



REVISTA MÉDICA CLÍNICA LAS CONDES

<https://www.journals.elsevier.com/revista-medica-clinica-las-condes>

ARTÍCULO ESPECIAL

Tamizaje de cáncer colorrectal: pruebas emergentes no invasivas

Colorectal cancer screening: emerging non-invasive tests

Alessandra Cassana^{a,b}, Mario Abedrapo^{a,c}, Mauricio Diaz^{a,c}, Diego Zamorano^{a,d}, Alejandro Zárate^{a,e}.

^a Unidad de Coloproctología, Clínica Las Condes. Santiago, Chile.

^b Laboratorio de Inmunogastroenterología. Hospital Clínico de la Universidad de Chile José Joaquín Aguirre. Santiago, Chile.

^c Servicio de Coloproctología, Hospital Clínico de la Universidad de Chile. José Joaquín Aguirre. Santiago, Chile.

^d Servicio de Coloproctología, Hospital Félix Bulnes. Santiago, Chile.

^e Facultad de Medicina, Universidad Finis Terrae. Santiago, Chile.

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del Artículo:

Recibido: 06 01 2024

Aceptado: 28 02 2024

Key words:

Colorectal Neoplasms;
Early Detection of Cancer;
Gastrointestinal Microbiome.

Palabras clave:


Neoplasias Colorrectales;
Detección Precoz del
Cáncer; Microbioma
Gastrointestinal.

RESUMEN

El cáncer colorrectal (CCR) es la segunda causa de cáncer en Chile y representa un problema de salud pública debido a su alta morbilidad y mortalidad. En los últimos 20 años se ha descrito un aumento progresivo de su incidencia en pacientes menores de 50 años. El tamizaje precoz en la población general está indicado en pacientes asintomáticos mayores de 45 años y ha demostrado tener un impacto en la mortalidad. Las características genéticas y fisiopatológicas del CCR lo convierten en un tumor posible de ser tamizado utilizando diversas estrategias. El objetivo de este trabajo es revisar las últimas metodologías emergentes de cribado no invasivo en estudio y desarrollo, utilizando muestras fecales, de sangre y orina, las cuales podrían mejorar la adherencia de los pacientes a los programas de tamizaje de cáncer colorrectal.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is the second cause of cancer in Chile and represents a public health problem due to its high morbidity and mortality. In the last 20 years, a progressive increase in its incidence has been described in patients under 50 years old. Early screening in general population is indicated in asymptomatic patients over 45 years old and has been shown to have an impact on mortality. The genetic and pathophysiological features of CRC make it susceptible to be screened using many strategies. The objective of this work is to review the latest emerging non-invasive screening methodologies currently being studied and developed using fecal, blood and urine samples, which may improve patient adherence to colorectal cancer screening programs.

 Autor para correspondencia

Correo electrónico: ccassana@clinicalascondes.cl

<https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2024.03.006>

e-ISSN: 2531-0186/ ISSN: 0716-8640/© 2024 Revista Médica Clínica Las Condes.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) es la tercera neoplasia más frecuente a nivel mundial, con más de 1,9 millones de casos nuevos diagnosticados en 2022 (10% del total de casos); representando la segunda causa de muerte por cáncer. Para el 2022, en Latinoamérica se registró una incidencia del 5%¹. En Chile, es el segundo cáncer más frecuente, con una incidencia de 20,3%, representando la tercera causa de muerte para ambos sexos². Constituyendo un problema de salud pública relevante por el aumento progresivo de las tasas de mortalidad y la carga que representa para el sistema.

En los últimos años, la incidencia de CCR se ha mantenido estable o en descenso en los países desarrollados, presentando, de manera inversa, un aumento progresivo en aquellos países en vías de desarrollo³. Cuando se analizan estas tendencias según la edad del diagnóstico, en los últimos 20 años se ha observado un incremento sostenido de la incidencia en pacientes menores de 50 años a nivel mundial⁴, lo cual exige realizar un tamizaje que permita un diagnóstico y tratamiento más precoz.

El cribado de CCR está indicado en pacientes asintomáticos ≥ 45 años hasta los 75 años, luego en casos individualizados entre los 76 y los 85 años, y ha demostrado contribuir a la prevención y a la reducción de la mortalidad asociada a este cáncer⁵⁻⁸.

El CCR posee diversas características genéticas y fisiopatológicas que lo convierten en un tumor posible de ser tamizado utilizando múltiples estrategias. Es una enfermedad que se caracteriza por el desarrollo anormal de las células del tejido intestinal⁹. El epitelio colónico se origina de criptas que contienen células madre encargadas de generar precursores que se diferencian en células epiteliales con funciones especializadas. Durante el proceso de autorrenovación, las células madre acumulan y propagan mutaciones oncogénicas que causan un crecimiento anormal de una cripta aberrante, que luego progresa a un pólipo adenomatoso benigno que puede transformarse finalmente en un adenocarcinoma. Este proceso configura el modelo de "adenoma-carcinoma" propuesto por Fearon y Vogelstein (1990) que explica el 90% de los casos de CCR. Según este mecanismo, la aparición del adenoma inicia con la inactivación o delección del gen *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) que continúa hacia el desarrollo de un adenocarcinoma, con la inactivación o delección del gen *TP53* (*Tumoral Protein 53*), disfunción de telómeros y ruptura de la doble cadena de DNA, dando lugar a una inestabilidad cromosómica^{5,9,10}.

La necesidad imperiosa del tamizaje del CCR en estadios tempranos de la enfermedad, con alta sensibilidad y especificidad, ha dado lugar a la innovación en las pruebas de detección¹¹. El test inmunológico fecal (FIT) y la colonoscopia son los métodos más empleados, siendo esta última la técnica de elección tanto para el cribado como para el diagnóstico^{5,8,12-14}. Si bien, el FIT tiene

baja sensibilidad para detectar adenomas avanzados (25-27%) y CCR (74-81%)⁸, se ha descrito que los FIT cuantitativos tienen una ventaja sobre los FIT cualitativos ya que permiten definir el punto de corte según la población de estudio¹⁴. Por su parte, la colonoscopia es invasiva y requiere una preparación previa, lo cual muchas veces reduce la adherencia del paciente⁵. Los avances en el estudio de las alteraciones genéticas y epigenéticas que se producen durante la carcinogénesis colorrectal están permitiendo el desarrollo y la validación de diversos métodos de detección precoz no invasivos o mínimamente invasivos, entre los que se describen biomarcadores metagenómicos, epigenéticos y genéticos de sangre, deposiciones y orina, así como células tumorales circulantes y marcadores de microbiota intestinal^{5,6,8,12}.

Ante el creciente desarrollo y avance tecnológico en estos métodos de diagnóstico, es necesario que el personal de salud conozca las últimas estrategias de tamizaje del CCR, a fin de orientar la toma de decisiones clínicas basada en evidencia. Por ello, el objetivo de este artículo es revisar las estrategias emergentes no invasivas para el tamizaje del cáncer colorrectal, dividiéndolas entre pruebas de detección no invasivas en deposiciones, sangre y orina.

PRUEBAS DE DETECCIÓN DE BIOMARCADORES DE CCR EN DEPOSICIONES

Los nuevos métodos de análisis de muestras fecales para la detección de CCR se basan en el estudio de las células neoplásicas que desprenden las lesiones preneoplásicas y neoplásicas hacia el lumen intestinal, brindando la posibilidad de poder detectar biomarcadores específicos como mutaciones genéticas, metilaciones del DNA y microRNAs^{5,10,15}.

mt-sDNA (*multitarget stool DNA*)

La prueba de múltiples objetivos de DNA en materia fecal (Colo-guard®) detecta 11 biomarcadores moleculares de DNA alterado, entre ellos metilaciones de los genes *DRG4*, *BMP3* y mutación del gen *KRAS*, así como hemoglobina humana mediante FIT. Asimismo, la tasa de detección positiva ha demostrado ser independiente del género, la edad y el tamaño y localización tumoral¹³. Tiene una sensibilidad de 93% (IC 95%, 87-100%) - mayor que la de FIT (73,7%)¹⁶ - y una especificidad de 85% (IC 95%, 84-86%) para detectar CCR; y una sensibilidad de 43% (IC 95% 40-56%) y una especificidad de 89% (IC 95% 86-92%) para detectar adenomas avanzados^{5,7,10}. Está disponible para uso clínico desde el 2014 en EE.UU. y la FDA lo aprueba para ser aplicado cada 3 años en pacientes de riesgo promedio. Sin embargo, tiene como desventaja su alto costo y baja sensibilidad para detectar adenomas avanzados a comparación de la colonoscopia^{5,17}.

DNA metilado en deposiciones

SFRP2 (*secreted frizzled-related protein 2*) es el primer biomarcador de DNA metilado humano para diagnóstico precoz y detección de

recurrencia de CCR, alcanzando una sensibilidad de hasta 90% y una especificidad de 77%¹⁸. Asimismo, el gen de vimentina (*VIM*) se encuentra metilado hasta en un 83% de los tumores colorrectales y también es utilizado como biomarcador de diagnóstico de CCR (ColoSure™) con una sensibilidad de 46% y una especificidad de 90%¹¹. La metilación del proteoglicán syndecan-2 (*SDC2*, EarlyTect-C®) ha sido aprobado en Korea desde el 2018, con una sensibilidad y especificidad de hasta 90% para detectar CCR¹⁹. Actualmente, se están llevando a cabo estudios preclínicos que están investigando otros potenciales genes metilados en deposiciones para el diagnóstico precoz de CCR, entre los que se describen *FBN1*, *SFRP1*, *MGMT*, *hMLH1*, *APC*, *CDKN2A*, entre otros²⁰.

Ensayos basados en microbioma intestinal

Los datos del secuenciamiento metagenómico de bacterias de la microbiota intestinal y sus metabolitos pueden utilizarse como biomarcadores para la detección temprana del CCR⁵. Se ha identificado a *Fusobacterium nucleatum* y a *Lachnoclostridium sp* como potenciales marcadores de diagnóstico de CCR (sensibilidad 84,9%, especificidad 83,3%) y de adenomas avanzados (sensibilidad 38,6%, especificidad 98,6%), respectivamente²¹. *Clostridium symbiosum* se encuentra de forma abundante en deposiciones de pacientes con CCR y se encuentra asociada a adenomas y estadios avanzados de CCR²². Asimismo, las bacterias productoras de colibactina están presentes significativamente en la microbiota de pacientes con CCR a comparación de aquellos con displasia o voluntarios sanos, con una sensibilidad de 56,4% y una especificidad cercana a 80%^{23,24}.

El estudio del DNA en contenido fecal ha demostrado tener utilidad para la detección temprana de CCR, mejorando el rendimiento cuando se combina con FIT o mt-sDNA, al utilizar el contenido fecal residual de los mismos^{12,25,26}. La combinación de estos biomarcadores bacterianos fecales con FIT puede optimizar el rendimiento con una sensibilidad de hasta 93,8% para detectar CCR¹⁴. La limitación de utilizar al microbioma intestinal como biomarcador es la gran variación global del mismo, por lo que se deberá lograr identificar características específicas extrapolables a la población en general que sirvan como diagnóstico, determinando la combinación más costo-efectiva de marcadores genéticos bacterianos de CCR y sus metabolitos⁵. Actualmente, no existe ninguna prueba basada en microbioma fecal disponible en la práctica clínica para tamizaje de adenomas avanzados o CCR²⁷.

PRUEBAS DE DETECCIÓN DE BIOMARCADORES DE CCR EN SANGRE

DNA de células tumorales circulantes

El DNA de las células tumorales (ct-DNA) es un tipo de DNA libre circulante (cf-DNA, por sus siglas en inglés) que puede ser aislado del suero y/o del plasma sanguíneo y puede proceder de estas mismas células o de la liberación de DNA celular degradado o

exosomas tumorales^{9,28}. Su desarrollo inicial estuvo orientado en detectar enfermedad residual en pacientes con CCR luego de la resección quirúrgica del tumor para el seguimiento, vigilancia de recurrencia temprana y respuesta al tratamiento mediante biopsia líquida^{5,13,29}. Considerando que la cantidad de DNA secretado por el tumor es directamente proporcional al tamaño del mismo, y que los tumores en estadios iniciales son pequeños; este tipo de prueba requiere de una alta sensibilidad, la cual ha sido posible de alcanzar utilizando secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés), con la capacidad de perfilar millones de fragmentos de DNA circulantes^{27,29,30}. Más aún, se han ido incorporando marcadores epigenéticos como alteraciones de la cromatina, metilaciones de DNA y patrones de fragmentación diferencial de ct-DNA, mutaciones que suelen ocurrir en estadios más precoces de la tumorigénesis y que afectan la expresión del mRNA o las proteínas traducidas, pero no las secuencias de DNA²⁹.

La metilación del promotor de las islas CpG (regiones ricas en citosina y guanina) contribuye a la carcinogénesis colorrectal, al inducir el silenciamiento de genes supresores de tumores^{11,13}. Esto ha dado lugar al desarrollo del análisis de SEPT9 metilado (cromosoma 17q25) en suero (Epi proColon® y ColoVantage®) que detecta cf-DNA por reacción en la cadena de la polimerasa (PCR) al evidenciar la metilación de dicha región del gen *SEPT9*⁸. Desde el 2016 esta prueba está disponible para tamizaje de CCR en adultos de riesgo promedio que rechacen otros métodos de tamizaje. Sin embargo, tiene una sensibilidad de 68% y 22% y una especificidad de 79,1% y 80% para detectar cáncer y adenomas avanzados, respectivamente; incluso se describe una tasa de falsos positivos entre 10-20%³¹. Cuando se combina con FIT, se puede alcanzar una sensibilidad de hasta 94%¹³. Por este motivo, suele usarse en aquellos pacientes que se rehúsan a otros métodos de tamizaje pero no está recomendado por el Grupo de Trabajo sobre Servicios Preventivos de los EE.UU. (*US Preventive Services Taskforce*)^{8,29,31,32}.

Actualmente, hay dos pruebas emergentes de ct-DNA (LUNAR-2 y Freenome) que están siendo evaluados en dos ensayos clínicos prospectivos: ECLIPSE (*Evaluation of the ct-DNA LUNAR-2 Test in an Average Patient Screening Episode*) y PREMPT (*Prevention of Colorectal Cancer Through Multiomics Blood Testing*)^{5,27}. Se espera obtener resultados concluyentes en aproximadamente 3 años más y, de encontrar valores adecuados de sensibilidad y especificidad, se podría mejorar el rendimiento del análisis de *SEPT9* metilado en suero y cumplir un rol importante en el cribado de este tipo de cáncer.

Ensayos de detección temprana de cánceres múltiples

GRAIL y CancerSEEK son pruebas que también utilizan ct-DNA y como biomarcadores agregan proteínas provenientes de alteraciones genómicas y epigenómicas del suero o plasma de los pacientes. Utilizan métodos de inteligencia artificial capaces de

detectar diversas firmas tumorales específicas con sensibilidad de hasta 98% y especificidad de más de 99%⁵. Dichos métodos incluyen amplificación de genes para tamizaje de 8 tipos de cáncer: colorrectal, mama, pulmón, estómago, ovarios, esófago, hígado y páncreas²⁹. El desarrollo y validación de estas pruebas se encuentra en avance, pues se describe una tasa de falsos positivos de hasta 17% y deben protocolizarse los procesos a seguir cuando el resultado de un paciente sea positivo, de manera que su uso sea costo-efectivo para un programa de tamizaje⁷.

MicroRNAs (miRNA)

Los microRNAs (miRNAs) son moléculas de RNA no codificante con una estructura estable y pequeña que impide su degradación. Regulan la expresión postranscripcional, pero no son traducidos a proteínas^{13,33}. Se han observado cambios de miRNAs en términos de actividad y nivel en células tumorales, lo que los convierte en potenciales marcadores de cáncer y pueden ser aislados de sangre, deposiciones y saliva^{11,29}. La desregulación de los miRNAs, actuando como oncogenes o genes supresores de tumores, puede ocurrir tanto en adenomas como en adenocarcinomas colorrectales y pueden ser analizados simultáneamente utilizando microarreglos, PCR cuantitativa en tiempo real y NGS^{13,34}. Asimismo, se han identificado polimorfismos cerca de las regiones diana del miRNA, que alteran la transcripción de los mismos y pueden ser utilizados también como biomarcadores de tamizaje³⁵. Sin embargo, se encuentran en proceso de estandarización para validación de su procesamiento y rendimiento para uso clínico^{36,37}.

Células tumorales circulantes (CTC)

Las CTC son células que se liberan a la sangre periférica desde el tumor o sus metástasis y pueden ser detectadas y utilizadas como biomarcadores de CCR. Para ello, se utiliza un ensayo de citometría de flujo, inmunomagnético e inmunocitoquímico altamente sensible, reportándose una precisión de hasta 88% para diagnóstico de CCR³⁸. No obstante, se encuentra en proceso de validación pues el número de células circulantes es bajo (hasta 10 células/10 ml de sangre), sobre todo en estadios iniciales de la enfermedad¹³.

PRUEBAS DE DETECCIÓN DE BIOMARCADORES DE CCR EN ORINA

Las pruebas de tamizaje basadas en orina analizan los metabolitos asociados a adenomas y CCR utilizando espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear o cromatografía líquida³⁹. Kim et al.⁴⁰ publicaron un estudio en el 2019 donde analizaron los perfiles metabolómicos urinarios por espectroscopía (taurina, alanina y 3-aminoisobutirato) de pacientes con adenomas colorrectales avanzados y CCR en distintos estadios, encontrando una sensibilidad de 75% y 100% y una especificidad de 100% y 96,2%, respectivamente. La ventaja de este tipo de análisis es la adherencia de los pacientes por la facilidad de recolección de las muestras,

así como la reproducibilidad de los resultados. Sin embargo, aún no se cuenta con resultados sobre su impacto en la incidencia y mortalidad del CCR, por lo que la FDA no ha aprobado ninguno de estos ensayos a la fecha¹⁵.

DISCUSIÓN

Los múltiples métodos emergentes de tamizaje de lesiones neoplásicas colorrectales buscan mejorar las actuales limitaciones que suponen las estrategias disponibles. La falta de adherencia a los programas de tamizaje suele estar influenciada tanto por factores socioeconómicos, previsionales y de acceso a la salud, como por las características inherentes a las mismas pruebas²⁷. El FIT tiene una baja sensibilidad para la detección de adenomas avanzados y la colonoscopia es invasiva y no está exenta de complicaciones. Las alteraciones genéticas y epigenéticas que acontecen en la carcinogénesis colorrectal han dado lugar al desarrollo de técnicas avanzadas de diagnóstico en sangre, deposiciones y orina que están siendo estudiadas y estandarizadas para su aplicación en la práctica clínica⁵.

Entre las pruebas de detección en deposiciones, el mt-sDNA ha demostrado tener una sensibilidad más alta que el FIT para la detección de CCR y adenomas avanzados, pero con una baja especificidad para detectar CCR y un alto costo; por lo que se están estudiando las siguientes generaciones de este examen en ensayos clínicos prospectivos (BLUE-C, CRC-Prevent)^{17,27}. El microbioma intestinal y sus metabolitos también son potenciales biomarcadores para la detección precoz de lesiones colorrectales y se está estudiando la combinación de estas especies bacterianas para ser incluida en otras pruebas en deposiciones, a fin de mejorar la precisión diagnóstica.

Entre las pruebas de detección en sangre, el ct-DNA están siendo evaluado en ensayos clínicos prospectivos para validar sus valores de sensibilidad, especificidad y costo-efectividad en el tamizaje de CCR. Por su parte, el SEPT9 metilado está siendo utilizado en combinación con FIT para mejorar su sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de lesiones neoplásicas colorrectales en pacientes que rechazan los otros métodos de tamizaje^{29,41}. Los miRNA y las CTC también se encuentran en proceso de estandarización y validación, con resultados prometedores hasta el momento.

Las pruebas de detección en orina, basados en perfiles metabolómicos por espectroscopía, podrían mejorar la adherencia de los pacientes ante la facilidad de recolección de muestras, pero todavía no se cuenta con resultados con respecto a su impacto en la incidencia y mortalidad del CCR para estandarizarlos como pruebas de tamizaje⁴⁰.

Los costos de estos métodos son elevados y, todavía, poco asequibles a realidades socioeconómicas de países en vías de desarrollo. Se espera contar con los resultados de los ensayos clínicos

que se están llevando a cabo, a fin de estandarizar e incluir estas pruebas como métodos de detección precoz en la práctica clínica con miras a que eventualmente puedan ser financiadas e incorporadas como estrategia de cribado⁴².

CONCLUSIÓN

El cáncer colorrectal es un problema de salud pública que puede ser prevenido y tratado en estadios tempranos, con un adecuado

programa de tamizaje colorrectal que incluya pruebas de diagnóstico emergentes y no invasivas que alcancen un rendimiento adecuado en términos de sensibilidad y especificidad. Múltiples análisis genéticos, epigenéticos y metabolómicos están en desarrollo y validación en muestras de sangre, deposiciones y orina. Se espera que prontamente puedan contribuir a mejorar la adherencia de los pacientes a los programas de tamizaje colorrectal y, con ello, a una disminución progresiva de la morbimortalidad asociada al cáncer colorrectal.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, et al. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2024. Available from: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/cancers/41-colorectum-fact-sheet.pdf>
2. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne M, Colombet M, Mery L, et al. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2024. Available from: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/152-chile-fact-sheet.pdf>
3. Akimoto N, Ugai T, Zhong R, Hamada T, Fujiyoshi K, Giannakis M, et al. Rising incidence of early-onset colorectal cancer – a call to action. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(4):230–243. doi: 10.1038/s41571-020-00445-1
4. Alvarez K, Cassana A, De La Fuente M, Canales T, Abedrapo M, López-Köstner F. Clinical, Pathological and Molecular Characteristics of Chilean Patients with Early-, Intermediate- and Late-Onset Colorectal Cancer. *Cells*. 2021;10(3):631. doi: 10.3390/cells10030631
5. Hanna M, Dey N, Grady WM. Emerging Tests for Noninvasive Colorectal Cancer Screening. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2023;21(3):604–616. doi: 10.1016/j.cgh.2022.12.008
6. Burnett-Hartman AN, Lee JK, Demb J, Gupta S. An Update on the Epidemiology, Molecular Characterization, Diagnosis, and Screening Strategies for Early-Onset Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2021;160(4):1041–1049. doi: 10.1053/j.gastro.2020.12.068
7. Lin JS, Perdue LA, Henrikson NB, Bean SI, Blasi PR. Screening for Colorectal Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA*. 2021;325(19):1978–1998. doi: 10.1001/jama.2021.4417 Erratum in: *JAMA*. 2021;326(3):279.
8. Gupta S. Screening for Colorectal Cancer. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2022;36(3):393–414. doi: 10.1016/j.hoc.2022.02.001
9. Li J, Ma X, Chakravarti D, Shalpour S, DePinho RA. Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer. *Genes Dev*. 2021;35(11–12):787–820. doi: 10.1101/gad.348226.120
10. Wu Z, Li Y, Zhang Y, Hu H, Wu T, Liu S, et al. Colorectal Cancer Screening Methods and Molecular Markers for Early Detection. *Technol Cancer Res Treat*. 2020;19:1533033820980426. doi: 10.1177/1533033820980426
11. Vatandoost N, Ghanbari J, Mojaver M, Avan A, Ghayour-Mobarhan M, Nedaenia R, et al. Early detection of colorectal cancer: from conventional methods to novel biomarkers. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016;142(2):341–351. doi: 10.1007/s00432-015-1928-z
12. Chan SCH, Liang JQ. Advances in tests for colorectal cancer screening and diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2022;22(4):449–460. doi: 10.1080/14737159.2022.2065197
13. Zygulska AL, Pierzchalski P. Novel Diagnostic Biomarkers in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(2):852. doi: 10.3390/ijms23020852
14. Wielandt AM, Hurtado C, Moreno M, Zárate A, López-Köstner F. Test de sangre oculta en deposiciones para programas de cribado de cáncer colorrectal: actualización [Fecal occult blood test for colorectal cancer screening]. *Rev Med Chile* 2021;149(4):580–590. Spanish. doi: 10.4067/s0034-98872021000400580
15. Jain S, Maque J, Galoosian A, Osuna-García A, May FP. Optimal Strategies for Colorectal Cancer Screening. *Curr Treat Options Oncol*. 2022;23(4):474–493. doi: 10.1007/s11864-022-00962-4
16. Quintero E, Castells A, Bujanda L, Cubiella J, Salas D, Lanás Á, et al.; COLONPREV Study Investigators. Colonoscopy vs fecal immunochemical testing in colorectal-cancer screening. *N Engl J Med*. 2012;366(8):697–706. doi: 10.1056/NEJMoa1108895 Erratum in: *N Engl J Med*. 2016;374(19):1898.
17. Shaikat A, Levin TR. Current and future colorectal cancer screening strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022;19(8):521–531. doi: 10.1038/s41575-022-00612-y Erratum in: *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022 Jul 4
18. Tang D, Liu J, Wang DR, Yu HF, Li YK, Zhang JQ. Diagnostic and prognostic value of the methylation status of secreted frizzled-related protein 2 in colorectal cancer. *Clin Invest Med*. 2011;34(2):E88–E95. doi: 10.25011/cim.v34i1.15105
19. Han YD, Oh TJ, Chung TH, Jang HW, Kim YN, An S, et al. Early detection of colorectal cancer based on presence of methylated syndecan-2 (SDC2) in stool DNA. *Clin Epigenetics*. 2019;11(1):51. doi: 10.1186/s13148-019-0642-0
20. Coppedè F, Lopomo A, Spisni R, Migliore L. Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(4):943–956. doi: 10.3748/wjg.v20.i4.943
21. Liang JQ, Wong SH, Szeto CH, Chu ES, Lau HC, Chen Y, et al. Fecal microbial DNA markers serve for screening colorectal neoplasm in asymptomatic subjects. *J Gastroenterol Hepatol*. 2021;36(4):1035–1043. doi: 10.1111/jgh.15171
22. Zhang Q, Zhao H, Wu D, Cao D, Ma W. A comprehensive analysis of the microbiota composition and gene expression in colorectal cancer. *BMC Microbiol*. 2020;20(1):308. doi: 10.1186/s12866-020-01938-w

23. Mousa WK. The microbiome-product colibactin hits unique cellular targets mediating host-microbe interaction. *Front Pharmacol.* 2022;13:958012. doi: 10.3389/fphar.2022.958012
24. Eklöf V, Löfgren-Burström A, Zingmark C, Edin S, Larsson P, Karlöf P, et al. Cancer-associated fecal microbial markers in colorectal cancer detection. *Int J Cancer.* 2017;141(12):2528-2536. doi: 10.1002/ijc.31011
25. Baxter NT, Koumpouras CC, Rogers MA, Ruffin MT 4th, Schloss PD. DNA from fecal immunochemical test can replace stool for detection of colonic lesions using a microbiota-based model. *Microbiome.* 2016;4(1):59. doi: 10.1186/s40168-016-0205-y
26. Krigul KL, Aasmets O, Lüll K, Org T, Org E. Using fecal immunochemical tubes for the analysis of the gut microbiome has the potential to improve colorectal cancer screening. *Sci Rep.* 2021;11(1):19603. doi: 10.1038/s41598-021-99046-w
27. Chun J, Kim JH, Youn YH, Park H. Noninvasive Testing for Colorectal Cancer Screening: Where Are We Now? *JDCR.* 2023;11(2):85-92. doi: 10.52927/jdcr.2023.11.2.85
28. Alix-Panabières C, Schwarzenbach H, Pantel K. Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Annu Rev Med.* 2012;63:199-215. doi: 10.1146/annurev-med-062310-094219
29. Ladabaum U, Dominitz JA, Kahi C, Schoen RE. Strategies for Colorectal Cancer Screening. *Gastroenterology.* 2020;158(2):418-432. doi: 10.1053/j.gastro.2019.06.043
30. Stewart CM, Tsui DWY. Circulating cell-free DNA for non-invasive cancer management. *Cancer Genet.* 2018;228-229:169-179. doi: 10.1016/j.cancergen.2018.02.005
31. Potter NT, Hurban P, White MN, Whitlock KD, Lofton-Day CE, Tetzner R, et al. Validation of a real-time PCR-based qualitative assay for the detection of methylated SEPT9 DNA in human plasma. *Clin Chem.* 2014;60(9):1183-1191. doi: 10.1373/clinchem.2013.221044
32. US Preventive Services Task Force; Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Davidson KW, Epling JW Jr, et al. Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA.* 2016;315(23):2564-2575. doi: 10.1001/jama.2016.5989. Erratum in: *JAMA.* 2016;316(5):545. Erratum in: *JAMA.* 2017;317(21):2239.
33. Guo Y, Bao Y, Yang W. Regulatory miRNAs in Colorectal Carcinogenesis and Metastasis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4):890. doi: 10.3390/ijms18040890
34. Sandhu S, Garzon R. Potential applications of microRNAs in cancer diagnosis, prognosis, and treatment. *Semin Oncol.* 2011;38(6):781-787. doi: 10.1053/j.seminoncol.2011.08.007
35. Salzman DW, Nakamura K, Nallur S, Dookwah MT, Methetrairut C, Slack FJ, et al. miR-34 activity is modulated through 5'-end phosphorylation in response to DNA damage. *Nat Commun.* 2016;7:10954. doi: 10.1038/ncomms10954
36. Nikolaou S, Qiu S, Fiorentino F, Rasheed S, Tekkis P, Kontovounisios C. Systematic review of blood diagnostic markers in colorectal cancer. *Tech Coloproctol.* 2018;22(7):481-498. doi: 10.1007/s10151-018-1820-3
37. Cheng HH, Yi HS, Kim Y, Kroh EM, Chien JW, Eaton KD, et al. Plasma processing conditions substantially influence circulating microRNA biomarker levels. *PLoS One.* 2013;8(6):e64795. doi: 10.1371/journal.pone.0064795
38. Tsai WS, You JF, Hung HY, Hsieh PS, Hsieh B, Lenz HJ, et al. Novel Circulating Tumor Cell Assay for Detection of Colorectal Adenomas and Cancer. *Clin Transl Gastroenterol.* 2019;10(10):e00088. doi: 10.14309/ctg.0000000000000088
39. Deng L, Ismond K, Liu Z, Constable J, Wang H, Alatiser OI, et al. Urinary Metabolomics to Identify a Unique Biomarker Panel for Detecting Colorectal Cancer: A Multicenter Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019;28(8):1283-1291. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-18-1291
40. Kim ER, Kwon HN, Nam H, Kim JJ, Park S, Kim YH. Urine-NMR metabolomics for screening of advanced colorectal adenoma and early stage colorectal cancer. *Sci Rep.* 2019;9(1):4786. doi: 10.1038/s41598-019-41216-y
41. Chen J, Sun H, Tang W, Zhou L, Xie X, Qu Z, et al. DNA methylation biomarkers in stool for early screening of colorectal cancer. *J Cancer.* 2019;10(21):5264-5271. doi: 10.7150/jca.34944
42. Cárcamo L, Barake MF, Astudillo C, López C, Thonet-Rodas GP, Godoy JA, et al. Pruebas no invasivas para el tamizaje del cáncer colon: Fundamentos básico-clínicos y recientes avances biotecnológicos. *Rev Gastroenterol Latinoam.* 2023;34(1):15-21. doi: 10.46613/gastrolat2023001-04