

### Marcadores tumorales en oncología digestiva: cáncer colorrectal

Gloria Perazzoli<sup>1,\*</sup>, Cristina Mesas<sup>2</sup>, Kevin Doello<sup>3</sup>, Francisco Quiñonero<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Enfermería, Fisioterapia y Medicina. Universidad de Almería, 04120, Almería.

<sup>2</sup> Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM), Universidad de Granada, 18016 Granada, España

<sup>3</sup> Servicio de Oncología Médica, Hospital Virgen de las Nieves, Granada, 18014 Granada, España

\*Autor de Correspondencia: Dra. Gloria Perazzoli. gperazzoli@ual.es. Departamento de Enfermería, Fisioterapia y Medicina. Universidad de Almería, 04120, Almería.

#### Resumen

El cáncer colorrectal representa el tumor más frecuentemente diagnosticado en España si consideramos ambos sexos. El desarrollo de nuevos biomarcadores en los últimos años está suponiendo un avance para su diagnóstico precoz, aunque se necesitan nuevos marcadores más sensibles y una estandarización de su determinación. Son diferentes las posibilidades que se ofrecen actualmente para su determinación incluyendo los marcadores fecales, los marcadores tisulares y marcadores serológicos que incluyen a su vez la posibilidad de determinar diferentes biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos e incluso metabolitos, entre otros. En la actualidad, son una minoría los marcadores tumorales recomendados para su uso rutinario en clínica como la determinación de CEA o la inestabilidad de microsatélites, entre otros, lo que habla de su inespecificidad y baja sensibilidad. No obstante, cada vez son más los estudios que aportan nuevos marcadores que deberán ser validados para determinar su auténtica utilidad en esta patología.

Palabras clave: cáncer colorrectal, biomarcadores, proteínas, metabolitos, miRNA, mRNA, DNA

#### Abstract

Colorectal cancer represents the most frequently diagnosed tumor in Spain if we consider both sexes. The development of new biomarkers in recent years is representing progress for its early diagnosis, although, new, more sensitive markers and standardization of their determination are needed. Different possibilities are currently offered for its determination, including fecal markers, tissue markers, and serological markers, which in turn include the possibility of determining different biomolecules such as proteins, nucleic acids, and even metabolites, among others. Currently, only a minority of tumor markers are recommended for routine clinical use, such as CEA determination or microsatellite instability, among others, which indicates their non-specificity and low sensitivity. However, there are more and more studies that provide new markers that must be validated to determine their true usefulness in this pathology.

**Key words:** colorectal cancer, biomarkers, proteins, metabolites, miRNA, mRNA, DNA

## Introducción

Los biomarcadores en cáncer son utilizados para su detección temprana del cáncer y también para la predicción de la supervivencia, pronóstico, y respuesta al tratamiento. En el cáncer colorrectal (CCR), una enfermedad maligna multifactorial, son numerosos los estudios que han demostrado que oncogenes, genes supresores de tumores, genes relacionados con la reparación de errores de emparejamiento, genes que regulan la inestabilidad de microsatélites y el ciclo celular, y las alteraciones epigenéticas de estos y otros genes están implicados en su etiología. Los avances en la investigación molecular y genómica del cáncer en los últimos 30 años han permitido identificar modulaciones de diferentes moléculas que han sido propuestas como biomarcadores de diferentes aspectos de la enfermedad y también ha permitido diversificar cada vez más las muestras (tumores, heces, tejidos, etc) ampliando la posibilidad de ayudar a los pacientes en su diagnóstico, predicción y pronóstico. Sin embargo, la mayoría de estos marcadores presentan problemas en su utilización, son difíciles de correlacionar con determinados aspectos de la enfermedad u ofrecen baja fiabilidad. Esta revisión pretende resumir algunos de los aspectos más importantes de los biomarcadores de CCR incluyendo las tendencias emergentes y los hallazgos más recientes en este campo.

## Biomarcadores basados en proteínas circulantes

Para el seguimiento del CCR se siguen utilizando marcadores como CEA y CA-19-9 ya que son los únicos que ofrecen utilidad a pesar de sus limitaciones. No obstante, su baja sensibilidad y especificidad, especialmente la de CA 19-9 (Lech et al., 2016), las hacen inapropiadas para ser usadas como prueba diagnóstica o para su aplicación en screening. En este contexto, se están evaluando numerosas proteínas clínicas para determinar su eficacia. Uno de los biomarcadores destacados es la Ciclooxygenasa-2 (Cox-2), cuya elevación se observa en aproximadamente un 70-90% de los casos de CCR. Tupá y cols., asocian este biomarcador con estadios avanzados de CCR corroborando el papel de Cox-2 en la angiogénesis, invasión y metástasis tumoral (Tupá et al., 2019). Además, Cox-2 se ha postulado como posible biomarcador predictivo o pronóstico de la enfermedad (Das et al., 2017). La elevada expresión de las citoquinas CXCL 1,2,3,6,8,10 en estos pacientes ha hecho que se postulen como nuevos marcadores de CCR (Cabrero-de Las Heras & Martínez-Balibrea, 2018) relacionándose con un mal pronóstico de la enfermedad. Por el contrario, se ha relacionado la Integrina alpha E (ITGAE) con una mayor supervivencia en el paciente siendo utilizada como biomarcador pronóstico. Esta ITGAE ha demostrado ser un indicador de la presencia de linfocitos CD8 activos frente al tejido tumoral (Hu et al., 2018). Dentro de este tipo de moléculas, los estudios realizados por Bengs y cols., 2019, revelan que la determinación en suero de la integrina  $\beta 6$

puede ser un nuevo marcador tumoral para carcinoma colorrectal (Bengts et al., 2019).

Se ha sugerido que la osteoprotegerina y la ezrina pueden ser marcadores de la progresión de la enfermedad. La osteoprotegerina fue identificada como un posible marcador en el CCR en etapas II y III en un estudio que evaluó 92 proteínas en plasma (Birgisson et al., 2018). Por otro lado, la ezrina es una proteína que desempeña un papel en el citoesqueleto y se ha observado un aumento en su expresión en el CCR, lo cual está asociado con una mayor agresividad y un peor pronóstico (Fathi et al., 2017).

Por otra parte, la proteína SATB2 ha sido detectada mediante inmunohistoquímica como marcador pronóstico que se correlaciona con la presencia de metástasis hepáticas procedentes de CCR (Y.-J. Zhang et al., 2018), siendo bastante selectivo de este tipo de tumor. Así mismo la proteína S100 A2, relacionada con el ciclo celular, ha sido propuesto como biomarcador de mal pronóstico y de mayor riesgo de recidiva al haberse correlacionado con la expansión tumoral sobre todo en estadios II y III de la enfermedad (Masuda et al., 2016). Se ha logrado una alta sensibilidad y especificidad (98.7% y 94.8%, respectivamente) al combinar la detección en sangre de las lectinas DCSIGN y DC-SIGNR. Sin embargo, es importante destacar que estos resultados aún no han sido validados en otros grupos de pacientes con CCR (Y. Jiang et al., 2014). Finalmente, la proteína rica en cisteína (uCYR61), una proteína de la matriz celular, ha sido detectada en la orina de pacientes con CCR donde se le ha dado un valor diagnóstico aunque no pronóstico (Shimura et al., 2019).

### **Metabolitos como marcadores de CCR**

La metabolómica es una disciplina emergente que se enfoca en la evaluación de una amplia gama de metabolitos endógenos producidos por el organismo. La metabolómica aplicada al cáncer ofrece una visión integral de los perfiles metabólicos característicos de las células tumorales, lo que brinda la oportunidad de desarrollar enfoques de diagnóstico más precisos, pronósticos más informados y estrategias terapéuticas personalizadas basadas en el perfil metabólico individual de cada paciente. De hecho, se ha definido un metaboloma del cáncer entendido como un conjunto completo de moléculas de bajo peso molecular (<1500 Da) que son específicos de este tipo celular (Aboud & Weiss, 2013). Desde hace tiempo, se han intentado caracterizar los cambios metabólicos asociados con el CCR (Ma et al., 2012; Mal et al., 2012; Nishiumi et al., 2012) aunque las limitaciones en los grupos de estudio y los diferentes diseños de estudio aplicados hace difícil tener conclusiones. Las células tumorales tienen la capacidad de adaptar su metabolismo a la situación de proliferación, lo que resulta en alteraciones metabólicas que se reflejan en la síntesis de nuevos metabolitos o en cambios en los niveles de metabolitos existentes. En general, su acelerada división y la necesidad de sintetizar grandes cantidades de moléculas obliga a una elevada captación de glucosa y un incremento de la glicólisis aeróbica. Este hecho es de gran relevancia, ya que a diferencia de otros marcadores, los metabolitos muestran un comportamiento muy dinámico, en el que la

monitorización puede ser clave para determinar su valor pronóstico (Turano, 2014). No obstante, son elementos muy sensibles a factores externos como la dieta, actividad física, ritmo circadiano, incluso al tiempo de extracción y tiempo entre recogida y congelado, tratamiento posterior y método de análisis, lo que explica la gran variabilidad observada para un mismo biomarcador en diferentes estudios (Farshidfar et al., 2016, 2018).

En CCR, se ha estudiado la presencia de aminoácidos en sangre y nucleósidos en orina como marcadores de la enfermedad sin resultados concluyentes (Erben et al., 2018). Marcadores clásicos como CEA o CA-19.9 presentan menos sensibilidad que algunos metabolitos concretos como el ácido betahidroxibutirato, la cistamina y el ácido aspártico, propuestos para el diagnóstico de CCR (Manne et al., 2016). Los paneles de metabolitos como la asociación de piruvato, ácido glicólico, triptófano, ácido fumárico, ornitina, ácido palmitoleico, lisina y ácido 3-hidroxiisovalérico, presentan una sensibilidad entre el 70-90% para la detección de CCR (Nishiumi et al., 2012). La mayoría de los metabolitos son detectados en sangre, pero cada vez hay más estudios que emplean las heces y o la orina (Farshidfar et al., 2018; Sakurai et al., 2022; W. Zhang et al., 2021) aunque estos últimos parecen ser lo más afectados por el ritmo circadiano, la dieta y el tiempo de la recogida. Sin embargo, actualmente resulta complicado incorporarlos en la rutina clínica debido a problemas de coste y complejidad, a pesar de que muchos metabolitos tienen una sensibilidad y especificidad superiores al 90% para detectar CCR (Crotti et al., 2016; Y. Lin et al., 2016).

Por último, algunos de los metabolitos utilizados para detectar tumores malignos son compuestos orgánicos volátiles (VOC-s) que están presentes en la fase gaseosa de varios materiales biológicos excretados incluido el CCR (Di Lena et al., 2016; Vernia et al., 2021). A pesar de los avances logrados en el diagnóstico de la enfermedad, el uso generalizado del análisis de VOC en el entorno clínico se ve limitado por dificultades técnicas. Sin embargo, un estudio reciente realizado por Zonta y cols., ha demostrado que la detección de metabolitos VOC derivados del proceso de peroxidación de membrana y alteraciones metabólicas en las células tumorales muestra una mayor sensibilidad para reconocer el CCR y los adenomas de alto riesgo en comparación con las pruebas de sangre oculta en heces y la colonoscopia. (Zonta et al., 2018).

### **ADN como biomarcador de CCR. Marcadores epigenéticos**

El ácido desoxirribonucleico (ADN) también ha sido propuesto como biomarcador en CCR. Su presencia libre en la sangre tras los procesos de apoptosis celular o su detección en células vivas circulantes ha demostrado ser una potente herramienta para la detección del adenocarcinoma de colon. Para conseguir un diagnóstico precoz de la enfermedad se analizan las mutaciones genéticas y las modificaciones epigenéticas del ADN en sangre (Hauptman & Glavač, 2017).

Los genes *APC*, *KRAS* y *BRAF* han sido los más ampliamente estudiados como biomarcadores de CCR. Tres polimorfismos del gen supresor de tumores *APC* (D1822V, E1317Q, I1307K) se han

descrito y considerado relevantes para CCR. Este gen se ha relacionado con el diagnóstico de la enfermedad ya que hay autores que detectan hasta en un 90% de pacientes con CC una mutación de APC (Gelsomino et al., 2016). Sin embargo, su mutación también ha sido relacionada con la sensibilidad o resistencia de las células tumorales a determinados fármacos como los inhibidores de la enzima tankirasa (Schatoff et al., 2019; N. Tanaka et al., 2017). Por otra parte, las mutaciones en el gen *KRAS*, unas de las más estudiadas en CCR, permite una activación mantenida de la una importante vía para el control de proliferación y diferenciación celular, la vía EGFR, siendo especialmente relevante que este efecto ha sido detectado en las fases iniciales del proceso de tumorigénesis. Así, Lu y cols. (J. Lu et al., 2017) describen *KRAS* como un biomarcador de diagnóstico pretumoral especialmente en pacientes con lesiones benignas. No obstante, también se le ha otorgado un valor pronóstico en relación a la respuesta al tratamiento o al desarrollo de metástasis o recidivas. Por último, las mutaciones en el gen *BRAF* parecen tener un especial valor como marcador pronóstico de la enfermedad, aunque se dan con menos frecuencia (Coppedè et al., 2014) ya que puede indicar baja respuesta al tratamiento con inhibidores de EGFR como cetuximab o panitumumab (Peluso et al., 2017; Vacante et al., 2018). Así, la mutación V600E en el gen *BRAF* está relacionada con un pronóstico más desfavorable (Nakaji et al., 2017) y se ha propuesto como un método para clasificar distintos subtipos moleculares (Barras et al., 2017).

Por otra parte, la inestabilidad de los microsatélites es ampliamente conocida como marcador de CCR. Estos microsatélites son repeticiones de 1-6 bases diseminadas por todo el genoma que son especialmente susceptibles a errores durante el emparejamiento del ADN, presentando inserciones o deleciones denominadas IMS. En 1998 se acordó un panel de 5 marcadores microsatélites (Tabla 1) (Boland & Goel, 2010; Ortiz et al., 2016) y los criterios para definir la inestabilidad. Estos criterios establecen que la inestabilidad en 2 o más marcadores se considera una IMS alta y si solo aparece en un marcador la IMS es baja. BAT 25 Y BAT 26 son mononucleótidos y D2S123, D5S346, D17S250 dinucleótidos de forma que los mononucleótidos sólo presentan deleciones mientras que los dinucleótidos presentan inserciones o deleciones. De entre los cinco marcadores el más relevante como biomarcador diagnóstico es BAT-26, detectándose en más del 95% de los pacientes con IMS. Esta detección se da tanto en estadios precoces como avanzados de la enfermedad (Yoshino et al., 2018). El análisis de los microsatélites se establece en poblaciones de alto riesgo con familiares de primer grado que presentan CCR. En estos pacientes se analizan muestras de sangre ya que en ellas se obtienen mejores resultados en cuanto a sensibilidad y especificidad. Una MSI baja puede ser un biomarcador de mal pronóstico mientras que una MSI alta ha sido relacionada con una pobre respuesta a la terapia con 5-FU (Duran et al., 2017; L. Yang et al., 2015).

La modulación en la metilación de los genes, lo que se denomina marcadores epigenéticos, también están siendo estudiados con gran interés en CCR dado que se han relacionado con el propio proceso de transición desde una mucosa normal a una mucosa neoplásica (Coppedè et al., 2014). Esta tecnología posee la ventaja de poder realizarse en sangre o incluso en heces por lo que se presenta como un posible sustituto de los test actuales de sangre oculta en heces (Goel, 2018; Kadiyska & Nossikoff, 2015; Pack et al., 2013).

Los estudios sobre el gen Septicina 9 son los más avanzados. La sensibilidad de este gen para detectar CCR se ha situado en un 65% (Xie et al., 2018) aunque algunos estudios la sitúan en un 90% (Warren et al., 2011; Yan et al., 2016). En cualquier caso, septicina 9 se presenta como un marcador que será necesario considerar para el desarrollo de screening de CCR (P. Lu et al., 2022; M. Zhang et al., 2017). Aunque otros biomarcadores epigenéticos como SFRP2 y vimentina han sido testados en muestras de heces (Zhao et al., 2021). Diferentes estudios sobre la vimentina demuestran una enorme variabilidad en cuanto a sus resultados, siendo otro de los biomarcadores con implicaciones en el diagnóstico de CCR. Así, se describe una sensibilidad para estadios I-III de CCR de un 97% mientras que otros autores la sitúa en un 57% en estadios tempranos, disminuyendo en estadios avanzados (Shirahata & Hibi, 2014). SFRP2, ha demostrado presentar una alta sensibilidad para diferenciar patologías malignas (Park et al., 2016) y aunque depende del tipo de muestra que se analice, puede presentar una sensibilidad en CCR de un 67%-88% (Tang et al.,

2011). En general, ha sido problemático lograr la reproducibilidad de los resultados con un marcador, por lo que se han combinado múltiples genes metilados en paneles. Al combinar la metilación de los genes BMP3 y NDRG4, o vimentina y SFRP2, se ha logrado una alta detección de CRC. Sin embargo, es necesario corroborar estos resultados (Liu et al., 2019; Xiao et al., 2014).

**Tabla 1.** Marcadores microsatélites

<b>Marcador</b>	<b>Tipo</b>	<b>Localización</b>
<b>BAT-25</b>	Mononucleótido	4q12
<b>BAT-26</b>	Mononucleótido	2p16
<b>D2S123</b>	Dinucleótido	2p21-2p16
<b>D5S346</b>	Dinucleótido	5q21-5q22
<b>D17S250</b>	Dinucleótido	17q11,2-17q12

### **Biomarcadores basados en ARN**

#### *RNA mensajero como marcador en CCR.*

Se ha explorado el ARN mensajero (ARNm) como fuente de biomarcadores en numerosos estudios, pero su variabilidad en los grupos control, en el diseño, en la localización del biomarcador y en la búsqueda de marcadores en diferentes fases de la evolución de la patología ha dificultado la comparación entre ellos. Así, la ciclina E, p27kipl y ki-67, se han propuesto por Li y cols. (W. Li et al., 2016) en un estudio retrospectivo por presentar sensibilidades y especificidades de alrededor del 80% aunque la detección se realizó en el tejido y no en sangre. Por otra parte, el análisis de los niveles de ARNm de SALL4 en 72 muestras de sangre y suero de pacientes con CCR sin

tratamiento mostró una correlación significativa con la profundidad de la infiltración y la diferenciación tumoral y una sensibilidad y especificidad para la detección de CCR de 96 y 95%, respectivamente, según el análisis ROC (Ardalan Khales et al., 2015). Además, el ARNm de Tetraspanina 8 (TSPAN8) se han determinado en sangre completa de pacientes con CCR que muestran un AUC de 0.751 con una sensibilidad del 83.6% y una especificidad del 58.2% para diferenciar a los pacientes de donantes sanos (Rodia et al., 2016). Recientemente, esta proteína de membrana TSPAN8 que promueve la angiogénesis, entre otras funciones, se ha propuesto como un objetivo potencial para la radioinmunoterapia CCR (Maisonial-Besset et al., 2017).

En el estudio de biomarcadores en CCR, se han investigado diferentes ARNm relacionados con el proceso de angiogénesis. Uno de estos es la sobreexpresión de PTGS2, los estudios se han centrado en el tejido tumoral (Venè et al., 2020) aunque estudios recientes valoran su detección en sangre (Jimenez-Luna et al., 2021). Esta asociación se ha corroborado en un estudio prospectivo con una cohorte más amplia en la que, además se ha demostrado, que la expresión de miR21 empeora la respuesta clínica de los pacientes (Mima et al., 2016). Por otra parte, el perfil de expresión de ARNm de GUCY2C en tejido ayuda a la estadificación de tumores colorrectales primarios y puede indicar metástasis ocultas (Rappaport et al., 2022). En un importante estudio prospectivo multicéntrico cegado realizado por Waldman et al. que incluyó a 257 pacientes, la RT-PCR del ARNm

de GUCY2C permitió detectar metástasis ocultas en pacientes considerados en estadio II por técnicas histopatológicas tradicionales (Waldman et al., 2009).

Marshall y cols. propusieron siete ARNm presentes en sangre (anexina A3, Familia de dominio de lectina tipo C 4 (Miembro D), Lamin B1, Proline Rich Gla, Factor de necrosis tumoral, Vanina 1 e Interleucina 2 Receptor Beta) como un set para la detección de CCR (Marshall et al., 2010). La determinación de la expresión de ARNm de TSPAN8, lectina galactosida soluble 4 (LGALS4) y colágeno tipo I de la cadena alfa 2 (COL1A2) en sangre tubo éxito para detectar pacientes con CCR con una especificidad de 67.16% y 92.54% sensibilidad (Rodia et al., 2016). Curiosamente, la reciente inclusión de un nuevo gen en este panel de biomarcadores, la molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno 6 (CEACAM), mejoró el rendimiento de manera que el panel de 4 genes (LGALS4, CEACAM6, TSPAN8 y COL1A2) obtuvieron un AUC de 0,88 (sensibilidad, 75%; especificidad, 87%) comparando sujetos normales y de alto riesgo / CCR y un AUC de 0,91 (sensibilidad, 79%; especificidad, 94%) comparando sujetos normales con sujetos de bajo riesgo / CCR (Rodia et al., 2018). En el ensayo llevado a cabo por Shou y cols. se ha obtenido una mayor sensibilidad que la de CEA utilizando un panel de seis genes entre los que se encuentran CEA, EpCAM, CK19, MUC1, EGFR y C-Met. Esto a supuesto un aumento de un 12% en la sensibilidad de detección de CCR pasando del 70% al 82%. Este ensayo de seis genes mejora la definición del estado de la enfermedad y se correlaciona con la supervivencia libre de

progresión en el CCR recidivante y por lo tanto es prometedor para futuras aplicaciones clínicas (Shou et al., 2019).

#### *MicroRNA y CCR.*

Los MicroRNA (miRNA), moléculas de ARN no codificantes de 19 a 23 nucleótidos y son moléculas clave en los procesos de proliferación y la diferenciación celular ya que intervienen sobre el ARN mensajero en la transducción proteica para incrementar o reducir su expresión (Ding et al., 2018; Lizarbe et al., 2017; Tume et al., 2016). Este hecho hace que sean de gran interés en los procesos tumorales presentando dos grandes ventajas. La primera de ellas es su estabilidad tanto a cambios de pH como de temperatura y la segunda que pueden ser detectados con un análisis sanguíneo evitando así técnicas más invasivas (Ren et al., 2015). Estos biomarcadores no sólo han sido estudiados con fines diagnósticos, sino como posibles indicadores del pronóstico de la enfermedad en respuesta al tratamiento. Aunque son muchos los miRNA analizados en CCR, pasamos a destacar algunos de los más relevantes

El miR-21 es el microARN más ampliamente estudiado en CCR. Este miR-21 es un biomarcador de diagnóstico precoz en CCR con una especificidad de un 85% y una sensibilidad de un 64% (Peng et al., 2017). Su expresión también se ha relacionado con la resistencia al uso de 5-FU a través de la modulación de la proteína Sprouty2 que aumenta la toxicidad del citostático (J. Lin et al., 2017) y con un aumento a la respuesta a la quimioterapia (Feng et al., 2012; Tsukamoto et al., 2017). Otros dos miRNA intensamente

investigados en CCR han sido miR-143 y miR-145. El primero, posee una función supresora tumoral por lo que la reducción de la expresión en células tumorales favorece la proliferación celular (F. Yang et al., 2015) habiendo sido detectados niveles muy bajos en pacientes metastásicos. Además, algunos autores lo han relacionado con la actividad del oxaliplatino en el tratamiento (Moradi Marjaneh et al., 2019). El segundo, miR-145, considerado otro supresor tumoral, se ha observado aumentado en tejido neoplásico postratamiento por lo que ha sido propuesto como biomarcador pronóstico (C. Li et al., 2019). Análisis de este miRNA junto al oncogén PVT1 en muestras sanguíneas han demostrado una relación inversamente proporcional entre ambos (Z. Wang et al., 2019). El miR-31, considerado como un oncogén que puede activarse por diferentes mutaciones, se ha asociado con la mutación del gen BRAF y el desarrollo de adenocarcinoma de colon (Nosho et al., 2014). Esta molécula se ha propuesto como biomarcador diagnóstico en CCR e incluso como posible diana terapéutica, habiéndose desarrollado estrategias con fármacos antimir-31 que han conseguido una mejora de la supervivencia global de los pacientes afectados de la enfermedad (Feng et al., 2012; Tateishi et al., 2015). Además, se ha investigado el papel de moléculas como miR-106A y Let-7A en el CCR. Según algunos estudios, se ha observado que niveles elevados de miR-106A pueden silenciar genes supresores de tumores, como el gen retinoblastoma, lo que podría estar relacionado con el desarrollo del CCR. También se ha sugerido que estas moléculas podrían inactivar ciertas



fosfatasa, como DUSP2, y modular la respuesta al agente quimioterapéutico 5-FU. (Hao et al., 2017).

En el estudio realizado por Sabry et al., se investigó la relevancia de los miRNA miR-210, miR-21 y miR-126 como biomarcadores en el CCR debido a su papel en la vía de señalización HIF-1 $\alpha$ -VEGF y su participación crucial en miRNAs estaba asociada a un posible papel diagnóstico de CCR, obteniendo miRNA-210 una sensibilidad del 88.6% y una especificidad del 90.1% mientras que miR-21 obtuvo una sensibilidad del 91.4% y una especificidad del 95.0%. Además, la presencia de otros miRNA, como miR-141, miR-200b y miR-200c, se correlacionaron con la presencia de metástasis hepáticas, mientras que los altos niveles de miR-203 en el suero sanguíneo se asociaron con una menor supervivencia en los pacientes. Estos hallazgos destacan el valor de estos miRNA como potenciales biomarcadores en la detección y pronóstico del CCR (Sabry et al., 2019).

#### *LncRNA y CCR.*

Los ARNs no codificantes largos (lncRNAs) son ARNs que desempeñan funciones en la regulación de la transcripción génica, la postranscripción, la traducción y la modificación epigenética. La alteración en su expresión o la disfunción de lncRNA se ha correlacionado con diversas patologías incluyendo el cáncer. Así, determinados lncRNA se sabe que interviene en el control de la proliferación celular, la apoptosis, la migración, la capacidad de invasión durante el desarrollo del cáncer. Estudios como el de Jiang y cols. han demostrado que los lncRNA también

pueden participar en el desarrollo de las metástasis tumorales, así como en la remodelación del microambiente tumoral (M.-C. Jiang et al., 2019).

Los patrones de expresión de lncRNA, ya sea en tejidos o en circulación, tienen gran potencial como marcadores de diagnóstico de CCR de aplicación clínica (L. Wang et al., 2019). Tanaka y cols., demostraron que el lncRNA "QT intronic transcript-1" (LIT1 / KCNQ1OT1) se detectó en el tejido de CCR siendo negativo en los tejidos peritumorales (K. Tanaka et al., 2001). Pedersen y cols. también han informado de la hipermetilación del lncRNA denominado adenocarcinoma colorrectal hipermetilado (CAHM) en el 81% de los adenomas y 71% de los CCR mientras que tan sólo en un 8% de los controles (tejido normal) apareció hipometilado (Pedersen et al., 2014). Además, este marcador también pudo ser detectado en el plasma del 55% del CCR analizados en comparación con el 4% de los adenomas y el 7% de los sujetos sin neoplasia. CRNDE, es otro lncRNA potencialmente diagnóstico, habiendo sido detectado en niveles elevados en el 90% de los tejidos de adenomas y adenocarcinomas colorrectales. Su presencia en sangre ha demostrado una sensibilidad y especificidad del 87% y 93% (Graham et al., 2011; Zhou et al., 2019). Recientemente, los lncRNA de sangre periférica circulante se han propuesto como una prueba mínimamente invasiva para el diagnóstico de CCR (Galamb et al., 2019).

#### **Células tumorales libres en sangre y exosomas**

La determinación de los niveles de células tumorales libres en el torrente sanguíneo, junto

con la detección de ADN tumoral libre, se ha propuesto como un biomarcador para el CCR. Se ha observado una fuerte correlación entre estos niveles y se ha investigado su utilidad para predecir el desarrollo de metástasis o monitorear su evolución. El conocimiento de la existencia de subpoblaciones de células tumorales que circulan en la sangre y que pueden colonizar diferentes tejidos para formar metástasis ha impulsado los esfuerzos por detectarlas. La biología del proceso de expansión tumoral incluye una continua liberación de células al torrente sanguíneo que en parte se eliminan, pero que finalmente consiguen proliferar a distancia (Burz et al., 2018). Diferentes estudios han validado la teoría que propone que los altos niveles de células libres tumorales en sangre se correlacionan con un pronóstico desfavorable y el aumento de metástasis a distancia (D. Lin et al., 2021; Tsai et al., 2016). Además, en estadios avanzados, parece ser un marcador que permite establecer recomendaciones terapéuticas. Así, estudios con pacientes con CCR tratados con cetuximab o panitumumab demostraron como la monitorización de los cambios moleculares de las células circulantes y especialmente la aparición de mutaciones secundarias, se correlacionó con la supervivencia de los pacientes (Sun et al., 2018). En pacientes con CCR tratados con Regorafenib (anti-angiogénico utilizado en CCR metastásico), la combinación análisis de imagen y análisis de células tumorales libres en sangre, demostró mejorar la monitorización de los pacientes y su pronóstico (Khan et al., 2018). La posibilidad de que este biomarcador pueda ser usado como método de screening y o que sustituya a la biopsia de tejido

necesitará de estudios más amplios con relación a su estandarización para su posible aplicación clínica.

Por último, los exosomas, pequeñas vesículas envueltas por una bicapa lipídica que están implicados en la transferencia de miRNAs, mRNA y proteínas a una célula diana, son intercomunicadores extracelulares que parecen jugar un papel importante en los procesos tumorales (Ruiz-López et al., 2018). En CCR, los exosomas promocionan la tumorigénesis, la angiogénesis y las metástasis hepáticas (Huang & Feng, 2017; X. Wang et al., 2015). Además, pueden reorganizar la matriz extracelular y alterar el nicho metastático en donde generan un microambiente inmunosupresor al dañar las células inmunitarias e inducir la apoptosis de las células T (Yu et al., 2015). Algunos autores han destacado el papel de exosomas que contienen ciertos microARNs con la respuesta a drogas e incluso con el desarrollo de quimiorresistencia (X. Wang et al., 2020; Q. Zhang et al., 2022) pudiendo ser marcadores de respuesta a tratamiento. Así, la detección de exosomas circulantes con microARN 17-5p y 92a-3p parece relacionarse con un mal pronóstico en CCR (Fu et al., 2018).

### **Conclusión**

En conclusión, los biomarcadores desempeñan un papel fundamental en el CCR para mejorar el diagnóstico temprano, el pronóstico y la selección del tratamiento. Los avances en proteínas circulantes, metabolitos y biomarcadores de ADN han brindado nuevas perspectivas en la gestión clínica del CCR. Aunque

se han identificado biomarcadores prometedores, todavía existen desafíos en términos de sensibilidad, especificidad y correlación con aspectos específicos de la enfermedad. Se requieren más investigaciones para validar y mejorar los biomarcadores existentes, así como para descubrir nuevos biomarcadores que impulsen la precisión y eficacia de la atención clínica en el CCR.

## Referencias

- About, O. A., & Weiss, R. H. (2013). New opportunities from the cancer metabolome. *Clinical Chemistry*, *59*(1), 138-146. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2012.184598>
- Ardalan Kholes, S., Abbaszadegan, M. R., Abdollahi, A., Raeisossadati, R., Tousi, M. F., & Forghanifard, M. M. (2015). SALL4 as a new biomarker for early colorectal cancers. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, *141*(2), 229-235. <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1808-y>
- Barras, D., Missiaglia, E., Wirapati, P., Sieber, O. M., Jorissen, R. N., Love, C., Molloy, P. L., Jones, I. T., McLaughlin, S., Gibbs, P., Guinney, J., Simon, I. M., Roth, A. D., Bosman, F. T., Tejpar, S., & Delorenzi, M. (2017). BRAF V600E Mutant Colorectal Cancer Subtypes Based on Gene Expression. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *23*(1), 104-115. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0140>
- Bengs, S., Becker, E., Busenhardt, P., Spalinger, M. R., Raselli, T., Kasper, S., Lang, S., Atrott, K., Mamie, C., Vavricka, S. R., von Boehmer, L., Knuth, A., Tuomisto, A., Mäkinen, M. J., Hruz, P., Turina, M., Rickenbacher, A., Petrowsky, H., Weber, A., ... Scharl, M. (2019). B6 - integrin serves as a novel serum tumor marker for colorectal carcinoma. *International Journal of Cancer*, *145*(3), 678-685. <https://doi.org/10.1002/ijc.32137>
- Birgisson, H., Tsimogiannis, K., Freyhult, E., & Kamali-Moghaddam, M. (2018). Plasma Protein Profiling Reveals Osteoprotegerin as a Marker of Prognostic Impact for Colorectal Cancer. *Translational Oncology*, *11*(4), 1034-1043. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.05.012>
- Boland, C. R., & Goel, A. (2010). Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, *138*(6), 2073-2087.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.064>
- Burz, C., Pop, V.-V., Buiga, R., Daniel, S., Samasca, G., Aldea, C., & Lupan, I. (2018). Circulating tumor cells in clinical research and monitoring patients with colorectal cancer. *Oncotarget*, *9*(36), 24561-24571. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25337>
- Cabrero-de Las Heras, S., & Martínez-Balibrea, E. (2018). CXC family of chemokines as

- prognostic or predictive biomarkers and possible drug targets in colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 24(42), 4738-4749.  
<https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i42.4738>
- Coppedè, F., Lopomo, A., Spisni, R., & Migliore, L. (2014). Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 20(4), 943-956.  
<https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i4.943>
- Crotti, S., Agnoletto, E., Cancemi, G., Di Marco, V., Traldi, P., Pucciarelli, S., Nitti, D., & Agostini, M. (2016). Altered plasma levels of decanoic acid in colorectal cancer as a new diagnostic biomarker. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(23), 6321-6328.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-016-9743-1>
- Das, V., Kalita, J., & Pal, M. (2017). Predictive and prognostic biomarkers in colorectal cancer: A systematic review of recent advances and challenges. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 87, 8-19.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.064>
- Di Lena, M., Porcelli, F., & Altomare, D. F. (2016). Volatile organic compounds as new biomarkers for colorectal cancer: A review. *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*, 18(7), 654-663.  
<https://doi.org/10.1111/codi.13271>
- Ding, L., Lan, Z., Xiong, X., Ao, H., Feng, Y., Gu, H., Yu, M., & Cui, Q. (2018). The Dual Role of MicroRNAs in Colorectal Cancer Progression. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2791.  
<https://doi.org/10.3390/ijms19092791>
- Duran, M. O., Shnyder, S., Sutton, C., & Shaheed, S.-U. (2017). Investigation of MSI status in acquired resistance to 5-fluorouracil treatment in colorectal cancer using a SILAC-based quantitative proteomic analysis method. *Annals of Oncology*, 28, v181.  
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdx393.061>
- Erben, V., Bhardwaj, M., Schrotz-King, P., & Brenner, H. (2018). Metabolomics Biomarkers for Detection of Colorectal Neoplasms: A Systematic Review. *Cancers*, 10(8), 246.  
<https://doi.org/10.3390/cancers10080246>
- Farshidfar, F., Kopciuk, K. A., Hilsden, R., McGregor, S. E., Mazurak, V. C., Buie, W. D., MacLean, A., Vogel, H. J., & Bathe, O. F. (2018). A quantitative multimodal metabolomic assay for colorectal cancer. *BMC Cancer*, 18(1), 26.  
<https://doi.org/10.1186/s12885-017-3923-z>
- Farshidfar, F., Weljie, A. M., Kopciuk, K. A., Hilsden, R., McGregor, S. E., Buie, W. D., MacLean, A., Vogel, H. J., & Bathe, O. F. (2016). A validated metabolomic signature for colorectal cancer: Exploration of the clinical value of metabolomics. *British*

- Journal of Cancer*, 115(7), 848-857.  
<https://doi.org/10.1038/bjc.2016.243>
- Fathi, A., Mosaad, H., Hussein, S., Roshdy, M., & Ismail, E. I. (2017). Prognostic significance of CD133 and ezrin expression in colorectal carcinoma. *IUBMB Life*, 69(5), 328-340.  
<https://doi.org/10.1002/iub.1609>
- Feng, Y.-H., Wu, C.-L., Shiao, A.-L., Lee, J.-C., Chang, J.-G., Lu, P.-J., Tung, C.-L., Feng, L.-Y., Huang, W.-T., & Tsao, C.-J. (2012). MicroRNA-21-mediated regulation of Sprouty2 protein expression enhances the cytotoxic effect of 5-fluorouracil and metformin in colon cancer cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 29(5), 920-926.  
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2012.910>
- Fu, F., Jiang, W., Zhou, L., & Chen, Z. (2018). Circulating Exosomal miR-17-5p and miR-92a-3p Predict Pathologic Stage and Grade of Colorectal Cancer. *Translational Oncology*, 11(2), 221-232.  
<https://doi.org/10.1016/j.tranon.2017.12.012>
- Galamb, O., Barták, B. K., Kalmár, A., Nagy, Z. B., Szigeti, K. A., Tulassay, Z., Igaz, P., & Molnár, B. (2019). Diagnostic and prognostic potential of tissue and circulating long non-coding RNAs in colorectal tumors. *World Journal of Gastroenterology*, 25(34), 5026-5048.  
<https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i34.5026>
- Gelsomino, F., Barbolini, M., Spallanzani, A., Pugliese, G., & Cascinu, S. (2016). The evolving role of microsatellite instability in colorectal cancer: A review. *Cancer Treatment Reviews*, 51, 19-26.  
<https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.10.005>
- Goel, G. (2018). Molecular characterization and biomarker identification in colorectal cancer: Toward realization of the precision medicine dream. *Cancer Management and Research*, 10, 5895-5908.  
<https://doi.org/10.2147/CMAR.S162967>
- Graham, L. D., Pedersen, S. K., Brown, G. S., Ho, T., Kassir, Z., Moynihan, A. T., Vizgoft, E. K., Dunne, R., Pimlott, L., Young, G. P., Lapointe, L. C., & Molloy, P. L. (2011). Colorectal Neoplasia Differentially Expressed (CRNDE), a Novel Gene with Elevated Expression in Colorectal Adenomas and Adenocarcinomas. *Genes & Cancer*, 2(8), 829-840.  
<https://doi.org/10.1177/1947601911431081>
- Hao, H., Liu, L., Zhang, D., Wang, C., Xia, G., Zhong, F., & Hu, X. (2017). Diagnostic and prognostic value of miR-106a in colorectal cancer. *Oncotarget*, 8(3), 5038-5047.  
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.13766>
- Hauptman, N., & Glavač, D. (2017). Colorectal Cancer Blood-Based Biomarkers. *Gastroenterology Research and Practice*, 2017, 2195361.  
<https://doi.org/10.1155/2017/2195361>

- Hu, X., Li, Y.-Q., Li, Q.-G., Ma, Y.-L., Peng, J.-J., & Cai, S.-J. (2018). ITGAE Defines CD8+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes Predicting a better Prognostic Survival in Colorectal Cancer. *EBioMedicine*, 35, 178-188. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.08.003>
- Huang, Z., & Feng, Y. (2017). Exosomes Derived From Hypoxic Colorectal Cancer Cells Promote Angiogenesis Through Wnt4-Induced  $\beta$ -Catenin Signaling in Endothelial Cells. *Oncology Research*, 25(5), 651-661. <https://doi.org/10.3727/096504016X14752792816791>
- Jiang, M.-C., Ni, J.-J., Cui, W.-Y., Wang, B.-Y., & Zhuo, W. (2019). Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities. *American Journal of Cancer Research*, 9(7), 1354-1366.
- Jiang, Y., Zhang, C., Chen, K., Chen, Z., Sun, Z., Zhang, Z., Ding, D., Ren, S., & Zuo, Y. (2014). The clinical significance of DC-SIGN and DC-SIGNR, which are novel markers expressed in human colon cancer. *PloS One*, 9(12), e114748. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114748>
- Jimenez-Luna, C., González-Flores, E., Ortiz, R., Martínez-González, L. J., Antúnez-Rodríguez, A., Expósito-Ruiz, M., Melguizo, C., Caba, O., & Prados, J. (2021). Circulating PTGS2, JAG1, GUCY2C and PGF mRNA in Peripheral Blood and Serum as Potential Biomarkers for Patients with Metastatic Colon Cancer. *Journal of Clinical Medicine*, 10(11), 2248. <https://doi.org/10.3390/jcm10112248>
- Kadiyska, T., & Nossikoff, A. (2015). Stool DNA methylation assays in colorectal cancer screening. *World Journal of Gastroenterology*, 21(35), 10057-10061. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i35.10057>
- Khan, K., Rata, M., Cunningham, D., Koh, D.-M., Tunariu, N., Hahne, J. C., Vlachogiannis, G., Hedayat, S., Marchetti, S., Lampis, A., Damavandi, M. D., Lote, H., Rana, I., Williams, A., Eccles, S. A., Fontana, E., Collins, D., Eltahir, Z., Rao, S., ... Valeri, N. (2018). Functional imaging and circulating biomarkers of response to regorafenib in treatment-refractory metastatic colorectal cancer patients in a prospective phase II study. *Gut*, 67(8), 1484-1492. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314178>
- Lech, G., Słotwiński, R., Słodkowski, M., & Krasnodębski, I. W. (2016). Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World Journal of Gastroenterology*, 22(5), 1745-1755. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i5.1745>
- Li, C., Yan, G., Yin, L., Liu, T., Li, C., & Wang, L. (2019). Prognostic roles of microRNA 143 and microRNA 145 in colorectal cancer: A meta-analysis. *The International Journal of Biological Markers*, 34(1), 6-14.

<https://doi.org/10.1177/172460081880749>

2

Li, W., Zhang, G., Wang, H.-L., & Wang, L. (2016). Analysis of expression of cyclin E, p27kip1 and Ki67 protein in colorectal cancer tissues and its value for diagnosis, treatment and prognosis of disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(23), 4874-4879.

Lin, D., Shen, L., Luo, M., Zhang, K., Li, J., Yang, Q., Zhu, F., Zhou, D., Zheng, S., Chen, Y., & Zhou, J. (2021). Circulating tumor cells: Biology and clinical significance. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00817-8>

Lin, J., Chuang, C.-C., & Zuo, L. (2017). Potential roles of microRNAs and ROS in colorectal cancer: Diagnostic biomarkers and therapeutic targets. *Oncotarget*, 8(10), 17328-17346. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14461>

Lin, Y., Ma, C., Liu, C., Wang, Z., Yang, J., Liu, X., Shen, Z., & Wu, R. (2016). NMR-based fecal metabolomics fingerprinting as predictors of earlier diagnosis in patients with colorectal cancer. *Oncotarget*, 7(20), 29454-29464. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8762>

Liu, R., Su, X., Long, Y., Zhou, D., Zhang, X., Ye, Z., Ma, J., Tang, T., Wang, F., & He, C. (2019). A systematic review and quantitative assessment of methylation biomarkers in fecal DNA and colorectal cancer and its

precursor, colorectal adenoma. *Mutation Research. Reviews in Mutation Research*, 779, 45-57.

<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.01.003>

Lizarbe, M. A., Calle-Espinosa, J., Fernández-Lizarbe, E., Fernández-Lizarbe, S., Robles, M. Á., Olmo, N., & Turnay, J. (2017). Colorectal Cancer: From the Genetic Model to Posttranscriptional Regulation by Noncoding RNAs. *BioMed Research International*, 2017, 7354260. <https://doi.org/10.1155/2017/7354260>

Lu, J., Harrison, R. A., Li, L., Zeng, M., Gondi, S., Scott, D., Gray, N. S., Engen, J. R., & Westover, K. D. (2017). KRAS G12C Drug Development: Discrimination between Switch II Pocket Configurations Using Hydrogen/Deuterium-Exchange Mass Spectrometry. *Structure (London, England: 1993)*, 25(9), 1442-1448.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2017.07.003>

Lu, P., Zhu, X., Song, Y., Luo, Y., Lin, J., Zhang, J., Cao, Y., & Huang, Z. (2022). Methylated Septin 9 as a Promising Biomarker in the Diagnosis and Recurrence Monitoring of Colorectal Cancer. *Disease Markers*, 2022, 7087885. <https://doi.org/10.1155/2022/7087885>

Ma, Y., Zhang, P., Wang, F., Liu, W., Yang, J., & Qin, H. (2012). An integrated proteomics and metabolomics approach for defining oncofetal biomarkers in the colorectal

- cancer. *Annals of Surgery*, 255(4), 720-730.  
<https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31824a9a8b>
- Maisonial-Besset, A., Witkowski, T., Navarro-Teulon, I., Berthier-Vergnes, O., Fois, G., Zhu, Y., Besse, S., Bawa, O., Briat, A., Quintana, M., Pichard, A., Bonnet, M., Rubinstein, E., Pouget, J.-P., Opolon, P., Maigne, L., Miot-Noirault, E., Chezal, J.-M., Boucheix, C., & Degoul, F. (2017). Tetraspanin 8 (TSPAN 8) as a potential target for radio-immunotherapy of colorectal cancer. *Oncotarget*, 8(13), 22034-22047.  
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.15787>
- Mal, M., Koh, P. K., Cheah, P. Y., & Chan, E. C. Y. (2012). Metabotyping of human colorectal cancer using two-dimensional gas chromatography mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(2), 483-493.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-012-5870-5>
- Manne, U., Jadhav, T., Putcha, B.-D. K., Samuel, T., Soni, S., Shanmugam, C., & Suswam, E. A. (2016). Molecular Biomarkers of Colorectal Cancer and Cancer Disparities: Current Status and Perspective. *Current Colorectal Cancer Reports*, 12(6), 332-344.  
<https://doi.org/10.1007/s11888-016-0338-1>
- Marshall, K. W., Mohr, S., Khettabi, F. E., Nossova, N., Chao, S., Bao, W., Ma, J., Li, X.-J., & Liew, C.-C. (2010). A blood-based biomarker panel for stratifying current risk for colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, 126(5), 1177-1186.  
<https://doi.org/10.1002/ijc.24910>
- Masuda, T., Ishikawa, T., Mogushi, K., Okazaki, S., Ishiguro, M., Iida, S., Mizushima, H., Tanaka, H., Uetake, H., & Sugihara, K. (2016). Overexpression of the S100A2 protein as a prognostic marker for patients with stage II and III colorectal cancer. *International Journal of Oncology*, 48(3), 975-982.  
<https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3329>
- Mima, K., Nishihara, R., Yang, J., Dou, R., Masugi, Y., Shi, Y., da Silva, A., Cao, Y., Song, M., Nowak, J., Gu, M., Li, W., Morikawa, T., Zhang, X., Wu, K., Baba, H., Giovannucci, E. L., Meyerhardt, J. A., Chan, A. T., ... Ogino, S. (2016). MicroRNA MIR21 (miR-21) and PTGS2 Expression in Colorectal Cancer and Patient Survival. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 22(15), 3841-3848.  
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2173>
- Moradi Marjaneh, R., Khazaei, M., Ferns, G. A., Avan, A., & Aghaee-Bakhtiari, S. H. (2019). MicroRNAs as potential therapeutic targets to predict responses to oxaliplatin in colorectal cancer: From basic evidence to therapeutic implication. *IUBMB Life*, 71(10), 1428-1441.  
<https://doi.org/10.1002/iub.2108>
- Nakaji, Y., Oki, E., Nakanishi, R., Ando, K., Sugiyama, M., Nakashima, Y., Yamashita, N., Saeki, H., Oda, Y., & Maehara, Y. (2017).



- Prognostic value of BRAF V600E mutation and microsatellite instability in Japanese patients with sporadic colorectal cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 143(1), 151-160. <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2275-4>
- Nishiumi, S., Kobayashi, T., Ikeda, A., Yoshie, T., Kibi, M., Izumi, Y., Okuno, T., Hayashi, N., Kawano, S., Takenawa, T., Azuma, T., & Yoshida, M. (2012). A novel serum metabolomics-based diagnostic approach for colorectal cancer. *PLoS One*, 7(7), e40459. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040459>
- Nosho, K., Igarashi, H., Nojima, M., Ito, M., Maruyama, R., Yoshii, S., Naito, T., Sukawa, Y., Mikami, M., Sumioka, W., Yamamoto, E., Kurokawa, S., Adachi, Y., Takahashi, H., Okuda, H., Kusumi, T., Hosokawa, M., Fujita, M., Hasegawa, T., ... Shinomura, Y. (2014). Association of microRNA-31 with BRAF mutation, colorectal cancer survival and serrated pathway. *Carcinogenesis*, 35(4), 776-783. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt374>
- Ortiz, C., Dongo-Pflucker, K., Martín-Cruz, L., Barletta Carrillo, C., Mora-Alferez, P., & Arias, A. (2016). Inestabilidad de microsatélites en pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 36(1), 15-22.
- Pack, S.-C., Kim, H.-R., Lim, S.-W., Kim, H.-Y., Ko, J.-Y., Lee, K.-S., Hwang, D., Park, S.-I., Kang, H., Park, S.-W., Hong, G.-Y., Hwang, S.-M., Shin, M.-G., & Lee, S. (2013). Usefulness of plasma epigenetic changes of five major genes involved in the pathogenesis of colorectal cancer. *International Journal of Colorectal Disease*, 28(1), 139-147. <https://doi.org/10.1007/s00384-012-1566-8>
- Park, S.-K., Song, C. S., Yang, H.-J., Jung, Y. S., Choi, K. Y., Koo, D. H., Kim, K. E., Jeong, K. U., Kim, H. O., Kim, H., Chun, H.-K., & Park, D. I. (2016). Field Cancerization in Sporadic Colon Cancer. *Gut and Liver*, 10(5), 773-780. <https://doi.org/10.5009/gnl15334>
- Pedersen, S. K., Mitchell, S. M., Graham, L. D., McEvoy, A., Thomas, M. L., Baker, R. T., Ross, J. P., Xu, Z.-Z., Ho, T., LaPointe, L. C., Young, G. P., & Molloy, P. L. (2014). CAHM, a long non-coding RNA gene hypermethylated in colorectal neoplasia. *Epigenetics*, 9(8), 1071-1082. <https://doi.org/10.4161/epi.29046>
- Peluso, G., Incollingo, P., Calogero, A., Tammaro, V., Rupealta, N., Chiacchio, G., Laura, M., Sotelo, S., Minieri, G., Pisani, A., Riccio, E., Sabbatini, M., Bracale, U. M., Dodaro, C. A., & Carlomagno, N. (2017). *Current Tissue Molecular Markers in Colorectal Cancer: A Literature Review*. 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/2605628>
- Peng, Q., Zhang, X., Min, M., Zou, L., Shen, P., & Zhu, Y. (2017). The clinical role of microRNA-21 as a promising biomarker in the diagnosis and prognosis of colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis.

- Oncotarget*, 8(27), 44893-44909.  
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.16488>
- Rappaport, J. A., Entezari, A. A., Caspi, A., Caksa, S., Jhaveri, A. V., Stanek, T. J., Ertel, A., Kupper, J., Fortina, P. M., McMahon, S. B., Jaynes, J. B., Snook, A. E., & Waldman, S. A. (2022). A  $\beta$ -Catenin-TCF-Sensitive Locus Control Region Mediates GUCY2C Ligand Loss in Colorectal Cancer. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 13(4), 1276-1296.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2021.12.014>
- Ren, A., Dong, Y., Tsoi, H., & Yu, J. (2015). Detection of miRNA as non-invasive biomarkers of colorectal cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(2), 2810-2823.  
<https://doi.org/10.3390/ijms16022810>
- Rodia, M. T., Solmi, R., Pasini, F., Nardi, E., Mattei, G., Ugolini, G., Ricciardiello, L., Strippoli, P., Miglio, R., & Lauriola, M. (2018). LGALS4, CEACAM6, TSPAN8, and COL1A2: Blood Markers for Colorectal Cancer-Validation in a Cohort of Subjects With Positive Fecal Immunochemical Test Result. *Clinical Colorectal Cancer*, 17(2), e217-e228.  
<https://doi.org/10.1016/j.clcc.2017.12.002>
- Rodia, M. T., Ugolini, G., Mattei, G., Montroni, I., Zattoni, D., Ghignone, F., Veronese, G., Marisi, G., Lauriola, M., Strippoli, P., & Solmi, R. (2016). Systematic large-scale meta-analysis identifies a panel of two mRNAs as blood biomarkers for colorectal cancer detection. *Oncotarget*, 7(21), 30295-30306.  
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.8108>
- Ruiz-López, L., Blancas, I., Garrido, J. M., Mut-Salud, N., Moya-Jódar, M., Osuna, A., & Rodríguez-Serrano, F. (2018). The role of exosomes on colorectal cancer: A review. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 33(4), 792-799.  
<https://doi.org/10.1111/jgh.14049>
- Sabry, D., El-Deek, S. E. M., Maher, M., El-Baz, M. A. H., El-Bader, H. M., Amer, E., Hassan, E. A., Fathy, W., & El-Deek, H. E. M. (2019). Role of miRNA-210, miRNA-21 and miRNA-126 as diagnostic biomarkers in colorectal carcinoma: Impact of HIF-1 $\alpha$ -VEGF signaling pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 454(1-2), 177-189.  
<https://doi.org/10.1007/s11010-018-3462-1>
- Sakurai, T., Katsumata, K., Udo, R., Tago, T., Kasahara, K., Mazaki, J., Kuwabara, H., Kawakita, H., Enomoto, M., Ishizaki, T., Nemoto, Y., Osaka, Y., Nagakawa, Y., Sugimoto, M., & Tsuchida, A. (2022). Validation of Urinary Charged Metabolite Profiles in Colorectal Cancer Using Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry. *Metabolites*, 12(1), 59.  
<https://doi.org/10.3390/metabo12010059>
- Schatoff, E. M., Goswami, S., Zafra, M. P., Foronda, M., Shusterman, M., Leach, B. I., Katti, A., Diaz, B. J., & Dow, L. E. (2019). Distinct CRC-associated Apc mutations

- dictate response to Tankyrase inhibition. *Cancer discovery*, 9(10), 1358-1371. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-0289>
- Shimura, T., Iwasaki, H., Kitagawa, M., Ebi, M., Yamada, T., Yamada, T., Katano, T., Nisie, H., Okamoto, Y., Ozeki, K., Mizoshita, T., & Kataoka, H. (2019). Urinary Cysteine-Rich Protein 61 and Trefoil Factor 3 as Diagnostic Biomarkers for Colorectal Cancer. *Translational Oncology*, 12(3), 539-544. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.12.006>
- Shirahata, A., & Hibi, K. (2014). Serum vimentin methylation as a potential marker for colorectal cancer. *Anticancer Research*, 34(8), 4121-4125.
- Shou, X., Li, Y., Hu, W., Ye, T., Wang, G., Xu, F., Sui, M., & Xu, Y. (2019). Six-gene Assay as a new biomarker in the blood of patients with colorectal cancer: Establishment and clinical validation. *Molecular Oncology*, 13(4), 781-791. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12427>
- Sun, Q., Liu, Y., Liu, B., & Liu, Y. (2018). Use of Liquid Biopsy in Monitoring Colorectal Cancer Progression Shows Strong Clinical Correlation. *American Journal of the Medical Sciences*, 355(3), 220-227. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2017.09.009>
- Tanaka, K., Shiota, G., Meguro, M., Mitsuya, K., Oshimura, M., & Kawasaki, H. (2001). Loss of imprinting of long QT intronic transcript 1 in colorectal cancer. *Oncology*, 60(3), 268-273. <https://doi.org/10.1159/000055328>
- Tanaka, N., Mashima, T., Mizutani, A., Sato, A., Aoyama, A., Gong, B., Yoshida, H., Muramatsu, Y., Nakata, K., Matsuura, M., Katayama, R., Nagayama, S., Fujita, N., Sugimoto, Y., & Seimiya, H. (2017). APC Mutations as a Potential Biomarker for Sensitivity to Tankyrase Inhibitors in Colorectal Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 16(4), 752-762. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-16-0578>
- Tang, D., Liu, J., Wang, D., Yu, H., Li, Y., & Zhang, J. (2011). Diagnostic and prognostic value of the methylation status of secreted frizzled-related protein 2 in colorectal cancer. *Clinical and Investigative Medicine. Medecine Clinique Et Experimentale*, 34(2), E88-95. <https://doi.org/10.25011/cim.v34i1.15105>
- Tateishi, Y., Okudela, K., Mitsui, H., Umeda, S., Suzuki, T., Kojima, Y., Watanabe, K., Kawano, N., Endo, I., & Ohashi, K. (2015). The potential role of microRNA-31 expression in early colorectal cancer. *Pathology International*, 65(10), 513-518. <https://doi.org/10.1111/pin.12334>
- Tsai, W.-S., Chen, J.-S., Shao, H.-J., Wu, J.-C., Lai, J.-M., Lu, S.-H., Hung, T.-F., Chiu, Y.-C., You, J.-F., Hsieh, P.-S., Yeh, C.-Y., Hung, H.-Y., Chiang, S.-F., Lin, G.-P., Tang, R., & Chang, Y.-C. (2016). Circulating Tumor Cell Count

- Correlates with Colorectal Neoplasm Progression and Is a Prognostic Marker for Distant Metastasis in Non-Metastatic Patients. *Scientific Reports*, 6, 24517. <https://doi.org/10.1038/srep24517>
- Tsukamoto, M., Iinuma, H., Yagi, T., Matsuda, K., & Hashiguchi, Y. (2017). Circulating Exosomal MicroRNA-21 as a Biomarker in Each Tumor Stage of Colorectal Cancer. *Oncology*, 92(6), 360-370. <https://doi.org/10.1159/000463387>
- Tume, L., Cisneros, C., Sevillano, J., Pacheco-Tapia, R., Matos, D., Acevedo-Espínola, R., Ubidia-Incio, R., & Rodríguez, W. (2016). Desregulación de microARN en el cáncer: Un enfoque terapéutico y diagnóstico. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 15(5), 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.gamo.2016.08.004>
- Tupá, V., Drahošová, S., Grendár, M., & Adamkov, M. (2019). Expression and association of carbonic anhydrase IX and cyclooxygenase-2 in colorectal cancer. *Pathology, Research and Practice*, 215(4), 705-711. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.01.012>
- Turano, P. (2014). Colorectal cancer: The potential of metabolic fingerprinting. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 8(8), 847-849. <https://doi.org/10.1586/17474124.2014.945912>
- Vacante, M., Borzì, A. M., Basile, F., Biondi, A., Vacante, M., Borzì, A. M., Basile, F., Borzì, A. M., Basile, F., & Biondi, A. (2018). *Future perspectives*. 6(15), 869-882. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v6.i15.869>
- Venè, R., Costa, D., Augugliaro, R., Carlone, S., Scabini, S., Casoni Pattacini, G., Boggio, M., Zupo, S., Grillo, F., Mastracci, L., Pitto, F., Minghelli, S., Ferrari, N., Tosetti, F., Romairone, E., Mingari, M. C., Poggi, A., & Benelli, R. (2020). Evaluation of Glycosylated PTGS2 in Colorectal Cancer for NSAIDS-Based Adjuvant Therapy. *Cells*, 9(3), 683. <https://doi.org/10.3390/cells9030683>
- Vernia, F., Valvano, M., Fabiani, S., Stefanelli, G., Longo, S., Viscido, A., & Latella, G. (2021). Are Volatile Organic Compounds Accurate Markers in the Assessment of Colorectal Cancer and Inflammatory Bowel Diseases? A Review. *Cancers*, 13(10), 2361. <https://doi.org/10.3390/cancers13102361>
- Waldman, S. A., Hyslop, T., Schulz, S., Barkun, A., Nielsen, K., Haaf, J., Bonaccorso, C., Li, Y., & Weinberg, D. S. (2009). Association of GUCY2C expression in lymph nodes with time to recurrence and disease-free survival in pN0 colorectal cancer. *JAMA*, 301(7), 745-752. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.141>
- Wang, L., Cho, K. B., Li, Y., Tao, G., Xie, Z., & Guo, B. (2019). Long Noncoding RNA (lncRNA)-Mediated Competing Endogenous RNA Networks Provide Novel Potential Biomarkers and Therapeutic Targets for Colorectal Cancer. *International Journal of*

- Molecular Sciences*, 20(22), 5758.  
<https://doi.org/10.3390/ijms20225758>
- Wang, X., Ding, X., Nan, L., Wang, Y., Wang, J., Yan, Z., Zhang, W., Sun, J., Zhu, W., Ni, B., Dong, S., & Yu, L. (2015). Investigation of the roles of exosomes in colorectal cancer liver metastasis. *Oncology Reports*, 33(5), 2445-2453. <https://doi.org/10.3892/or.2015.3843>
- Wang, X., Zhang, H., Yang, H., Bai, M., Ning, T., Deng, T., Liu, R., Fan, Q., Zhu, K., Li, J., Zhan, Y., Ying, G., & Ba, Y. (2020). Exosome-delivered circRNA promotes glycolysis to induce chemoresistance through the miR-122-PKM2 axis in colorectal cancer. *Molecular Oncology*, 14(3), 539-555. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12629>
- Wang, Z., Su, M., Xiang, B., Zhao, K., & Qin, B. (2019). Circular RNA PVT1 promotes metastasis via miR-145 sponging in CRC. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 512(4), 716-722. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.03.121>
- Warren, J. D., Xiong, W., Bunker, A. M., Vaughn, C. P., Furtado, L. V., Roberts, W. L., Fang, J. C., Samowitz, W. S., & Heichman, K. A. (2011). Septin 9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer. *BMC Medicine*, 9, 133. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-133>
- Xiao, Z., Li, B., Wang, G., Zhu, W., Wang, Z., Lin, J., Xu, A., & Wang, X. (2014). Validation of methylation-sensitive high-resolution melting (MS-HRM) for the detection of stool DNA methylation in colorectal neoplasms. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 431, 154-163. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.044>
- Xie, L., Jiang, X., Li, Q., Sun, Z., Quan, W., Duan, Y., Li, D., & Chen, T. (2018). Diagnostic Value of Methylated Septin9 for Colorectal Cancer Detection. *Frontiers in Oncology*, 8, 247. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00247>
- Yan, S., Liu, Z., Yu, S., & Bao, Y. (2016). Diagnostic Value of Methylated Septin9 for Colorectal Cancer Screening: A Meta-Analysis. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 22, 3409-3418. <https://doi.org/10.12659/msm.900590>
- Yang, F., Xie, Y.-Q., Tang, S.-Q., Wu, X.-B., & Zhu, H.-Y. (2015). MiR-143 regulates proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells and exhibits altered expression in colorectal cancer tissue. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(9), 15308-15312.
- Yang, L., Sun, Y., Huang, X.-E., Yu, D.-S., Zhou, J.-N., Zhou, X., Li, D.-Z., & Guan, X. (2015). Carcinoma microsatellite instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for stage II rectal cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 16(4), 1545-1551. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.4.1545>

- Yoshino, T., Arnold, D., Taniguchi, H., Pentheroudakis, G., Yamazaki, K., Xu, R.-H., Kim, T. W., Ismail, F., Tan, I. B., Yeh, K.-H., Grothey, A., Zhang, S., Ahn, J. B., Mastura, M. Y., Chong, D., Chen, L.-T., Kopetz, S., Eguchi-Nakajima, T., Ebi, H., ... Douillard, J.-Y. (2018). Pan-Asian adapted ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer: A JSMO-ESMO initiative endorsed by CSCO, KACO, MOS, SSO and TOS. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 29(1), 44-70. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx738>
- Yu, S., Cao, H., Shen, B., & Feng, J. (2015). Tumor-derived exosomes in cancer progression and treatment failure. *Oncotarget*, 6(35), 37151-37168. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6022>
- Zhang, M., He, Y., Zhang, X., Zhang, M., & Kong, L. (2017). A pooled analysis of the diagnostic efficacy of plasmic methylated septin-9 as a novel biomarker for colorectal cancer. *Biomedical Reports*, 7(4), 353-360. <https://doi.org/10.3892/br.2017.970>
- Zhang, Q., Deng, T., Zhang, H., Zuo, D., Zhu, Q., Bai, M., Liu, R., Ning, T., Zhang, L., Yu, Z., Zhang, H., & Ba, Y. (2022). Adipocyte-Derived Exosomal MTTP Suppresses Ferroptosis and Promotes Chemoresistance in Colorectal Cancer. *Advanced Science (Weinheim, Baden-Wuerttemberg, Germany)*, 9(28), e2203357. <https://doi.org/10.1002/advs.202203357>
- Zhang, W., An, Y., Qin, X., Wu, X., Wang, X., Hou, H., Song, X., Liu, T., Wang, B., Huang, X., & Cao, H. (2021). Gut Microbiota-Derived Metabolites in Colorectal Cancer: The Bad and the Challenges. *Frontiers in Oncology*, 11, 739648. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.739648>
- Zhang, Y.-J., Chen, J.-W., He, X.-S., Zhang, H.-Z., Ling, Y.-H., Wen, J.-H., Deng, W.-H., Li, P., Yun, J.-P., Xie, D., & Cai, M.-Y. (2018). SATB2 is a Promising Biomarker for Identifying a Colorectal Origin for Liver Metastatic Adenocarcinomas. *EBioMedicine*, 28, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.01.001>
- Zhao, G., Liu, X., Liu, Y., Ma, Y., Yang, J., Li, H., Xiong, S., Fei, S., Zheng, M., & Zhao, X. (2021). Methylated SFRP2 and SDC2 in stool specimens for Colorectal Cancer early detection: A cost-effective strategy for Chinese population. *Journal of Cancer*, 12(9), 2665-2672. <https://doi.org/10.7150/jca.52478>
- Zhou, Y., Wang, R., Xu, T., Xie, P., Zhang, Y., Zhang, A., Wang, X., Yang, C., Yang, H., & Zhu, S. (2019). Prognostic Value of Long Noncoding RNA CRNDE as a Novel Biomarker in Solid Cancers: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Cancer*, 10(11), 2386-2396. <https://doi.org/10.7150/jca.31088>

Zonta, G., Anania, G., Feo, C., Gaiardo, A., Gherardi, S., Giberti, A., Guidi, V., Landini, N., Palmonari, C., Ricci, L., de Togni, A., & Malagù, C. (2018). Use of gas sensors and FOBT for the early detection of colorectal cancer. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 262, 884-891. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.01.225>