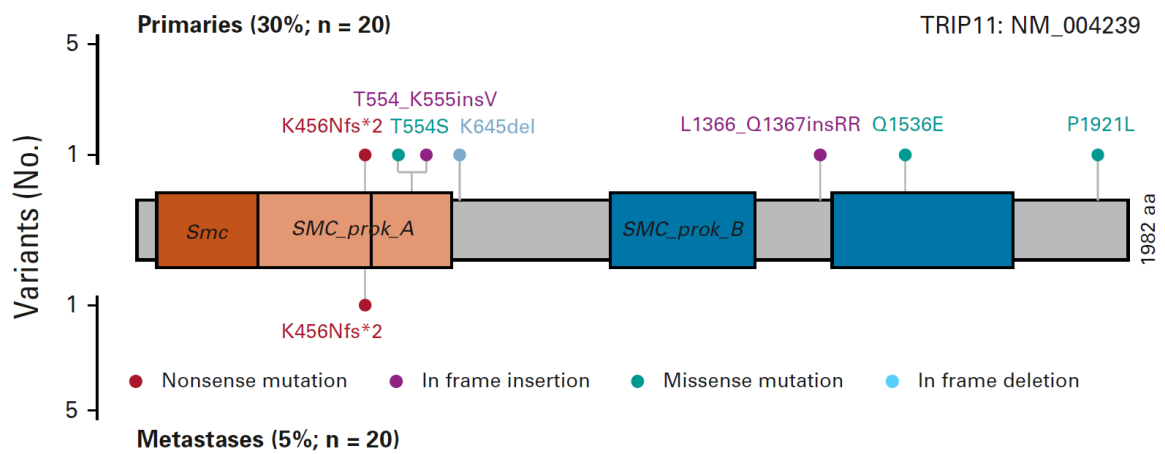
Žádný vzorek nesplňoval kritéria pro vysoké TMB (10 variant na Mb) nebo mikrosatelitovou nestabilitu (MSI-H). Nejčastěji mutovanými geny bez ohledu na typ vzorku byly geny *APC*, *TP53* a *TTN*. Porovnání počtů variant na vzorek a typů variant mezi primárními nádory a metastázami je na **Obrázku 35A** a **35B**, str. 82. Patrný je zde zvýšený celkový počet variant u metastáz a taktéž zvýšený počet nonstop mutací a mutací v počátečním místě translace (obojí závažné varianty) u primárních nádorů. Srovnání deseti nejmutovanějších genů mezi primárními nádory a metastázami je na **Obrázku 35C**, str. 82.



**Obrázek 35:** Srovnání počtů variant na vzorek mezi primárními nádory a metastázami. Vlevo – primární nádory, Vpravo – synchronní jaterní metastázy. (A) počet variant na vzorek. (B) celkový počet variant dle typu. (C) deset nejmutovanějších genů. Osa x – počet mutací v kohortě ( $n = 20$ ). Pro každý gen uvedeno procento mutovaných pacientů v kohortě

Po odfiltrování 20 genů, které jsou v nádorech často mutované, ale je u nich velmi nepravděpodobné, že by mohly mít klinický dopad (tzv. „frequently mutated genes in cancer“, FLAGS (Shyr et al. 2014)), zůstaly jako nejmutovanější *APC*, *TP53*, *TRIP11*, *MUC5AC*, *MUC3A*, a *FAM186A* v primárních nádorech a *APC*, *TP53*, *MUC5AC*, *FAT4* a *KRAS* v metastázách (Obrázek 35C). Zejména gen *TRIP11* (Obrázek 36, str. 83) vykazoval výrazně vyšší mutovanost u primárních nádorů (30 %) oproti metastázám (5 %), ačkoli

statisticky významný tento výsledek nebyl ( $p=0,091$ ), patrně kvůli příliš nízkému počtu pacientů ve studii.

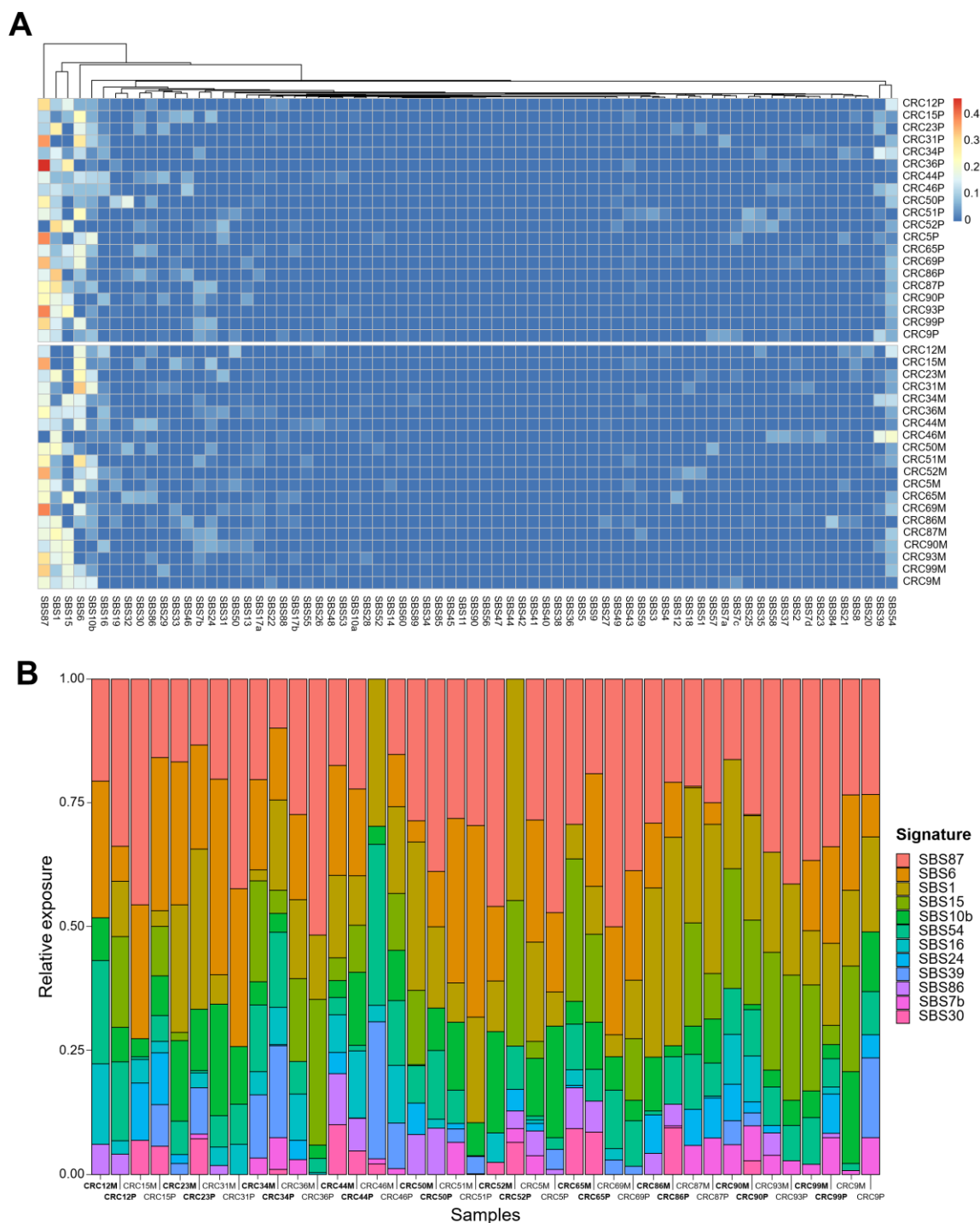


**Obrázek 36:** Topologie somatických mutací v genu *TRIP11* ve srovnání primárních nádorů (nahore) a jejich synchronních jaterních metastáz (dole).

Většina variant v genu *APC* byla vysoké závažnosti (nonsense nebo frameshift), ale nacházela se mimo funkční domény, zatímco varianty v *TP53* byly zdaleka nejčastěji typu missense a nacházely se v doménách genu. U genu *KRAS* bylo pozoruhodné, že dva pacienti měli mutaci typu G12V v metastázách, ta však chyběla v jejich primárních nádorech. U jednoho pacienta byly nalezeny varianty G12C a G13D v obou typech tkání (topologie těchto genů v **Příloze VI**).

Analýza rozdílů v mutovanosti drah ukázala nesignifikantně vyšší počet variant v dráhách RTK-RAS a Hippo, a nesignifikantně nižší počet v dráze WNT v metastázách oproti primárním nádorům. V primárních nádorech dále kosegregovaly varianty v *DNAH11* s variantami v *ZFC3H1* a varianty v *BAZB1* s těmi v *MUC17*. V metastázách to pak platilo pro varianty v genech *ADGRL3* a *NPIP11*.

Analýza mutačních podpisů byla provedena jako exploratorní, tj. bylo hledáno všech 72 podpisů evidovaných v databázi COSMIC (SBS podpisy v3.1, **Obrázek 37A**, str. 84). Relativní zastoupení dvanácti dominantních podpisů v obou typech tkání je uvedeno v **Obrázku 37B**, str. 84.

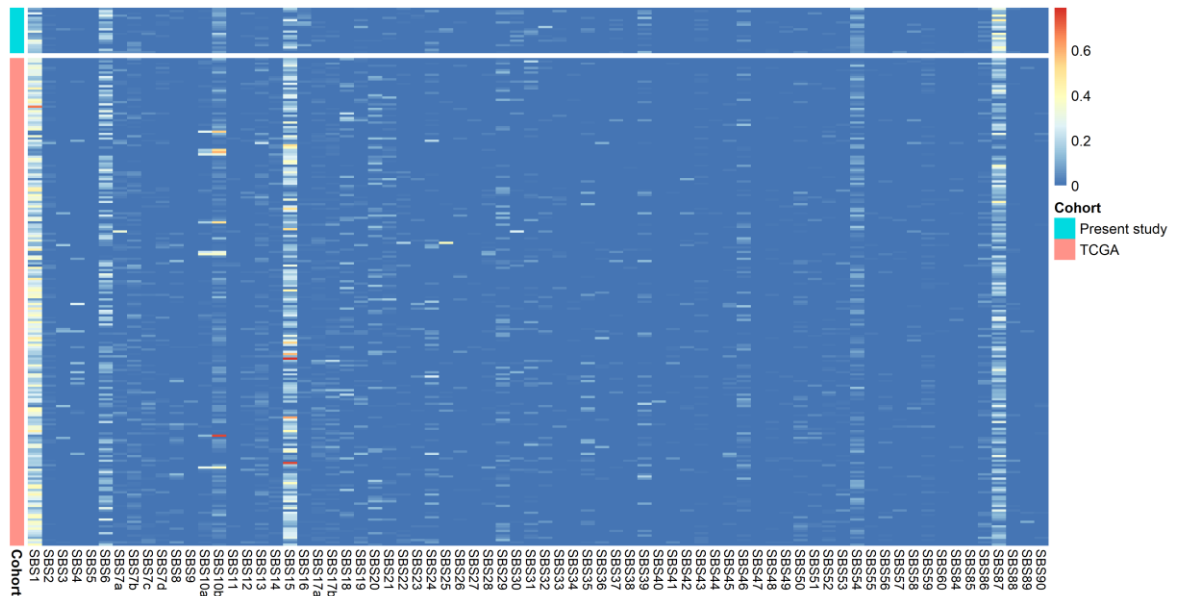


**Obrázek 37:** Spektrum mutačních podpisů ve vzorcích primárních nádorů a synchronních jaterních metastáz. (A) Osa x – 72 SBS podpisů COSMIC v3.1 (Tate et al. 2019). Osa y – názvy vzorků. (B) Relativní zastoupení 12 nejdominantnější podpisů v každém vzorku. Vzorky označené „P“ = primární nádor. Vzorky označené „M“ = příslušná metastáza.

V metastázách bylo zvýšené procento podpisu SBS17a a SBS28, a snížené procento SBS55, ale výsledky nebyly signifikantní po FDR korekci. Pro primární nádory i metastázy byla nalezena řada exkluzivních podpisů, ale žádný nebyl nalezen u více než tří pacientů.

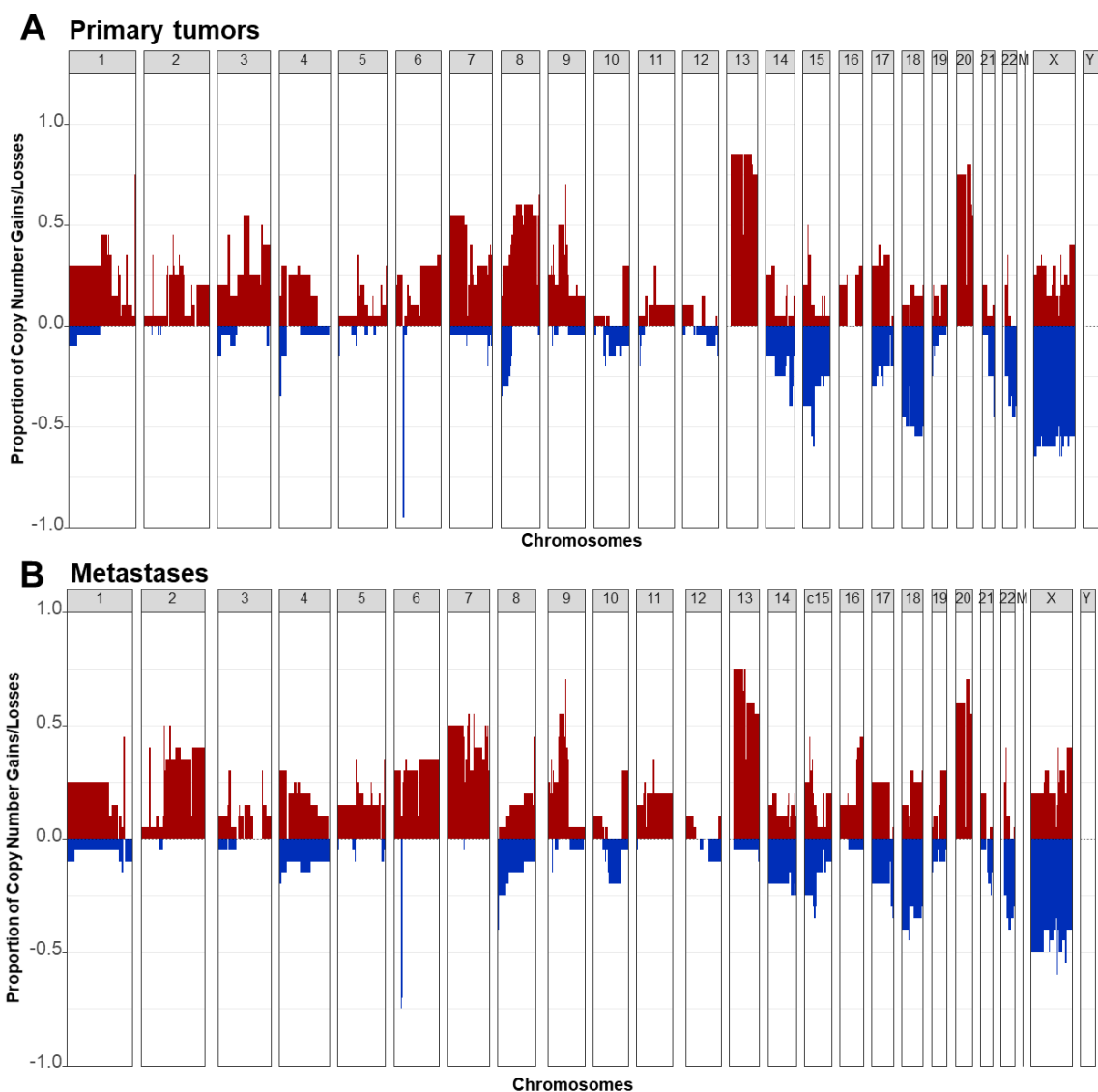


Silná korelace byla nalezena pro podpisy SBS1-7b a 17a-86 u primárních nádorů, a 7b-13, 7c-60, 17a-16 a 17b-86 u metastáz. Identickým postupem byla provedena validace v datech kohorty TCGA-COADREAD, která ukázala celkově vysokou podobnost spekter podpisů mezi kohortami (ilustrováno na **Obrázku 38**).



**Obrázek 38:** Orientační srovnání prevalence jednotlivých mutačních podpisů v naší kohortě a kohortě TCGA-COADREAD (n=377).

Analýza CNV ukázala větší rozdíly ve ztrátách kopií než v jejich ziscích (**Obrázek 39**, str. 86). Ztráty kopií genů byly v metastázách častější na chromozomech 1, 10 a 16 a méně časté na chromozomech 6, 7, 11, 12, 14, 17, 18 a 19. Naopak zisky kopií u metastáz byly častější na chromozomech 7, 10, 15 a 18, a méně časté na chromozomech 1, 8 a 12. Mezi primárními nádory a metastázami se výrazně nelišila ani frekvence CNV, ani jejich velikost.



**Obrázek 39:** Varianty v počtech kopií u primárních nádorů (A) a synchronních jaterních metastáz (B) napříč exomem.

Červeně – zisky kopií. Modře – ztráty kopií.

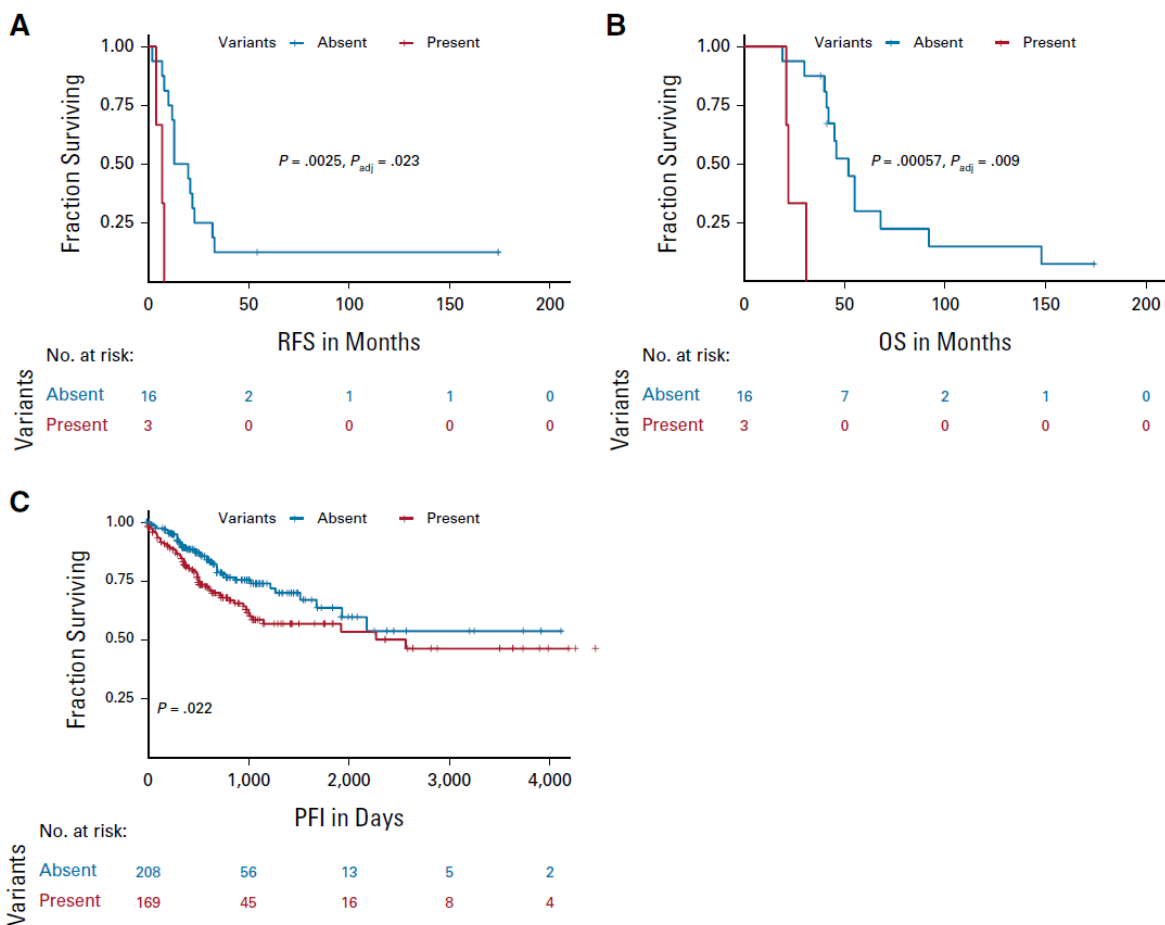
#### 4.3.2. Srovnání dle odpovědi na léčbu a délky přežívání pacientek

Druhotným cílem studie bylo porovnat genetické profily pacientů resistantních a senzitivních na předoperační systémovou léčbu. Srovnali jsme TMB, varianty v jednotlivých genech a dráhách (**Příloha VI**), aktivitu SBS mutačních podpisů, a parametry CNV, a to v primárních nádorech i metastázách. TMB špatně odpovídajících nádorů bylo nesignifikantně nižší v primárních nádorech (134 vs 154,  $P > 0.05$ ), ale rozdíl se zmenšil u metastáz (158 vs 161). Srovnání TMB primárních nádorů s validačním souborem TCGA-COADREAD ( $n=377$ ) ukázalo srovnatelnou úroveň TMB a nebyl pozorován rozdíl dle odpovědi na léčbu. Ve špatně odpovídajících nádorech byl nalezen zvýšený výskyt protein modifikujících

mutací v dráze TRAIL u primárních nádorů, a nižší výskyt mutací v genu *MUC3A*. Distribuce, velikost nebo počet CNV se nelišil mezi skupinami pacientů rozdělených dle odpovědi na léčbu.

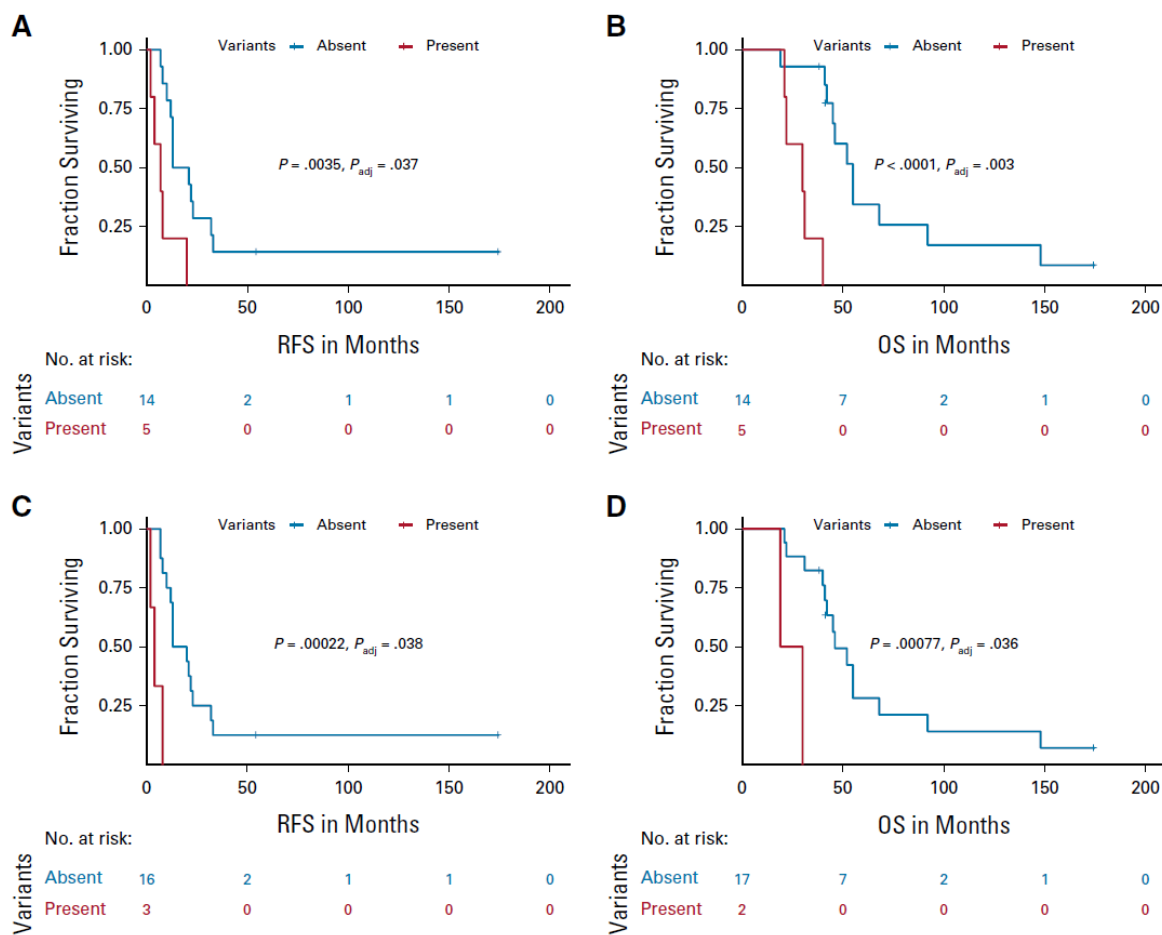
Všechny předchozí analýzy byly rovněž provedeny pro dělení pacientů dle odpovědi na paliativní léčbu po relapsu onemocnění, kde je ale třeba zdůraznit, že se jednalo o ještě nižší počty pacientů, takže klasické statistické srovnávání nebylo zpravidla smysluplné. Metastázy pacientů s dobrou léčebnou odpovědí nesly funkční mutace v genu *APC*, a byly pozorovány malé rozdíly u řady dalších genů (**Příloha VI**). U mutačních podpisů a CNV nalezeny významné rozdíly nebyly.

Nakonec byly srovnány délky přežívání (přežívání bez relapsu, RFS; OS) u skupin definovaných dle TMB, somatických variant a CNV v jednotlivých genech, řadě drah a mutačních podpisech v primárním nádoru. Ačkoli byla nalezena řada signifikantních rozdílů v přežívání, následná validace v souboru TCGA většinu z nich nepotvrdila (**Příloha VI**). Asociace mutací v genu *KRAS* v primárních nádorech s horším přežíváním (RFS – **Obrázek 40A**, str. 88., OS – **Obrázek 40B**, str. 88) byla v TCGA potvrzena, ale pouze pro PFI (angl. „progression-free interval“, délka intervalu bez progresu, **Obrázek 40C**, str. 88).



**Obrázek 40:** Přežívání pacientů na základě přítomnosti variant se střední nebo vysokou závažností v genu KRAS v primárním nádoru. (A) délka přežití bez relapsu (RFS). (B) celková délka přežití (OS). (C) délka přežití bez progresu (PFI) ve validační kohortě TCGA-COADREAD.

Obdobně byly posouzeny vzorky metastáz, u nichž ale nebyla možná validace v TCGA souboru v důsledku nedostupnosti nebo neúplnosti dat z metastatických vzorků. Nalezeny byly vztahy mutací v metastázách (ale ne v primárních nádorech) pro geny *MUC5AC* (kratší RFS i OS, **Obrázky 41A** a **41B**, str. 89), *DNAH11* (kratší OS, **Obrázek 41C**, str. 89) a *ATM* (kratší RFS, **Obrázek 41D**, str. 89). Podobný, i když výrazně slabší vztah mutací v *ATM* a RFS byl v naší kohortě nalezen i pro primární nádory ( $P=0,018$ ,  $P=0,138$  po FDR korekci), už ale ne pro primární nádory v kohortě TCGA pacientů.



**Obrázek 41:** Přežívání pacientů rozdělených na základě přítomnosti variant se střední nebo vysokou závažností v synchronních jaterních metastázách. (A) délka přežití bez relapsu (RFS), gen *MUC5AC*. (B) celková délka přežití (OS), gen *MUC5AC*. (C) RFS, gen *DNAH11*. (D) OS, gen *ATM*.

## 5. Diskuze

Jak je patrné z našich výsledků a z dostupné literatury, moderní metody genomické analýzy umožňují odhalit souvislosti s prognózou a predikcí účinnosti terapie a jeví se jako cenný nástroj terciární a kvartérní prevence nádorových onemocnění. Zejména zavedení rutinního klinického testování klíčových variant v kombinaci s expresními profily s jasným významem pro prognostiku a predikci léčebných výstupů by mohlo přinést zásadní zefektivnění terapie a minimalizaci nadměrné či zbytečné medikace v souladu s konceptem personalizované medicíny, přinášející významný sociálně-ekonomický benefit.

### 5.1. Role a interakce genů oxysterolové signalizace u karcinomu prsu

Ve dvou studiích byla ve vzorcích od pacientek s ER pozitivním lumenálním subtypem karcinomu prsu postupně prozkoumána zárodečná a somatická variabilita ve 113 genech oxysterolových drah, jejich exprese mRNA a jejich potenciální interakce s miRNA na celotranskriptomové úrovni. V první studii bylo dosaženo pro tyto geny bezprecedentně robustního a detailního sekvenování a zmapování genetické variability, v druhé studii pak rozšíření této informace propojením s daty z mRNA sekvenování a měření exprese miRNA na mikročipech. Výsledky byly analyzovány v kombinaci s klinickými daty s cílem odhalit role oxysterolových genů v karcinomu prsu, jejich interakce, a kandidátní biomarkery pro predikci a prognostiku, tj. pro terciární prevenci.

Výsledkem první studie (Holý et al. 2022) bylo 15 zárodečných variant, které různým způsobem asociovaly s přežíváním pacientek. Nutno ale podotknout, že žádný z těchto výsledků neobstál po korekci na mnohočetné testování. Konkrétní nalezené varianty nepatří mezi často citované v kontextu nádorových onemocnění (pro stručnou diskuzi literatury viz **Příloha II** – suplementární text) a vyskytují se z většiny v netranslatovaných oblastech (UTR, angl. „untranslated region“) a intronech, nebo jsou synonymní, takže jejich dopad na protein je přinejmenším nejasný. Validace by vyžadovala studie o velmi vysokém počtu pacientek, jelikož varianty nebyly v souboru hojně zastoupeny. Zároveň by taková studie vyžadovala buď spolehlivou komplementární metodu k našemu panelovému NGS, jako např. PCR genotyping nebo Sangerovo sekvenování, nebo použití obdobného přístupu jako v naší studii, přičemž obě možnosti by s sebou nesly nemalé náklady s malou šancí na úspěch. Vzhledem v těmto důvodům bylo od následné validace těchto variant upuštěno.

Pro somatické varianty se zaprvé potvrdil známý fakt, že oxysterolové geny nepatří mezi často mutované v nádorech. Druhým důvodem pro nízké počty nalezených variant byl záměrný výběr vzorků do studie tak (maximálně stádium II), aby výsledky nebyly zahlceny

příliš velkou mutační zátěží, kterou by s sebou přinesly vzorky nádorů v pokročilejším stádiu. V tomto případě tedy nebylo možné analyzovat asociace jednotlivých variant, jelikož ty byly zřídka sdílené více pacientkami zároveň. Dle očekávání počet nalezených mutací na gen zhruba odpovídal relativní délce jednotlivých genů. Analýza tedy byla provedena na základě mutovanosti jednotlivých genů nebo skupin genů, a to jak pro pouze kódující varianty, tak pro všechny typy variant. Nápadná přítomnost dvou hypermutovaných vzorků v kohortě (n=99), dosahujících několikanásobně vyšších počtů mutací než medián, ukázala na nutnost provádění analýz jak s těmito vzorky, tak bez nich. Vyšší mutační zátěž obecně korelovala s horším přežíváním pacientek, což by odpovídalo tomu, že pokročilejší nádory jsou zpravidla více mutované. Zajímavá byla skupina 20 genů námi označená jako „PR set“ (**Obrázek 17C**, str. 61), které byly výrazně mutovanější než zbytek panelu, a byl zde signifikantní rozdíl mezi PR pozitivními (méně mutací) a negativními (více mutací) pacientkami (**Obrázek 18**, str. 62). Tento rozdíl se zároveň odrážel i v délce přežívání, která byla kratší pro pacientky s mutacemi v PR setu (**Obrázky 17A a 17B**, str. 61) oproti nemutovaným, a to výrazněji než by odpovídalo celkovému trendu. V literatuře dosud tato skupina genů nebyla spojována se stavem PR nebo s přežíváním pacientek s karcinomem prsu. Další asociace s kratším přežíváním byly pozorovány pro mutace v *CYP46A1* a devíti funkčně souvisejících genech (STRING-CYP46A1). Tento gen kóduje enzym podílející se na syntéze mimo jiné 24-HC v neuronech, kde je téměř exkluzivně exprimován. Proto byl dosud spojován s nádory zejména v mozku (Han et al. 2020). V jedné studii produkce 24-HC *in vitro* potenciálně podporovala angiogenezi pankreatických neuroendokrinních nádorových buněk (Soncini et al. 2016). 27-HC je v buňkách nádorů prsu prokázaným stimulantem růstu skrze dva různé efekty na ER a LXR (Nelson et al. 2013). Strukturně podobný 24-HC by tedy teoreticky mohl mít podobný účinek. Již je známo, že 24-HC dokáže rovněž aktivovat LXR (Lehmann et al. 1997; Okabe et al. 2013; Jakobsson et al. 2012; Shafaati et al. 2011), a také, že se běžně nachází v relativně vysokých koncentracích v plazmě (van Reyk et al. 2006). Mutace několika dalších genů asociovaly s horším přežíváním, ale tyto výsledky byly založeny na nízkých počtech pozorování a na rozdíl od *CYP46A1* byly jen slabě signifikantní po FDR korekci (pro detaily viz **Příloha II**).

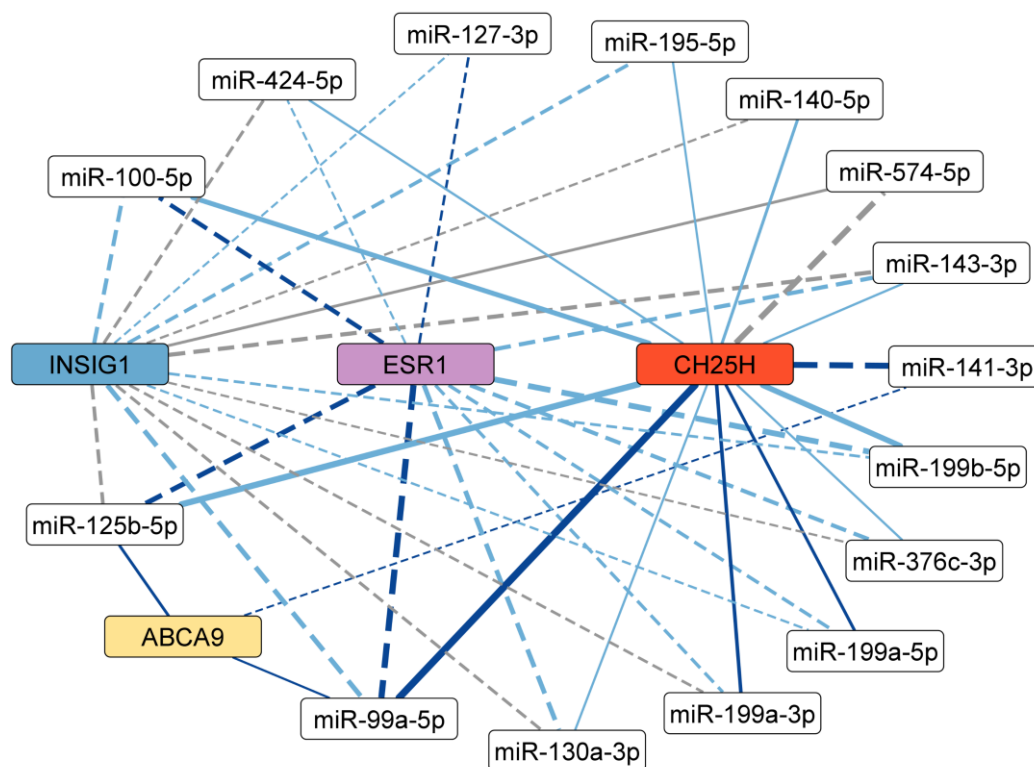
V následující studii (**Příloha III**) jsme se zaměřili na sledování exprese mutovaných a nemutovaných oxysterolových genů a propojili tuto informaci s expresí více než 2000 miRNA. V rámci studie byly provedeny i samostatné analýzy exprese mRNA a miRNA s klinickými daty. Pacientky s mutacemi v *CYP46A1* a STRING-CYP46A1 z předchozí studie, které měly signifikantně kratší délku přežití, byly zde zároveň těmi, které měly zároveň nejvíce diferenciatně mutovaných oxysterolových genů ze všech našich analýz. Konkrétně pro *EBP*, *PPARGC1B* a *DHCR7* bylo zvýšení exprese nejmarkantnější. V této studii jsme tedy lépe charakterizovali tuto špatně přežívající skupinu, ale můžeme jen spekulovat, jaké faktory stojí za její špatnou prognózou. *STARD5* byl dalším výrazně více

exprimovaným genem, a to u pacientek s postižením lymfatických uzlin oproti těm bez postižení. Jde o klíčový gen pro regulaci homeostázy cholesterolu, zejména v játrech (Rodriguez-Agudo et al. 2019). V jaterních nádorech pak byla jeho vysoká exprese asociována s lepší prognózou a nižším grade nádoru (Liu et al. 2022), což je zdánlivě opačný jev než v naší studii, i když pochopitelně tyto výsledky nejsou přímo srovnatelné. Bohužel více o tomto genu v onkologickém kontextu není známo, i když v blízké budoucnosti se možná stane častějším předmětem zájmu (Rodriguez-Agudo et al. 2019). Za vedlejší výsledek pak lze považovat nález asociace vysoké exprese miRNA miR-19b-3p s kratším přežíváním pacientek (DFS), která byla v jiných formách (OS a DSS) na hranici signifikance nalezena i ve validačních kohortách TCGA. Tato miRNA je součástí rodiny miR-19 a je exprimována v rámci dvou paralogních klastrů – miR-17-92 a miR-106b-25. Právě miR-17-92 je vysoce exprimován v mnoha typech nádorů (Zhao et al. 2022) a rodina miR-19 je onkogenním aktivátorem jeho exprese (Olive et al. 2009). V nádorech prsu pak byla exprese miR-19b-3p navržena jako prognostický biomarker (Li et al. 2018b), jedná se ale o jedinou takovou studii, přičemž neposkytuje specifické informace pro jednotlivé subtypy onemocnění.

Hlavním přínosem multiomické studie ale bylo zmapování mRNA-miRNA interakcí oxysterolových genů pomocí korelačních sítí (**Obrázek 21**, str. 66). Tento přístup nebyl do té doby v oblasti oxysterolů použit. Nejnápadnějšími geny v této síti byly *CH25H* (většinou pozitivní korelace s miRNA) a *ESR1* (většinou negativní korelace). Tyto geny byly vysoce signifikantně ( $p < 0,01$  po FDR korekci) propojeny skrz miR-100-5p, miR-125b-5p a miR-199b-5p a dále pak skrze miR-130a-3p, miR-143-3p, miR-199a-3p, miR-199a-5p, miR-376a-3p a miR-376c-3p. Tyto miRNA zároveň odpovídají nejsilněji koexprimované skupině miRNA (**Obrázek 20**, str. 64). Všechny tyto korelace byly zároveň nalezeny i ve validačních datech a řada z nich i v databázích. Důležitost ER $\alpha$  (gen *ESR1*) pro nádory prsu je nesporná (Brufsky a Dickler 2018) a s oxysteroly je spojován zejména díky 27-HC, který se může chovat jako SERM (Umetani et al. 2007). *CH25H* kóduje enzym 25-hydroxylázu, zodpovědnou za produkci důležitého signalizačního oxysterolu, 25-HC, z cholesterolu (Cao et al. 2020). Jedním z receptorů vázajících 25-HC je i ER $\alpha$ , jehož aktivace tímto oxysterolem podporuje růst prsních a ovariálních nádorových buněk *in vitro* (Lappano et al. 2011). Naše výsledky naznačují, že funkční vazba 25-hydroxylázy na ER $\alpha$  by mohla být zprostředkována nejen 25-HC, ale i epigeneticky skrze miRNA. Dalším genem silně negativně korelovaným s *CH25H* skrze některé z těchto miRNA byl *INSIG1*, důležitý regulátor cholesterolové homeostázy. I u něj byla dříve prokázána modulace vazbou 25-HC (Ouyang et al. 2020). Posledním genem, který je třeba zmínit, je *ABCA9*, membránový transportér lipidů, jehož exprese byla negativně korelována s *ESR1* a *INSIG1* skrze miR-99a-5p a miR-125b-5p. MiR-99a-5b, miR-125b-5p a miR-100-5p jsou součástí dvou známých klastrů – miR-100/let-7a/miR-125b-1 a miR-99a/let-7c/miR-125b-2, jehož nízká exprese byla asociována



s kratším OS u pacientek s lumenálním A subtypem nádoru (Søkilde et al. 2019). Tento výsledek jsme se pokusili validovat i v naší subkohortě (26 pacientek) a pozorovali jsme náznaky této asociace s OS i DFS, které ale vzhledem k nízkému počtu pozorování nenabývaly statistické signifikance. MiR-99a-5p, miR-100-5p, miR-125b-5p, miR-130a-3p a miR-376c-3p byly dříve navrženy jako biomarkery karcinomu prsu v krvi (Wang et al. 2023; Huo et al. 2016). Osa interakcí *CH25H-ESR1-INSIG1*, popř. i *ABCA9*, skrze všechny zmíněné miRNA (**Obrázek 42**), se ukázala jako velmi zajímavý výsledek, zasluhující další výzkum.



**Obrázek 42:** Interakční síť genů INSIG1, ESR1, CH25H a ABCA9.

*Přerušovaná čára – negativní korelace. Plná čára – pozitivní korelace. Tmavě modrá čára – validováno v obou TCGA kohortách. Světle modrá čára – validováno v jedné kohortě TCGA. Šedá čára – nevalidováno ani v jedné kohortě TCGA.*

Největší limitací obou studií byly zaprvé nízké počty pacientek v jednotlivých analýzách podskupin, což bylo ještě prohloubeno nedokonalým překryvem kohort ve druhé studii (67 pro mRNA, 123 pro miRNA, 56 pro mRNA-miRNA, atd., **Obrázek 19**, str. 63). Na druhou stranu korelační vztahy, které byly hlavním cílem druhé studie, byly ve velkém procentu úspěšně validovány ve větších souborech pacientek a/nebo v databázích. Další limitace vychází ze samostatné podstaty analýzy. Na základě korelací nelze potvrdit nebo vyvrátit funkční vztah, ale pouze poskytnout hypotézy a vodítka pro další studie, tentokrát experimentální a specificky zaměřené na jednotlivé vztahy. Třetí limitací je pak charakteristika pacientek vybraných do studií, kdy se jednalo exkluzivně o české pacientky

s ER pozitivním luminálním karcinomem prsu v nízkém stádiu; šlo tedy o vysoce homogenní skupinu jak klinicky, tak etnicky. Výsledky proto nelze zobecňovat na jinou populaci (kromě těch validovaných na jiných souborech). Na druhou stranu vysoká homogenita souboru snižuje šanci tzv. „confounderů“, tj. vedlejších faktorů zkreslujících nalezené závislosti nebo způsobujících falešně pozitivní výsledky.

## 5.2. Studie celoexomových mutačních profilů a vybraných genů u pacientek s karcinomy ovarií s rozdílnou odpovědí na léčbu platinovými deriváty

Epiteliální OVC je chorobou se špatnou prognózou a navzdory pokrokům v molekulární klasifikaci stále chybí spolehlivé biomarkery pro prognostiku a predikci odpovědi na léčbu. V naší studii (Hlaváč et al. 2022, **Příloha IV**) jsme měli za cíl porovnat mutační profily pacientek rezistentních a senzitivních na léčbu platinovými deriváty, a to komplexním způsobem na celoexomové úrovni, a zároveň poskytnout tato data vědecké veřejnosti jako odrazový můstek pro další výzkum. Kromě dělení dle odpovědi na léčbu byly analyzovány i role histologického subtypu a dalších klinických parametrů, včetně délky přežívání pacientek.

Rezistentní pacientky měly významně vyšší počet mutací v genu *TP53* než pacientky senzitivní (**Obrázek 27**, str. 73, a **Obrázek 28**, str. 74). Tento jev byl patrný i při srovnání celé dráhy p53 (**Obrázek 29**, str. 74), ale to téměř zcela kvůli samotnému *TP53*, který v mutovanosti jasně dominoval v celé dráze. Pacientky s mutací měly riziko rezistence (OR) pro rezistenci téměř osmkrát vyšší než nemutované a rezistentní pacientky měly zároveň častěji varianty s vysokou závažností (frameshift, nonsense). P53 (gen *TP53*) je asi nejznámější tumor supresor, zodpovědný za detekci poškození DNA a zastavení buněčného cyklu v přechodu G1-S. Pokud nemůže být DNA opravena, p53 se podílí na spuštění apoptózy. Zárodečné mutace v *TP53* vedou k syndromu Li-Fraumeniho a somatické mutace stimulují karcinogenezi (Thomas et al. 2022). Mutovanost *TP53* v našem souboru odpovídala validační kohortě TCGA-OV i dostupné literatuře (Ahmed et al. 2010; Patch et al. 2015). Jisté důkazy existují i pro schopnost mutační zátěže v *TP53* predikovat chemorezistenci (Brachova et al. 2015). Inhibice dráhy P53 v epiteliálních ovariálních nádorech může vést k zvýšení účinnosti karboplatiny (Leijen et al. 2016) a tato dráha je v současnosti předmětem výzkumu nových cílených terapeutik (Zhang et al. 2022, s. 53).

Dráha Hippo byla výrazně méně často mutovaná u rezistentních pacientek. V buňkách se podílí na proliferaci, apoptóze a obnově kmenových buněk. Její kinázová část má tumor supresivní účinky, zatímco její transkripční část stimuluje růst nádorů (Cunningham a Hansen 2022). Dalším diferenciálně mutovaným genem byl *PABPC3*, jehož

varianty zároveň kosegregovaly s těmi v *PABPC1*. Oba geny jsou obecně důležité v regulaci translace vazbou na poly(A) konce transkriptů (Xiang a Bartel 2021). *PABPC3* patří mezi vysoce mutované geny v maligních ovariálních buňkách (Chen et al. 2021) a *PABPC1* je potenciálním biomarkerem malignity epiteliálního OVC (Feng et al. 2021) a je evidován v databázi COSMIC jako oncodriver druhého stupně (Sondka et al. 2018). Dle našich výsledků mutace v těchto genech mohou asociovat s horší odpovědí na léčbu.

*TTN*, *MUC5B* a další FLAGS geny (Shyr et al. 2014) byly v důsledku své délky a časté mutovanosti navrženy jako indikátory celkového TMB (Jia et al. 2019; Oh et al. 2020), který je prediktorem odpovědi na inhibitory imunitních checkpointů (Rizvi et al. 2018). V naší studii byly mutace v *TP53* významně kosegregovány s těmi v *TTN* a *MUC5B*, ale jen u platina-senzitivních pacientek. Dále se potvrdila z literatury známá závislost prognózy na mutační zátěži (Chalmers et al. 2017), kdy pacientky s nadmediánovým počtem somatických variant nebo CNV měly signifikantně delší dobu OS, ačkoli epiteliální ovariální nádory obecně nepatří mezi nádory s častým výskytem vysokého TMB (Yang et al. 2018). Z našich dat proto můžeme usuzovat, že i v nádorech, které nesplňují typické parametry pro TMB (nejčastěji >20 nebo >10 mutací na Mb, definice mohou být různé), může mutační zátěž hrát prognostickou roli.

Sekundární analýzy subtypů ukázaly, že pacientky se subtypem HGSC měly celkově výrazně vyšší mutační zátěž a vyšší počet mutací v *TP53*. Zároveň pacientky s mutací v dráze *TP53* měly téměř 10krát vyšší šanci na subtyp HGSC než všechny ostatní subtypy dohromady. To je v souladu se současným povědomím o inaktivaci p53 typické pro HGSC (Harbin et al. 2022). Pacientky s HGSC ale měly zároveň méně mutací v *PABPC1*, *ZNF717*, *RBMX*, *SLC9B1* a *TFAM*, přičemž s výjimkou *PABPC1* v podstatě neexistuje literatura popisující jejich roli v ovariálních nádorech.

Studie rovněž potvrdila prognostickou a prediktivní roli profilování genů HRR. Šestnáct genů HRR, které byly navrženy jako potenciální biomarkery vhodné do klinického testování (Norquist et al. 2018), byly i v naší studii prediktory odpovědi na léčbu platinovými deriváty a rovněž delšího OS (str. 77 – **Tabulka 7, Obrázek 32**). V tomto případě jsme do analýz zahrnuli jak somatické, tak zárodečné varianty, což není v obdobných studiích běžné (Norquist et al. 2018; de Witte et al. 2022). Zdaleka nejvíce zárodečných mutací se vyskytovalo v genech *BRCA1* a *BRCA2*, zatímco varianty v ostatních genech byly výrazně méně četné nebo neexistující, což naznačuje, že panely HRR genů možná vyžadují přehodnocení před uvedením do praxe.

Největší limitací studie je nízký počet pacientek v některých analýzách, obzvláště ve srovnávání malých podskupin. To vychází z přísného výběru pacientek do studie a také velké finanční nákladnosti metody. Náklady navíc vzrostly z toho důvodu, že na rozdíl od většiny obdobných projektů jsme zvolili poměrně vysokou hloubku pokrytí, která nám ale poskytuje větší detailnost a robustnost výsledků, rozšiřuje možnosti v bioinformatické

analýze, a odlišuje tento projekt od veřejně dostupných dat získaných z velkého počtu pacientů, ale s nízkým pokrytím. Také jsme použili pouze vysoce kvalitní vzorky zamražené tkáně výhradně před zahájením léčby a před rekurencí, čímž studie také převyšuje běžný standard. Zvolené exomové sekvenování bohužel nedovoluje analýzu velkých strukturních variant a velkých CNV, ani nekódujících variant (drtivé většiny), na něž se v poslední době upíná stále více pozornosti (Ewing et al. 2021; Aganezov et al. 2020; Dietlein et al. 2022).

Ekonomičtějším přístupem než celoexomové, popř. celogenomové sekvenování je zaměřené sekvenování genových panelů, vybraných na základě výsledků rozsáhlejších studií. To navíc umožňuje výrazně vyšší sekvenační pokrytí a tedy vyšší citlivost a spolehlivost, zásadní pro klinické využití. Na druhou stranu neumožňuje spolehlivé stanovení CNV a strukturních variant, ani mutačních podpisů (až na výjimky (Batalini et al. 2022)), jejichž klinická relevance postupně roste. Pro detekci klinicky důležitých krátkých variant je ale panelové sekvenování velmi vhodné (Cheng et al. 2015).

Pro další studii jsme zvolili panel 144 genů, které by na základě našich předchozích výsledků a dostupné literatury mohly mít relevanci pro odpověď pacientek s OVC na terapii platinovými deriváty. Tyto geny jsme osekvenovali s vysokým pokrytím u 48 pacientek rozdělených dle odpovědi na platinové deriváty. V této práci byly uvedeny pouze předběžné výsledky pro somatické varianty. Analýzy zárodečných variant a propojení s klinickými daty v době odevzdání disertační práce nebyly dokončeny a nejsou proto v této práci popsány.

Data somatických mutací pro celý soubor byla porovnána s výsledky z předchozí studie, přičemž šest pacientek bylo shodných, což umožnilo přímé srovnání detekovaných variant u těchto pacientek. První výsledky demonstrují vyšší citlivost panelového sekvenování oproti celoexomovému, která umožnila zachytit více závažných somatických variant, konkrétně varianty v *TP53* ovlivňující sestřih mRNA. Tyto varianty jsou potenciálně vysoce relevantní pro pacienta, ale při rozsáhlém sekvenování by pravděpodobně nebyly detekovány. Data pro HGSC pacientky byla porovnána se souborem konsorcia GENIE (n=1209), pocházejícím z klinického panelového sekvenování na desítkách pracovišť. Relativní počet sestřihových variant v *TP53* v naší studii byl vyšší i oproti tomuto souboru. To mohlo být způsobeno náhodně zvýšeným výskytem těchto variant v naší poměrně malé kohortě (několik pacientek navíc oproti očekávání) nebo rozdílným pokrytím intronových úseků vzdálených 2 bp od hranic exonů, v nichž se tyto varianty z definice nacházejí. Celková četnost závažných nebo středně závažných variant *TP53* ale byla u panelů téměř identická, a mírně vyšší než u celoexomových profilů (**Obrázky 34A a 34B**, str. 80). Zcela uspokojivé porovnání s daty z databáze TCGA, vycházející z dat celoexomového a celogenomového sekvenování, bohužel nebylo možné, jelikož TCGA neobsahuje jednoznačné informace o subtypech OVC, které jsou rozhodujícím faktorem pro frekvenci mutací v řadě genů, včetně *TP53* (není možná spolehlivá redukce na HGSC subtyp). V kohortě TCGA-OV redukované pouze na serózní cystadenokarcinomy (n=397),

a tedy obsahující kromě HGSC i obecně méně mutované subtypy, je četnost středně a vysoce závažných variant v *TP53* 90% a podíl patientek s variantou v sestřihovém místě je 9,3 % (Grossman et al. 2016), tedy vyšší než v kohortách studie celoexomového sekvenování a GENIE. To demonstruje rozdílnost výsledků při použití různých sekvenačních metod, bioinformatických postupů, nádorových vzorků a populací patientek.

### 5.3. Srovnání celoexomových mutačních profilů kolorektálních karcinomů a jejich synchronních jaterních metastáz

V následující studii (Hlaváč et al. 2023, **Příloha VI**) jsme se zaměřili na srovnání párových vzorků primárních kolorektálních nádorů a jejich synchronních jaterních metastáz (dále jen „metastázy“) na celoexomové úrovni, ve spojení s informacemi o odpovědi pacientů na léčbu a délkou přežívání. Na rozdíl od primárních nádorů jsou metastázy málo prozkoumanými tkáněmi, ačkoli jejich chování je významným faktorem pro prognózu a terapii a jejich genomická charakterizace by mohla přinést nové biomarkery.

Ačkoli nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v celkové mutační zátěži mezi primárními nádory a metastázami, byly pozorovány drobné rozdíly v počtech a v typech variant v jednotlivých genech nebo onkogenních drahách (**Obrázek 35**, str. 82), které ale nemohly nabýt statistické signifikance vzhledem k omezenému počtu pacientů ve studii (n=20). Další rozdíly byly nalezeny u primárních nádorů špatně odpovídajících pacientů, které obsahovaly významně vyšší počet mutací *TP53* s vysokou závažností než primární nádory dobře odpovídajících. To by mohlo znamenat, že tyto varianty jsou jednou z příčin rezistence a mohla by na ně být zaměřena cílená léčba (Zhang et al. 2022). Dále byla v primárních nádorech v naší skupině, stejně jako ve validačních datech získaných z projektů TCGA-COAD a TCGA-READ (Ellrott et al. 2018), potvrzena špatná prognóza (kratší DFS i OS) pacientů s mutovaným genem *KRAS* (**Obrázek 40**, str. 88). Potvrdili jsme tak výsledek jiné studie na 13101 pacientech (Ugai et al. 2023). Mutovanost *KRAS* v primárních nádorech v naší kohortě (15 %) byla menší než v jiné studii (40 %) (Serebriiskii et al. 2019), což je pravděpodobně způsobeno tím, že pacienti s mutací v *KRAS* mají obecně agresivnější nádor, horší prognózu a nižší pravděpodobnost resekce jaterních metastáz (Modest et al. 2016), což bylo klíčové kritérium pro zahrnutí do naší studie. Vyšší podíl *KRAS*-mutovaných pacientů byl ale v metastázách (25 %), což by mohlo znamenat horší efektivitu anti-EGFR léčby a léčby tyrosin kinázovými inhibitory u těch pacientů, kteří nebyli mutovaní v primárním nádoru, a ukazuje to na potenciální klinický přínos sekvenování metastáz. Jeden z pacientů měl mutaci *KRAS*-G12C v obou typech vzorků, a mohl by tak být kandidátem pro personalizovanou cílenou terapii (Schirripa et al. 2020). Největší rozdíl v mutovanosti mezi primárními nádory a metastázami byl v genu *TRIP11* (**Obrázek 36**, str. 83), o kterém

v kontextu onkologie není mnoho známo, ale *in silico* analýza protein-proteinových interakcí nástrojem STRING (Szklarczyk et al. 2021) ukázala řadu vazeb na rodinu proteinů RAS, které jsou klíčové pro onkogenezi, prognózu i terapii CRC i jiných nádorů (Gimple a Wang 2019). *TRIP11* by mohl, po důkladné validaci v dalších, především funkčních studiích, být novým kandidátním biomarkerem metastázování CRC.

U metastáz byly mutace v některých genech, např. *MUC5AC* a *DNAH11*, signifikantně asociovány s kratším přežíváním pacientů, a v případě genu *ATM* to platilo pro oba typy vzorků (**Obrázek 41**, str. 89). Bohužel nebyla možná validace těchto výsledků ve veřejně dostupných datech (databáze SRA nebo předchozí publikace) z důvodů uvedených dále.

Analýza variant s potenciálem pro cílenou léčbu u rezistentních pacientů ukázala, že pacienti se špatnou odpovědí na neoadjuvantní systémovou terapii měli celou řadu takových variant, např. v genech *KRAS* nebo *TP53*, v primárních nádorech. Jejich počet ale výrazně klesal u metastáz, což naznačuje, že zatímco indikace cílené léčby by mohla být smysluplná pro primární nádor, stejná léčba by pravděpodobně nebyla účinná u metastáz. Toto zjištění opět podtrhává smysl sekvenování metastáz pro klinickou praxi, ne jen samotných primárních nádorů.

V této studii byl největší limitací nízký počet pacientů, vyplývající z obtížnosti získání kvalitně zdokumentovaných párových vzorků primárních nádorů a synchronních metastáz. Specificky byly do studie vybírány pouze synchronní metastázy, a metastázy metachronní nebyly zahrnuty, ze dvou důvodů. Za prvé, interval mezi odběrem vzorku primárního nádoru a metachronní metastázy je vysoce variabilní, na rozdíl od intervalu mezi odběrem primárního nádoru a synchronní metastázy, což by pochopitelně mohlo ovlivnit četnost mutací. Za druhé synchronní a metachronní metastázy se liší v prognóze i terapeutickém přístupu (Colloca et al. 2020). Metachronní metastázy znamenají lepší prognózu možná z toho důvodu, že jsou častěji diagnostikovány v pacientech s předchozím karcinomem v levé části tlustého střeva (Yamashita et al. 2018). Delší čas do progresu po adjuvantní terapii znamená, že opět roste heterogenita souboru z hlediska mutací. Adjuvantní terapie také ovlivňuje chování metachronních metastáz selekcí rezistentních klonů, a to opět heterogenně vzhledem k různým terapeutickým režimům. Synchronní a metachronní metastázy by proto měly být studovány odděleně, a studie by je měly jasně odlišovat, což se děje zcela výjimečně. To zároveň souvisí s druhou limitací, a tou je nemožnost validace v již dostupných datech vzhledem k tomu, že srovnatelná data jednoduše nejsou k dispozici. Je proto třeba nových studií na těchto vzácných vzorcích, s kvalitní charakterizací pacientů, včetně odlišení synchronních a metachronních metastáz. Poslední limitace opět vychází z charakteru vzorků, a to ta, že získat vysoce kvalitní čerstvě zmražené párové vzorky je prakticky neproveditelné, a jediná dostupná tkáň je uchována ve formě parafinových řezů (FFPE). To s sebou přináší komplikace jak při přípravě knihoven

k sekvenování, tak v bioinformatické analýze a interpretaci. DNA ze vzorků z FFPE má oproti DNA z čerstvě zmražené tkáně vždy výrazně nižší kvalitu, tj. je vysoce fragmentovaná, obsahuje tzv. cross-linky způsobené fixací ve formalínu (množství roste s dobou uchovávání), a také řadu chyb, zejména více přechodů C>T v důsledku deaminace cytosinu (Arreaza et al. 2016; McDonough et al. 2019; Williams et al. 1999; Mariani et al. 2018). Počet nalezených variant může být až několikanásobný oproti použití vysoce kvalitní DNA. V bioinformatickém zpracování je potřeba tento aspekt zohlednit a data přísně filtrovat (vysoká alelická frekvence, nízká frekvence v populačních databázích variant jako gnomAD (Karczewski et al. 2020), a mnoho dalších) za účelem snížení počtu falešně pozitivních nálezů. To s sebou ale samozřejmě přináší výrazné snížení věrohodnosti výsledků a také zvýšení šance na odfiltrování skutečných pozitivních výsledků. Jedním z mála prostředků, jak zvýšit kvalitu dat získaných z FFPE vzorků, je proto použití velmi vysokého pokrytí, což jsme provedli v naší studii. Exomový přístup také neumožnil studium větších variant, podobně jako bylo diskutováno v kapitole 5.2.

## 6. Závěr

Celkovým cílem této práce bylo přispět s použitím genomických metod, v čele s NGS, k poznatkům v oblastech vývoje biomarkerů pro predikci a prognostiku třech typů nádorů – karcinomu prsu, ovarií a kolorekta. Ačkoli u těchto typů nádorů v posledních dekádách došlo ke zlepšení efektivity a dostupnosti léčby, právě díky pokrokům v molekulární charakterizaci nádorů, stále zbývá dlouhá cesta k personalizované medicíně v plném smyslu slova, tj. terapii „šité na míru“ pacientovi.

### Cíle č. 1 a č. 2 – Studie karcinomu prsu

V oblasti karcinomu prsu byla předmětem zájmu málo probádaná oblast oxysterolů a jejich vlivu, v našem případě spíše vlivu genů interagujících s oxysteroly, na luminální karcinom prsu a jeho prognózu. Byla odhalena asociace somatických mutací v genu *CYP46A1*, zodpovědného za produkci 24-HC, a ve skupině genů s ním funkčně souvisejících, s horší prognózou pacientek. Obdobná asociace byla sledována pro mutace ve skupině dvaceti genů, které zároveň asociovaly s expresí progesteronového receptoru.

V navazující multiomické studii byla data rozšířena o data exprese těchto genů a exprese miRNA na celotranskriptomové úrovni, přičemž byla na základě korelací vytvořena interakční síť mRNA-miRNA, poprvé mapující potenciálně funkční vazby v oxysterolové signalizaci v karcinomu prsu. Jako nejzajímavější se jeví interakce v ose *ESR1-CH25H-INSIG1-ABCA9*, propojené skrze miRNA miR-125b-5p, miR-99a-5p, miR-100-5p, miR-143-3p, miR-199b-5p, miR-376a-3p a miR-376c-3p. Tyto výsledky poskytnou základ pro navazující funkční studie v této oblasti. Mutace v genu *CYP46A1* byly kromě horšího přežívání asociovány rovněž s deregulací řady genů oxysterolové signalizace. Rovněž byly zmapovány samostatné vazby mRNA nebo miRNA na klinické parametry, např. byla potvrzena již známá asociace vysoké hladiny miR-19b-3p s kratším přežíváním.

### Cíl č.3 – Studie karcinomu ovarií

Pro karcinom ovarií navzdory pokrokům v molekulární klasifikaci stále chybí biomarkery poměrně časté rezistence na široce používané deriváty platiny, která se bohužel překrývá s rezistencí na cílenou léčbu, např. PARPi. Provedli jsme proto komplexní srovnání celoexomových mutačních profilů mezi pacientkami senzitivními a rezistentními. Senzitivní pacientky měly signifikantně vyšší mutační zátěž v genu *TP53* a zároveň nižší v několika genech dráhy Hippo. Mutovanost v genech dráhy opravy DNA homologní rekombinací umožnila predikovat senzitivitu na léčbu, přičemž predikce byla výrazně zpřesněna, pokud byly započítány i mutace zárodečné. Dále byly ve studii zmapovány drobné rozdíly v celkové mutační zátěži, v mutačních podpisech a v mutovanosti genů *PACBPC1*, *PABPC3* a *TFAM*, mezi pacientkami dělenými dle rezistence, subtypu, nebo délky přežívání.



V navazující, zatím nedokončené studii pak byly pozorovány zajímavé rozdíly v detekci závažných somatických variant v místech sestřihu *TP53* pomocí panelového sekvenování oproti sekvenování celoexomovému. Za zcela zásadní zjištění lze považovat doporučení již od začátku sledovat mutovanost genů dráhy homologní rekombinace nejen v nádorové tkáni, ale rovněž ve vzorcích krve pacientek. Podle našich dat kombinací zárodečné a somatické informace dochází k podstatnému zvýšení informativnosti molekulárních analýz s přímým důsledkem pro prognózu a udržovací léčbu pacientek.

#### Cíl č. 4 – Studie karcinomu kolorekta a jeho metastáz

Většina pozornosti se ve výzkumu karcinomu kolorekta upíná na primární nádory. Pro letalitu onemocnění jsou ale zásadní metastázy, jejichž genomická charakterizace je nedostatečná. Srovnali jsme proto celoexomové mutační profily poměrně vzácného souboru párů primárních CRC a jejich synchronních jaterních metastáz. Byla potvrzena známá asociace mutací v genu *KRAS* v primárních nádorech s kratší dobou do relapsu onemocnění. U metastáz byly negativními prognostickými faktory mutace v genech *ATM*, *DNAH11* a *MUC5AC* a vyšší výskyt mutačního podpisu SBS24. Nízký počet pacientů ve studii a výjimečnost vzorků, nedovolující validaci ve veřejně dostupných datech, ale znamenají, že výsledky bude třeba ověřit v budoucích rozsáhlejších studiích. Žádný zkoumaný faktor neasocioval s rezistencí pacientů na chemoterapii. Naše cílené analýzy na homogenním a klinicky jasně definovaném souboru ale jasně ukazují na význam molekulární informace nejen z primárního onemocnění, ale i pokud možno ze všech rekurentních lézí, které jsou bezpečně dostupné pro možnou diagnostiku. Opět se ukazuje, že individualizace molekulárního testování přináší významnou přidanou hodnotu a umožňuje tak i skutečně individualizovanou terapii, kdy by každé linii onkologické léčby, podle našeho názoru, měla předcházet molekulární klasifikace onemocnění.

## Seznam publikací autora

### Publikace podkládající disertační práci

#### Publikace č. 1

**HOLY, P.**, A. KLOUDOVA a P. SOUCEK, 2018. Importance of genetic background of oxysterol signaling in cancer. *Biochimie*. 153, 109–138. ISSN 1638-6183. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2018.04.023 [IF<sub>2018</sub> = 3,362 (Q2), IF<sub>2021</sub> = 4,372 (Q2)]

*Podíl autora: Převážná většina řešerše. Napsání původního manuskriptu, úpravy a revize.*

#### Publikace č. 2

**HOLÝ, Petr**, Viktor HLAVÁČ, Pavel OSTAŠOV, Veronika BRYNYCHOVÁ, Renata KOŽEVNIKOVOVÁ, Markéta TRNKOVÁ, Kateřina KOPEČKOVÁ, Soňa MĚŠŤÁKOVÁ, Marcela MRHALOVÁ a Pavel SOUČEK, 2022. Germline and somatic genetic variability of oxysterol-related genes in breast cancer patients with early disease of the luminal subtype. *Biochimie*. 199, 158–169. ISSN 0300-9084.

Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2022.04.015 [IF<sub>2021</sub> = 4,372 (Q2)]

*Podíl autora: Laboratorní zpracování vzorků. Veškerá příprava knihoven, sekvenace, bioinformatická a datová analýza. Interpretace výsledků, vizualizace, napsání původního manuskriptu, úpravy a revize. Administrace projektu.*

#### Publikace č. 3

HLAVÁČ, Viktor, **Petr HOLÝ**, Radka VÁCLAVÍKOVÁ, Lukáš ROB, Martin HRUDA, Marcela MRHALOVÁ, Petr ČERNAJ, Jiří BOUDA a Pavel SOUČEK, 2022. Whole-exome sequencing of epithelial ovarian carcinomas differing in resistance to platinum therapy. *Life Science Alliance* [online]. 5(12). ISSN 2575-1077.

Dostupné z: doi:10.26508/lsa.202201551. [IF<sub>2021</sub> = 5,781 (Q1)]

*Podíl autora: Bioinformatická a datová analýza. Interpretace výsledků, vizualizace, napsání části původního manuskriptu, úpravy a revize.*

#### Publikace č. 4

HLAVÁČ, Viktor, Lenka ČERVENKOVÁ, Simona ŠŮSOVÁ, **Petr HOLÝ**, Václav LIŠKA, Ondřej VYČÍTAL, Ondřej ŠOREJS, Ondřej FIALA, Ondřej DAUM a Pavel SOUČEK, 2023. Exome Sequencing of Paired Colorectal Carcinomas and Synchronous Liver Metastases for Prognosis and Therapy Prediction. JCO Precision Oncology [online]. (7), e2200557. Dostupné z: doi:10.1200/PO.22.00557.

[IF<sub>2021</sub> = 5,479 (Q2)]

*Podíl autora: Bioinformatická a datová analýza. Interpretace výsledků, vizualizace, napsání části původního manuskriptu, úpravy a revize.*

#### Publikace č. 5

KLOUDOVA-SPALENKOVA, Alzbeta, **Petr HOLY** a Pavel SOUCEK, 2021. Oxysterols in cancer management: From therapy to biomarkers. British Journal of Pharmacology [online]. 178(16), 3235–3247. ISSN 1476-5381. Dostupné z: doi:10.1111/bph.15273.

[IF<sub>2021</sub> = 9,473 (D1)]. *Podíl autora: Rešerše, vizualizace. Napsání části původního manuskriptu, úpravy a revize.*

### **Dosud nepublikované práce podkládající disertační práci**

#### Publikace č. 6

**HOLÝ, Petr**, Veronika BRYNYCHOVÁ, Karolína ŠEBOROVÁ, Vojtěch HANIČINEC, Renata KOŽEVNIKOVOVÁ, Markéta TRNKOVÁ, David VRÁNA, Jiří GATĚK, Kateřina KOPEČKOVÁ, Marcela MRHALOVÁ a Pavel SOUČEK, 2023. Integrative analysis of mRNA-miRNA expression profiles and somatic variants in oxysterol signaling in early-stage luminal breast cancer. [v recenzním řízení, je podkladem disertační práce, **Příloha III**]

*Podíl autora: Zpracování vzorků a příprava knihoven. Veškerá bioinformatická a datová analýza. Interpretace výsledků, vizualizace, napsání původního manuskriptu, úpravy a revize. Administrace projektu.*

#### Publikace č. 7

**HOLÝ, Petr**, Viktor HLAVÁČ, Karolína ŠEBOROVÁ, Simona ŠŮSOVÁ, Lukáš ROB, Martin HRUDA, Jiří BOUDA, Alena BARTÁKOVÁ, Marcela MRHALOVÁ, Mohammad Moufaq Khatar Al Obeed ALLAH, Jiří ŠPAČEK, Iva SEDLÁKOVÁ, Pavel SOUČEK a Radka VÁCLAVÍKOVÁ, 2023. Germline and somatic variants in targeted DNA sequencing panel reveal new candidate genes involved in platinum resistance of ovarian carcinoma. [dosud nedokončená studie, vybrané výsledky jsou součástí disertační práce]

*Podíl autora: Bioinformatická a datová analýza. Interpretace výsledků, vizualizace, napsání původního manuskriptu, úpravy a revize.*

#### **Publikace související s tématem, které nejsou podkladem disertační práce**

#### Publikace č. 8

HLAVÁČ, Viktor, **Petr HOLÝ** a Pavel SOUČEK, 2020. Pharmacogenomics to Predict Tumor Therapy Response: A Focus on ATP-Binding Cassette Transporters and Cytochromes P450. *Journal of Personalized Medicine* [online]. 10(3), 108.

Dostupné z: doi:10.3390/jpm10030108. [IF<sub>2020</sub> = 4,945 (Q1)].

#### Publikace č. 9

SEBOROVA, Karolina, Alzbeta KLOUDOVA-SPALENKOVA, Kamila KOUCKA, **Petr HOLY**, Marie EHRLICHOVA, Changwei WANG, Iwao OJIMA, Iveta VOLESKA, Petr DANIEL, Kamila BALUSIKOVA, Michael JELINEK, Jan KOVAR, Lukas ROB, Martin HRUDA, Marcela MRHALOVA, Pavel SOUCEK a Radka VACLAVIKOVA, 2022. The Role of TRIP6, ABCC3 and CPS1 Expression in Resistance of Ovarian Cancer to Taxanes. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 23(1), 73.

Dostupné z: doi:10.3390/ijms23010073. [IF<sub>2021</sub> = 6,208 (Q1)].

#### Publikace č. 10

SEBOROVA, Karolina, Viktor HLAVAC, **Petr HOLY**, Sunniva S. BJØRKLUND, Thomas FLEISCHER, Lukas ROB, Martin HRUDA, Jiri BOUDA, Marcela MRHALOVA, Mohammad Moufaq Khatar Al Obeed ALLAH, Pavel VODICKA, Ondrej FIALA, Pavel SOUCEK, Vessela N. KRISTENSEN, Ludmila VODICKOVA a Radka VACLAVIKOVA, 2022. Complex molecular profile of DNA repair genes in epithelial ovarian carcinoma patients with different sensitivity to platinum-based therapy. *Frontiers in Oncology* [online]. 12. ISSN 2234-943X. Dostupné z: doi:10.3389/fonc.2022.1016958. [IF<sub>2021</sub> = 5,738 (Q2)].

Publikace č. 11

SEBOROVA, Karolina, Kamila KOUCKA, Alzbeta SPALENKOVA, **Petr HOLY**, Marie EHRLICHOVA, Tomas SYCHRA, Lei CHEN, Hersh BENDALE, Iwao OJIMA, Cristian SANDOVAL-ACUÑA, Jaroslav TRUKSA, Pavel SOUCEK a Radka VACLAVIKOVA, 2022. Anticancer regimens containing third generation taxanes SB-T-121605 and SB-T-121606 are highly effective in resistant ovarian carcinoma model. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 13. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2022.971905. [IF<sub>2021</sub> = 5,988 (Q1)].

Publikace č. 12

HORAK, Josef, Dominika VALLUSOVA, Andrea CUMOVA, **Petr HOLY**, Pavel VODICKA a Alena OPATTOVA, 2023. Inhibition of homologous recombination repair by Mirin in ovarian cancer ameliorates carboplatin therapy response in vitro. [v recenzním řízení]

## Seznam použité literatury

- AACR PROJECT GENIE CONSORTIUM, 2017. AACR Project GENIE: Powering Precision Medicine through an International Consortium. *Cancer Discovery* [online]. **7**(8), 818–831. ISSN 2159-8290. Dostupné z: doi:10.1158/2159-8290.CD-17-0151
- ABILDGAARD, Cecilie, Luisa M. DO CANTO, Karina D. STEFFENSEN a Silvia R. ROGATTO, 2019. Long Non-coding RNAs Involved in Resistance to Chemotherapy in Ovarian Cancer. *Frontiers in Oncology* [online]. **9**, 1549. ISSN 2234-943X. Dostupné z: doi:10.3389/fonc.2019.01549
- AGANEZOV, Sergey, Sara GOODWIN, Rachel M. SHERMAN, Fritz J. SEDLAZECK, Gayatri ARUN, Sonam BHATIA, Isac LEE, Melanie KIRSCH, Robert WAPPEL, Melissa KRAMER, Karen KOSTROFF, David L. SPECTOR, Winston TIMP, W. Richard MCCOMBIE a Michael C. SCHATZ, 2020. Comprehensive analysis of structural variants in breast cancer genomes using single-molecule sequencing. *Genome Research* [online]. **30**(9), 1258–1273. ISSN 1549-5469. Dostupné z: doi:10.1101/gr.260497.119
- AHMED, Ahmed Ashour, Dariush ETEMADMOGHADAM, Jillian TEMPLE, Andy G LYNCH, Mohamed RIAD, Raghwa SHARMA, Colin STEWART, Sian FEREDAY, Carlos CALDAS, Anna DEFAZIO, David BOWTELL a James D BRENTON, 2010. Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary. *The Journal of Pathology* [online]. **221**(1), 49–56 [vid. 2023-04-04]. ISSN 1096-9896. Dostupné z: doi:10.1002/path.2696
- ALEXANDROV, Ludmil B., Jaegil KIM, Nicholas J. HARADHVALA, Mi Ni HUANG, Alvin Wei TIAN NG, Yang WU, Arnoud BOOT, Kyle R. COVINGTON, Dmitry A. GORDENIN, Erik N. BERGSTROM, S. M. Ashiqul ISLAM, Nuria LOPEZ-BIGAS, Leszek J. KLIMCZAK, John R. MCPHERSON, Sandro MORGANELLA, Radhakrishnan SABARINATHAN, David A. WHEELER, Ville MUSTONEN, Gad GETZ, Steven G. ROZEN a Michael R. STRATTON, 2020. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature* [online]. **578**(7793), 94–101 [vid. 2023-01-23]. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/s41586-020-1943-3
- ALLURI, P. G., C. SPEERS a A. M. CHINNAIYAN, 2014. Estrogen receptor mutations and their role in breast cancer progression. *Breast Cancer Res* [online]. **16**(6), 494. ISSN 1465-542X. Dostupné z: doi:10.1186/s13058-014-0494-7
- ANALÝZA MASARYKOVY UNIVERZITY, IBA LF, 2021. Analýza výkonnosti screeningu kolorektálního karcinomu v ČR: prosinec 2021. *Kolorektum.cz* [online] [vid. 2022-10-31]. Dostupné z: <https://www.kolorektum.cz/news-detail/cs/301-analyza-vykonnosti-screeningu-kolorektalního-karcinomu-v-cr-prosinec-2021/>
- ANKATHIL, R., 2017. ABCB1 genetic variants in leukemias: current insights into treatment outcomes. *Pharmgenomics Pers Med* [online]. **10**, 169–181. ISSN 1178-7066. Dostupné z: doi:10.2147/PGPM.S105208
- ARNOLD, Melina, Eileen MORGAN, Harriet RUMGAY, Allini MAFRA, Deependra SINGH, Mathieu LAVERSANNE, Jerome VIGNAT, Julie R. GRALOW, Fatima CARDOSO, Sabine SIESLING a Isabelle SOERJOMATARAM, 2022. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *The Breast: Official Journal of the European Society of Mastology* [online]. **66**, 15–23 [vid. 2022-10-03]. ISSN 0960-9776. Dostupné z: doi:10.1016/j.breast.2022.08.010
- ARREAZA, Gladys, Ping QIU, Ling PANG, Andrew ALBRIGHT, Lewis Z. HONG, Matthew J. MARTON a Diane LEVITAN, 2016. Pre-Analytical Considerations for Successful Next-Generation Sequencing (NGS): Challenges and Opportunities for Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Tumor Tissue (FFPE) Samples. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **17**(9), 1579 [vid. 2023-04-05]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms17091579
- ATALLAH, Ghofraan Abdulsalam, Nirmala Chandraleka KAMPAN, Kah Teik CHEW, Norfilza MOHD MOKHTAR, Reena Rahayu MD ZIN, Mohamad Nasir Bin SHAFIEE a Nor Haslinda Binti ABD AZIZ, 2023. Predicting Prognosis and Platinum Resistance in Ovarian Cancer: Role of Immunohistochemistry Biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **24**(3), 1973. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms24031973
- AYE, I. L., B. J. WADDELL, P. J. MARK a J. A. KEELAN, 2010. Placental ABCA1 and ABCG1 transporters efflux cholesterol and protect trophoblasts from oxysterol induced toxicity. *Biochim Biophys Acta* [online]. **1801**(9), 1013–24. ISSN 0006-3002. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbali.2010.05.015

- BAH, S. Y., P. DICKINSON, T. FORSTER, B. KAMPMANN a P. GHAZAL, 2017. Immune oxysterols: Role in mycobacterial infection and inflammation. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* [online]. **169**, 152–163. ISSN 0960-0760. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsbmb.2016.04.015
- BARNETT, Gillian C., Deborah THOMPSON, Laura FACHAL, Sarah KERNS, Chris TALBOT, Rebecca M. ELLIOTT, Leila DORLING, Charlotte E. COLES, David P. DEARNALEY, Barry S. ROSENSTEIN, Ana VEGA, Paul SYMONDS, John YARNOLD, Caroline BAYNES, Kyriaki MICHAILIDOU, Joe DENNIS, Jonathan P. TYRER, Jennifer S. WILKINSON, Antonio GÓMEZ-CAAMAÑO, George A. TANTELES, Radka PLATTE, Rebecca MAYES, Don CONROY, Mel MARANIAN, Craig LUCCARINI, Sarah L. GULLIFORD, Matthew R. SYDES, Emma HALL, Joanne HAVILAND, Vivek MISRA, Jennifer TITLEY, Søren M. BENTZEN, Paul D. P. PHAROAH, Neil G. BURNET, Alison M. DUNNING a Catharine M. L. WEST, 2014. A genome wide association study (GWAS) providing evidence of an association between common genetic variants and late radiotherapy toxicity. *Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* [online]. **111**(2), 178–185. ISSN 1879-0887. Dostupné z: doi:10.1016/j.radonc.2014.02.012
- BARRERO, Maria J., Paloma CEJAS, Henry W. LONG a Ana RAMIREZ DE MOLINA, 2022. Nutritional Epigenetics in Cancer. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)* [online]. **13**(5), 1748–1761. ISSN 2156-5376. Dostupné z: doi:10.1093/advances/nmac039
- BATALINI, Felipe, Doga C. GULHAN, Victor MAO, Antuan TRAN, Madeline POLAK, Niya XIONG, Nabihah TAYOB, Nadine M. TUNG, Eric P. WINER, Erica L. MAYER, Stian KNAPPSKOG, Per E. LØNNING, Ursula A. MATULONIS, Panagiotis A. KONSTANTINOPOULOS, David B. SOLIT, Helen WON, Hans P. EIKESDAL, Peter J. PARK a Gerburg M. WULF, 2022. Mutational Signature 3 Detected from Clinical Panel Sequencing is Associated with Responses to Olaparib in Breast and Ovarian Cancers. *Clinical Cancer Research* [online]. **28**(21), 4714–4723 [vid. 2023-04-18]. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-22-0749
- BENJAMINI, Yoav a Yosef HOCHBERG, 1995. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)* [online]. **57**(1), 289–300 [vid. 2021-10-20]. ISSN 2517-6161. Dostupné z: doi:10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x
- BENNA, Clara, Charlotte HELFRICH-FÖRSTER, Senthilkumar RAJENDRAN, Halenya MONTICELLI, Pierluigi PILATI, Donato NITTI a Simone MOCELLIN, 2017. Genetic variation of clock genes and cancer risk: a field synopsis and meta-analysis. *Oncotarget* [online]. **8**(14), 23978–23995. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.15074
- BERGER, Michael F. a Elaine R. MARDIS, 2018. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nature Reviews. Clinical Oncology* [online]. **15**(6), 353–365. ISSN 1759-4782. Dostupné z: doi:10.1038/s41571-018-0002-6
- BISCHOFF, Pierre L., Vincent HOLL, David COELHO, Patrick DUFOUR, Bang LUU a Denis WELTIN, 2000. Apoptosis at the Interface of Immunosuppressive and Anticancer Activities: The Examples of Two Classes of Chemical Inducers, Oxysterols and Alkylating Agents. *Current Medicinal Chemistry* [online]. **7**(7), 693–713 [vid. 2022-09-21]. Dostupné z: doi:10.2174/0929867003374769
- BLACKBURN, Elizabeth H., 2010. Highlighting the Science of Cancer Prevention. *Cancer Prevention Research* [online]. **3**(4), 393 [vid. 2023-04-17]. ISSN 1940-6207. Dostupné z: doi:10.1158/1940-6207.CAPR-10-0034
- BODIN, K., L. BRETILLON, Y. ADEN, L. BERTILSSON, U. BROOMÉ, C. EINARSSON a U. DICZFALUSY, 2001. Antiepileptic drugs increase plasma levels of 4beta-hydroxycholesterol in humans: evidence for involvement of cytochrome p450 3A4. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. **276**(42), 38685–38689. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M105127200
- BODIN, Karl, Ulla ANDERSSON, Eva RYSTEDT, Ewa ELLIS, Maria NORLIN, Irina PIKULEVA, Gösta EGGERTSEN, Ingemar BJÖRKHEM a Ulf DICZFALUSY, 2002. Metabolism of 4 beta -hydroxycholesterol in humans. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. **277**(35), 31534–31540. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M201712200
- BOLGER, Anthony M., Marc LOHSE a Bjoern USADEL, 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* [online]. **30**(15), 2114–2120 [vid. 2021-01-11]. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/btu170

- BOUVARD, Véronique, Dana LOOMIS, Kathryn Z. GUYTON, Yann GROSSE, Fatiha El GHISSASSI, Lamia BENBRAHIM-TALLAA, Neela GUHA, Heidi MATTOCK a Kurt STRAIF, 2015. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncology* [online]. **16**(16), 1599–1600 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1470-2045, 1474-5488. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(15)00444-1
- BOVENGA, Fabiola, Carlo SABBÀ a Antonio MOSCHETTA, 2015. Uncoupling nuclear receptor LXR and cholesterol metabolism in cancer. *Cell Metabolism* [online]. **21**(4), 517–526. ISSN 1932-7420. Dostupné z: doi:10.1016/j.cmet.2015.03.002
- BOZZUTO, Laura M., 2022. Breast cancer risk reduction: who, why, and what? *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* [online]. **83**, Breast Cancer Screening, Breastfeeding & Benign Breast Disease, 36–45 [vid. 2022-10-03]. ISSN 1521-6934. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpobgyn.2021.11.012
- BRACHOVA, Pavla, Samuel R. MUETING, Matthew J. CARLSON, Michael J. GOODHEART, Anna M. BUTTON, Sarah L. MOTT, Donghai DAI, Kristina W. THIEL, Eric J. DEVOR a Kimberly K. LESLIE, 2015. TP53 oncomorphic mutations predict resistance to platinum- and taxane-based standard chemotherapy in patients diagnosed with advanced serous ovarian carcinoma. *International Journal of Oncology* [online]. **46**(2), 607–618 [vid. 2023-04-04]. ISSN 1019-6439. Dostupné z: doi:10.3892/ijo.2014.2747
- BRAY, Freddie, Mathieu LAVERSANNE, Elisabete WEIDERPASS a Isabelle SOERJOMATARAM, 2021. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer* [online]. **127**(16), 3029–3030. ISSN 1097-0142. Dostupné z: doi:10.1002/cncr.33587
- BRAY, Nicolas L., Harold PIMENTEL, Páll MELSTED a Lior PACHTER, 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology* [online]. **34**(5), 525–527 [vid. 2022-03-22]. ISSN 1546-1696. Dostupné z: doi:10.1038/nbt.3519
- BRAZMA, Alvis, Catherine BALL, Roger BUMGARNER, Cesare FURLANELLO, Michael MILLER, John QUACKENBUSH, Michael REICH, Gabriella RUSTICI, Chris STOECKERT, Stephen Chervitz TRUTANE a Ronald C TAYLOR, 2012. MINSEQE: Minimum Information about a high-throughput Nucleotide SeQuencing Experiment - a proposal for standards in functional genomic data reporting [online]. [vid. 2022-03-25]. Dostupné z: doi:10.5281/zenodo.5706412
- BRAZMA, Alvis, Pascal HINGAMP, John QUACKENBUSH, Gavin SHERLOCK, Paul SPELLMAN, Chris STOECKERT, John AACH, Wilhelm ANSORGE, Catherine A. BALL, Helen C. CAUSTON, Terry GAASTERLAND, Patrick GLENISSON, Frank C. P. HOLSTEGE, Irene F. KIM, Victor MARKOWITZ, John C. MATESE, Helen PARKINSON, Alan ROBINSON, Ugis SARKANS, Steffen SCHULZE-KREMER, Jason STEWART, Ronald TAYLOR, Jaak VILO a Martin VINGRON, 2001. Minimum information about a microarray experiment (MIAME)—toward standards for microarray data. *Nature Genetics* [online]. **29**(4), 365–371 [vid. 2022-03-25]. ISSN 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng1201-365
- BROWN, A. J. a W. JESSUP, 2009. Oxysterols: Sources, cellular storage and metabolism, and new insights into their roles in cholesterol homeostasis. *Molecular Aspects of Medicine* [online]. **30**(3), 111–122. ISSN 0098-2997. Dostupné z: doi:10.1016/j.mam.2009.02.005
- BROWN, A. J., E. L. MANDER, I. C. GELISSEN, L. KRITHARIDES, R. T. DEAN a W. JESSUP, 2000. Cholesterol and oxysterol metabolism and subcellular distribution in macrophage foam cells. Accumulation of oxidized esters in lysosomes. *Journal of Lipid Research*. **41**(2), 226–237. ISSN 0022-2275.
- BRUFISKY, Adam M. a Maura N. DICKLER, 2018. Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: Exploiting Signaling Pathways Implicated in Endocrine Resistance. *The Oncologist* [online]. **23**(5), 528–539 [vid. 2023-02-21]. ISSN 1083-7159. Dostupné z: doi:10.1634/theoncologist.2017-0423
- BRUHN, O. a I. CASCORBI, 2014. Polymorphisms of the drug transporters ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC3 and their impact on drug bioavailability and clinical relevance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* [online]. **10**(10), 1337–54. Dostupné z: doi:10.1517/17425255.2014.952630
- BRYNYCHOVA, V., M. EHRlichOVA, V. HLAVAC, V. NEMCOVA-FURSTOVA, V. PECHA, J. LEVA, M. TRNKOVA, M. MRHALOVA, R. KODET, D. VRANA, J. KOVAR, R. VACLAVIKOVA, I. GUT a P. SOUCEK, 2016. Genetic and functional analyses do not explain the association of high PRC1 expression with poor survival of breast carcinoma patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. **83**, 857–864. ISSN 0753-3322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2016.07.047



BUHAESCU, Irina a Hassane IZZEDINE, 2007. Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. *Clinical Biochemistry* [online]. **40**(9–10), 575–584. ISSN 0009-9120. Dostupné z: doi:10.1016/j.clinbiochem.2007.03.016

BULL, Caroline J., Carolina BONILLA, Jeff M. P. HOLLY, Claire M. PERKS, Neil DAVIES, Philip HAYCOCK, Oriana Hoi Yun YU, J. Brent RICHARDS, Rosalind EELES, Doug EASTON, Zsofia KOTEJARAI, Ali AMIN AL OLAMA, Sara BENLLOCH, Kenneth MUIR, Graham G. GILES, Robert J. MACINNIS, Fredrik WIKLUND, Henrik GRONBERG, Christopher A. HAIMAN, Johanna SCHLEUTKER, Børge G. NORDESTGAARD, Ruth C. TRAVIS, David NEAL, Nora PASHAYAN, Kay-Tee KHAW, Janet L. STANFORD, William J. BLOT, Stephen THIBODEAU, Christiane MAIER, Adam S. KIBEL, Cezary CYBULSKI, Lisa CANNON-ALBRIGHT, Hermann BRENNER, Jong PARK, Radka KANEVA, Jyotsna BATRA, Manuel R. TEIXEIRA, Agnieszka MICHEAL, Hardev PANDHA, George Davey SMITH, Sarah J. LEWIS, Richard M. MARTIN a The PRACTICAL CONSORTIUM, 2016. Blood lipids and prostate cancer: a Mendelian randomization analysis. *Cancer Medicine* [online]. **5**(6), 1125–1136 [vid. 2023-04-03]. ISSN 2045-7634. Dostupné z: doi:10.1002/cam4.695

BURSTEIN, S., B. S. MIDDLEDITCH a M. GUT, 1975. Mass spectrometric study of the enzymatic conversion of cholesterol to (22R)-22-hydroxycholesterol, (20R,22R)-20,22-dihydroxycholesterol, and pregnenolone, and of (22R)-22-hydroxycholesterol to the lgycol and pregnenolone in bovine adrenocortical preparations. Mode of oxygen incorporation. *J Biol Chem* [online]. **250**(23), 9028–37. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1238395>

CABASAG, Citadel J., Paula J. FAGAN, Jacques FERLAY, Jerome VIGNAT, Mathieu LAVERSANNE, Lihua LIU, Maaike A. VAN DER AA, Freddie BRAY a Isabelle SOERJOMATARAM, 2022. Ovarian cancer today and tomorrow: A global assessment by world region and Human Development Index using GLOBOCAN 2020. *International Journal of Cancer* [online]. **151**(9), 1535–1541 [vid. 2022-10-03]. ISSN 1097-0215. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.34002

CALI, J. J., C. L. HSIEH, U. FRANCKE a D. W. RUSSELL, 1991. Mutations in the bile acid biosynthetic enzyme sterol 27-hydroxylase underlie cerebrotendinous xanthomatosis. *J Biol Chem* [online]. **266**(12), 7779–83. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9258(20)89518-0

CALI, J. J. a D. W. RUSSELL, 1991. Characterization of human sterol 27-hydroxylase. A mitochondrial cytochrome P-450 that catalyzes multiple oxidation reaction in bile acid biosynthesis. *J Biol Chem* [online]. **266**(12), 7774–8. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9258(20)89517-9

CAMPOS, Fábio Guilherme, 2017. Colorectal cancer in young adults: A difficult challenge. *World Journal of Gastroenterology* [online]. **23**(28), 5041–5044 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v23.i28.5041

CAO, Qin, Zhongzhong LIU, Yan XIONG, Zibiao ZHONG a Qifa YE, 2020. Multiple Roles of 25-Hydroxycholesterol in Lipid Metabolism, Antivirus Process, Inflammatory Response, and Cell Survival. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2020**, 8893305 [vid. 2023-02-21]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2020/8893305

CAO, Yin, Kana WU, Raaj MEHTA, David A. DREW, Mingyang SONG, Paul LOCHHEAD, Long H. NGUYEN, Jacques IZARD, Charles S. FUCHS, Wendy S. GARRETT, Curtis HUTTENHOWER, Shuji OGINO, Edward L. GIOVANNUCCI a Andrew T. CHAN, 2018. Long-term use of antibiotics and risk of colorectal adenoma. *Gut* [online]. **67**(4), 672–678 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0017-5749, 1468-3288. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2016-313413

CARVALHO, João F. S., M. Manuel Cruz SILVA, João N. MOREIRA, Sérgio SIMÕES a M. Luisa SÁ E MELO, 2010. Sterols as Anticancer Agents: Synthesis of Ring-B Oxygenated Steroids, Cytotoxic Profile, and Comprehensive SAR Analysis. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. **53**(21), 7632–7638 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm1007769

CARVALHO, João F. S., M. Manuel Cruz SILVA, João N. MOREIRA, Sérgio SIMÕES a M. Luisa SÁ E MELO, 2011. Selective Cytotoxicity of Oxysterols through Structural Modulation on Rings A and B. Synthesis, in Vitro Evaluation, and SAR. *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. **54**(18), 6375–6393 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/jm200803d

CINGOLANI, Pablo, Adrian PLATTS, Le Lily WANG, Melissa COON, Tung NGUYEN, Luan WANG, Susan J. LAND, Xiangyi LU a Douglas M. RUDEN, 2012. A program for annotating and predicting the effects

of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly* [online]. **6**(2), 80–92. ISSN 1933-6942. Dostupné z: doi:10.4161/fly.19695

COLLABORATIVE GROUP ON EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF OVARIAN CANCER, 2015. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. *The Lancet* [online]. **385**(9980), 1835–1842 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(14)61687-1

COLLATUZZO, Giulia a Paolo BOFFETTA, 2023. Cancers Attributable to Modifiable Risk Factors: A Road Map for Prevention. *Annual Review of Public Health* [online]. **44**, 279–300. ISSN 1545-2093. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-publhealth-052220-124030

COLLOCA, G. A., A. VENTURINO a D. GUARNERI, 2020. Different variables predict the outcome of patients with synchronous versus metachronous metastases of colorectal cancer. *Clinical & Translational Oncology: Official Publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico* [online]. **22**(8), 1399–1406. ISSN 1699-3055. Dostupné z: doi:10.1007/s12094-019-02277-7

CORCORAN, Ryan B. a Matthew P. SCOTT, 2006. Oxysterols stimulate Sonic hedgehog signal transduction and proliferation of medulloblastoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **103**(22), 8408–8413. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0602852103

COSTET, P., Y. LUO, N. WANG a A. R. TALL, 2000. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem* [online]. **275**(36), 28240–5. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M003337200

COTTERCHIO, M., E. LOWCOCK, Z. BIDER-CANFIELD, M. LEMIRE, C. GREENWOOD, S. GALLINGER a T. HUDSON, 2015. Association between Variants in Atopy-Related Immunologic Candidate Genes and Pancreatic Cancer Risk. *PLoS One* [online]. **10**(5), e0125273. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0125273

CUNNINGHAM, Richard a Carsten Gram HANSEN, 2022. The Hippo pathway in cancer: YAP/TAZ and TEAD as therapeutic targets in cancer. *Clinical Science* [online]. **136**(3), 197–222 [vid. 2023-04-04]. ISSN 0143-5221. Dostupné z: doi:10.1042/CS20201474

CYRIAC KANDOTH, JIANJIONG GAO, QWANGMSK, MICHELE MATTIONI, ADAM STRUCK, YANNICK BOURSIN, ALEX PENSON a SHWETA CHAVAN, 2018. *mskcc/vcf2maf: vcf2maf v1.6.16* [online]. 27. únor 2018. B.m.: Zenodo. [vid. 2021-01-11]. Dostupné z: doi:10.5281/zenodo.1185418

DAGGUBATI, Vikas, David R. RALEIGH a Navdar SEVER, 2022. Sterol regulation of developmental and oncogenic Hedgehog signaling. *Biochemical Pharmacology* [online]. **196**, 114647. ISSN 1873-2968. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2021.114647

DALENC, Florence, Luigi IULIANO, Thomas FILLERON, Chiara ZERBINATI, Maud VOISIN, Cécile ARELLANO, Etienne CHATELUT, Pierre MARQUET, Mohammad SAMADI, Henri ROCHÉ, Marc POIROT a Sandrine SILVENTE-POIROT, 2017. Circulating oxysterol metabolites as potential new surrogate markers in patients with hormone receptor-positive breast cancer: Results of the OXYTAM study. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* [online]. **169**, Oxysterols: Players in Different Metabolic Leagues, 210–218 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0960-0760. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsbmb.2016.06.010

DANECEK, Petr, Adam AUTON, Goncalo ABECASIS, Cornelis A. ALBERS, Eric BANKS, Mark A. DEPRISTO, Robert E. HANDSAKER, Gerton LUNTER, Gabor T. MARTH, Stephen T. SHERRY, Gilean MCVEAN, Richard DURBIN a 1000 Genomes Project Analysis GROUP, 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* [online]. **27**(15), 2156–2158 [vid. 2021-01-11]. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/btr330

DANECEK, Petr, James K. BONFIELD, Jennifer LIDDLE, John MARSHALL, Valeriu OHAN, Martin O. POLLARD, Andrew WHITWHAM, Thomas KEANE, Shane A. MCCARTHY, Robert M. DAVIES a Heng LI, 2021. Twelve years of SAMtools and BCFTools. *GigaScience* [online]. **10**(2), giab008. ISSN 2047-217X. Dostupné z: doi:10.1093/gigascience/giab008

DANEŠ, Jan, 2021. *Screening a diagnostika karcinomu prsu v každodenní praxi* [online] [vid. 2022-10-26]. ISBN 978-80-271-1239-5. Dostupné z: <https://www.palmknihy.cz/ekniha/screening-a-diagnostika-karcinomu-prsu-346842>

- DANIYAL, Adhitiya, Ivana SANTOSO, Nadira Hasna Putri GUNAWAN, Melisa Intan BARLIANA a Rizky ABDULAH, 2021. Genetic Influences in Breast Cancer Drug Resistance. *Breast Cancer (Dove Medical Press)* [online]. **13**, 59–85. ISSN 1179-1314. Dostupné z: doi:10.2147/BCTT.S284453
- DE BOUSSAC, Hugues, Anthony ALIOUI, Emilie VIENNOIS, Julie DUFOUR, Amalia TROUSSON, Aurélie VEGA, Laurent GUY, David H. VOLLE, Jean-Marc A. LOBACCARO a Silvère BARON, 2013. Oxysterol receptors and their therapeutic applications in cancer conditions. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* [online]. **17**(9), 1029–1038. ISSN 1744-7631. Dostupné z: doi:10.1517/14728222.2013.820708
- DEENEN, Maarten J., Annemieke CATS, Jos H. BEIJNEN a Jan H. M. SCHELLENS, 2011. Part 2: pharmacogenetic variability in drug transport and phase I anticancer drug metabolism. *The Oncologist* [online]. **16**(6), 820–834. ISSN 1549-490X. Dostupné z: doi:10.1634/theoncologist.2010-0259
- DE FREITAS, Fábio Alessandro, Débora LEVY, Cadiele Oliana REICHERT, Edecio CUNHA-NETO, Jorge KALIL a Sérgio Paulo BYDLOWSKI, 2022. Effects of Oxysterols on Immune Cells and Related Diseases. *Cells* [online]. **11**(8), 1251. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells11081251
- DE MEDINA, P., M. R. PAILLASSE, G. SÉGALA, F. KHALLOUKI, S. BRILLOUET, F. DALENC, F. COURBON, M. RECORD, M. POIROT a S. SILVENTE-POIROT, 2011. Importance of cholesterol and oxysterols metabolism in the pharmacology of tamoxifen and other AEBS ligands. *Chem Phys Lipids* [online]. **164**(6), 432–7. ISSN 1873-2941. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2011.05.005
- DE MEDINA, P., M. R. PAILLASSE, G. SEGALA, M. POIROT a S. SILVENTE-POIROT, 2010. Identification and pharmacological characterization of cholesterol-5,6-epoxide hydrolase as a target for tamoxifen and AEBS ligands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **107**(30), 13520–13525. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1002922107
- DE MEDINA, Philippe, Khadijetou DIALLO, Emilie HUC-CLAUSTRE, Mehdi ATTIA, Régis SOULÈS, Sandrine SILVENTE-POIROT a Marc POIROT, 2021. The 5,6-epoxycholesterol metabolic pathway in breast cancer: Emergence of new pharmacological targets. *British Journal of Pharmacology* [online]. **178**(16), 3248–3260 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1476-5381. Dostupné z: doi:10.1111/bph.15205
- DE MEDINA, Philippe, Michael R. PAILLASSE, Gregory SEGALA, Maud VOISIN, Loubna MHAMDI, Florence DALENC, Magali LACROIX-TRIKI, Thomas FILLERON, Frederic PONT, Talal Al SAATI, Christophe MORISSEAU, Bruce D. HAMMOCK, Sandrine SILVENTE-POIROT a Marc POIROT, 2013. Dendrogenin A arises from cholesterol and histamine metabolism and shows cell differentiation and anti-tumour properties. *Nature Communications* [online]. **4**, 1840. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/ncomms2835
- DE MEDINA, Philippe, Sandrine SILVENTE-POIROT a Marc POIROT, 2022. Oxysterols are potential physiological regulators of ageing. *Ageing Research Reviews* [online]. **77**, 101615. ISSN 1872-9649. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2022.101615
- DEPRISTO, Mark A., Eric BANKS, Ryan POPLIN, Kiran V. GARIMELLA, Jared R. MAGUIRE, Christopher HARTL, Anthony A. PHILIPPAKIS, Guillermo DEL ANGEL, Manuel A. RIVAS, Matt HANNA, Aaron MCKENNA, Tim J. FENNELL, Andrew M. KERNYTSKY, Andrey Y. SIVACHENKO, Kristian CIBULSKIS, Stacey B. GABRIEL, David ALTSHULER a Mark J. DALY, 2011. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nature Genetics* [online]. **43**(5), 491–498. ISSN 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng.806
- DESOIZE, Bernard a Claudie MADOULET, 2002. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [online]. **42**(3), 317–325. ISSN 1040-8428. Dostupné z: doi:10.1016/s1040-8428(01)00219-0
- DE WEILLE, J., C. FABRE a N. BAKALARA, 2013. Oxysterols in cancer cell proliferation and death. *Biochemical Pharmacology* [online]. **86**(1), 154–160. ISSN 0006-2952. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2013.02.029
- DE WITTE, Chris J., Joachim KUTZERA, Arne VAN HOECK, Luan NGUYEN, Ingrid A. BOERE, Mathilde JALVING, Petronella B. OTTEVANGER, Christa VAN SCHAİK-VAN DE MHEEN, Marion STEVENSE, Wigard P. KLOOSTERMAN, Ronald P. ZWEEMER, Edwin CUPPEN a Petronella O. WITTEVEEN, 2022. Distinct Genomic Profiles Are Associated with Treatment Response and Survival in Ovarian Cancer. *Cancers* [online]. **14**(6), 1511 [vid. 2023-04-04]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers14061511

- DICZFALUSY, Ulf, Hanna NYLÉN, Pontus ELANDER a Leif BERTILSSON, 2011. 4 $\beta$ -Hydroxycholesterol, an endogenous marker of CYP3A4/5 activity in humans. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. **71**(2), 183–189. ISSN 1365-2125. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2125.2010.03773.x
- DIENSTMANN, Rodrigo, Louis VERMEULEN, Justin GUINNEY, Scott KOPETZ, Sabine TEJPAR a Josep TABERNERO, 2017. Consensus molecular subtypes and the evolution of precision medicine in colorectal cancer. *Nature Reviews Cancer* [online]. **17**(2), 79–92 [vid. 2022-11-02]. ISSN 1474-1768. Dostupné z: doi:10.1038/nrc.2016.126
- DIETLEIN, Felix, Alex B. WANG, Christian FAGRE, Anran TANG, Nicolle J. M. BESSELINK, Edwin CUPPEN, Chunliang LI, Shamil R. SUNYAEV, James T. NEAL a Eliezer M. VAN ALLEN, 2022. Genome-wide analysis of somatic noncoding mutation patterns in cancer. *Science (New York, N.Y.)* [online]. **376**(6589), eabg5601. ISSN 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.abg5601
- DMITRIEV, A. A., E. E. ROSENBERG, G. S. KRASNOV, G. V. GERASHCHENKO, V. V. GORDIYUK, T. V. PAVLOVA, A. V. KUDRYAVTSEVA, A. D. BENIAMINOV, A. A. BELOVA, Y. N. BONDARENKO, R. O. DANILETS, A. I. GLUKHOV, A. G. KONDRATOV, A. ALEXEYENKO, B. Y. ALEKSEEV, G. KLEIN, V. N. SENCHENKO a V. I. KASHUBA, 2015. Identification of Novel Epigenetic Markers of Prostate Cancer by NotI-Microarray Analysis. *Dis Markers* [online]. **2015**, 241301. Dostupné z: doi:10.1155/2015/241301
- DONG, Xiaochun, Chenglin WANG, Zhongjian CHEN a Weili ZHAO, 2018. Overcoming the resistance mechanisms of Smoothed inhibitors. *Drug Discovery Today* [online]. ISSN 1878-5832. Dostupné z: doi:10.1016/j.drudis.2018.01.012
- DONG, Yunlong, Jiao ZHOU, Yun ZHU, Linhai LUO, Tao HE, Hong HU, Hao LIU, Yingliang ZHANG, Dan LUO, Shuanglan XU, Lifeng XU, Jianping LIU, Jun ZHANG a Zhaowei TENG, 2017. Abdominal obesity and colorectal cancer risk: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Bioscience Reports* [online]. **37**(6), BSR20170945 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0144-8463. Dostupné z: doi:10.1042/BSR20170945
- DORIA, M., L. MAUGEST, T. MOREAU, G. LIZARD a A. VEJUX, 2016. Contribution of cholesterol and oxysterols to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med* [online]. **101**, 393–400. ISSN 1873-4596. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.008
- DU, X., N. TURNER a H. YANG, 2017. The role of oxysterol-binding protein and its related proteins in cancer. *Semin Cell Dev Biol* [online]. Dostupné z: doi:10.1016/j.semcdb.2017.07.017
- DUNDR, Pavel a Kristýna NĚMEJCOVÁ, 2022. *Epitelové nádory ovaria, děložní tuby a peritonea* [online]. B.m.: Společnost českých patologů ČLS JEP [vid. 2022-10-26]. Dostupné z: <https://www.patologie.info/standardy/32>
- DWYER, Jennifer R., Navdar SEVER, Marc CARLSON, Stanley F. NELSON, Philip A. BEACHY a Farhad PARHAMI, 2007. Oxysterols are novel activators of the hedgehog signaling pathway in pluripotent mesenchymal cells. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. **282**(12), 8959–8968. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M611741200
- EHRlichova, M., B. MOHELNIKOVA-DUCHONOVA, J. HRDY, V. BRYNYCHOVA, M. MRHALOVA, R. KODET, L. ROB, M. PLUTA, I. GUT, P. SOUCEK a R. VACLAVIKOVA, 2013. The association of taxane resistance genes with the clinical course of ovarian carcinoma. *Genomics* [online]. **102**(2), 96–101. ISSN 0888-7543. Dostupné z: doi:10.1016/j.ygeno.2013.03.005
- ELALI, A. a D. M. HERMANN, 2012. Liver X receptor activation enhances blood-brain barrier integrity in the ischemic brain and increases the abundance of ATP-binding cassette transporters ABCB1 and ABCC1 on brain capillary cells. *Brain Pathol* [online]. **22**(2), 175–87. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3639.2011.00517.x
- ELLROTT, Kyle, Matthew H. BAILEY, Gordon SAKSENA, Kyle R. COVINGTON, Cyriac KANDOTH, Chip STEWART, Julian HESS, Singer MA, Kami E. CHIOTTI, Michael MCLELLAN, Heidi J. SOFIA, Carolyn HUTTER, Gad GETZ, David WHEELER, Li DING, Samantha J. CAESAR-JOHNSON, John A. DEMCHOK, Ina FELAU, Melpomeni KASAPI, Martin L. FERGUSON, Carolyn M. HUTTER, Heidi J. SOFIA, Roy TARNUZZER, Zhining WANG, Liming YANG, Jean C. ZENKLUSEN, Jiashan (Julia) ZHANG, Sudha CHUDAMANI, Jia LIU, Laxmi LOLLA, Rashi NARESH, Todd PIHL, Qiang SUN, Yunhu WAN, Ye WU, Juok CHO, Timothy DEFREITAS, Scott FRAZER, Nils GEHLENBORG, Gad GETZ, David I. HEIMAN, Jaegil KIM, Michael S. LAWRENCE, Pei LIN, Sam MEIER, Michael S. NOBLE, Gordon SAKSENA, Doug VOET, Hailei ZHANG, Brady BERNARD, Nyasha CHAMBWE, Varsha DHANKANI, Theo KNIJNENBURG, Roger KRAMER, Kalle LEINONEN, Yuexin LIU, Michael MILLER, Sheila

REYNOLDS, Ilya SHMULEVICH, Vesteinn THORSSON, Wei ZHANG, Rehan AKBANI, Bradley M. BROOM, Apurva M. HEGDE, Zhenlin JU, Rupa S. KANCHI, Anil KORKUT, Jun LI, Han LIANG, Shiyun LING, Wenbin LIU, Yiling LU, Gordon B. MILLS, Kwok-Shing NG, Arvind RAO, Michael RYAN, Jing WANG, John N. WEINSTEIN, Jiexin ZHANG, Adam ABESHOUSE, Joshua ARMENIA, Debyani CHAKRAVARTY, Walid K. CHATILA, Ino DE BRUIJN, Jianjiong GAO, Benjamin E. GROSS, Zachary J. HEINS, Ritika KUNDRU, Konnor LA, Marc LADANYI, Augustin LUNA, Moriah G. NISSAN, Angelica OCHOA, Sarah M. PHILLIPS, Ed REZNIK, Francisco SANCHEZ-VEGA, Chris SANDER, Nikolaus SCHULTZ, Robert SHERIDAN, S. Onur SUMER, Yichao SUN, Barry S. TAYLOR, Jioajiao WANG, Hongxin ZHANG, Pavana ANUR, Myron PETO, Paul SPELLMAN, Christopher BENZ, Joshua M. STUART, Christopher K. WONG, Christina YAU, D. Neil HAYES, PARKER, Matthew D. WILKERSON, Adrian ALLY, Miruna BALASUNDARAM, Reanne BOWLBY, Denise BROOKS, Rebecca CARLSEN, Eric CHUAH, Noreen DHALLA, Robert HOLT, Steven J. M. JONES, Katayoon KASAIAN, Darlene LEE, Yussanne MA, Marco A. MARRA, Michael MAYO, Richard A. MOORE, Andrew J. MUNGALL, Karen MUNGALL, A. Gordon ROBERTSON, Sara SADEGHI, Jacqueline E. SCHEIN, Payal SIPAHIMALANI, Angela TAM, Nina THIESSEN, Kane TSE, Tina WONG, Ashton C. BERGER, Rameen BEROUKHIM, Andrew D. CHERNIACK, Carrie CIBULSKIS, Stacey B. GABRIEL, Galen F. GAO, Gavin HA, Matthew MEYERSON, Steven E. SCHUMACHER, Juliann SHIH, Melanie H. KUCHERLAPATI, Raju S. KUCHERLAPATI, Stephen BAYLIN, Leslie COPE, Ludmila DANILOVA, Moiz S. BOOTWALLA, Phillip H. LAI, Dennis T. MAGLINTE, David J. VAN DEN BERG, Daniel J. WEISENBERGER, J. Todd AUMAN, Saianand BALU, Tom BODENHEIMER, Cheng FAN, Katherine A. HOADLEY, Alan P. HOYLE, Stuart R. JEFFERYS, Corbin D. JONES, Shaowu MENG, Piotr A. MIECZKOWSKI, Lisle E. MOSE, Amy H. PEROU, Charles M. PEROU, Jeffrey ROACH, Yan SHI, Janae V. SIMONS, Tara SKELLY, Matthew G. SOLOWAY, Donghui TAN, Umadevi VELUVOLU, Huihui FAN, Toshinori HINOUE, Peter W. LAIRD, Hui SHEN, Wanding ZHOU, Michelle BELLAIR, Kyle CHANG, Kyle COVINGTON, Chad J. CREIGHTON, Huyen DINH, HarshaVardhan DODDAPANENI, Lawrence A. DONEHOWER, Jennifer DRUMMOND, Richard A. GIBBS, Robert GLENN, Walker HALE, Yi HAN, Jianhong HU, Viktoriya KORCHINA, Sandra LEE, Lora LEWIS, Wei LI, Xiuping LIU, Margaret MORGAN, Donna MORTON, Donna MUZNY, Jireh SANTIBANEZ, Margi SHETH, Eve SHINBROT, Linghua WANG, Min WANG, David A. WHEELER, Liu XI, Fengmei ZHAO, Julian HESS, Elizabeth L. APPELBAUM, Matthew BAILEY, Matthew G. CORDES, Li DING, Catrina C. FRONICK, Lucinda A. FULTON, Robert S. FULTON, Cyriac KANDOTH, Elaine R. MARDIS, Michael D. MCLELLAN, Christopher A. MILLER, Heather K. SCHMIDT, Richard K. WILSON, Daniel CRAIN, Erin CURLEY, Johanna GARDNER, Kevin LAU, David MALLERY, Scott MORRIS, Joseph PAULAUSKIS, Robert PENNY, Candace SHELTON, Troy SHELTON, Mark SHERMAN, Eric THOMPSON, Peggy YENA, Jay BOWEN, Julie M. GASTIER-FOSTER, Mark GERKEN, Kristen M. LERAAS, Tara M. LICHTENBERG, Nilsa C. RAMIREZ, Lisa WISE, Erik ZMUDA, Niall CORCORAN, Tony COSTELLO, Christopher HOVENS, Andre L. CARVALHO, Ana C. DE CARVALHO, José H. FREGNANI, Adhemar LONGATTO-FILHO, Rui M. REIS, Cristovam SCAPULATEMPO-NETO, Henrique C. S. SILVEIRA, Daniel O. VIDAL, Andrew BURNETTE, Jennifer ESCHBACHER, Beth HERMES, Ardene NOSS, Rosy SINGH, Matthew L. ANDERSON, Patricia D. CASTRO, Michael ITTMANN, David HUNTSMAN, Bernard KOHL, Xuan LE, Richard THORP, Chris ANDRY, Elizabeth R. DUFFY, Vladimir LYADOV, Oxana PAKLINA, Galiya SETDIKOVA, Alexey SHABUNIN, Mikhail TAVOBILOV, Christopher MCPHERSON, Ronald WARNICK, Ross BERKOWITZ, Daniel CRAMER, Colleen FELTMATE, Neil HOROWITZ, Adam KIBEL, Michael MUTO, Chandrajit P. RAUT, Andrei MALYKH, Jill S. BARNHOLTZ-SLOAN, Wendi BARRETT, Karen DEVINE, Jordonna FULOP, Quinn T. OSTROM, Kristen SHIMMEL, Yingli WOLINSKY, Andrew E. SLOAN, Agostino DE ROSE, Felice GIULIANTE, Marc GOODMAN, Beth Y. KARLAN, Curt H. HAGEDORN, John ECKMAN, Jodi HARR, Jerome MYERS, Kelinda TUCKER, Leigh Anne ZACH, Brenda DEYARMIN, Hai HU, Leonid KVECHER, Caroline LARSON, Richard J. MURAL, Stella SOMIARI, Ales VICHA, Tomas ZELINKA, Joseph BENNETT, Mary IACocca, Brenda RABENO, Patricia SWANSON, Mathieu LATOUR, Louis LACOMBE, Bernard TÊTU, Alain BERGERON, Mary MCGRAW, Susan M. STAUGAITIS, John CHABOT, Hanina HIBSHOOSH, Antonia SEPULVEDA, Tao SU, Timothy WANG, Olga POTAPOVA, Olga VORONINA, Laurence DESJARDINS, Odette MARIANI, Sergio ROMAN-ROMAN, Xavier SASTRE, Marc-Henri STERN, Feixiong CHENG, Sabina SIGNORETTI, Andrew BERCHUCK, Darell BIGNER, Eric LIPP, Jeffrey MARKS, Shannon MCCALL, Roger MCLENDON, Angeles SECORD, Alexis SHARP, Madhusmita BEHERA, Daniel J. BRAT, Amy CHEN, Keith DELMAN, Seth FORCE, Fadlo KHURI, Kelly MAGLIOCCA, Shishir MAITHEL, Jeffrey J. OLSON, Taofeek OWONIKOKO, Alan PICKENS, Suresh RAMALINGAM, Dong M. SHIN, Gabriel SICA, Erwin G. VAN MEIR, Hongzheng ZHANG, Wil EIJKENBOOM, Ad GILLIS, Esther KORPERSHOEK, Leendert LOOIJENGA, Wolter OOSTERHUIS, Hans STOOP, Kim E. VAN KESSEL, Ellen C. ZWARTHOFF, Chiara CALATOZZOLO, Lucia CUPPINI,

Stefania CUZZUBBO, Francesco DIMECO, Gaetano FINOCCHIARO, Luca MATTEI, Alessandro PERIN, Bianca POLLO, Chu CHEN, John HOUCK, Pawadee LOHAVANICHBUTR, Arndt HARTMANN, Christine STOEHR, Robert STOEHR, Helge TAUBERT, Sven WACH, Bernd WULLICH, Witold KYCLER, Dawid MURAWA, Maciej WIZNEROWICZ, Ki CHUNG, W. Jeffrey EDENFIELD, Julie MARTIN, Eric BAUDIN, Glenn BUBLEY, Raphael BUENO, Assunta DE RIENZO, William G. RICHARDS, Steven KALKANIS, Tom MIKKELSEN, Houtan NOUSHMEHR, Lisa SCARPACE, Nicolas GIRARD, Marta AYMERICH, Elias CAMPO, Eva GINÉ, Armando López GUILLERMO, Nguyen VAN BANG, Phan Thi HANH, Bui Duc PHU, Yufang TANG, Howard COLMAN, Kimberley EVASON, Peter R. DOTTINO, John A. MARTIGNETTI, Hani GABRA, Hartmut JUHL, Teniola AKEREDOLU, Serghei STEPА, Dave HOON, Keunsoo AHN, Koo Jeong KANG, Felix BEUSCHLEIN, Anne BREGGIA, Michael BIRRER, Debra BELL, Mitesh BORAD, Alan H. BRYCE, Erik CASTLE, Vishal CHANDAN, John CHEVILLE, John A. COPLAND, Michael FARNELL, Thomas FLOTTE, Nasra GIAMA, Thai HO, Michael KENDRICK, Jean-Pierre KOCHER, Karla KOPP, Catherine MOSER, David NAGORNEY, Daniel O'BRIEN, Brian Patrick O'NEILL, Tushar PATEL, Gloria PETERSEN, Florencia QUE, Michael RIVERA, Lewis ROBERTS, Robert SMALLRIDGE, Thomas SMYRK, Melissa STANTON, R. Houston THOMPSON, Michael TORBENSON, Ju Dong YANG, Lizhi ZHANG, Fadi BRIMO, Jaffer A. AJANI, Ana Maria ANGULO GONZALEZ, Carmen BEHRENS, Jolanta BONDARUK, Russell BROADDUS, Bogdan CZERNIAK, Bitа ESMAELI, Junya FUJIMOTO, Jeffrey GERSHENWALD, Charles GUO, Alexander J. LAZAR, Christopher LOGOTHETIS, Funda MERICBERNSTAM, Cesar MORAN, Lois RAMONDETTA, David RICE, Anil SOOD, Pheroze TAMBOLI, Timothy THOMPSON, Patricia TRONCOSO, Anne TSAO, Ignacio WISTUBA, Candace CARTER, Lauren HAYDU, Peter HERSEY, Valerie JAKROT, Hojabr KAKAVAND, Richard KEFFORD, Kenneth LEE, Georgina LONG, Graham MANN, Michael QUINN, Robyn SAW, Richard SCOLYER, Kerwin SHANNON, Andrew SPILLANE, Jonathan STRETCH, Maria SYNOTT, John THOMPSON, James WILMOTT, Hikmat AL-AHMADIE, Timothy A. CHAN, Ronald GHOSSEIN, Anuradha GOPALAN, Douglas A. LEVINE, Victor REUTER, Samuel SINGER, Bhuvanesh SINGH, Nguyen Viet TIEN, Thomas BROUDY, Cyrus MIRSAIDI, Praveen NAIR, Paul DRWIEGA, Judy MILLER, Jennifer SMITH, Howard ZAREN, Joong-Won PARK, Nguyen Phi HUNG, Electron KEBEBEW, W. Marston LINEHAN, Adam R. METWALLI, Karel PACAK, Peter A. PINTO, Mark SCHIFFMAN, Laura S. SCHMIDT, Cathy D. VOCKE, Nicolas WENTZENSEN, Robert WORRELL, Hannah YANG, Marc MONCRIEFF, Chandra GOPARAJU, Jonathan MELAMED, Harvey PASS, Natalia BOTNARIUC, Irina CARAMAN, Mircea CERNAT, Inga CHEMENCEDJI, Adrian CLIPCA, Serghei DORUC, Ghenadie GORINCIOI, Sergiu MURA, Maria PIRTAC, Irina STANCUL, Diana TCACIUC, Monique ALBERT, Iakovina ALEXOPOULOU, Angel ARNAOUT, John BARTLETT, Jay ENGEL, Sebastien GILBERT, Jeremy PARFITT, Harman SEKHON, George THOMAS, Doris M. RASSL, Robert C. RINTOUL, Carlo BIFULCO, Raina TAMAKAWA, Walter URBA, Nicholas HAYWARD, Henri TIMMERS, Anna ANTENUCCI, Francesco FACCIOLO, Gianluca GRAZI, Mirella MARINO, Roberta MEROLA, Ronald DE KRIJGER, Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO, Alain PICHÉ, Simone CHEVALIER, Ginette MCKERCHER, Kivanc BIRSOY, Gene BARNETT, Cathy BREWER, Carol FARVER, Theresa NASKA, Nathan A. PENNELL, Daniel RAYMOND, Cathy SCHILERO, Kathy SMOLENSKI, Felicia WILLIAMS, Carl MORRISON, Jeffrey A. BORGIA, Michael J. LIPTAY, Mark POOL, Christopher W. SEDER, Kerstin JUNKER, Larsson OMBERG, Mikhail DINKIN, George MANIKHAS, Domenico ALVARO, Maria Consiglia BRAGAZZI, Vincenzo CARDINALE, Guido CARPINO, Eugenio GAUDIO, David CHESLA, Sandra COTTINGHAM, Michael DUBINA, Fedor MOISEENKO, Renumathy DHANASEKARAN, Karl-Friedrich BECKER, Klaus-Peter JANSSEN, Julia SLOTTA-HUSPENINA, Mohamed H. ABDEL-RAHMAN, Dina AZIZ, Sue BELL, Colleen M. CEBULLA, Amy DAVIS, Rebecca DUELL, J. Bradley ELDER, Joe HILTY, Bahavna KUMAR, James LANG, Norman L. LEHMAN, Randy MANDT, Phuong NGUYEN, Robert PILARSKI, Karan RAI, Lynn SCHOENFIELD, Kelly SENEAL, Paul WAKELY, Paul HANSEN, Ronald LECHAN, James POWERS, Arthur TISCHLER, William E. GRIZZLE, Katherine C. SEXTON, Alison KASTL, Joel HENDERSON, Sima PORTEN, Jens WALDMANN, Martin FASSNACHT, Sylvia L. ASA, Dirk SCHADENDORF, Marta COUCE, Markus GRAEFEN, Hartwig HULAND, Guido SAUTER, Thorsten SCHLOMM, Ronald SIMON, Pierre TENNSTEDT, Oluwole OLABODE, Mark NELSON, Oliver BATHE, Peter R. CARROLL, June M. CHAN, Philip DISAIA, Pat GLENN, Robin K. KELLEY, Charles N. LANDEN, Joanna PHILLIPS, Michael PRADOS, Jeffry SIMKO, Karen SMITH-MCCUNE, Scott VANDENBERG, Kevin ROGGIN, Ashley FEHRENBACH, Ady KENDLER, Suzanne SIFRI, Ruth STEELE, Antonio JIMENO, Francis CAREY, Ian FORGIE, Massimo MANNELLI, Michael CARNEY, Brenda HERNANDEZ, Benito CAMPOS, Christel HEROLD-MENDE, Christin JUNGK, Andreas UNTERBERG, Andreas VON DEIMLING, Aaron BOSSLER, Joseph GALBRAITH, Laura JACOBUS, Michael KNUDSON, Tina KNOTSON, Deqin MA, Mohammed MILHEM, Rita SIGMUND, Andrew K. GODWIN, Rashna MADAN, Howard G. ROSENTHAL, Clement ADEBAMOWO, Sally N. ADEBAMOWO, Alex BOUSSIOUTAS, David BEER, Thomas

GIORDANO, Anne-Marie MES-MASSON, Fred SAAD, Therese BOCKLAGE, Lisa LANDRUM, Robert MANNEL, Kathleen MOORE, Katherine MOXLEY, Russel POSTIER, Joan WALKER, Rosemary ZUNA, Michael FELDMAN, Federico VALDIVIESO, Rajiv DHIR, James LUKETICH, Edna M. MORA PINERO, Mario QUINTERO-AGUILO, Carlos Gilberto CARLOTTI, Jose Sebastião DOS SANTOS, Rafael KEMP, Ajith SANKARANKUTY, Daniela TIRAPELLI, James CATTO, Kathy AGNEW, Elizabeth SWISHER, Jenette CREANEY, Bruce ROBINSON, Carl Simon SHELLEY, Eryn M. GODWIN, Sara KENDALL, Cassandra SHIPMAN, Carol BRADFORD, Thomas CAREY, Andrea HADDAD, Jeffrey MOYER, Lisa PETERSON, Mark PRINCE, Laura ROZEK, Gregory WOLF, Rayleen BOWMAN, Kwun M. FONG, Ian YANG, Robert KORST, W. Kimryn RATHMELL, J. Leigh FANTACONE-CAMPBELL, Jeffrey A. HOOKE, Albert J. KOVATICH, Craig D. SHRIVER, John DIPERSIO, Bettina DRAKE, Ramaswamy GOVINDAN, Sharon HEATH, Timothy LEY, Brian VAN TINE, Peter WESTERVELT, Mark A. RUBIN, Jung Il LEE, Natália D. AREDES a Armaz MARIAMIDZE, 2018. Scalable Open Science Approach for Mutation Calling of Tumor Exomes Using Multiple Genomic Pipelines. *Cell Systems* [online]. **6**(3), 271-281.e7 [vid. 2023-01-02]. ISSN 2405-4712. Dostupné z: doi:10.1016/j.cels.2018.03.002

ELSNEROVA, K., B. MOHELNIKOVA-DUCHONOVA, E. CEROVSKA, M. EHRLICOVA, I. GUT, L. ROB, P. SKAPA, M. HRUDA, A. BARTAKOVA, J. BOUDA, P. VODICKA, P. SOUCEK a R. VACLAVIKOVA, 2016. Gene expression of membrane transporters: Importance for prognosis and progression of ovarian carcinoma. *Oncology Reports* [online]. **35**(4), 2159–2170. ISSN 1021-335X. Dostupné z: doi:10.3892/or.2016.4599

ENDO-UMEDA, K., K. YASUDA, K. SUGITA, A. HONDA, M. OHTA, M. ISHIKAWA, Y. HASHIMOTO, T. SAKAKI a M. MAKISHIMA, 2014. 7-Dehydrocholesterol metabolites produced by sterol 27-hydroxylase (CYP27A1) modulate liver X receptor activity. *J Steroid Biochem Mol Biol* [online]. **140**, 7–16. ISSN 1879-1220. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsbmb.2013.11.010

ENGEL, Ryan H. a Virginia G. KAKLAMANI, 2007. HER2-positive breast cancer: current and future treatment strategies. *Drugs* [online]. **67**(9), 1329–1341. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-200767090-00006

ENGEL, T., M. FOBKER, J. BUCHMANN, F. KANNENBERG, S. RUST, J. R. NOFER, A. SCHÜRMANN a U. SEEDORF, 2014. 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -Cholestanetriol and 25-hydroxycholesterol accumulate in ATP-binding cassette transporter G1 (ABCG1)-deficiency. *Atherosclerosis* [online]. **235**(1), 122–9. ISSN 1879-1484. Dostupné z: doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.023

ENGEL, T., F. KANNENBERG, M. FOBKER, J. R. NOFER, G. BODE, A. LUEKEN, G. ASSMANN a U. SEEDORF, 2007. Expression of ATP binding cassette-transporter ABCG1 prevents cell death by transporting cytotoxic 7 $\beta$ -hydroxycholesterol. *FEBS Lett* [online]. **581**(8), 1673–80. ISSN 0014-5793. Dostupné z: doi:10.1016/j.febslet.2007.03.038

ENGEL, T., S. LORKOWSKI, A. LUEKEN, S. RUST, B. SCHLÜTER, G. BERGER, P. CULLEN a G. ASSMANN, 2001. The human ABCG4 gene is regulated by oxysterols and retinoids in monocyte-derived macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* [online]. **288**(2), 483–8. Dostupné z: doi:10.1006/bbrc.2001.5756

EWELS, Philip, Måns MAGNUSSON, Sverker LUNDIN a Max KÄLLER, 2016. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics* [online]. **32**(19), 3047–3048 [vid. 2021-01-11]. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/btw354

EWING, Ailith, Alison MEYNERT, Michael CHURCHMAN, Graeme R. GRIMES, Robert L. HOLLIS, C. Simon HERRINGTON, Tzyvia RYE, Clare BARTOS, Ian CROY, Michelle FERGUSON, Mairi LENNIE, Trevor MCGOLDRICK, Neil MCPHAIL, Nadeem SIDDIQUI, Suzanne DOWSON, Rosalind GLASSPOOL, Melanie MACKEAN, Fiona NUSSEY, Brian MCDADE, Darren ENNIS, Lynn MCMAHON, Athena MATAKIDOU, Brian DOUGHERTY, Ruth MARCH, J. Carl BARRETT, Iain A. MCNEISH, SCOTTISH GENOMES PARTNERSHIP, Andrew V. BIANKIN, Patricia ROXBURGH, Charlie GOURLEY a Colin A. SEMPLE, 2021. Structural Variants at the BRCA1/2 Loci are a Common Source of Homologous Repair Deficiency in High-grade Serous Ovarian Carcinoma. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* [online]. **27**(11), 3201–3214. ISSN 1557-3265. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-4068

FENG, Cong, Yan-Hua HAN, Na QI, Jia LI, Qing-Hua SHENG, Yu LIU a Li-Li YANG, 2021. Functional implications of PABPC1 in the development of ovarian cancer: *Open Medicine* [online]. **16**(1), 805–815 [vid. 2023-04-04]. ISSN 2391-5463. Dostupné z: doi:10.1515/med-2021-0278

- FESSLER, Michael B., 2018. The challenges and promise of targeting the Liver X Receptors for treatment of inflammatory disease. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. **181**, 1–12. ISSN 1879-016X. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2017.07.010
- FIGTREE, G. A., J. E. NOONAN, R. BHINDI a P. COLLINS, 2009. Estrogen receptor polymorphisms: significance to human physiology, disease and therapy. *Recent Pat DNA Gene Seq* [online]. **3**(3), 164–71. ISSN 2212-3431. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19673701
- FISHER, R. A., 1992. Statistical Methods for Research Workers. In: Samuel KOTZ a Norman L. JOHNSON, ed. *Breakthroughs in Statistics: Methodology and Distribution* [online]. New York, NY: Springer, Springer Series in Statistics, s. 66–70 [vid. 2023-03-17]. ISBN 978-1-4612-4380-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4612-4380-9\_6
- FLEMING, Matthew, Sreelakshmi RAVULA, Sergei F. TATISHCHEV a Hanlin L. WANG, 2012. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *Journal of Gastrointestinal Oncology* [online]. **3**(3), 153–173. ISSN 2219-679X. Dostupné z: doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2012.030
- FLOCKHART, DA, 2007. *Drug Interactions: Cytochrome P450 Drug Interaction Table. Indiana University School of Medicine (2007)* [online] [vid. 2022-02-09]. Dostupné z: http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/
- FORBES, Simon A., David BEARE, Harry BOUTSELAKIS, Sally BAMFORD, Nidhi BINDAL, John TATE, Charlotte G. COLE, Sari WARD, Elisabeth DAWSON, Laura PONTING, Raymund STEFANCSIK, Bhavana HARSHA, Chai Yin KOK, Mingming JIA, Harry JUBB, Zbyslaw SONDKA, Sam THOMPSON, Tisham DE a Peter J. CAMPBELL, 2017. COSMIC: somatic cancer genetics at high-resolution. *Nucleic Acids Research* [online]. **45**(D1), D777–D783. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkw1121
- FUDA, H., N. B. JAVITT, K. MITAMURA, S. IKEGAWA a C. A. STROTT, 2007. Oxysterols are substrates for cholesterol sulfotransferase. *J Lipid Res* [online]. **48**(6), 1343–52. ISSN 0022-2275. Dostupné z: doi:10.1194/jlr.M700018-JLR200
- FUQUA, S. A., G. GU a Y. RECHOUM, 2014. Estrogen receptor (ER)  $\alpha$  mutations in breast cancer: hidden in plain sight. *Breast Cancer Res Treat* [online]. **144**(1), 11–9. ISSN 1573-7217. Dostupné z: doi:10.1007/s10549-014-2847-4
- GANDAGLIA, Giorgio, Riccardo LENI, Freddie BRAY, Neil FLESHNER, Stephen J. FREEDLAND, Adam KIBEL, Pär STATTIN, Hendrick VAN POPPEL a Carlo LA VECCHIA, 2021. Epidemiology and Prevention of Prostate Cancer. *European Urology Oncology* [online]. **4**(6), 877–892. ISSN 2588-9311. Dostupné z: doi:10.1016/j.euo.2021.09.006
- GANGI, Iole Maria Di, Tommaso MAZZA, Andrea FONTANA, Massimiliano COPETTI, Caterina FUSILLI, Antonio IPPOLITO, Fulvio MATTIVI, Anna LATIANO, Angelo ANDRIULLI, Urska VRHOVSEK a Valerio PAZIENZA, 2016. Metabolomic profile in pancreatic cancer patients: a consensus-based approach to identify highly discriminating metabolites. *Oncotarget* [online]. **7**(5), 5815–5829 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.6808
- GHEORGHE-CETEAN, Sinziana, Calin CAINAP, Luminita OPREAN, Adriana HANGAN, Piroska VIRAG, Eva FISCHER-FODOR, Alexandra GHERMAN, Simona CAINAP, Anne-Marie CONSTANTIN, Istvan LASZLO, Catalin VLAD a Radu OPREAN, 2017. Platinum derivatives: a multidisciplinary approach. *Journal of B.U.ON.: official journal of the Balkan Union of Oncology*. **22**(3), 568–577. ISSN 1107-0625.
- GIMPLE, Ryan C. a Xiuxing WANG, 2019. RAS: Striking at the Core of the Oncogenic Circuitry. *Frontiers in Oncology* [online]. **9** [vid. 2023-04-05]. ISSN 2234-943X. Dostupné z: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2019.00965
- GONG, Ting-Ting, Qi-Jun WU, Emily VOGTMANN, Bei LIN a Yong-Lai WANG, 2013. Age at menarche and risk of ovarian cancer: a meta-analysis of epidemiological studies. *International Journal of Cancer* [online]. **132**(12), 2894–2900. ISSN 1097-0215. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.27952
- GOROJANKINA, Tatiana, 2016. Hedgehog signaling pathway: a novel model and molecular mechanisms of signal transduction. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* [online]. **73**(7), 1317–1332. ISSN 1420-9071. Dostupné z: doi:10.1007/s00018-015-2127-4
- GRIFFITHS, William J., Jonas ABDEL-KHALIK, Thomas HEARN, Eylan YUTUC, Alwena H. MORGAN a Yuqin WANG, 2016. Current trends in oxysterol research. *Biochemical Society Transactions* [online]. **44**, 652–658. ISSN 0300-5127. Dostupné z: doi:10.1042/bst20150255



- GROSSMAN, Robert L., Allison P. HEATH, Vincent FERRETTI, Harold E. VARMUS, Douglas R. LOWY, Warren A. KIBBE a Louis M. STAUDT, 2016. Toward a Shared Vision for Cancer Genomic Data. *The New England Journal of Medicine* [online]. **375**(12), 1109–1112. ISSN 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMp1607591
- GUDMUNSDOTTIR, K. a A. ASHWORTH, 2006. The roles of BRCA1 and BRCA2 and associated proteins in the maintenance of genomic stability. *Oncogene* [online]. **25**(43), 5864–5874 [vid. 2022-10-04]. ISSN 1476-5594. Dostupné z: doi:10.1038/sj.onc.1209874
- GUENGERICH, F. P., 1999. Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* [online]. **39**, 1–17. ISSN 0362-1642. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.pharmtox.39.1.1
- GUO, Fenghua, Wenting HONG, Mingjie YANG, Dongke XU, Qianming BAI, Xiaobo LI a Zongyou CHEN, 2018. Upregulation of 24(R/S),25-epoxycholesterol and 27-hydroxycholesterol suppresses the proliferation and migration of gastric cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. **504**(4), 892–898 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0006-291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2018.09.058
- GUO, X., L. ZHANG, Y. ZHANG, D. ZHANG, L. QIN, S. DONG a G. LI, 2016. Oxysterol binding protein-related protein 8 inhibits gastric cancer growth through induction of ER stress, inhibition of Wnt signaling and activation of apoptosis. *Oncol Res* [online]. Dostupné z: doi:10.3727/096504016X14783691306605
- HAMADA, Tsuyoshi, Jonathan A NOWAK, Yohei MASUGI, David A DREW, Mingyang SONG, Yin CAO, Keisuke KOSUMI, Kosuke MIMA, Tyler S TWOMBLY, Li LIU, Yan SHI, Annacarolina DA SILVA, Mancang GU, Wanwan LI, Katsuhiko NOSHO, NaNa KEUM, Marios GIANNAKIS, Jeffrey A MEYERHARDT, Kana WU, Molin WANG, Andrew T CHAN, Edward L GIOVANNUCCI, Charles S FUCHS, Reiko NISHIHARA, Xuehong ZHANG a Shuji OGINO, 2019. Smoking and Risk of Colorectal Cancer Sub-Classified by Tumor-Infiltrating T Cells. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* [online]. **111**(1), 42–51 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0027-8874. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djy137
- HAN, Mingzhi, Shuai WANG, Ning YANG, Xu WANG, Wenbo ZHAO, Halala Sdik SAED, Thomas DAUBON, Bin HUANG, Anjing CHEN, Gang LI, Hrvoje MILETIC, Frits THORSEN, Rolf BJERKVIG, Xingang LI a Jian WANG, 2020. Therapeutic implications of altered cholesterol homeostasis mediated by loss of CYP46A1 in human glioblastoma. *EMBO molecular medicine* [online]. **12**(1), e10924. ISSN 1757-4684. Dostupné z: doi:10.15252/emmm.201910924
- HARBIN, Laura M., Holly H. GALLION, Derek B. ALLISON a Jill M. KOLESAR, 2022. Next Generation Sequencing and Molecular Biomarkers in Ovarian Cancer-An Opportunity for Targeted Therapy. *Diagnostics (Basel, Switzerland)* [online]. **12**(4), 842. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi:10.3390/diagnostics12040842
- HARTMANN, Lynn C., Daniel J. SCHAID, John E. WOODS, Thomas P. CROTTY, Jeffrey L. MYERS, P.G. ARNOLD, Paul M. PETTY, Thomas A. SELLERS, Joanne L. JOHNSON, Shannon K. MCDONNELL, Marlene H. FROST, Clive S. GRANT, Virginia V. MICHELS a Robert B. JENKINS, 1999. Efficacy of Bilateral Prophylactic Mastectomy in Women with a Family History of Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* [online]. **340**(2), 77–84 [vid. 2022-10-03]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199901143400201
- HE, Liuqin, Xihong ZHOU, Niu HUANG, Huan LI, Tiejun LI, Kang YAO, Yanan TIAN, Chien-An Andy HU a Yulong YIN, 2017. Functions of pregnane X receptor in self-detoxification. *Amino Acids* [online]. **49**(12), 1999–2007. ISSN 1438-2199. Dostupné z: doi:10.1007/s00726-017-2435-0
- HE, S. a E. R. NELSON, 2017. 27-Hydroxycholesterol, an endogenous selective estrogen receptor modulator. *Maturitas* [online]. **104**, 29–35. ISSN 1873-4111. Dostupné z: doi:10.1016/j.maturitas.2017.07.014
- HE, Xiao-Feng, Zhi-Zhong LIU, Jian-Jun XIE, Wei WANG, Ya-Ping DU, Yu CHEN a Wu WEI, 2014. Association between the CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* [online]. **35**(10), 9859–9877. ISSN 1423-0380. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-014-2241-1
- HLAVÁČ, Viktor, Lenka ČERVENKOVÁ, Simona ŠŮSOVÁ, Petr HOLÝ, Václav LIŠKA, Ondřej VYČÍTAL, Ondřej ŠOREJS, Ondřej FIALA, Ondřej DAUM a Pavel SOUČEK, 2023. Exome Sequencing of Paired Colorectal Carcinomas and Synchronous Liver Metastases for Prognosis and Therapy Prediction. *JCO Precision Oncology* [online]. (7), e2200557 [vid. 2023-05-05]. Dostupné z: doi:10.1200/PO.22.00557

- HLAVÁČ, Viktor, Petr HOLÝ, Radka VÁCLAVÍKOVÁ, Lukáš ROB, Martin HRUDA, Marcela MRHALOVÁ, Petr ČERNAJ, Jiří BOUDA a Pavel SOUČEK, 2022. Whole-exome sequencing of epithelial ovarian carcinomas differing in resistance to platinum therapy. *Life Science Alliance* [online]. **5**(12) [vid. 2022-10-25]. ISSN 2575-1077. Dostupné z: doi:10.26508/lsa.202201551
- HOLY, P., A. KLOUDOVA a P. SOUCEK, 2018. Importance of genetic background of oxysterol signaling in cancer. *Biochimie* [online]. **153**, 109–138. ISSN 1638-6183. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2018.04.023
- HOLÝ, Petr, Viktor HLAVÁČ, Pavel OSTAŠOV, Veronika BRYNYCHOVÁ, Renata KOŽEVNIKOVÁ, Markéta TRNKOVÁ, Kateřina KOPEČKOVÁ, Soňa MĚŠŤÁKOVÁ, Marcela MRHALOVÁ a Pavel SOUČEK, 2022. Germline and somatic genetic variability of oxysterol-related genes in breast cancer patients with early disease of the luminal subtype. *Biochimie* [online]. **199**, 158–169 [vid. 2022-07-12]. ISSN 0300-9084. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2022.04.015
- HOOKS, Mary A, 2010. Breast cancer: risk assessment and prevention. *Southern medical journal* [online]. **103**(4), 333–338 [vid. 2022-10-03]. ISSN 1541-8243. Dostupné z: doi:10.1097/smj.0b013e3181d39038
- HOU, Yanjun, Yan PENG a Zaibo LI, 2022. Update on prognostic and predictive biomarkers of breast cancer. *Seminars in Diagnostic Pathology* [online]. **39**(5), 322–332. ISSN 0740-2570. Dostupné z: doi:10.1053/j.semmp.2022.06.015
- HOVENKAMP, E., I. DEMONTY, J. PLAT, D. LUTJOHANN, R. P. MENSINK a E. A. TRAUTWEIN, 2008. Biological effects of oxidized phytosterols: A review of the current knowledge. *Progress in Lipid Research* [online]. **47**(1), 37–49. ISSN 0163-7827. Dostupné z: doi:10.1016/j.plipres.2007.10.001
- HOWE, V., L. J. SHARPE, S. J. ALEXOPOULOS, S. V. KUNZE, N. K. CHUA, D. LI a A. J. BROWN, 2016. Cholesterol homeostasis: How do cells sense sterol excess? *Chem Phys Lipids* [online]. **199**, 170–178. ISSN 1873-2941. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2016.02.011
- HOZOJI, M., Y. MUNEHIRA, Y. IKEDA, M. MAKISHIMA, M. MATSUO, N. KIOKA a K. UEDA, 2008. Direct interaction of nuclear liver X receptor-beta with ABCA1 modulates cholesterol efflux. *J Biol Chem* [online]. **283**(44), 30057–63. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M804599200
- HU, Chunling, Eric C POLLEY, Siddhartha YADAV, Jenna LILYQUIST, Hermela SHIMELIS, Jie NA, Steven N HART, David E GOLDFAR, Swati SHAH, Tina PESARAN, Jill S DOLINSKY, Holly LADUCA a Fergus J COUCH, 2020a. The Contribution of Germline Predisposition Gene Mutations to Clinical Subtypes of Invasive Breast Cancer From a Clinical Genetic Testing Cohort. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* [online]. **112**(12), 1231–1241 [vid. 2022-10-04]. ISSN 0027-8874. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djaa023
- HU, Ye, Barbie TAYLOR-HARDING, Yael RAZ, Marcela HARO, Maria Sol RECOUVREUX, Enes TAYLAN, Jenny LESTER, Joshua MILLSTEIN, Ann E. WALTERS, Beth Y. KARLAN a Sandra ORSULIC, 2020b. Are Epithelial Ovarian Cancers of the Mesenchymal Subtype Actually Intraperitoneal Metastases to the Ovary? *Frontiers in Cell and Developmental Biology* [online]. **8** [vid. 2022-10-26]. ISSN 2296-634X. Dostupné z: doi:10.3389/fcell.2020.00647
- HUBER, Michael D., Paul W. VESELY, Kaustuv DATTA a Larry GERACE, 2013. Erlins restrict SREBP activation in the ER and regulate cellular cholesterol homeostasis. *The Journal of Cell Biology* [online]. **203**(3), 427–436. ISSN 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.201305076
- HUO, Dezheng, Wendy M. CLAYTON, Toshio F. YOSHIMATSU, Jianjun CHEN a Olufunmilayo I. OLOPADE, 2016. Identification of a circulating microRNA signature to distinguish recurrence in breast cancer patients. *Oncotarget* [online]. **7**(34), 55231–55248 [vid. 2023-03-10]. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.10485
- HWANG, Nicole M. a Laura P. STABILE, 2021. Estrogen Receptor  $\beta$  in Cancer: To  $\beta(e)$  or not to  $\beta(e)$ ? *Endocrinology* [online]. **162**(11), bqab162. ISSN 1945-7170. Dostupné z: doi:10.1210/endo/bqab162
- HWANG, P. L. a A. MATIN, 1989. Interactions of sterols with antiestrogen-binding sites: structural requirements for high-affinity binding. *J Lipid Res* [online]. **30**(2), 239–45. ISSN 0022-2275. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2715728>
- HYMAN, David M., Barry S. TAYLOR a José BASELGA, 2017. Implementing Genome-Driven Oncology. *Cell* [online]. **168**(4), 584–599. ISSN 1097-4172. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2016.12.015

- HYUN, Jin Won, Vincent HOLL, Denis WELTIN, Patrick DUFOUR, Bang LUU a Pierre BISCHOFF, 2002. Effects of combinations of 7beta-hydroxycholesterol and anticancer drugs or ionizing radiation on the proliferation of cultured tumor cells. *Anticancer Research*. **22**(2A), 943–948. ISSN 0250-7005.
- CHAI, Xiaojuan, Su ZENG a Wen XIE, 2013. Nuclear receptors PXR and CAR: implications for drug metabolism regulation, pharmacogenomics and beyond. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* [online]. **9**(3), 253–266. ISSN 1744-7607. Dostupné z: doi:10.1517/17425255.2013.754010
- CHAKRAVARTY, Debyani a David B. SOLIT, 2021. Clinical cancer genomic profiling. *Nature Reviews. Genetics* [online]. **22**(8), 483–501. ISSN 1471-0064. Dostupné z: doi:10.1038/s41576-021-00338-8
- CHALMERS, Zachary R., Caitlin F. CONNELLY, David FABRIZIO, Laurie GAY, Siraj M. ALI, Riley ENNIS, Alexa SCHROCK, Brittany CAMPBELL, Adam SHLIEN, Juliann CHMIELECKI, Franklin HUANG, Yuting HE, James SUN, Uri TABORI, Mark KENNEDY, Daniel S. LIEBER, Steven ROELS, Jared WHITE, Geoffrey A. OTTO, Jeffrey S. ROSS, Levi GARRAWAY, Vincent A. MILLER, Phillip J. STEPHENS a Garrett M. FRAMPTON, 2017. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Medicine* [online]. **9**(1), 34 [vid. 2023-04-04]. ISSN 1756-994X. Dostupné z: doi:10.1186/s13073-017-0424-2
- CHANDRA, Ashwin, Cima PIUS, Madiha NABEEL, Maya NAIR, Jamboor K. VISHWANATHA, Sarfraz AHMAD a Riyaz BASHA, 2019. Ovarian cancer: Current status and strategies for improving therapeutic outcomes. *Cancer Medicine* [online]. **8**(16), 7018–7031. ISSN 2045-7634. Dostupné z: doi:10.1002/cam4.2560
- CHATTOPADHYAY, I., A. SINGH, R. PHUKAN, J. PURKAYASTHA, A. KATAKI, J. MAHANTA, S. SAXENA a S. KAPUR, 2010. Genome-wide analysis of chromosomal alterations in patients with esophageal squamous cell carcinoma exposed to tobacco and betel quid from high-risk area in India. *Mutat Res* [online]. **696**(2), 130–8. ISSN 0027-5107. Dostupné z: doi:10.1016/j.mrgentox.2010.01.001
- CHEN, Chao, Kay GRENNAN, Judith BADNER, Dandan ZHANG, Elliot GERSHON, Li JIN a Chunyu LIU, 2011. Removing Batch Effects in Analysis of Expression Microarray Data: An Evaluation of Six Batch Adjustment Methods. *PLoS ONE* [online]. **6**(2), e17238 [vid. 2022-03-23]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0017238
- CHEN, Juan, Yan LI, Jianlei WU, Yakun LIU a Shan KANG, 2021. Whole-exome sequencing reveals potential germline and somatic mutations in 60 malignant ovarian germ cell tumors†. *Biology of Reproduction* [online]. **105**(1), 164–178 [vid. 2023-04-04]. ISSN 0006-3363. Dostupné z: doi:10.1093/biolre/ioab052
- CHEN, Shifu, Yanqing ZHOU, Yaru CHEN a Jia GU, 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics (Oxford, England)* [online]. **34**(17), i884–i890. ISSN 1367-4811. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/bty560
- CHEN, Tenghui, Zixing WANG, Wanding ZHOU, Zechen CHONG, Funda MERIC-BERNSTAM, Gordon B. MILLS a Ken CHEN, 2016. Hotspot mutations delineating diverse mutational signatures and biological utilities across cancer types. *BMC genomics* [online]. **17** Suppl 2, 394. ISSN 1471-2164. Dostupné z: doi:10.1186/s12864-016-2727-x
- CHENG, Donavan T., Talia N. MITCHELL, Ahmet ZEHİR, Ronak H. SHAH, Ryma BENAYED, Aijazuddin SYED, Raghu CHANDRAMOHAN, Zhen Yu LIU, Helen H. WON, Sasinya N. SCOTT, A. Rose BRANNON, Catherine O'REILLY, Justyna SADOWSKA, Jacklyn CASANOVA, Angela YANNES, Jaelyn F. HECHTMAN, Jinjuan YAO, Wei SONG, Dara S. ROSS, Alifya OULTACHE, Snjezana DOGAN, Laetitia BORSU, Meera HAMEED, Khedoudja NAFA, Maria E. ARCILA, Marc LADANYI a Michael F. BERGER, 2015. Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets (MSK-IMPACT): A Hybridization Capture-Based Next-Generation Sequencing Clinical Assay for Solid Tumor Molecular Oncology. *The Journal of molecular diagnostics: JMD* [online]. **17**(3), 251–264. ISSN 1943-7811. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmoldx.2014.12.006
- CHENG, Donavan T., Meera PRASAD, Yvonne CHEKALUK, Ryma BENAYED, Justyna SADOWSKA, Ahmet ZEHİR, Aijazuddin SYED, Yan Elsa WANG, Joshua SOMAR, Yirong LI, Zarina YELSKAYA, Donna WONG, Mark E. ROBSON, Kenneth OFFIT, Michael F. BERGER, Khedoudja NAFA, Marc LADANYI a Liying ZHANG, 2017. Comprehensive detection of germline variants by MSK-IMPACT, a clinical diagnostic platform for solid tumor molecular oncology and concurrent cancer predisposition testing. *BMC medical genomics* [online]. **10**(1), 33. ISSN 1755-8794. Dostupné z: doi:10.1186/s12920-017-0271-4

- CHISAKI, I., M. KOBAYASHI, S. ITAGAKI, T. HIRANO a K. ISEKI, 2009. Liver X receptor regulates expression of MRP2 but not that of MDR1 and BCRP in the liver. *Biochim Biophys Acta* [online]. **1788**(11), 2396–403. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbamem.2009.08.014
- CHOI, Yoon-Jung, Seung-Kwon MYUNG a Ji-Ho LEE, 2017. Light Alcohol Drinking and Risk of Cancer: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association* [online]. **50**(2), 474–487 [vid. 2022-10-31]. Dostupné z: doi:10.4143/crt.2017.094
- CHRISTIE, E. L. a D. D. L. BOWTELL, 2017. Acquired chemotherapy resistance in ovarian cancer. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* [online]. **28**(suppl\_8), viii13–viii15. ISSN 1569-8041. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdx446
- IULIANO, Luigi, 2011. Pathways of cholesterol oxidation via non-enzymatic mechanisms. *Chemistry and Physics of Lipids* [online]. **164**(6), 457–468. ISSN 0009-3084. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2011.06.006
- JACOBSEN, Paul B. a Michael A. ANDRYKOWSKI, 2015. Tertiary prevention in cancer care: understanding and addressing the psychological dimensions of cancer during the active treatment period. *The American Psychologist* [online]. **70**(2), 134–145. ISSN 1935-990X. Dostupné z: doi:10.1037/a0036513
- JAKOBSSON, Tomas, Eckardt TREUTER, Jan-Åke GUSTAFSSON a Knut R. STEFFENSEN, 2012. Liver X receptor biology and pharmacology: new pathways, challenges and opportunities. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. **33**(7), 394–404. ISSN 1873-3735. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2012.03.013
- JAVITT, N. B. a J. C. JAVITT, 2009. The retinal oxysterol pathway: a unifying hypothesis for the cause of age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol* [online]. **20**(3), 151–7. ISSN 1531-7021. Dostupné z: doi:10.1097/ICU.0b013e32832af468
- JAWORSKI, C. J., E. MOREIRA, A. LI, R. LEE a I. R. RODRIGUEZ, 2001. A family of 12 human genes containing oxysterol-binding domains. *Genomics* [online]. **78**(3), 185–96. Dostupné z: doi:10.1006/geno.2001.6663
- JEITNER, T. M., I. VOLOSHYNA a A. B. REISS, 2011. Oxysterol derivatives of cholesterol in neurodegenerative disorders. *Curr Med Chem* [online]. **18**(10), 1515–25. ISSN 1875-533X. Dostupné z: doi:10.2174/092986711795328445
- JESELSON, R., C. DE ANGELIS, M. BROWN a R. SCHIFF, 2017. The Evolving Role of the Estrogen Receptor Mutations in Endocrine Therapy-Resistant Breast Cancer. *Curr Oncol Rep* [online]. **19**(5), 35. ISSN 1534-6269. Dostupné z: doi:10.1007/s11912-017-0591-8
- JESS, Tine, Christine RUNGOE a Laurent PEYRIN–BIROULET, 2012. Risk of Colorectal Cancer in Patients With Ulcerative Colitis: A Meta-analysis of Population-Based Cohort Studies. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* [online]. **10**(6), 639–645 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1542-3565. Dostupné z: doi:10.1016/j.cgh.2012.01.010
- JETTEN, A. M., 2009. Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles in development, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *Nucl Recept Signal* [online]. **7**, e003. ISSN 1550-7629. Dostupné z: doi:10.1621/nrs.07003
- JIA, M., K. DAHLMAN-WRIGHT a J. GUSTAFSSON, 2015. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [online]. **29**(4), 557–68. ISSN 1878-1594. Dostupné z: doi:10.1016/j.beem.2015.04.008
- JIA, Qingzhu, Jun WANG, Ning HE, Ji HE a Bo ZHU, 2019. Titin mutation associated with responsiveness to checkpoint blockades in solid tumors. *JCI Insight* [online]. **4**(10) [vid. 2023-04-04]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/jci.insight.127901
- JOHNSON, W. Evan, Cheng LI a Ariel RABINOVIC, 2007. Adjusting batch effects in microarray expression data using empirical Bayes methods. *Biostatistics* [online]. **8**(1), 118–127 [vid. 2022-03-23]. ISSN 1465-4644. Dostupné z: doi:10.1093/biostatistics/kxj037
- JONES, Glenville, David E. PROSSER a Martin KAUFMANN, 2014. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *Journal of Lipid Research* [online]. **55**(1), 13–31. ISSN 1539-7262. Dostupné z: doi:10.1194/jlr.R031534

JU, Xiaoli, Pan HUANG, Miao CHEN a Qiang WANG, 2017. Liver X receptors as potential targets for cancer therapeutics. *Oncology Letters* [online]. **14**(6), 7676–7680. ISSN 1792-1074. Dostupné z: doi:10.3892/ol.2017.7259

KANDUTSCH, A. A., H. W. CHEN a H. J. HEINIGER, 1978. Biological activity of some oxygenated sterols. *Science (New York, N.Y.)* [online]. **201**(4355), 498–501. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.663671

KANEHISA, Minoru a Susumu GOTO, 2000. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research* [online]. **28**(1), 27–30 [vid. 2023-03-17]. ISSN 0305-1048. Dostupné z: doi:10.1093/nar/28.1.27

KAPLAN, E. L. a Paul MEIER, 1958. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association* [online]. **53**(282), 457–481 [vid. 2023-03-17]. ISSN 0162-1459, 1537-274X. Dostupné z: doi:10.1080/01621459.1958.10501452

KARCZEWSKI, Konrad J., Laurent C. FRANCIOLI, Grace TIAO, Beryl B. CUMMINGS, Jessica ALFÖLDI, Qingbo WANG, Ryan L. COLLINS, Kristen M. LARICCHIA, Andrea GANNA, Daniel P. BIRNBAUM, Laura D. GAUTHIER, Harrison BRAND, Matthew SOLOMONSON, Nicholas A. WATTS, Daniel RHODES, Moriel SINGER-BERK, Eleina M. ENGLAND, Eleanor G. SEABY, Jack A. KOSMICKI, Raymond K. WALTERS, Katherine TASHMAN, Yossi FARJOUN, Eric BANKS, Timothy POTERBA, Arcturus WANG, Cotton SEED, Nicola WHIFFIN, Jessica X. CHONG, Kaitlin E. SAMOCHA, Emma PIERCE-HOFFMAN, Zachary ZAPPALA, Anne H. O'DONNELL-LURIA, Eric Vallabh MINIKEL, Ben WEISBURD, Monkol LEK, James S. WARE, Christopher VITTAL, Irina M. ARMEAN, Louis BERGELSON, Kristian CIBULSKIS, Kristen M. CONNOLLY, Miguel COVARRUBIAS, Stacey DONNELLY, Steven FERRIERA, Stacey GABRIEL, Jeff GENTRY, Namrata GUPTA, Thibault JEANDET, Diane KAPLAN, Christopher LLANWARNE, Ruchi MUNSHI, Sam NOVOD, Nikelle PETRILLO, David ROAZEN, Valentin RUANO-RUBIO, Andrea SALTZMAN, Molly SCHLEICHER, Jose SOTO, Kathleen TIBBETTS, Charlotte TOLONEN, Gordon WADE, Michael E. TALKOWSKI, Genome Aggregation Database (gnomAD) CONSORTIUM, Benjamin M. NEALE, Mark J. DALY a Daniel G. MACARTHUR, 2020. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *bioRxiv* [online]. 531210 [vid. 2020-04-28]. Dostupné z: doi:10.1101/531210

KATZ, M. H. a W. W. HAUCK, 1993. Proportional hazards (Cox) regression. *Journal of General Internal Medicine* [online]. **8**(12), 702–711. ISSN 0884-8734. Dostupné z: doi:10.1007/BF02598295

KEDJOUAR, B., P. DE MÉDINA, M. OULAD-ABDELGHANI, B. PAYRÉ, S. SILVENTE-POIROT, G. FAVRE, J. C. FAYE a M. POIROT, 2004. Molecular characterization of the microsomal tamoxifen binding site. *J Biol Chem* [online]. **279**(32), 34048–61. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M405230200

KEUM, NaNa a Edward GIOVANNUCCI, 2019. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* [online]. **16**(12), 713–732 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1759-5053. Dostupné z: doi:10.1038/s41575-019-0189-8

KHAN, Muhammad Zafar Irshad, Muhammad UZAIR, Adila NAZLI a Jian-Zhong CHEN, 2022. An overview on Estrogen receptors signaling and its ligands in breast cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. **241**, 114658. ISSN 1768-3254. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejmech.2022.114658

KHANLARKHANI, Neda, Elham AZIZI, Fardin AMIDI, Mahshad KHODARAHMIAN, Ensieh SALEHI, Azar PAZHOGHAN, Bagher FARHOOD, Keywan MORTEZAE, Nasser Hashemi GORADEL a Maryam Shabani NASHTAEI, 2022. Metabolic risk factors of ovarian cancer: a review. *JBRA assisted reproduction* [online]. **26**(2), 335–347. ISSN 1518-0557. Dostupné z: doi:10.5935/1518-0557.20210067

KHAZAEI, Zaher, Seyede Mahdieh NAMAYANDEH, Reza BEIRANVAND, Hasan NAEMI, Seyyede Maryam BECHASHK a Elham GOODARZI, 2021. Worldwide incidence and mortality of ovarian cancer and Human Development Index (HDI): GLOBOCAN sources and methods 2018. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene* [online]. **62**(1), E174–E184. ISSN 2421-4248. Dostupné z: doi:10.15167/2421-4248/jpmh2021.62.1.1606

KIM, Woo-Kyun, Vicente MELITON, Sotirios TETRADIS, Gerry WEINMASTER, Theodore J. HAHN, Marc CARLSON, Stanley F. NELSON a Farhad PARHAMI, 2010. Osteogenic oxysterol, 20(S)-hydroxycholesterol, induces notch target gene expression in bone marrow stromal cells. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* [online]. **25**(4), 782–795. ISSN 1523-4681. Dostupné z: doi:10.1359/jbmr.091024

- KISLING, Lisa A. a Joe M DAS, 2023. Prevention Strategies. In: *StatPearls* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537222/>
- KISS ET AL., 2023. *Modrá kniha České onkologické společnosti* [online]. 29. vyd. Brno: Masarykův onkologický ústav. ISBN 978-80-86793-55-9. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/files/modra-kniha/22.pdf>
- KLOUDOVA, A., F. P. GUENGERICH a P. SOUCEK, 2017. The Role of Oxysterols in Human Cancer. *Trends in Endocrinology and Metabolism* [online]. **28**(7), 485–496. ISSN 1043-2760. Dostupné z: doi:10.1016/j.tem.2017.03.002
- KLOUDOVA-SPALENKOVA, Alzbeta, Petr HOLY a Pavel SOUCEK, 2021. Oxysterols in cancer management: From therapy to biomarkers. *British Journal of Pharmacology* [online]. **178**(16), 3235–3247. ISSN 1476-5381. Dostupné z: doi:10.1111/bph.15273
- KLOUDOVA-SPALENKOVA, Alzbeta, Yune-Fang UENG, Shouzou WEI, Katerina KOPECKOVA, F. PETER GUENGERICH a Pavel SOUCEK, 2020. Plasma oxysterol levels in luminal subtype breast cancer patients are associated with clinical data. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* [online]. **197**, 105566 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0960-0760. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsbmb.2019.105566
- KOH, Gene, Andrea DEGASPERI, Xueqing ZOU, Sophie MOMEN a Serena NIK-ZAINAL, 2021. Mutational signatures: emerging concepts, caveats and clinical applications. *Nature Reviews Cancer* [online]. **21**(10), 619–637 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1474-1768. Dostupné z: doi:10.1038/s41568-021-00377-7
- KOLAK, Agnieszka, Marzena KAMIŃSKA, Katarzyna SYGIT, Agnieszka BUDNY, Dariusz SURDYKA, Bożena KUKIEŁKA-BUDNY a Franciszek BURDAN, 2017. Primary and secondary prevention of breast cancer. *Annals of agricultural and environmental medicine: AAEM* [online]. **24**(4), 549–553. ISSN 1898-2263. Dostupné z: doi:10.26444/aaem/75943
- KOMATI, Rajesh, Dominick SPADONI, Shilong ZHENG, Jayalakshmi SRIDHAR, Kevin E. RILEY a Guangdi WANG, 2017. Ligands of Therapeutic Utility for the Liver X Receptors. *Molecules (Basel, Switzerland)* [online]. **22**(1). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22010088
- KOUTSOUNAS, Ioannis, Efstratios PATSOURIS a Stamatios THEOCHARIS, 2013a. Pregnane X receptor and human malignancy. *Histology and Histopathology* [online]. **28**(4), 405–420. ISSN 1699-5848. Dostupné z: doi:10.14670/HH-28.405
- KOUTSOUNAS, Ioannis, Stamatios THEOCHARIS, Efstratios PATSOURIS a Constantinos GIAGINIS, 2013b. Pregnane X receptor (PXR) at the crossroads of human metabolism and disease. *Current Drug Metabolism* [online]. **14**(3), 341–350. ISSN 1875-5453. Dostupné z: doi:10.14670/HH-28.405
- KREIPE, Hans, Nadia HARBECK a Matthias CHRISTGEN, 2022. Clinical validity and clinical utility of Ki67 in early breast cancer. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* [online]. **14**, 17588359221122724 [vid. 2022-10-04]. ISSN 1758-8340. Dostupné z: doi:10.1177/17588359221122725
- KRÜGER, Sandra a Rosario M. PIRO, 2019. decompTumor2Sig: identification of mutational signatures active in individual tumors. *BMC Bioinformatics* [online]. **20**(4), 152 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1471-2105. Dostupné z: doi:10.1186/s12859-019-2688-6
- KULIG, W., L. CWIKLIK, P. JURKIEWICZ, T. ROG a I. VATTULAINEN, 2016a. Cholesterol oxidation products and their biological importance. *Chemistry and Physics of Lipids* [online]. **199**, 144–160. ISSN 0009-3084. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2016.03.001
- KULIG, W., A. OLZYNSKA, P. JURKIEWICZ, A. M. KANTOLA, M. MANNA, M. POURMOUSA, M. VAZDAR, L. CWIKLIK, T. ROG, G. KHELASHVILI, D. HARRIES, V. V. TELKKI, M. HOF, I. VATTULAINEN a P. JUNGWIRTH, 2016b. Oxidation of Cholesterol Changes the Physical Properties of Lipid Membranes. *Biophysical Journal* [online]. **110**(3), 84A–84A. ISSN 0006-3495. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpj.2015.11.512
- KUNICKÁ, T. a P. SOUČEK, 2014. Importance of ABCC1 for cancer therapy and prognosis. *Drug Metab Rev* [online]. **46**(3), 325–42. Dostupné z: doi:10.3109/03602532.2014.901348
- KUZU, O. F., M. A. NOORY a G. P. ROBERTSON, 2016. The Role of Cholesterol in Cancer. *Cancer Res* [online]. **76**(8), 2063–70. Dostupné z: doi:10.1158/0008-5472.CAN-15-2613
- KYRIAKIDIS, I. a P. PAPAIOANNIDOU, 2016. Estrogen receptor beta and ovarian cancer: a key to pathogenesis and response to therapy. *Arch Gynecol Obstet* [online]. **293**(6), 1161–8. ISSN 1432-0711. Dostupné z: doi:10.1007/s00404-016-4027-8

- LAI, Zhongwu, Aleksandra MARKOVETS, Miika AHDESMAKI, Brad CHAPMAN, Oliver HOFMANN, Robert MCEWEN, Justin JOHNSON, Brian DOUGHERTY, J. Carl BARRETT a Jonathan R. DRY, 2016. VarDict: a novel and versatile variant caller for next-generation sequencing in cancer research. *Nucleic Acids Research* [online]. **44**(11), e108. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkw227
- LAMB, Caroline A., Silvia I. VANZULLI a Claudia LANARI, 2019. Hormone receptors in breast cancer: more than estrogen receptors. *Medicina*. **79**(Spec 6/1), 540–545. ISSN 1669-9106.
- LANGE, Yvonne, Daniel S. ORY, Jin YE, Michael H. LANIER, Fong-Fu HSU a Theodore L. STECK, 2008. Effectors of rapid homeostatic responses of endoplasmic reticulum cholesterol and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. **283**(3), 1445–1455. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M706967200
- LAPPANO, R., A. G. RECCHIA, E. M. DE FRANCESCO, T. ANGELONE, M. C. CERRA, D. PICARD a M. MAGGIOLINI, 2011. The cholesterol metabolite 25-hydroxycholesterol activates estrogen receptor  $\alpha$ -mediated signaling in cancer cells and in cardiomyocytes. *PLoS One* [online]. **6**(1), e16631. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0016631
- LAWRENCE, Michael S., Petar STOJANOV, Paz POLAK, Gregory V. KRYUKOV, Kristian CIBULSKIS, Andrey SIVACHENKO, Scott L. CARTER, Chip STEWART, Craig H. MERMEL, Steven A. ROBERTS, Adam KIEZUN, Peter S. HAMMERMAN, Aaron MCKENNA, Yotam DRIER, Lihua ZOU, Alex H. RAMOS, Trevor J. PUGH, Nicolas STRANSKY, Elena HELMAN, Jaegil KIM, Carrie SOUGNEZ, Lauren AMBROGIO, Elizabeth NICKERSON, Erica SHEFLER, Maria L. CORTÉS, Daniel AUCLAIR, Gordon SAKSENA, Douglas VOET, Michael NOBLE, Daniel DICARA, Pei LIN, Lee LICHTENSTEIN, David I. HEIMAN, Timothy FENNELL, Marcin IMIELINSKI, Bryan HERNANDEZ, Eran HODIS, Sylvan BACA, Austin M. DULAK, Jens LOHR, Dan-Avi LANDAU, Catherine J. WU, Jorge MELENDEZ-ZAJGLA, Alfredo HIDALGO-MIRANDA, Amnon KOREN, Steven A. MCCARROLL, Jaume MORA, Ryan S. LEE, Brian CROMPTON, Robert ONOFRIO, Melissa PARKIN, Wendy WINCKLER, Kristin ARDLIE, Stacey B. GABRIEL, Charles W. M. ROBERTS, Jaclyn A. BIEGEL, Kimberly STEGMAIER, Adam J. BASS, Levi A. GARRAWAY, Matthew MEYERSON, Todd R. GOLUB, Dmitry A. GORDENIN, Shamil SUNYAEV, Eric S. LANDER a Gad GETZ, 2013. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* [online]. **499**(7457), 214–218 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature12213
- LEE, W. R., T. ISHIKAWA a M. UMETANI, 2014. The interaction between metabolism, cancer and cardiovascular disease, connected by 27-hydroxycholesterol. *Clin Lipidol* [online]. **9**(6), 617–624. ISSN 1758-4299. Dostupné z: doi:10.2217/clp.14.53
- LEFEBVRE, C., T. BACHELOT, T. FILLERON, M. PEDRERO, M. CAMPONE, J. C. SORIA, C. MASSARD, C. LÉVY, M. ARNEDOS, M. LACROIX-TRIKI, J. GARRABEY, Y. BOURSIN, M. DELOGER, Y. FU, F. COMMO, V. SCOTT, L. LACROIX, M. V. DIECI, M. KAMAL, V. DIÉRAS, A. GONÇALVES, J. M. FERRERRO, G. ROMIEU, L. VANLEMMENS, M. A. MOURET REYNIER, J. C. THÉRY, F. LE DU, S. GUIU, F. DALENC, G. CLAPISSON, H. BONNEFOI, M. JIMENEZ, C. LE TOURNEAU a F. ANDRÉ, 2016. Mutational Profile of Metastatic Breast Cancers: A Retrospective Analysis. *PLoS Med* [online]. **13**(12), e1002201. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pmed.1002201
- LEHMANN, J. M., S. A. KLIEWER, L. B. MOORE, T. A. SMITH-OLIVER, B. B. OLIVER, J. L. SU, S. S. SUNDSETH, D. A. WINEGAR, D. E. BLANCHARD, T. A. SPENCER a T. M. WILLSON, 1997. Activation of the nuclear receptor LXR by oxysterols defines a new hormone response pathway. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. **272**(6), 3137–3140. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.272.6.3137
- LEIJEN, Suzanne, Robin M.J.M. VAN GEEL, Gabe S. SONKE, Daphne DE JONG, Efraim H. ROSENBERG, Serena MARCHETTI, Dick PLUIM, Erik VAN WERKHOVEN, Shelonitda ROSE, Mark A. LEE, Tomoko FRESHWATER, Jos H. BEIJNEN a Jan H.M. SCHELLENS, 2016. Phase II Study of WEE1 Inhibitor AZD1775 Plus Carboplatin in Patients With TP53-Mutated Ovarian Cancer Refractory or Resistant to First-Line Therapy Within 3 Months. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **34**(36), 4354–4361 [vid. 2023-04-04]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2016.67.5942
- LEINONEN, Rasko, Hideaki SUGAWARA a Martin SHUMWAY, 2011. The Sequence Read Archive. *Nucleic Acids Research* [online]. **39**(Database issue), D19–D21 [vid. 2023-03-31]. ISSN 0305-1048. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkq1019

- LEVY, D., T. C. DE MELO, J. L. M. RUIZ a S. P. BYDŁOWSKI, 2017. Oxysterols and mesenchymal stem cell biology. *Chem Phys Lipids* [online]. **207**(Pt B), 223–230. ISSN 1873-2941. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2017.06.009
- LI, B., Y. WANG, Y. XU, H. LIU, W. BLOOMER, D. ZHU, C. I. AMOS, S. FANG, J. E. LEE, X. LI, J. HAN a Q. WEI, 2018a. Genetic variants in RORA and DNMT1 associated with cutaneous melanoma survival. *Int J Cancer* [online]. ISSN 1097-0215. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.31243
- LI, H., X. WANG, Y. FANG, Z. HUO, X. LU, X. ZHAN, X. DENG, C. PENG a B. SHEN, 2017. Integrated expression profiles analysis reveals novel predictive biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncotarget* [online]. **8**(32), 52571–52583. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.16732
- LI, Heng, 2013. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv:1303.3997 [q-bio]* [online]. [vid. 2021-01-11]. Dostupné z: <http://arxiv.org/abs/1303.3997>
- LI, Heng a Richard DURBIN, 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics* [online]. **25**(14), 1754–1760 [vid. 2023-03-15]. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/btp324
- LI, Chuansheng, Jingwei ZHANG, Zhongliang MA, Fan ZHANG a Wenlong YU, 2018b. miR-19b serves as a prognostic biomarker of breast cancer and promotes tumor progression through PI3K/AKT signaling pathway. *Oncotargets and Therapy* [online]. **11**, 4087–4095 [vid. 2023-03-14]. Dostupné z: doi:10.2147/OTT.S171043
- LICHTENSTEIN, Paul, Niels V. HOLM, Pia K. VERKASALO, Anastasia ILIADOU, Jaakko KAPRIO, Markku KOSKENVUO, Eero PUKKALA, Axel SKYTTHE a Kari HEMMINKI, 2000. Environmental and Heritable Factors in the Causation of Cancer — Analyses of Cohorts of Twins from Sweden, Denmark, and Finland. *New England Journal of Medicine* [online]. **343**(2), 78–85 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM200007133430201
- LIN, Chin-Yo, Lise-Lotte VEDIN a Knut R. STEFFENSEN, 2016. The emerging roles of liver X receptors and their ligands in cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* [online]. **20**(1), 61–71. ISSN 1744-7631. Dostupné z: doi:10.1517/14728222.2015.1081169
- LINSEISEN, Jakob, Günther WOLFRAM a Anthony B. MILLER, 2002. Plasma 7 $\beta$ -Hydroxycholesterol as a Possible Predictor of Lung Cancer Risk1. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. **11**(12), 1630–1637. ISSN 1055-9965.
- LIPKIN, S. M., E. C. CHAO, V. MORENO, L. S. ROZEK, H. RENNERT, M. PINCHEV, D. DIZON, G. RENNERT, L. KOPELOVICH a S. B. GRUBER, 2010. Genetic variation in 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase modifies the chemopreventive activity of statins for colorectal cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* [online]. **3**(5), 597–603. ISSN 1940-6215. Dostupné z: doi:10.1158/1940-6207.CAPR-10-0007
- LIU, Lu, Mei-Yuan LI, Yu XING, Xiao-Yun WANG a Yong WANG, 2019. The oncogenic roles of 27-hydroxycholesterol in glioblastoma. *Oncology Letters* [online]. **18**(4), 3623–3629 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1792-1074. Dostupné z: doi:10.3892/ol.2019.10690
- LIU, Qi, Xiaoxiao DU, Zhenjun YU, Qingbin YAO, Xiaoxiang MENG, Kun ZHANG, Lina ZHENG a Wei HONG, 2022. STARD5 as a potential clinical target of hepatocellular carcinoma. *Medical Oncology (Northwood, London, England)* [online]. **39**(10), 156. ISSN 1559-131X. Dostupné z: doi:10.1007/s12032-022-01750-8
- LOIBL, Sibylle a Luca GIANNI, 2017. HER2-positive breast cancer. *The Lancet* [online]. **389**(10087), 2415–2429 [vid. 2022-10-04]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(16)32417-5
- LOILOME, W., P. WECHAGAMA, N. NAMWAT, A. JUSAKUL, B. SRIPA, M. MIWA, R. KUIVER a P. YONGVANIT, 2012. Expression of oxysterol binding protein isoforms in opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma: a potential molecular marker for tumor metastasis. *Parasitol Int* [online]. **61**(1), 136–9. Dostupné z: doi:10.1016/j.parint.2011.07.003
- LOOMANS-KROPP, Holli A. a Asad UMAR, 2019. Cancer prevention and screening: the next step in the era of precision medicine. *npj Precision Oncology* [online]. **3**(1), 1–8 [vid. 2023-04-17]. ISSN 2397-768X. Dostupné z: doi:10.1038/s41698-018-0075-9
- LU, Da-Lin, Charlotte LE CORNET, Disorn SOOKTHAI, Theron S JOHNSON, Rudolf KAKS a Renée T FORTNER, 2019. Circulating 27-Hydroxycholesterol and Breast Cancer Risk: Results From the EPIC-



- Heidelberg Cohort. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* [online]. **111**(4), 365–371 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0027-8874. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/djy115
- LUTGENS, Maurice W. M. D., Martijn G. H. VAN OIJEN, Geert J. M. G. VAN DER HEIJDEN, Frank P. VLEGGAAAR, Peter D. SIERSEMA a Bas OLDENBURG, 2013. Declining Risk of Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease: An Updated Meta-analysis of Population-based Cohort Studies. *Inflammatory Bowel Diseases* [online]. **19**(4), 789–799 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1078-0998. Dostupné z: doi:10.1097/MIB.0b013e31828029c0
- LUTHRA, Anisha, Brooke MASTROGIACOMO, Shaleigh A. SMITH, Debyani CHAKRAVARTY, Nikolaus SCHULTZ a Francisco SANCHEZ-VEGA, 2022. Computational methods and translational applications for targeted next-generation sequencing platforms. *Genes, Chromosomes and Cancer* [online]. **61**(6), 322–331 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1098-2264. Dostupné z: doi:10.1002/gcc.23023
- MA, Zhiqiang, Chao DENG, Wei HU, Jie ZHOU, Chongxi FAN, Shouyin DI, Dong LIU, Yang YANG a Dongjin WANG, 2017. Liver X Receptors and their Agonists: Targeting for Cholesterol Homeostasis and Cardiovascular Diseases. *Current Issues in Molecular Biology* [online]. **22**, 41–64. ISSN 1467-3045. Dostupné z: doi:10.21775/cimb.022.041
- MANN, H. B. a D. R. WHITNEY, 1947. On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. *The Annals of Mathematical Statistics* [online]. **18**(1), 50–60 [vid. 2023-03-17]. ISSN 0003-4851. Dostupné z: doi:10.1214/aoms/1177730491
- MAO, Jialin, Iain MARTIN, James MCLEOD, Gail NOLAN, Robert VAN HORN, Manoli VOURVAHIS a Yvonne S. LIN, 2017. Perspective: 4 $\beta$ -hydroxycholesterol as an emerging endogenous biomarker of hepatic CYP3A. *Drug Metabolism Reviews* [online]. **49**(1), 18–34. ISSN 1097-9883. Dostupné z: doi:10.1080/03602532.2016.1239630
- MAQDASY, Salwan, Amalia TROUSSON, Igor TAUVERON, David H. VOLLE, Silvère BARON a Jean-Marc A. LOBACCARO, 2016. Once and for all, LXR $\alpha$  and LXR $\beta$  are gatekeepers of the endocrine system. *Molecular Aspects of Medicine* [online]. **49**, 31–46. ISSN 1872-9452. Dostupné z: doi:10.1016/j.mam.2016.04.001
- MARIANI, Sara, Luca BERTERO, Vittoria COPPOLA, Giorgio SARACCO, Alberto AREZZO, Paola FRANZIA DI CELLE, Jasna METOVIC, Caterina MARCHIO a Paola CASSONI, 2018. Awareness of mutational artefacts in suboptimal DNA samples: possible risk for therapeutic choices. *Expert Review of Molecular Diagnostics* [online]. **18**(5), 467–475. ISSN 1744-8352. Dostupné z: doi:10.1080/14737159.2018.1468254
- MARTELLI, Valentino, Alessandro PASTORINO a Alberto F. SOBRERO, 2022. Prognostic and predictive molecular biomarkers in advanced colorectal cancer. *Pharmacology & Therapeutics* [online]. **236**, 108239. ISSN 1879-016X. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2022.108239
- MARTINS, Carlos, Maciek GODYCKI-CWIRKO, Bruno HELENO a John BRODERSEN, 2018. Quaternary prevention: reviewing the concept. *The European Journal of General Practice* [online]. **24**(1), 106–111 [vid. 2023-04-17]. ISSN 1381-4788. Dostupné z: doi:10.1080/13814788.2017.1422177
- MASARYKOVA UNIVERZITA, IBA LF, 2022. Kolorektum.cz. *Kolorektum.cz* [online] [vid. 2022-10-31]. Dostupné z: <https://www.kolorektum.cz/cs/lekari/screeningovy-proces/>
- MASKARINEC, Gertraud, Yukiko MORIMOTO, Yumie TAKATA, Suzanne P. MURPHY a Frank Z. STANCZYK, 2006. Alcohol and dietary fibre intakes affect circulating sex hormones among premenopausal women. *Public Health Nutrition* [online]. **9**(7), 875–881. ISSN 1368-9800. Dostupné z: doi:10.1017/phn2005923
- MAST, N., A. J. ANNALORA, D. T. LODOWSKI, K. PALCZEWSKI, C. D. STOUT a I. A. PIKULEVA, 2011. Structural basis for three-step sequential catalysis by the cholesterol side chain cleavage enzyme CYP11A1. *J Biol Chem* [online]. **286**(7), 5607–13. ISSN 1083-351X. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M110.188433
- MAYAKONDA, Anand, De-Chen LIN, Yassen ASSENOV, Christoph PLASS a H. Phillip KOEFFLER, 2018. Maftools: efficient and comprehensive analysis of somatic variants in cancer. *Genome Research* [online]. **28**(11), 1747–1756 [vid. 2021-01-11]. ISSN 1088-9051. Dostupné z: doi:10.1101/gr.239244.118

MCCLUGGAGE, W. Glenn, 2011. Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. *Pathology* [online]. **43**(5), 420–432 [vid. 2022-10-25]. ISSN 0031-3025. Dostupné z: doi:10.1097/PAT.0b013e328348a6e7

MCDONOUGH, Samantha J., Aditya BHAGWATE, Zhifu SUN, Chen WANG, Michael ZSCHUNKE, Joshua A. GORMAN, Karla J. KOPP a Julie M. CUNNINGHAM, 2019. Use of FFPE-derived DNA in next generation sequencing: DNA extraction methods. *PLOS ONE* [online]. **14**(4), e0211400 [vid. 2023-04-05]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0211400

MCKAY, J. D., R. J. HUNG, Y. HAN, X. ZONG, R. CARRERAS-TORRES, D. C. CHRISTIANI, N. E. CAPORASO, M. JOHANSSON, X. XIAO, Y. LI, J. BYUN, A. DUNNING, K. A. POOLEY, D. C. QIAN, X. JI, G. LIU, M. N. TIMOFEEVA, S. E. BOJESEN, X. WU, L. LE MARCHAND, D. ALBANES, H. BICKEBÖLLER, M. C. ALDRICH, W. S. BUSH, A. TARDON, G. RENNERT, M. D. TEARE, J. K. FIELD, L. A. KIEMENEY, P. LAZARUS, A. HAUGEN, S. LAM, M. B. SCHABATH, A. S. ANDREW, H. SHEN, Y. C. HONG, J. M. YUAN, P. A. BERTAZZI, A. C. PESATORI, Y. YE, N. DIAO, L. SU, R. ZHANG, Y. BRHANE, N. LEIGHL, J. S. JOHANSEN, A. MELLEMGGAARD, W. SALIBA, C. A. HAIMAN, L. R. WILKENS, A. FERNANDEZ-SOMOANO, G. FERNANDEZ-TARDON, H. F. M. VAN DER HEIJDEN, J. H. KIM, J. DAI, Z. HU, M. P. A. DAVIES, M. W. MARCUS, H. BRUNNSTRÖM, J. MANJER, O. MELANDER, D. C. MULLER, K. OVERVAD, A. TRICHOPOULOU, R. TUMINO, J. A. DOHERTY, M. P. BARNETT, C. CHEN, G. E. GOODMAN, A. COX, F. TAYLOR, P. WOLL, I. BRÜSKE, H. E. WICHMANN, J. MANZ, T. R. MULEY, A. RISCH, A. ROSENBERGER, K. GRANKVIST, F. A. SHEPHERD, M. S. TSAO, S. M. ARNOLD, E. B. HAURA, C. BOLCA, I. HOLCATOVA, V. JANOUT, M. KONTIC, J. LISSOWSKA, A. MUKERIA, S. OGNJANOVIC, T. M. ORLOWSKI, G. SCELO, B. SWIATKOWSKA, D. ZARIDZE, P. BAKKE, V. SKAUG, S. ZIENOLDDINY, E. J. DUELL, L. M. BUTLER, W. P. KOH, Y. T. GAO, R. S. HOULSTON, J. MCLAUGHLIN, V. L. STEVENS, P. JOUBERT, M. LAMONTAGNE, D. C. NICKLE, M. OBEIDAT, W. TIMENS, B. ZHU, L. SONG, L. KACHURI, M. S. ARTIGAS, M. D. TOBIN, L. V. WAIN, T. RAFNAR, T. E. THORGEIRSSON, G. W. REGINSSON, K. STEFANSSON, D. B. HANCOCK, L. J. BIERUT, M. R. SPITZ, N. C. GADDIS, S. M. LUTZ, F. GU, E. O. JOHNSON, A. KAMAL, C. PIKIELNY, D. ZHU, S. LINDSTRÖEM, X. JIANG, R. F. TYNDALE, G. CHENEVIX-TRENCH, J. BEESLEY, Y. BOSSÉ, S. CHANOCK, P. BRENNAN, M. T. LANDI, C. I. AMOS a SpiroMeta CONSORTIUM, 2017. Large-scale association analysis identifies new lung cancer susceptibility loci and heterogeneity in genetic susceptibility across histological subtypes. *Nat Genet* [online]. **49**(7), 1126–1132. ISSN 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng.3892

MCLAREN, William, Laurent GIL, Sarah E. HUNT, Harpreet Singh RIAT, Graham R. S. RITCHIE, Anja THORMANN, Paul FLICEK a Fiona CUNNINGHAM, 2016. The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biology* [online]. **17**(1), 122 [vid. 2021-01-11]. ISSN 1474-760X. Dostupné z: doi:10.1186/s13059-016-0974-4

MEDINA, Marisa Wong, 2010. The relationship between HMGCR genetic variation, alternative splicing, and statin efficacy. *Discovery Medicine*. **9**(49), 495–499. ISSN 1944-7930.

MENEZES, Maria Clara Saad, Farah RAHEEM, Lida MINA, Brenda ERNST a Felipe BATALINI, 2022. PARP Inhibitors for Breast Cancer: Germline BRCA1/2 and Beyond. *Cancers* [online]. **14**(17), 4332 [vid. 2022-10-04]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers14174332

MI, Huaiyu, Anushya MURUGANUJAN a Paul D. THOMAS, 2013. PANTHER in 2013: modeling the evolution of gene function, and other gene attributes, in the context of phylogenetic trees. *Nucleic Acids Research* [online]. **41**(D1), D377–D386 [vid. 2023-03-17]. ISSN 0305-1048. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gks1118

MOCELLIN, Simone, Annabel GOODWIN a Sandro PASQUALI, 2019. Risk-reducing medications for primary breast cancer: a network meta-analysis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. **4**, CD012191. ISSN 1469-493X. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD012191.pub2

MODEST, D. P., I. RICARD, V. HEINEMANN, S. HEGEWISCH-BECKER, W. SCHMIEGEL, R. PORSCHEN, S. STINTZING, U. GRAEVEN, D. ARNOLD, L. F. VON WEIKERSTHAL, C. GIESSEN-JUNG, A. STAHLER, H. J. SCHMOLL, A. JUNG, T. KIRCHNER, A. TANNAPFEL a A. REINACHER-SCHICK, 2016. Outcome according to KRAS-, NRAS- and BRAF-mutation as well as KRAS mutation variants: pooled analysis of five randomized trials in metastatic colorectal cancer by the AIO colorectal cancer study group. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* [online]. **27**(9), 1746–1753. ISSN 1569-8041. Dostupné z: doi:10.1093/annonc/mdw261

- MOEBIUS, F. F., B. U. FITZKY, J. N. LEE, Y. K. PAIK a H. GLOSSMANN, 1998. Molecular cloning and expression of the human delta7-sterol reductase. *Proc Natl Acad Sci U S A* [online]. **95**(4), 1899–902. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9465114>
- MONROE, Kristine R., Suzanne P. MURPHY, Brian E. HENDERSON, Laurence N. KOLONEL, Frank Z. STANCZYK, Herman ADLERCREUTZ a Malcolm C. PIKE, 2007. Dietary fiber intake and endogenous serum hormone levels in naturally postmenopausal Mexican American women: the Multiethnic Cohort Study. *Nutrition and Cancer* [online]. **58**(2), 127–135. ISSN 0163-5581. Dostupné z: doi:10.1080/01635580701327935
- MONTERO, J., A. MORALES, L. LLACUNA, J. M. LLUIS, O. TERRONES, G. BASAÑEZ, B. ANTONSSON, J. PRIETO, C. GARCÍA-RUIZ, A. COLELL a J. C. FERNÁNDEZ-CHECA, 2008. Mitochondrial cholesterol contributes to chemotherapy resistance in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* [online]. **68**(13), 5246–56. Dostupné z: doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-6161
- MURPHY, N., H.A. WARD, M. JENAB, J.A. ROTHWELL, M.-C. BOUTRON-ROUAULT, F. CARBONNEL, M. KVASKOFF, R. KAAKS, T. KÜHN, H. BOEING, K. ALEKSANDROVA, E. WEIDERPASS, G. SKEIE, K.B. BORCH, A. TJØNNELAND, C. KYRØ, K. OVERVAD, C.C. DAHM, P. JAKSZYN, M.-J. SÁNCHEZ, L. GIL, J.M. HUERTA, A. BARRICARTE, J.R. QUIRÓS, K.-T. KHAW, N. WAREHAM, K.E. BRADBURY, A. TRICHOPOULOU, C. LA VECCHIA, A. KARAKATSANI, D. PALLI, S. GRIONI, R. TUMINO, F. FASANELLI, S. PANICO, B. BUENO-DE-MESQUITA, P.H. PEETERS, B. GYLLING, R. MYTE, K. JIRSTRÖM, J. BERNTSSON, X. XUE, E. RIBOLI, A.J. CROSS a M.J. GUNTER, 2019. Heterogeneity of Colorectal Cancer Risk Factors by Anatomical Subsite in 10 European Countries: A Multinational Cohort Study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* [online]. **17**(7), 1323-1331.e6. ISSN 1542-3565. Dostupné z: doi:10.1016/j.cgh.2018.07.030
- MURPHY, R. C. a K. M. JOHNSON, 2008. Cholesterol, reactive oxygen species, and the formation of biologically active mediators. *Journal of Biological Chemistry* [online]. **283**(23), 15521–15525. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.R700049200
- MUTEMBEREZI, V., O. GUILLEMOT-LEGRIS a G. G. MUCCIOLI, 2016. Oxysterols: From cholesterol metabolites to key mediators. *Progress in Lipid Research* [online]. **64**, 152–169. ISSN 0163-7827. Dostupné z: doi:10.1016/j.plipres.2016.09.002
- MZ ČR, 2021. STANDARDY ZDRAVOTNÍ PÉČE. *Věstník MZ ČR č.3/2021*. (3).
- NADEEM, Muhammad Shahid, Vikas KUMAR, Fahad A. AL-ABBASI, Mohammad Amjad KAMAL a Firoz ANWAR, 2020. Risk of colorectal cancer in inflammatory bowel diseases. *Seminars in Cancer Biology* [online]. **64**, Autoimmune disease and comorbidity, 51–60 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1044-579X. Dostupné z: doi:10.1016/j.semcancer.2019.05.001
- NCI, 2022. Breast Cancer Screening–Health Professional Version - NCI. *Breast Cancer Screening–Health Professional Version - NCI* [online] [vid. 2022-10-03]. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/types/breast/hp/breast-screening-pdq>
- NELSON, Erik R., 2018. The significance of cholesterol and its metabolite, 27-hydroxycholesterol in breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. **466**, Updates on steroid signaling in breast cancer, 73–80 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0303-7207. Dostupné z: doi:10.1016/j.mce.2017.09.021
- NELSON, Erik R., Suzanne E. WARDELL, Jeff S. JASPER, Sunghee PARK, Sunil SUCHINDRAN, Matthew K. HOWE, Nicole J. CARVER, Ruchita V. PILLAI, Patrick M. SULLIVAN, Varun SONDHI, Michihisa UMETANI, Joseph GERADTS a Donald P. MCDONNELL, 2013. 27-Hydroxycholesterol links hypercholesterolemia and breast cancer pathophysiology. *Science (New York, N.Y.)* [online]. **342**(6162), 1094–1098. ISSN 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1241908
- NEWMAN, John W., Christophe MORISSEAU a Bruce D. HAMMOCK, 2005. Epoxide hydrolases: their roles and interactions with lipid metabolism. *Progress in Lipid Research* [online]. **44**(1), 1–51. ISSN 0163-7827. Dostupné z: doi:10.1016/j.plipres.2004.10.001
- NIE, S., G. CHEN, X. CAO a Y. ZHANG, 2014. Cerebrotendinous xanthomatosis: a comprehensive review of pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Orphanet J Rare Dis* [online]. **9**, 179. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/s13023-014-0179-4

- NORAT, Teresa, Annekatrin LUKANOVA, Pietro FERRARI a Elio RIBOLI, 2002. Meat consumption and colorectal cancer risk: Dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *International Journal of Cancer* [online]. **98**(2), 241–256 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1097-0215. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.10126
- NORAT, Teresa, Chiara SCOCCIANI, Marie-Christine BOUTRON-RUAULT, Annie ANDERSON, Franco BERRINO, Michele CECCHINI, Carolina ESPINA, Tim KEY, Michael LEITZMANN, Hilary POWERS, Martin WISEMAN a Isabelle ROMIEU, 2015. European Code against Cancer 4th Edition: Diet and cancer. *Cancer Epidemiology* [online]. **39** **Suppl 1**, S56-66. ISSN 1877-783X. Dostupné z: doi:10.1016/j.canep.2014.12.016
- NORMAN, Armando Henrique a Charles Dalcanale TESSER, 2019. Quaternary prevention: a balanced approach to demedicalisation. *The British Journal of General Practice* [online]. **69**(678), 28–29 [vid. 2023-04-17]. ISSN 0960-1643. Dostupné z: doi:10.3399/bjgp19X700517
- NORQUIST, Barbara M., Mark F. BRADY, Maria I. HARRELL, Tom WALSH, Ming K. LEE, Suleyman GULSUNER, Sarah S. BERNARDS, Silvia CASADEI, Robert A. BURGER, Krishnansu S. TEWARI, Floor BACKES, Robert S. MANNEL, Gretchen GLASER, Cheryl BAILEY, Stephen RUBIN, John SOPER, Heather A. LANKES, Nilsa C. RAMIREZ, Mary Claire KING, Michael J. BIRRER a Elizabeth M. SWISHER, 2018. Mutations in Homologous Recombination Genes and Outcomes in Ovarian Carcinoma Patients in GOG 218: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *Clinical Cancer Research* [online]. **24**(4), 777–783 [vid. 2023-04-04]. ISSN 1078-0432. Dostupné z: doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-1327
- OH, Ji-Hye, Se Jin JANG, Jihun KIM, Insuk SOHN, Ji-Young LEE, Eun Jeong CHO, Sung-Min CHUN a Chang Ohk SUNG, 2020. Spontaneous mutations in the single TTN gene represent high tumor mutation burden. *npj Genomic Medicine* [online]. **5**(1), 1–11 [vid. 2023-04-04]. ISSN 2056-7944. Dostupné z: doi:10.1038/s41525-019-0107-6
- OKABE, Akishi, Yasuomi URANO, Sayoko ITOH, Naoto SUDA, Rina KOTANI, Yuki NISHIMURA, Yoshiro SAITO a Noriko NOGUCHI, 2013. Adaptive responses induced by 24S-hydroxycholesterol through liver X receptor pathway reduce 7-ketocholesterol-caused neuronal cell death. *Redox Biology* [online]. **2**, 28–35. ISSN 2213-2317. Dostupné z: doi:10.1016/j.redox.2013.11.007
- OKONECHNIKOV, Konstantin, Ana CONESA a Fernando GARCÍA-ALCALDE, 2016. Qualimap 2: advanced multi-sample quality control for high-throughput sequencing data. *Bioinformatics (Oxford, England)* [online]. **32**(2), 292–294. ISSN 1367-4811. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/btv566
- OLIVE, Virginie, Margaux J. BENNETT, James C. WALKER, Cong MA, Iris JIANG, Carlos CORDON-CARDO, Qi-Jing LI, Scott W. LOWE, Gregory J. HANNON a Lin HE, 2009. miR-19 is a key oncogenic component of mir-17-92. *Genes & Development* [online]. **23**(24), 2839–2849. ISSN 1549-5477. Dostupné z: doi:10.1101/gad.1861409
- OLKKONEN, Vesa M. a Shiqian LI, 2013. Oxysterol-binding proteins: Sterol and phosphoinositide sensors coordinating transport, signaling and metabolism. *Progress in Lipid Research* [online]. **52**(4), 529–538. ISSN 0163-7827. Dostupné z: doi:10.1016/j.plipres.2013.06.004
- ORHO-MELANDER, M., G. HINDY, S. BORGQUIST, C. A. SCHULZ, J. MANJER, O. MELANDER a T. STOCKS, 2017. Blood lipid genetic scores, the HMGCR gene and cancer risk: a Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol* [online]. ISSN 1464-3685. Dostupné z: doi:10.1093/ije/dyx237
- OSUMI, Hiroki, Eiji SHINOZAKI, Kensei YAMAGUCHI a Hitoshi ZEMBUTSU, 2019. Clinical utility of circulating tumor DNA for colorectal cancer. *Cancer Science* [online]. **110**(4), 1148–1155. ISSN 1349-7006. Dostupné z: doi:10.1111/cas.13972
- OTSUKA, Atsushi, Mitchell P. LEVESQUE, Reinhard DUMMER a Kenji KABASHIMA, 2015. Hedgehog signaling in basal cell carcinoma. *Journal of Dermatological Science* [online]. **78**(2), 95–100. ISSN 1873-569X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdermsci.2015.02.007
- OUYANG, Shuhui, Zhongcheng MO, Sha SUN, Kai YIN a Yuncheng LV, 2020. Emerging role of Insig-1 in lipid metabolism and lipid disorders. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* [online]. **508**, 206–212. ISSN 1873-3492. Dostupné z: doi:10.1016/j.cca.2020.05.042
- PATCH, Ann-Marie, Elizabeth L. CHRISTIE, Dariush ETEMADMOGHADAM, Dale W. GARSED, Joshy GEORGE, Sian FEREDAY, Katia NONES, Prue COWIN, Kathryn ALSOP, Peter J. BAILEY, Karin S. KASSAHN, Felicity NEWELL, Michael C. J. QUINN, Stephen KAZAKOFF, Kelly QUEK, Charlotte WILHELM-BENARTZI, Ed CURRY, Huei San LEONG, Anne HAMILTON, Linda MILESHKIN, George

AU-YEUNG, Catherine KENNEDY, Jillian HUNG, Yoke-Eng CHIEW, Paul HARNETT, Michael FRIEDLANDER, Michael QUINN, Jan PYMAN, Stephen CORDNER, Patricia O'BRIEN, Jodie LEDITSCHKE, Greg YOUNG, Kate STRACHAN, Paul WARING, Walid AZAR, Chris MITCHELL, Nadia TRAFICANTE, Joy HENDLEY, Heather THORNE, Mark SHACKLETON, David K. MILLER, Gisela Mir ARNAU, Richard W. TOTHILL, Timothy P. HOLLOWAY, Timothy SEMPLE, Ivon HARLIWONG, Craig NOURSE, Ehsan NOURBAKHSH, Suzanne MANNING, Senel IDRISOGLU, Timothy J. C. BRUXNER, Angelika N. CHRIST, Barsha POUDEL, Oliver HOLMES, Matthew ANDERSON, Conrad LEONARD, Andrew LONIE, Nathan HALL, Scott WOOD, Darrin F. TAYLOR, Qinying XU, J. Lynn FINK, Nick WADDELL, Ronny DRAPKIN, Euan STRONACH, Hani GABRA, Robert BROWN, Andrea JEWELL, Shivashankar H. NAGARAJ, Emma MARKHAM, Peter J. WILSON, Jason ELLUL, Orla MCNALLY, Maria A. DOYLE, Ravikiran VEDURURU, Collin STEWART, Ernst LENGYEL, John V. PEARSON, Nicola WADDELL, Anna DEFAZIO, Sean M. GRIMMOND a David D. L. BOWTELL, 2015. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature* [online]. **521**(7553), 489–494 [vid. 2023-04-04]. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/nature14410

PEARSON, Karl, 1900. X. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* [online]. **50**(302), 157–175 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1941-5982. Dostupné z: doi:10.1080/14786440009463897

PELLEGRINI, Cristina, Maria Giovanna MATURO, Lucia DI NARDO, Valeria CICIARELLI, Carlota GUTIÉRREZ GARCÍA-RODRIGO a Maria Concetta FARGNOLI, 2017. Understanding the Molecular Genetics of Basal Cell Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **18**(11). ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms18112485

PLAGNOL, Vincent, James CURTIS, Michael EPSTEIN, Kin Y. MOK, Emma STEBBINGS, Sofia GRIGORIADOU, Nicholas W. WOOD, Sophie HAMBLETION, Siobhan O. BURNS, Adrian J. THRASHER, Dinakantha KUMARARATNE, Rainer DOFFINGER a Sergey NEJENTSEV, 2012. A robust model for read count data in exome sequencing experiments and implications for copy number variant calling. *Bioinformatics (Oxford, England)* [online]. **28**(21), 2747–2754. ISSN 1367-4811. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/bts526

POHL, A., P. F. DEVAUX a A. HERRMANN, 2005. Function of prokaryotic and eukaryotic ABC proteins in lipid transport. *Biochim Biophys Acta* [online]. **1733**(1), 29–52. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbali.2004.12.007

POIROT, Marc a Sandrine SILVENTE-POIROT, 2018. The tumor-suppressor cholesterol metabolite, dendrogenin A, is a new class of LXR modulator activating lethal autophagy in cancers. *Biochemical Pharmacology* [online]. **153**, 75–81. ISSN 1873-2968. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2018.01.046

PONDUGULA, Satyanarayana R. a Sridhar MANI, 2013. Pregnane xenobiotic receptor in cancer pathogenesis and therapeutic response. *Cancer Letters* [online]. **328**(1), 1–9. ISSN 1872-7980. Dostupné z: doi:10.1016/j.canlet.2012.08.030

PONDUGULA, Satyanarayana R., Petr PAVEK a Sridhar MANI, 2016. Pregnane X Receptor and Cancer: Context-Specificity is Key. *Nuclear Receptor Research* [online]. **3**. ISSN 2314-5706. Dostupné z: doi:10.11131/2016/101198

PRABHU, A. V., W. LUU, D. LI, L. J. SHARPE a A. J. BROWN, 10. DHCR7: A vital enzyme switch between cholesterol and vitamin D production. *Prog Lipid Res* [online]. **64**, 138–151. ISSN 1873-2194. Dostupné z: doi:10.1016/j.plipres.2016.09.003

QIU, C. P., Q. T. LV, S. DONGOL, C. WANG a J. JIANG, 2014. Single nucleotide polymorphism of SREBF-1 gene associated with an increased risk of endometrial cancer in Chinese women. *PLoS One* [online]. **9**(3), e90491. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0090491

QUAZI, F. a R. S. MOLDAI, 2011. Lipid transport by mammalian ABC proteins. *Essays Biochem* [online]. **50**(1), 265–90. Dostupné z: doi:10.1042/bse0500265

RAFIQ, S., W. TAPPER, A. COLLINS, S. KHAN, I. POLITOPOULOS, S. GERTY, C. BLOMQUIST, F. J. COUCH, H. NEVANLINNA, J. LIU a D. ECCLES, 2013. Identification of inherited genetic variations influencing prognosis in early-onset breast cancer. *Cancer Res* [online]. **73**(6), 1883–91. ISSN 1538-7445. Dostupné z: doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-3377

- RAVINDRAN, Febina, Bibha CHOUDHARY, Febina RAVINDRAN a Bibha CHOUDHARY, 2021. *Ovarian Cancer: Molecular Classification and Targeted Therapy* [online]. B.m.: IntechOpen [vid. 2022-10-26]. ISBN 978-1-83968-744-0. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.95967
- RAWLA, Prashanth, Tagore SUNKARA a Adam BARSOUK, 2019. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny* [online]. **14**(2), 89–103. ISSN 1895-5770. Dostupné z: doi:10.5114/pg.2018.81072
- REICH, Michael, Ted LIEFELD, Joshua GOULD, Jim LERNER, Pablo TAMAYO a Jill P. MESIROV, 2006. GenePattern 2.0. *Nature Genetics* [online]. **38**(5), 500–501 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng0506-500
- REPA, J. J., K. E. BERGE, C. POMAJZL, J. A. RICHARDSON, H. HOBBS a D. J. MANGELSDORF, 2002. Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors alpha and beta. *J Biol Chem* [online]. **277**(21), 18793–800. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M109927200
- RIEDESSE, Julian E., Matthias P. EBERT a Johannes BETGE, 2022. Precision medicine for metastatic colorectal cancer in clinical practice. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* [online]. **14**, 17588359211072704. ISSN 1758-8340. Dostupné z: doi:10.1177/17588359211072703
- RICHARDSON, Debra L., Ramez N. ESKANDER a David M. O'MALLEY, 2023. Advances in Ovarian Cancer Care and Unmet Treatment Needs for Patients With Platinum Resistance: A Narrative Review. *JAMA Oncology* [online]. [vid. 2023-06-06]. ISSN 2374-2437. Dostupné z: doi:10.1001/jamaoncol.2023.0197
- RIZVI, Hira, Francisco SANCHEZ-VEGA, Konnor LA, Walid CHATILA, Philip JONSSON, Darragh HALPENNY, Andrew PLODKOWSKI, Niamh LONG, Jennifer L. SAUTER, Natasha REKHTMAN, Travis HOLLMANN, Kurt A. SCHALPER, Justin F. GAINOR, Ronglai SHEN, Ai NI, Kathryn C. ARBOUR, Taha MERGHOUB, Jedd WOLCHOK, Alexandra SNYDER, Jamie E. CHAFT, Mark G. KRIS, Charles M. RUDIN, Nicholas D. SOCCI, Michael F. BERGER, Barry S. TAYLOR, Ahmet ZEHIR, David B. SOLIT, Maria E. ARCILA, Marc LADANYI, Gregory J. RIELY, Nikolaus SCHULTZ a Matthew D. HELLMANN, 2018. Molecular Determinants of Response to Anti-Programmed Cell Death (PD)-1 and Anti-Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Blockade in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Profiled With Targeted Next-Generation Sequencing. *Journal of Clinical Oncology* [online]. **36**(7), 633–641 [vid. 2023-04-04]. ISSN 0732-183X. Dostupné z: doi:10.1200/JCO.2017.75.3384
- ROBINSON, Mark D., Davis J. MCCARTHY a Gordon K. SMYTH, 2010. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* [online]. **26**(1), 139–140 [vid. 2023-02-24]. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/btp616
- RODRIGUEZ-AGUDO, Daniel, Leonel MALACRIDA, Genta KAKIYAMA, Tavis SPARRER, Carolina FORTES, Michael MACEYKA, Mark A. SUBLER, Jolene J. WINDLE, Enrico GRATTON, William M. PANDAK a Gregorio GIL, 2019. StarD5: an ER stress protein regulates plasma membrane and intracellular cholesterol homeostasis. *Journal of Lipid Research* [online]. **60**(6), 1087–1098. ISSN 1539-7262. Dostupné z: doi:10.1194/jlr.M091967
- RODRÍGUEZ-MIGUEL, Cristina, Raquel MORAL, Raquel ESCRICH, Elena VELA, Montserrat SOLANAS a Eduard ESCRICH, 2015. The Role of Dietary Extra Virgin Olive Oil and Corn Oil on the Alteration of Epigenetic Patterns in the Rat DMBA-Induced Breast Cancer Model. *PloS One* [online]. **10**(9), e0138980. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0138980
- ROHART, Florian, Benoît GAUTIER, Amrit SINGH a Kim-Anh Lê CAO, 2017. mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *PLOS Computational Biology* [online]. **13**(11), e1005752 [vid. 2023-01-24]. ISSN 1553-7358. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pcbi.1005752
- ROSA FERNANDES, Livia, Ana Carolina Bassi STERN, Rita de Cássia CAVAGLIERI, Fábio César Sousa NOGUEIRA, Gilberto DOMONT, Giuseppe PALMISANO a Sérgio Paulo BYDŁOWSKI, 2017. 7-Ketocholesterol overcomes drug resistance in chronic myeloid leukemia cell lines beyond MDR1 mechanism. *Journal of Proteomics* [online]. **151**, Brazilian Proteomics, 12–23 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1874-3919. Dostupné z: doi:10.1016/j.jprot.2016.06.011
- ROSSI, Marco, Muhammad JAHANZAIB ANWAR, Ahmad USMAN, Ali KESHAVARZIAN a Faraz BISHEHSARI, 2018. Colorectal Cancer and Alcohol Consumption—Populations to Molecules. *Cancers* [online]. **10**(2), 38 [vid. 2022-10-31]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers10020038

- ROSSIN, D., I. H. K. DIAS, M. SOLEJ, I. MILIC, A. R. PITT, N. IAIA, L. SCOPPAPIETRA, A. DEVITT, M. NANO, M. DEGIULI, M. VOLANTE, C. CACCIA, V. LEONI, H. R. GRIFFITHS, C. M. SPICKETT, G. POLI a F. BIASI, 2019. Increased production of 27-hydroxycholesterol in human colorectal cancer advanced stage: Possible contribution to cancer cell survival and infiltration. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. **136**, 35–44 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0891-5849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.03.020
- RUIZ-CASADO, Ana, Asunción MARTÍN-RUIZ, Laura M. PÉREZ, Mariano PROVENCIO, Carmen FIUZA-LUCES a Alejandro LUCIA, 2017. Exercise and the Hallmarks of Cancer. *Trends in Cancer* [online]. **3**(6), 423–441 [vid. 2022-10-31]. ISSN 2405-8033. Dostupné z: doi:10.1016/j.trecan.2017.04.007
- RUSSELL, D. W., 2000. Oxysterol biosynthetic enzymes. *Biochim Biophys Acta* [online]. **1529**(1–3), 126–35. ISSN 0006-3002. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11111082
- RUSSELL, David W., 2003. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annual Review of Biochemistry* [online]. **72**, 137–174. ISSN 0066-4154. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.biochem.72.121801.161712
- SATO, Ryuichiro, 2010. Sterol metabolism and SREBP activation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [online]. **501**(2), 177–181. ISSN 1096-0384. Dostupné z: doi:10.1016/j.abb.2010.06.004
- SCOCCIANI, Chiara, Michele CECCHINI, Annie S. ANDERSON, Franco BERRINO, Marie-Christine BOUTRON-ROUAULT, Carolina ESPINA, Timothy J. KEY, Michael LEITZMANN, Teresa NORAT, Hilary POWERS, Martin WISEMAN a Isabelle ROMIEU, 2016. European Code against Cancer 4th Edition: Alcohol drinking and cancer. *Cancer Epidemiology* [online]. **45**, 181–188. ISSN 1877-783X. Dostupné z: doi:10.1016/j.canep.2016.09.011
- SEALE, Katelyn N. a Katherine H. R. TKACZUK, 2022. Circulating Biomarkers in Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer* [online]. **22**(3), e319–e331. ISSN 1938-0666. Dostupné z: doi:10.1016/j.clbc.2021.09.006
- SEBOROVA, Karolína, Radka VACLAVIKOVA, Pavel SOUCEK, Katerina ELSNEROVA, Alena BARTAKOVA, Petr CERNAJ, Jiri BOUDA, Lukas ROB, Martin HRUDA a Pavel DVORAK, 2019. Association of ABC gene profiles with time to progression and resistance in ovarian cancer revealed by bioinformatics analyses. *Cancer Medicine* [online]. **8**(2), 606–616. ISSN 2045-7634. Dostupné z: doi:10.1002/cam4.1964
- SECRETAN, Béatrice, Kurt STRAIF, Robert BAAN, Yann GROSSE, Fatiha EL GHISSASSI, Véronique BOUVARD, Lamia BENBRAHIM-TALLAA, Neela GUHA, Crystal FREEMAN, Laurent GALICHET a Vincent COGLIANO, 2009. A review of human carcinogens—Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *The Lancet Oncology* [online]. **10**(11), 1033–1034 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1470-2045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(09)70326-2
- SEGALA, Gregory, Philippe DE MEDINA, Luigi IULIANO, Chiara ZERBINATI, Michael R. PAILLASSE, Emmanuel NOGUER, Florence DALENC, Bruno PAYRÉ, V. Craig JORDAN, Michel RECORD, Sandrine SILVENTE-POIROT a Marc POIROT, 2013. 5,6-Epoxy-cholesterols contribute to the anticancer pharmacology of Tamoxifen in breast cancer cells. *Biochemical Pharmacology* [online]. **86**(1), European Network for Oxysterol Research, 175–189 [vid. 2022-09-21]. ISSN 0006-2952. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2013.02.031
- SEREBRIISKII, Ilya G., Caitlin CONNELLY, Garrett FRAMPTON, Justin NEWBERG, Matthew COOKE, Vince MILLER, Siraj ALI, Jeffrey S. ROSS, Elizabeth HANDORF, Sanjeevani ARORA, Christopher LIEU, Erica A. GOLEMIS a Joshua E. MEYER, 2019. Comprehensive characterization of RAS mutations in colon and rectal cancers in old and young patients. *Nature Communications* [online]. **10**(1), 3722. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-019-11530-0
- SERHAN, Nizar, Pierre-Luc MOUCHEL, Philippe DE MEDINA, Gregory SEGALA, Aurélie MOUGEL, Estelle SALAND, Arnaud RIVES, Antonin LAMAZIERE, Gaëtan DESPRES, Jean-Emmanuel SARRY, Clément LARRUE, François VERGEZ, Laetitia LARGEAUD, Michel RECORD, Christian RÉCHER, Sandrine SILVENTE-POIROT a Marc POIROT, 2020. Dendrogenin A Synergizes with Cytarabine to Kill Acute Myeloid Leukemia Cells In Vitro and In Vivo. *Cancers* [online]. **12**(7), 1725 [vid. 2022-09-21]. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers12071725
- SEVER, Navdar, Tong YANG, Michael S. BROWN, Joseph L. GOLDSTEIN a Russell A. DEBOSE-BOYD, 2003. Accelerated degradation of HMG CoA reductase mediated by binding of insig-1 to its sterol-sensing

domain. *Molecular Cell* [online]. **11**(1), 25–33. ISSN 1097-2765. Dostupné z: doi:10.1016/s1097-2765(02)00822-5

SHAFATI, M., M. OLIN, A. BÅVNER, H. PETTERSSON, B. ROZELL, S. MEANEY, P. PARINI a I. BJÖRKHEM, 2011. Enhanced production of 24S-hydroxycholesterol is not sufficient to drive liver X receptor target genes in vivo. *Journal of Internal Medicine* [online]. **270**(4), 377–387. ISSN 1365-2796. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2796.2011.02389.x

SHAILI, Evyenia, 2014. Platinum Anticancer Drugs and Photochemotherapeutic Agents: Recent Advances and Future Developments. *Science Progress* [online]. **97**(1), 20–40 [vid. 2023-04-05]. ISSN 0036-8504. Dostupné z: doi:10.3184/003685014X13904811808460

SHAPIRO, S. S. a M. B. WILK, 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples)†. *Biometrika* [online]. **52**(3–4), 591–611 [vid. 2023-03-17]. ISSN 0006-3444. Dostupné z: doi:10.1093/biomet/52.3-4.591

SHARMA, K. L., S. MISRA, A. KUMAR a B. MITTAL, 2013. Association of liver X receptors (LXRs) genetic variants to gallbladder cancer susceptibility. *Tumour Biol* [online]. **34**(6), 3959–66. ISSN 1423-0380. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-013-0984-8

SHARMA, K. L., R. RAI, A. SRIVASTAVA, A. SHARMA, S. MISRA, A. KUMAR a B. MITTAL, 2014. A multigenic approach to evaluate genetic variants of PLCE1, LXRs, MMPs, TIMP, and CYP genes in gallbladder cancer predisposition. *Tumour Biol* [online]. **35**(9), 8597–606. ISSN 1423-0380. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-014-2094-7

SHERRY, S. T., M.-H. WARD, M. KHOLODOV, J. BAKER, L. PHAN, E. M. SMIGIELSKI a K. SIROTKIN, 2001. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Research* [online]. **29**(1), 308–311 [vid. 2021-09-03]. ISSN 0305-1048. Dostupné z: doi:10.1093/nar/29.1.308

SHIMADA, T., M. V. MARTIN, D. PRUESS-SCHWARTZ, L. J. MARNETT a F. P. GUENGERICH, 1989. Roles of individual human cytochrome P-450 enzymes in the bioactivation of benzo(a)pyrene, 7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo(a)pyrene, and other dihydrodiol derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Research*. **49**(22), 6304–6312. ISSN 0008-5472.

SHYR, Casper, Maja TARAILO-GRAOVAC, Michael GOTTLIEB, Jessica JY LEE, Clara VAN KARNEBEEK a Wyeth W. WASSERMAN, 2014. FLAGS, frequently mutated genes in public exomes. *BMC Medical Genomics* [online]. **7**(1), 64 [vid. 2023-03-24]. ISSN 1755-8794. Dostupné z: doi:10.1186/s12920-014-0064-y

SCHIRRIPA, Marta, Floriana NAPPO, Chiara CREMOLINI, Lisa SALVATORE, Daniele ROSSINI, Maria BENSI, Gianluca BUSINELLO, Filippo PIETRANTONIO, Giovanni RANDON, Giovanni FUCÀ, Alessandra BOCCACCINO, Francesca BERGAMO, Sara LONARDI, Angelo Paolo DEI TOS, Matteo FASSAN a Fotios LOUPAKIS, 2020. KRAS G12C Metastatic Colorectal Cancer: Specific Features of a New Emerging Target Population. *Clinical Colorectal Cancer* [online]. **19**(3), 219–225. ISSN 1938-0674. Dostupné z: doi:10.1016/j.clcc.2020.04.009

SCHMID, Daniela a Michael F. LEITZMANN, 2014. Television Viewing and Time Spent Sedentary in Relation to Cancer Risk: A Meta-Analysis. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* [online]. **106**(7), dju098 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0027-8874. Dostupné z: doi:10.1093/jnci/dju098

SCHOBER, Patrick, Christa BOER a Lothar A. SCHWARTE, 2018. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesthesia & Analgesia* [online]. **126**(5), 1763 [vid. 2023-03-17]. ISSN 0003-2999. Dostupné z: doi:10.1213/ANE.0000000000002864

SCHROEPFER, G. J., 2000. Oxysterols: Modulators of cholesterol metabolism and other processes. *Physiological Reviews* [online]. **80**(1), 361–554. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.2000.80.1.361

SCHULMAN, Ira G., 2017. Liver X receptors link lipid metabolism and inflammation. *FEBS letters* [online]. **591**(19), 2978–2991. ISSN 1873-3468. Dostupné z: doi:10.1002/1873-3468.12702

SCHÜZ, Joachim, Carolina ESPINA, Patricia VILLAIN, Rolando HERRERO, Maria E. LEON, Silvia MINOZZI, Isabelle ROMIEU, Nereo SEGNAV, Jane WARDLE, Martin WISEMAN, Filippo BELARDELLI, Douglas BETTCHER, Franco CAVALLI, Gauden GALEA, Gilbert LENOIR, Jose M. MARTIN-MORENO, Florian Alexandru NICULA, Jørgen H. OLSEN, Julietta PATNICK, Maja PRIMIC-ZAKELJ, Pekka PUSKA, Flora E. VAN LEEUWEN, Otmar WIESTLER, Witold ZATONSKI, a WORKING GROUPS OF



- SCIENTIFIC EXPERTS, 2015. European Code against Cancer 4th Edition: 12 ways to reduce your cancer risk. *Cancer Epidemiology* [online]. **39** Suppl 1, S1-10. ISSN 1877-783X. Dostupné z: doi:10.1016/j.canep.2015.05.009
- SCHWARTZ, Lawrence H., Saskia LITIÈRE, Elisabeth DE VRIES, Robert FORD, Stephen GWYTHYER, Sumithra MANDREKAR, Lalitha SHANKAR, Jan BOGAERTS, Alice CHEN, Janet DANCEY, Wendy HAYES, F. Stephen HODI, Otto S. HOEKSTRA, Erich P. HUANG, Nancy LIN, Yan LIU, Patrick THERASSE, Jedd D. WOLCHOK a Lesley SEYMOUR, 2016. RECIST 1.1 – Update and Clarification: From the RECIST Committee. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)* [online]. **62**, 132–137 [vid. 2023-03-17]. ISSN 0959-8049. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejca.2016.03.081
- SIEGEL, Rebecca L., Nikita Sandeep WAGLE, Andrea CERCEK, Robert A. SMITH a Ahmedin JEMAL, 2023. Colorectal cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* [online]. n/a(n/a) [vid. 2023-03-31]. ISSN 1542-4863. Dostupné z: doi:10.3322/caac.21772
- SIMIGDALA, Nikiana, Qiong GAO, Sunil PANCHOLI, Hanne ROBERG-LARSEN, Marketa ZVELEBIL, Ricardo RIBAS, Elizabeth FOLKERD, Andrew THOMPSON, Amandeep BHAMRA, Mitch DOWSETT a Lesley-Ann MARTIN, 2016. Cholesterol biosynthesis pathway as a novel mechanism of resistance to estrogen deprivation in estrogen receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Research* [online]. **18**(1), 58 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1465-542X. Dostupné z: doi:10.1186/s13058-016-0713-5
- SINGH, Amrit, Casey P. SHANNON, Benoît GAUTIER, Florian ROHART, Michaël VACHER, Scott J. TEBBUTT a Kim-Anh LÊ CAO, 2019. DIABLO: an integrative approach for identifying key molecular drivers from multi-omics assays. *Bioinformatics (Oxford, England)* [online]. **35**(17), 3055–3062. ISSN 1367-4811. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/bty1054
- SKIDMORE, Zachary L., Alex H. WAGNER, Robert LESURF, Katie M. CAMPBELL, Jason KUNISAKI, Obi L. GRIFFITH a Malachi GRIFFITH, 2016. GenVisR: Genomic Visualizations in R. *Bioinformatics* [online]. **32**(19), 3012–3014 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/btw325
- SMITH, B. a H. LAND, 2012. Anticancer activity of the cholesterol exporter ABCA1 gene. *Cell Rep* [online]. **2**(3), 580–90. ISSN 2211-1247. Dostupné z: doi:10.1016/j.celrep.2012.08.011
- SØKILDE, Rolf, Helena PERSSON, Anna EHINGER, Anna Chiara PIRONA, Mårten FERNÖ, Cecilia HEGARDT, Christer LARSSON, Niklas LOMAN, Martin MALMBERG, Lisa RYDÉN, Lao SAAL, Åke BORG, Johan VALLON-CHRISTERSON a Carlos ROVIRA, 2019. Refinement of breast cancer molecular classification by miRNA expression profiles. *BMC Genomics* [online]. **20**(1), 503 [vid. 2023-02-24]. ISSN 1471-2164. Dostupné z: doi:10.1186/s12864-019-5887-7
- SOLOMON, James P., Irina LINKOV, Andrea ROSADO, Kerry MULLANEY, Ezra Y. ROSEN, Denise FROSINA, Achim A. JUNGBLUTH, Ahmet ZEHIR, Ryma BENAYED, Alexander DRILON, David M. HYMAN, Marc LADANYI, Anthony N. SIRECI a Jaclyn F. HECHTMAN, 2020. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* [online]. **33**(1), 38–46. ISSN 1530-0285. Dostupné z: doi:10.1038/s41379-019-0324-7
- SONCINI, Matias, Gianfranca CORNA, Marta MORESCO, Nadia COLTELLA, Umberto RESTUCCIA, Daniela MAGGIONI, Laura RACCOSTA, Chin-Yo LIN, Francesca INVERNIZZI, Roberto CROCCHIOLO, Claudio DOGLIONI, Catia TRAVERSARI, Angela BACHI, Rosa BERNARDI, Claudio BORDIGNON, Jan-Åke GUSTAFSSON a Vincenzo RUSSO, 2016. 24-Hydroxycholesterol participates in pancreatic neuroendocrine tumor development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **113**(41), E6219–E6227. ISSN 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1613332113
- SONDKA, Zbyslaw, Sally BAMFORD, Charlotte G. COLE, Sari A. WARD, Ian DUNHAM a Simon A. FORBES, 2018. The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers. *Nature Reviews Cancer* [online]. **18**(11), 696–705 [vid. 2020-04-29]. ISSN 1474-1768. Dostupné z: doi:10.1038/s41568-018-0060-1
- SONG, Bao-Liang a Russell A. DEBOSE-BOYD, 2004. Ubiquitination of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase in permeabilized cells mediated by cytosolic E1 and a putative membrane-bound ubiquitin ligase. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. **279**(27), 28798–28806. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M402442200

- SOUCEK, Pavel, David VRANA, Yune-Fang UENG, Shouzou WEI, Renata KOZEVNIKOVÁ a Frederick Peter GUENGERICH, 2018. Selective changes in cholesterol metabolite levels in plasma of breast cancer patients after tumor removal. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* [online]. **56**(3), e78–e81. ISSN 1437-4331. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2017-0409
- STAPPENBECK, Frank, Feng WANG, Liu-Ya TANG, Ying E. ZHANG a Farhad PARHAMI, 2019. Inhibition of Non-Small Cell Lung Cancer Cells by Oxy210, an Oxysterol-Derivative that Antagonizes TGF $\beta$  and Hedgehog Signaling. *Cells* [online]. **8**(10), 1297 [vid. 2022-09-21]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells8101297
- SUN, H., Q. DENG, Y. PAN, B. HE, H. YING, J. CHEN, X. LIU a S. WANG, 2015. Association between estrogen receptor 1 (ESR1) genetic variations and cancer risk: a meta-analysis. *J BUON* [online]. **20**(1), 296–308. ISSN 1107-0625. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25778331>
- SUNG, Hyuna, Jacques FERLAY, Rebecca L. SIEGEL, Mathieu LAVERSANNE, Isabelle SOERJOMATARAM, Ahmedin JEMAL a Freddie BRAY, 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians* [online]. **71**(3), 209–249. ISSN 1542-4863. Dostupné z: doi:10.3322/caac.21660
- SZKLARCZYK, Damian, Annika L. GABLE, Katerina C. NASTOU, David LYON, Rebecca KIRSCH, Sampo PYYSALO, Nadezhda T. DONCHEVA, Marc LEGEAY, Tao FANG, Peer BORK, Lars J. JENSEN a Christian VON MERING, 2021. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Research* [online]. **49**(D1), D605–D612. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkaa1074
- TABARESTANI, S., M. MOTALLEBI a M. E. AKBARI, 2016. Are Estrogen Receptor Genomic Aberrations Predictive of Hormone Therapy Response in Breast Cancer? *Iran J Cancer Prev* [online]. **9**(4), e6565. ISSN 2008-2398. Dostupné z: doi:10.17795/ijcp-6565
- TABUNG, Fred K., Li LIU, Weike WANG, Teresa T. FUNG, Kana WU, Stephanie A. SMITH-WARNER, Yin CAO, Frank B. HU, Shuji OGINO, Charles S. FUCHS a Edward L. GIOVANNUCCI, 2018. Association of Dietary Inflammatory Potential With Colorectal Cancer Risk in Men and Women. *JAMA Oncology* [online]. **4**(3), 366–373 [vid. 2022-10-31]. ISSN 2374-2437. Dostupné z: doi:10.1001/jamaoncol.2017.4844
- TAHERI, M., M. D. OMRANI, R. NOROOZI, S. SARRAFZADEH, S. GHAFOURI-FARD a A. SAYAD, 2017. Retinoic acid-related orphan receptor alpha (RORA) variants and risk of breast cancer. *Breast Dis* [online]. ISSN 1558-1551. Dostupné z: doi:10.3233/BD-160248
- TALEVICH, Eric, A. Hunter SHAIN, Thomas BOTTON a Boris C. BASTIAN, 2016. CNVkit: Genome-Wide Copy Number Detection and Visualization from Targeted DNA Sequencing. *PLoS computational biology* [online]. **12**(4), e1004873. ISSN 1553-7358. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pcbi.1004873
- TATE, John G., Sally BAMFORD, Harry C. JUBB, Zbyslaw SONDKA, David M. BEARE, Nidhi BINDAL, Harry BOUTSELAKIS, Charlotte G. COLE, Celestino CREATORE, Elisabeth DAWSON, Peter FISH, Bhavana HARSHA, Charlie HATHAWAY, Steve C. JUPE, Chai Yin KOK, Kate NOBLE, Laura PONTING, Christopher C. RAMSHAW, Claire E. RYE, Helen E. SPEEDY, Ray STEFANCSIK, Sam L. THOMPSON, Shicai WANG, Sari WARD, Peter J. CAMPBELL a Simon A. FORBES, 2019. COSMIC: the Catalogue of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Research* [online]. **47**(D1), D941–D947. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gky1015
- TEMKIN, Sarah M., Jennifer BERGSTROM, Goli SAMIMI a Lori MINASIAN, 2017. Ovarian Cancer Prevention in High-risk Women. *Clinical Obstetrics and Gynecology* [online]. **60**(4), 738–757. ISSN 1532-5520. Dostupné z: doi:10.1097/GRF.0000000000000318
- THOMAS, Annabella F., Gemma L. KELLY a Andreas STRASSER, 2022. Of the many cellular responses activated by TP53, which ones are critical for tumour suppression? *Cell Death & Differentiation* [online]. **29**(5), 961–971 [vid. 2023-04-04]. ISSN 1476-5403. Dostupné z: doi:10.1038/s41418-022-00996-z
- THOMAS, C. a J. GUSTAFSSON, 2015. Estrogen receptor mutations and functional consequences for breast cancer. *Trends Endocrinol Metab* [online]. **26**(9), 467–76. ISSN 1879-3061. Dostupné z: doi:10.1016/j.tem.2015.06.007
- TIAN, Yu, Elham KHARAZMI, Kristina SUNDQUIST, Jan SUNDQUIST, Hermann BRENNER a Mahdi FALLAH, 2019. Familial colorectal cancer risk in half siblings and siblings: nationwide cohort study. *BMJ* [online]. **364**, l803 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0959-8138, 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.l803

- TOPIĆ, E. a J. GLUHAK, 1991. Isolation of restrictible DNA. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry: Journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*. **29**(5), 327–330. ISSN 0939-4974.
- TORRE, Lindsey A., Britton TRABERT, Carol E. DESANTIS, Kimberly D. MILLER, Goli SAMIMI, Carolyn D. RUNOWICZ, Mia M. GAUDET, Ahmedin JEMAL a Rebecca L. SIEGEL, 2018. Ovarian Cancer Statistics, 2018. *CA: a cancer journal for clinicians* [online]. **68**(4), 284–296 [vid. 2022-10-25]. ISSN 0007-9235. Dostupné z: doi:10.3322/caac.21456
- TRUONG, T., B. LIQUET, F. MENEGAUX, S. PLANCOULAIN, P. LAURENT-PUIG, C. MULOT, E. CORDINA-DUVERGER, M. SANCHEZ, P. ARVEUX, P. KERBRAT, S. RICHARDSON a P. GUÉNEL, 2014. Breast cancer risk, nightwork, and circadian clock gene polymorphisms. *Endocr Relat Cancer* [online]. **21**(4), 629–38. ISSN 1479-6821. Dostupné z: doi:10.1530/ERC-14-0121
- TULSYAN, S., R. D. MITTAL a B. MITTAL, 2016. The effect of ABCB1 polymorphisms on the outcome of breast cancer treatment. *Pharmgenomics Pers Med* [online]. **9**, 47–58. Dostupné z: doi:10.2147/PGPM.S86672
- TWEEDIE, Susan, Bryony BRASCHI, Kristian GRAY, Tamsin E. M. JONES, Ruth L. SEAL, Bethan YATES a Elspeth A. BRUFORD, 2021. Genenames.org: the HGNC and VGNC resources in 2021. *Nucleic Acids Research* [online]. **49**(D1), D939–D946. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkaa980
- UGAI, Tomotaka, Naohiko AKIMOTO, Koichiro HARUKI, Tabitha A. HARRISON, Yin CAO, Conghui QU, Andrew T. CHAN, Peter T. CAMPBELL, Sonja I. BERNDT, Daniel D. BUCHANAN, Amanda J. CROSS, Brenda DIERGAARDE, Steven J. GALLINGER, Marc J. GUNTER, Sophia HARLID, Akihisa HIDAKA, Michael HOFFMEISTER, Hermann BRENNER, Jenny CHANG-CLAUDE, Li HSU, Mark A. JENKINS, Yi LIN, Roger L. MILNE, Victor MORENO, Polly A. NEWCOMB, Reiko NISHIHARA, Mireia OBON-SANTACANA, Rish K. PAI, Lori C. SAKODA, Robert E. SCHOEN, Martha L. SLATTERY, Wei SUN, Efrat L. AMITAY, Elizabeth ALWERS, Stephen N. THIBODEAU, Amanda E. TOLAND, Bethany VAN GUELPEL, Syed H. ZAIDI, John D. POTTER, Jeffrey A. MEYERHARDT, Marios GIANNAKIS, Mingyang SONG, Jonathan A. NOWAK, Ulrike PETERS, Amanda I. PHIPPS a Shuji OGINO, 2023. Prognostic role of detailed colorectal location and tumor molecular features: analyses of 13,101 colorectal cancer patients including 2994 early-onset cases. *Journal of Gastroenterology* [online]. **58**(3), 229–245. ISSN 1435-5922. Dostupné z: doi:10.1007/s00535-023-01955-2
- UMETANI, M., H. DOMOTO, A. K. GORMLEY, I. S. YUHANNA, C. L. CUMMINS, N. B. JAVITT, K. S. KORACH, P. W. SHAUL a D. J. MANGELSDORF, 2007. 27-Hydroxycholesterol is an endogenous SERM that inhibits the cardiovascular effects of estrogen. *Nat Med* [online]. **13**(10), 1185–92. ISSN 1078-8956. Dostupné z: doi:10.1038/nm1641
- ÚZIS ČR, 2022. Národní onkologický registr. *Národní onkologický registr - ÚZIS ČR* [online] [vid. 2022-10-03]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/index.php?pg=registry-sber-dat--narodni-zdravotni-registry--narodni-onkologicky-registr>
- VAN DER AUWERA, Geraldine A., Mauricio O. CARNEIRO, Christopher HARTL, Ryan POPLIN, Guillermo DEL ANGEL, Ami LEVY-MOONSHINE, Tadeusz JORDAN, Khalid SHAKIR, David ROAZEN, Joel THIBAUT, Eric BANKS, Kiran V. GARIMELLA, David ALTSHULER, Stacey GABRIEL a Mark A. DEPRISTO, 2013. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Current Protocols in Bioinformatics* [online]. **43**, 11.10.1-11.10.33. ISSN 1934-340X. Dostupné z: doi:10.1002/0471250953.bi1110s43
- VAN DER SCHOOR, L. W., H. J. VERKADE, F. KUIPERS a J. W. JONKER, 2015. New insights in the biology of ABC transporters ABCC2 and ABCC3: impact on drug disposition. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* [online]. **11**(2), 273–93. Dostupné z: doi:10.1517/17425255.2015.981152
- VAN REYK, David M., Andrew J. BROWN, Lillemor Mattsson HULT'EN, Roger T. DEAN a Wendy JESSUP, 2006. Oxysterols in biological systems: sources, metabolism and pathophysiological relevance. *Redox Report: Communications in Free Radical Research* [online]. **11**(6), 255–262. ISSN 1743-2928. Dostupné z: doi:10.1179/135100006X155003
- VASSEUR, Antoine, Nicolas KIAVUE, François-Clément BIDARD, Jean-Yves PIERGA a Luc CABEL, 2021. Clinical utility of circulating tumor cells: an update. *Molecular Oncology* [online]. **15**(6), 1647–1666. ISSN 1878-0261. Dostupné z: doi:10.1002/1878-0261.12869

- VENKATESWARAN, A., B. A. LAFFITTE, S. B. JOSEPH, P. A. MAK, D. C. WILPITZ, P. A. EDWARDS a P. TONTONOZ, 2000. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* [online]. **97**(22), 12097–102. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.200367697
- VILAR, Eduardo a Stephen B. GRUBER, 2010. Microsatellite instability in colorectal cancer-the stable evidence. *Nature Reviews. Clinical Oncology* [online]. **7**(3), 153–162. ISSN 1759-4782. Dostupné z: doi:10.1038/nrclinonc.2009.237
- VORLÍČEK, Jiří, Jan ŽALOUĐÍK a Rostislav VYZULA, 2009. Onkoprevence pro Českou republiku » Linkos.cz. *Onkoprevence pro Českou republiku* [online] [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/prevence-a-skrining/onkoprevence-pro-ceskou-republiku-1/#info>
- VUIK, Fanny ER, Stella AV NIEUWENBURG, Marc BARDOU, Iris LANSDORP-VOGELAAR, Mário DINIS-RIBEIRO, Maria J. BENTO, Vesna ZADNIK, María PELLISÉ, Laura ESTEBAN, Michal F. KAMINSKI, Stepan SUCHANEK, Ondřej NGO, Ondřej MÁJEK, Marcis LEJA, Ernst J. KUIPERS a Manon CW SPAANDER, 2019. Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. *Gut* [online]. **68**(10), 1820–1826 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0017-5749, 1468-3288. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2018-317592
- WADDINGTON, Kirsty E., Elizabeth C. JURY a Inés PINEDA-TORRA, 2015. Liver X receptors in immune cell function in humans. *Biochemical Society Transactions* [online]. **43**(4), 752–757. ISSN 1470-8752. Dostupné z: doi:10.1042/BST20150112
- WANG, B. S., Z. LIU, W. X. XU a S. L. SUN, 2013a. CYP3A5\*3 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis and meta-regression. *Tumour Biol* [online]. **34**(4), 2357–66. ISSN 1423-0380. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-013-0783-2
- WANG, Feng, Frank STAPPENBECK, William MATSUI a Farhad PARHAMI, 2017a. Inhibition of Pancreatic Cancer Cell-Induced Paracrine Hedgehog Signaling by Liver X Receptor Agonists and Oxy16, a Naturally Occurring Oxysterol. *Journal of Cellular Biochemistry* [online]. **118**(3), 499–509 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1097-4644. Dostupné z: doi:10.1002/jcb.25668
- WANG, Feng, Frank STAPPENBECK a Farhad PARHAMI, 2019a. Inhibition of Hedgehog Signaling in Fibroblasts, Pancreatic, and Lung Tumor Cells by Oxy186, an Oxysterol Analogue with Drug-Like Properties. *Cells* [online]. **8**(5), 509 [vid. 2022-09-21]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells8050509
- WANG, Chen, Haowei HE a Wennian FANG, 2020. Oncogenic roles of the cholesterol metabolite 25-hydroxycholesterol in bladder cancer. *Oncology Letters* [online]. **19**(6), 3671–3676 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1792-1074. Dostupné z: doi:10.3892/ol.2020.11475
- WANG, Chun-Wei, Chiung-Chiao HUANG, Pei-Hsin CHOU, Yu-Ping CHANG, Shouzu WEI, Frederick Peter GUENGERICH, Yueh-Ching CHOU, Sheng-Fan WANG, Ping-Shan LAI, Pavel SOUČEK a Yune-Fang UENG, 2017b. 7-ketocholesterol and 27-hydroxycholesterol decreased doxorubicin sensitivity in breast cancer cells: estrogenic activity and mTOR pathway. *Oncotarget* [online]. **8**(39), 66033–66050. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.19789
- WANG, Kai, Mingyao LI a Hakon HAKONARSON, 2010. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Research* [online]. **38**(16), e164. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkq603
- WANG, S. F., Y. C. CHOU, N. MAZUMDER, F. J. KAO, L. D. NAGY, F. P. GUENGERICH, C. HUANG, H. C. LEE, P. S. LAI a Y. F. UENG, 2013b. 7-Ketocholesterol induces P-glycoprotein through PI3K/mTOR signaling in hepatoma cells. *Biochem Pharmacol* [online]. **86**(4), 548–60. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2013.06.006
- WANG, Saisai, Yuanyuan YAO, Chunhui RAO, Gang ZHENG a Wenbin CHEN, 2019b. 25-HC decreases the sensitivity of human gastric cancer cells to 5-fluorouracil and promotes cells invasion via the TLR2/NF-κB signaling pathway. *International Journal of Oncology* [online]. **54**(3), 966–980 [vid. 2022-09-21]. ISSN 1019-6439. Dostupné z: doi:10.3892/ijo.2019.4684
- WANG, Shixiang, Huimin LI, Minfang SONG, Ziyu TAO, Tao WU, Zaoke HE, Xiangyu ZHAO, Kai WU a Xue-Song LIU, 2021. Copy number signature analysis tool and its application in prostate cancer reveals distinct mutational processes and clinical outcomes. *PLoS genetics* [online]. **17**(5), e1009557. ISSN 1553-7404. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pgen.1009557

- WANG, Shuang, Lijuan LI, Mengmeng YANG, Xiaoyan WANG, Huan ZHANG, Nan WU, Kaichao JIA, Junchao WANG, Menghui LI, Lijuan WEI a Juntian LIU, 2023. Identification of Three Circulating MicroRNAs in Plasma as Clinical Biomarkers for Breast Cancer Detection. *Journal of Clinical Medicine* [online]. **12**(1), 322 [vid. 2023-03-10]. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm12010322
- WANG, Y. M., Z. W. LIU, J. B. GUO, X. F. WANG, X. X. ZHAO a X. ZHENG, 2013c. ESR1 Gene Polymorphisms and Prostate Cancer Risk: A HuGE Review and Meta-Analysis. *PLoS One* [online]. **8**(6), e66999. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0066999
- WANG, Y., Q. MEI, Y. Q. AI, R. Q. LI, L. CHANG, Y. F. LI, Y. X. XIA, W. H. LI a Y. CHEN, 2015. Identification of lung cancer oncogenes based on the mRNA expression and single nucleotide polymorphism profile data. *Neoplasma* [online]. **62**(6), 966–73. ISSN 0028-2685. Dostupné z: doi:10.4149/neo\_2015\_117
- WAPLES, Robin S., 2015. Testing for Hardy–Weinberg Proportions: Have We Lost the Plot? *Journal of Heredity* [online]. **106**(1), 1–19 [vid. 2023-03-21]. ISSN 0022-1503. Dostupné z: doi:10.1093/jhered/esu062
- WEBB, Penelope M., Adèle C. GREEN a Susan J. JORDAN, 2017. Trends in hormone use and ovarian cancer incidence in US white and Australian women: implications for the future. *Cancer causes & control: CCC* [online]. **28**(5), 365–370. ISSN 1573-7225. Dostupné z: doi:10.1007/s10552-017-0868-0
- WEINSTEIN, John N., Eric A. COLLISSON, Gordon B. MILLS, Kenna M. SHAW, Brad A. OZENBERGER, Kyle ELLROTT, Ilya SHMULEVICH, Chris SANDER a Joshua M. STUART, 2013. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer Analysis Project. *Nature genetics* [online]. **45**(10), 1113–1120 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/ng.2764
- WHELAN, Eilbhe, Ilkka KALLIALA, Anysia SEMERTZIDOU, Olivia RAGLAN, Sarah BOWDEN, Konstantinos KECHAGIAS, Georgios MARKOZANNES, Sofia CIVIDINI, Iain MCNEISH, Julian MARCHESI, David MACINTYRE, Phillip BENNETT, Kostas TSILIDIS a Maria KYRGIU, 2022. Risk Factors for Ovarian Cancer: An Umbrella Review of the Literature. *Cancers* [online]. **14**(11), 2708. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers14112708
- WHO, 2019a. *World Health Organization Classification of Tumours: Breast Tumours* [online]. 5th vyd. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [vid. 2022-10-25]. ISBN 978-92-832-4500-1. Dostupné z: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Breast-Tumours-2019>
- WHO, 2019b. *World Health Organization Classification of Tumours: Digestive System Tumours* [online]. 5th vyd. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [vid. 2022-10-25]. ISBN 978-92-832-4499-8. Dostupné z: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Digestive-System-Tumours-2019>
- WHO, 2020. *World Health Organization Classification of Tumours: Female Genital Tumours* [online]. 5th vyd. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [vid. 2022-10-25]. ISBN 978-92-832-4504-9. Dostupné z: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Female-Genital-Tumours-2020>
- WILKINSON, G. R., 1996. Cytochrome P4503A (CYP3A) metabolism: prediction of in vivo activity in humans. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. **24**(5), 475–490. ISSN 0090-466X.
- WILLIAMS, C., F. PONTÉN, C. MOBERG, P. SÖDERKVIST, M. UHLÉN, J. PONTÉN, G. SITBON a J. LUNDEBERG, 1999. A high frequency of sequence alterations is due to formalin fixation of archival specimens. *The American Journal of Pathology* [online]. **155**(5), 1467–1471. ISSN 0002-9440. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9440(10)65461-2
- WOLKING, S., E. SCHAEFFELER, H. LERCHE, M. SCHWAB a A. T. NIES, 2015. Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature. *Clin Pharmacokinetics* [online]. **54**(7), 709–35. Dostupné z: doi:10.1007/s40262-015-0267-1
- WU, Fujia, Yu ZHANG, Bo SUN, Andrew P. MCMAHON a Yu WANG, 2017. Hedgehog Signaling: From Basic Biology to Cancer Therapy. *Cell Chemical Biology* [online]. **24**(3), 252–280. ISSN 2451-9448. Dostupné z: doi:10.1016/j.chembiol.2017.02.010
- WU, Qian, Tomonori ISHIKAWA, Rosa SIRIANNI, Hao TANG, Jeffrey G. MCDONALD, Ivan S. YUHANNA, Bonne THOMPSON, Luc GIRARD, Chieko MINEO, Rolf A. BREKKEN, Michihisa UMETANI, David M. EUHUS, Yang XIE a Philip W. SHAUL, 2013. 27-Hydroxycholesterol Promotes Cell-

Autonomous, ER-Positive Breast Cancer Growth. *Cell Reports* [online]. **5**(3), 637–645 [vid. 2022-09-21]. ISSN 2211-1247. Dostupné z: doi:10.1016/j.celrep.2013.10.006

XI, Yue a Pengfei XU, 2021. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Translational Oncology* [online]. **14**(10), 101174 [vid. 2022-10-31]. ISSN 1936-5233. Dostupné z: doi:10.1016/j.tranon.2021.101174

XIANG, Kehui a David P BARTEL, 2021. The molecular basis of coupling between poly(A)-tail length and translational efficiency. *eLife* [online]. **10**, e66493 [vid. 2023-04-04]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.66493

XIN, M., X. JI, L. K. DE LA CRUZ, S. THAREJA a B. WANG, 2018. Strategies to target the Hedgehog signaling pathway for cancer therapy. *Med Res Rev* [online]. ISSN 1098-1128. Dostupné z: doi:10.1002/med.21482

YAMASHITA, Suguru, Kristoffer Watten BRUDVIK, Scott E. KOPETZ, Dipen MARU, Callisia N. CLARKE, Guillaume PASSOT, Claudius CONRAD, Yun Shin CHUN, Thomas A. ALOIA a Jean-Nicolas VAUTHEY, 2018. Embryonic Origin of Primary Colon Cancer Predicts Pathologic Response and Survival in Patients Undergoing Resection for Colon Cancer Liver Metastases. *Annals of Surgery* [online]. **267**(3), 514–520. ISSN 1528-1140. Dostupné z: doi:10.1097/SLA.0000000000002087

YANG, S. Y. Cindy, Stephanie LHEUREUX, Katherine KARAKASIS, Julia V. BURNIER, Jeffery P. BRUCE, Derek L. CLOUTHIER, Arnavaz DANESH, Rene QUEVEDO, Mark DOWAR, Youstina HANNA, Tiantian LI, Lin LU, Wei XU, Blaise A. CLARKE, Pamela S. OHASHI, Patricia A. SHAW, Trevor J. PUGH a Amit M. OZA, 2018. Landscape of genomic alterations in high-grade serous ovarian cancer from exceptional long- and short-term survivors. *Genome Medicine* [online]. **10**(1), 81 [vid. 2023-04-04]. ISSN 1756-994X. Dostupné z: doi:10.1186/s13073-018-0590-x

YE, Pengfei, Yue XI, Zhiying HUANG a Pengfei XU, 2020. Linking Obesity with Colorectal Cancer: Epidemiology and Mechanistic Insights. *Cancers* [online]. **12**(6), E1408. ISSN 2072-6694. Dostupné z: doi:10.3390/cancers12061408

YERUSHALMI, Rinat, Ryan WOODS, Peter M RAVDIN, Malcolm M HAYES a Karen A GELMON, 2010. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *The Lancet Oncology* [online]. **11**(2), 174–183 [vid. 2022-10-04]. ISSN 1470-2045. Dostupné z: doi:10.1016/S1470-2045(09)70262-1

YUZAWA, Sayaka, Hiroshi NISHIHARA a Shinya TANAKA, 2016. Genetic landscape of meningioma. *Brain Tumor Pathology* [online]. **33**(4), 237–247. ISSN 1861-387X. Dostupné z: doi:10.1007/s10014-016-0271-7

ZARROUK, A., A. VEJUX, J. MACKRILL, Y. O'CALLAGHAN, M. HAMMAMI, N. O'BRIEN a G. LIZARD, 2014. Involvement of oxysterols in age-related diseases and ageing processes. *Ageing Research Reviews* [online]. **18**, 148–162. ISSN 1568-1637. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2014.09.006

ZEHIR, Ahmet, Ryma BENAYED, Ronak H. SHAH, Aijazuddin SYED, Sumit MIDDHA, Hyunjae R. KIM, Preethi SRINIVASAN, Jianjiong GAO, Debyani CHAKRAVARTY, Sean M. DEVLIN, Matthew D. HELLMANN, David A. BARRON, Alison M. SCHRAM, Meera HAMEED, Snjezana DOGAN, Dara S. ROSS, Jaclyn F. HECHTMAN, Deborah F. DELAIR, JinJuan YAO, Diana L. MANDELKER, Donavan T. CHENG, Raghu CHANDRAMOHAN, Abhinita S. MOHANTY, Ryan N. PTASHKIN, Gowtham JAYAKUMARAN, Meera PRASAD, Mustafa H. SYED, Anoop Balakrishnan REMA, Zhen Y. LIU, Khedoudja NAFA, Laetitia BORSU, Justyna SADOWSKA, Jacklyn CASANOVA, Ruben BACARES, Iwona J. KIECKA, Anna RAZUMOVA, Julie B. SON, Lisa STEWART, Tessara BALDI, Kerry A. MULLANEY, Hikmat AL-AHMADIE, Efsevia VAKIANI, Adam A. ABESHOUSE, Alexander V. PENSON, Philip JONSSON, Niedzica CAMACHO, Matthew T. CHANG, Helen H. WON, Benjamin E. GROSS, Ritika KUNDRA, Zachary J. HEINS, Hsiao-Wei CHEN, Sarah PHILLIPS, Hongxin ZHANG, Jiaojiao WANG, Angelica OCHOA, Jonathan WILLS, Michael EUBANK, Stacy B. THOMAS, Stuart M. GARDOS, Dalicia N. REALES, Jesse GALLE, Robert DURANY, Roy CAMBRIA, Wassim ABIDA, Andrea CERCEK, Darren R. FELDMAN, Mrinal M. GOUNDER, A. Ari HAKIMI, James J. HARDING, Gopa IYER, Yelena Y. JANJIGIAN, Emmet J. JORDAN, Ciara M. KELLY, Maeve A. LOWERY, Luc G. T. MORRIS, Antonio M. OMURO, Nitya RAJ, Pedram RAZAVI, Alexander N. SHOUSHARI, Neerav SHUKLA, Tara E. SOUMERAI, Anna M. VARGHESE, Rona YAEGGER, Jonathan COLEMAN, Bernard BOCHNER, Gregory J. RIELY, Leonard B. SALTZ, Howard I. SCHER, Paul J. SABBATINI, Mark E. ROBSON, David S. KLIMSTRA, Barry S. TAYLOR, Jose BASELGA, Nikolaus SCHULTZ, David M. HYMAN, Maria E. ARCILA, David B. SOLIT, Marc LADANYI a Michael F. BERGER, 2017. Mutational landscape of metastatic

- cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nature Medicine* [online]. **23**(6), 703–713. ISSN 1546-170X. Dostupné z: doi:10.1038/nm.4333
- ZHANG, Jiajia, Charles HAINES, Alastair J. M. WATSON, Andrew R. HART, Mary Jane PLATT, Drew M. PARDOLL, Sara E. COSGROVE, Kelly A. GEBO a Cynthia L. SEARS, 2019. Oral antibiotic use and risk of colorectal cancer in the United Kingdom, 1989–2012: a matched case–control study. *Gut* [online]. **68**(11), 1971–1978 [vid. 2022-10-31]. ISSN 0017-5749, 1468-3288. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2019-318593
- ZHANG, Shengliang, Lindsey CARLSEN, Liz HERNANDEZ BORRERO, Attila A. SEYHAN, Xiaobing TIAN a Wafik S. EL-DEIRY, 2022. Advanced Strategies for Therapeutic Targeting of Wild-Type and Mutant p53 in Cancer. *Biomolecules* [online]. **12**(4), 548 [vid. 2023-04-04]. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom12040548
- ZHANG, Y., X. Y. LUO, D. H. WU a Y. XU, 2015. ROR nuclear receptors: structures, related diseases, and drug discovery. *Acta Pharmacol Sin* [online]. **36**(1), 71–87. ISSN 1745-7254. Dostupné z: doi:10.1038/aps.2014.120
- ZHAO, Wei, Xiaping HE, Katherine A. HOADLEY, Joel S. PARKER, David Neil HAYES a Charles M. PEROU, 2014. Comparison of RNA-Seq by poly (A) capture, ribosomal RNA depletion, and DNA microarray for expression profiling. *BMC Genomics* [online]. **15**(1), 419 [vid. 2023-03-17]. ISSN 1471-2164. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2164-15-419
- ZHAO, Wenyuan, Ananya GUPTA, Janusz KRAWCZYK a Sanjeev GUPTA, 2022. The miR-17-92 cluster: Yin and Yang in human cancers. *Cancer Treatment and Research Communications* [online]. **33**, 100647 [vid. 2023-03-14]. ISSN 2468-2942. Dostupné z: doi:10.1016/j.ctarc.2022.100647
- ZHENG, Zongli, Matthew LIEBERS, Boryana ZHELYAZKOVA, Yi CAO, Divya PANDITI, Kerry D. LYNCH, Juxiang CHEN, Hayley E. ROBINSON, Hyo Sup SHIM, Juliann CHMIELECKI, William PAO, Jeffrey A. ENGELMAN, A. John IAFRATE a Long Phi LE, 2014. Anchored multiplex PCR for targeted next-generation sequencing. *Nature Medicine* [online]. **20**(12), 1479–1484. ISSN 1546-170X. Dostupné z: doi:10.1038/nm.3729
- ZHOU, Li-Ping, Fan YAO, Hong LUAN, Yin-Ling WANG, Xi-Hua DONG, Wen-Wen ZHOU a Qi-Hui WANG, 2013. CYP3A4\*1B polymorphism and cancer risk: a HuGE review and meta-analysis. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* [online]. **34**(2), 649–660. ISSN 1423-0380. Dostupné z: doi:10.1007/s13277-012-0592-z
- ZHU, Guo, Ryma BENAYED, Caleb HO, Kerry MULLANEY, Purvil SUKHADIA, Kelly RIOS, Ryan BERRY, Brian P. RUBIN, Khedoudja NAFA, Lu WANG, David S. KLIMSTRA, Marc LADANYI a Meera R. HAMEED, 2019. Diagnosis of known sarcoma fusions and novel fusion partners by targeted RNA sequencing with identification of a recurrent ACTB-FOSB fusion in pseudomyogenic hemangioendothelioma. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* [online]. **32**(5), 609–620. ISSN 1530-0285. Dostupné z: doi:10.1038/s41379-018-0175-7
- ZHU, Chuanmei, Hongbo MA, Anqi HE, Yi LI, Chengqi HE a Yong XIA, 2022. Exercise in cancer prevention and anticancer therapy: Efficacy, molecular mechanisms and clinical information. *Cancer Letters* [online]. **544**, 215814. ISSN 1872-7980. Dostupné z: doi:10.1016/j.canlet.2022.215814
- ZHUO, Wei, Lei HU, Jinfeng LV, Hongbing WANG, Honghao ZHOU a Lan FAN, 2014. Role of pregnane X receptor in chemotherapeutic treatment. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* [online]. **74**(2), 217–227. ISSN 1432-0843. Dostupné z: doi:10.1007/s00280-014-2494-9
- ZMYSŁOWSKI, A. a A. SZTERK, 2017. Current knowledge on the mechanism of atherosclerosis and pro-atherosclerotic properties of oxysterols. *Lipids in Health and Disease* [online]. **16**. ISSN 1476-511X. Dostupné z: doi:10.1186/s12944-017-0579-2

## Seznam příloh

### Příloha I

**HOLY, P.**, A. KLOUDOVA a P. SOUCEK, 2018. Importance of genetic background of oxysterol signaling in cancer. *Biochimie*. 153, 109–138. ISSN 1638-6183. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2018.04.023

### Příloha II

**HOLÝ, Petr**, Viktor HLAVÁČ, Pavel OSTAŠOV, Veronika BRYNYCHOVÁ, Renata KOŽEVNIKOVOVÁ, Markéta TRNKOVÁ, Kateřina KOPEČKOVÁ, Soňa MĚŠŤÁKOVÁ, Marcela MRHALOVÁ a Pavel SOUČEK, 2022. Germline and somatic genetic variability of oxysterol-related genes in breast cancer patients with early disease of the luminal subtype. *Biochimie*. 199, 158–169. ISSN 0300-9084. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2022.04.015

### Příloha III

**HOLÝ, Petr**, Veronika BRYNYCHOVÁ, Karolína ŠEBOROVÁ, Vojtěch HANIČINEC, Renata KOŽEVNIKOVOVÁ, Markéta TRNKOVÁ, David VRÁNA, Jiří GATĚK, Kateřina KOPEČKOVÁ, Marcela MRHALOVÁ a Pavel SOUČEK, 2023. Integrative analysis of mRNA-miRNA expression profiles and somatic variants in oxysterol signaling in early-stage luminal breast cancer. [v recenzním řízení v době odevzdání disertační práce]

### Příloha IV

HLAVÁČ, Viktor, **Petr HOLÝ**, Radka VÁCLAVÍKOVÁ, Lukáš ROB, Martin HRUDA, Marcela MRHALOVÁ, Petr ČERNAJ, Jiří BOUDA a Pavel SOUČEK, 2022. Whole-exome sequencing of epithelial ovarian carcinomas differing in resistance to platinum therapy. *Life Science Alliance*. 5(12). ISSN 2575-1077. Dostupné z: doi:10.26508/lsa.202201551

### Příloha V

Přehled pacientek a seznam studovaných genů ze zatím nedokončené studie:

**HOLÝ, Petr**, ..., a Radka VÁCLAVÍKOVÁ, 2023. Germline and somatic variants in targeted DNA sequencing panel reveal new candidate genes involved in platinum resistance of ovarian carcinoma.

### Příloha VI

HLAVÁČ, Viktor, Lenka ČERVENKOVÁ, Simona ŠŮSOVÁ, **Petr HOLÝ**, Václav LIŠKA, Ondřej VYČÍTAL, Ondřej ŠOREJS, Ondřej FIALA, Ondřej DAUM a Pavel SOUČEK, 2023. Exome Sequencing of Paired Colorectal Carcinomas and Synchronous Liver Metastases for Prognosis and Therapy Prediction. *JCO Precision Oncology* [online]. (7), e2200557 [vid. 2023-05-05]. Dostupné z: doi:10.1200/PO.22.00557