

CTDNA TỪ MẪU SINH THIẾT LỎNG TRONG SÀNG LỌC SỚM UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Phạm Trường Giang¹, Lương Thị Lan Anh^{1,2}

TÓM TẮT

Ung thư đại trực tràng nói riêng và ung thư nói chung luôn là vấn đề được quan tâm với tỷ lệ mắc mới và tử vong luôn đứng đầu trong hệ thống y tế trên toàn thế giới. Ung thư đại trực tràng đứng thứ ba về số ca mắc mới với gần 2.000.000 ca và đứng thứ hai với hơn 900.000 ca tử vong trong các loại ung thư trên toàn thế giới. Ở Việt Nam, UTĐTT cũng có xu hướng tăng dần với tỉ lệ mắc mới căn bệnh này, chiếm tới 9% trong tổng số ca mắc mới ung thư. Cùng với sự phát triển của công nghệ và các tiến bộ khoa học đã mở ra những hướng đi mới giúp giảm nhẹ gánh nặng bệnh lý ung thư, trong số đó có sàng lọc sớm bệnh thông qua DNA phóng thích từ khối u vào máu (ctDNA) dựa vào kỹ thuật sinh thiết lỏng. Mục tiêu của báo cáo này nhằm cung cấp một cái nhìn tổng quan các nghiên cứu về đánh giá các đặc điểm của ctDNA trong sàng lọc phát hiện sớm ung thư đại trực tràng hiện nay. Nghiên cứu ctDNA từ mẫu sinh thiết lỏng là một hướng phát triển tiềm năng trong lĩnh vực sàng lọc phát hiện sớm ung thư và cần bổ sung thêm cơ sở dữ liệu nghiên cứu để có thể được vào thực hành lâm sàng rộng rãi.

Từ khóa: Ung thư đại trực tràng, DNA phóng thích từ khối u, sàng lọc ung thư.

SUMMARY

CIRCULATING TUMOR DNA BASED ON LIQUID BIOPSY FOR COLORECTAL CANCER SCREENING IN MALE

Colorectal Cancer and Cancer in general are considerable issue with the increasing of morbidity and mortality rates in all over worldwide healthcare system. Colorectal cancer is one of the most common cancer in male, being the third most diagnosed with more than 1,000,000 new cases and the third deadliest with approximately half of million deaths over the world. In Vietnam, prevalence rate of male patients with colorectal cancer tend to increase, accounting for more than 9% of all cancer. Along with the development of scientific and technology, new methods have been approached to help reduce the burden of cancer, among which is early screening of the disease through circulating tumor DNA (ctDNA) based on liquid biopsy technique. The objective of this report is providing an overview of this approach. This report purpose to review studies in evaluating the characteristics of ctDNA in early detection of colorectal cancer. ctDNA indicates a potential development direction in the field of early cancer screening and the necessity of finding more research database for being widely used in clinical practice.

Keywords: Colorectal cancer, ctDNA, cancer screening.

¹Trường Đại Học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Trường Giang,
Lương Thị Lan Anh

Email: luongthilananh@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 03/05/2023

Ngày phản biện khoa học: 25/05/2023

Ngày duyệt bài: 15/06/2023

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đại trực tràng (UTĐTT) được xem là loại ung thư phổ biến nhất ở các nước phát triển, với số ca mắc mới ước tính trong năm 2020 trên toàn thế giới vào khoảng 1,9 triệu người, trong đó có khoảng 25-30% số trường hợp được chẩn đoán là ung thư trực tràng, và dẫn đến 900.000 ca tử vong mỗi năm trên toàn cầu ở cả hai giới.¹ Trong số này, tỉ lệ mắc mới ung thư đại trực tràng ở nam giới cao hơn 30% so với nữ giới.^{2,3} Điều này dường như phản ánh sự khác biệt trong việc tiếp xúc với những yếu tố nguy cơ (như thuốc lá, rượu bia) và hormon sinh dục cũng như sự tương tác phức tạp giữa các yếu tố. Theo Hiệp hội Ung thư Hoa Kỳ (ACS), tỷ lệ sống trên 5 năm của UTĐTT dao động từ 90% với điều kiện được chẩn đoán ở giai đoạn khu trú, cho đến 14% ở các bệnh nhân đã có di căn.⁵ Chính bởi sự phổ biến và nguy hiểm của UTĐTT, đã chứng tỏ sự cần thiết của một phương pháp sàng lọc có độ chính xác với việc phát hiện những khối u ác tính đại trực tràng ở giai đoạn sớm, tạo điều kiện cho khả năng điều trị thành công cũng như giảm thiểu tỉ lệ tử vong bởi căn bệnh này. Trong sàng lọc, nội soi đại trực tràng vẫn được coi là công cụ tối ưu bởi nó cho phép bác sĩ có thể xác định được vị trí, tính chất khối u, cũng như đồng thời loại bỏ các polyp hoặc sinh thiết mô tại chỗ để xác định tính chất mô bệnh học, tuy nhiên việc này đòi hỏi sự phối hợp nhiều yếu tố từ trang thiết bị nội soi cho đến nguồn nhân lực y tế có đủ chuyên môn cùng với sự bất tiện trong chuẩn bị trước nội soi. Sinh thiết mô cũng có nhiều hạn chế bởi sự xâm lấn, tổn kém và bất tiện khi thực hiện xét nghiệm, cùng với sự hạn chế bởi những vị trí khối u khó tiếp cận. Ngược lại với sinh thiết mô, sinh thiết lỏng mang lại nhiều ưu điểm trong quản lý

UTĐTT, khắc phục những hạn chế của sinh thiết mô thông qua sự đánh giá những DNA có nguồn gốc khối u lưu hành trong máu.

II. NỘI DUNG

2.1. Vai trò của sinh thiết lỏng

Sinh thiết lỏng là một khái niệm về các mẫu bệnh phẩm là mô sinh học không phải mô đặc, phần lớn là máu, nhưng cũng có thể là nước bọt, nước tiểu hay dịch não tủy và các dịch cơ thể khác, nhằm tìm kiếm các dấu ấn sinh học để phát hiện những chỉ điểm của khối u được giải phóng từ những khối u nguyên phát hoặc di căn thứ phát.

Sinh thiết lỏng mang lại những ưu điểm lớn bởi sự không xâm lấn, nhanh và dễ thực hiện. Trên phương diện không xâm lấn, mẫu dịch sinh thiết lỏng không đòi hỏi đến kỹ năng cũng như phương tiện chuyên sâu để lấy mẫu bệnh phẩm. Kết quả có thể được trả ra nhanh chóng sau vài giờ, so với việc phải tách chiết mẫu mô và phân tích mô bệnh học tiêu tốn vài ngày. UTĐTT được biết đến là một bệnh lý có sự biến đổi lớn di truyền trong và ngoài khối u, bao gồm sự hiện diện của ba quá trình chính là sự mất ổn định hệ gen, mất ổn định vùng vi vệ tinh và biểu hiện methyl hóa của tiểu đảo nucleotide CpG. Để phát hiện và có cái nhìn tổng quát về trạng thái phân tử của khối u là một thách thức lớn đối với phương pháp truyền thống như sinh thiết mô đặc xâm lấn, trong khi đó, việc này hoàn toàn có thể khắc phục bởi sinh thiết lỏng để khảo sát thành phần phân tử của khối u trong máu, cụ thể là những DNA có nguồn gốc từ khối u (circulating tumor DNA - ctDNA).

2.2. DNA có nguồn gốc từ khối u lưu hành trong máu - ctDNA

Trong tuần hoàn ngoại vi của con người, ngoài sự lưu hành của các DNA tự do

(cfDNA) của những tế bào bình thường, phần lớn là những tế bào của hệ tạo máu, mẫu máu còn có thể chứa một lượng nhỏ những DNA có nguồn gốc từ khối u được phóng thích vào máu hay lưu hành trong máu (hay còn gọi là ctDNA), bao gồm cả những khối u nguyên phát và khối u di căn. Dưới góc độ của di truyền, ctDNA có thể cung cấp thông tin một cách toàn diện hơn về tổng quan các đột biến biểu hiện ở các khối u so với việc khảo sát từ một mẫu sinh thiết mô đơn thuần. Với sự phát triển công nghệ của những năm gần đây cho phép khả năng ứng dụng của ctDNA trong giai đoạn ung thư sớm và đưa vào chẩn đoán ở những người bệnh chưa có triệu chứng. Tuy nhiên, rất nhiều yếu tố thách thức trong việc phát hiện bệnh sớm, bao gồm lượng DNA thấp có nguồn gốc từ khối u, tần suất bất thường thấp hơn đối với giai đoạn sớm, cũng như là khả năng xáo trộn bởi sự biểu hiện của các cụm tế bào không phải của khối u hoặc sự lắng đọng đột biến ung thư phụ thuộc vào tuổi. Để vượt qua những khó khăn này, các nghiên cứu có xu hướng vượt lên những biến đổi di truyền thông thường và chiến lược sinh thiết lỏng được mở rộng để bổ sung những thông số có giá trị như kích thước đoạn hoặc sự kết hợp phân tích nhiều thành phần của hệ gen.

2.3. Các phương pháp tiếp cận phân tích ctDNA

Hai loại phương pháp tiếp cận chính đã được xem xét để phân tích ctDNA, phương pháp tiếp cận mục tiêu tập trung vào các thay đổi cụ thể trên gen hoặc các đột biến gen trong các vùng gen cụ thể hoạt động như những “điểm nóng” cho sự biến đổi trong một loại khối u nhất định, và các phương pháp tiếp cận không có mục tiêu mà đòi hỏi sự phân tích và theo dõi rộng hơn hệ gen khối u, cung cấp thông tin về sự thay đổi

nucleotide, biến thể số lượng bản sao, biến đổi nhiễm sắc thể..., độc lập với bất kỳ dữ liệu nào trước đây về sự thay đổi phân tử. Các phương pháp tiếp cận mục tiêu bao gồm các phương pháp dựa trên PCR như PCR kỹ thuật số (droplet digital PCR-ddPCR) và BEAMing đã cho thấy độ nhạy đáng kể từ 1 đến 0,001% trong việc phát hiện đột biến điểm.

Nhiều phương pháp dựa trên giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) đã được phát triển gần đây nhằm cung cấp khả năng sàng lọc tương đối rộng hơn các vùng gen, cùng với độ phân giải tốt hơn trong việc phát hiện các đột biến trong mẫu ctDNA. Bên cạnh thông lượng cao, ưu điểm của phương pháp tiếp cận NGS còn là khả năng phát hiện sự có mặt của các đột biến cả tế bào mầm lẫn tế bào soma, sự thay đổi số lượng bản sao, và những thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể khác như chuyển đoạn, đảo đoạn.

2.4. Giá trị và ứng dụng của ctDNA trong sàng lọc phát hiện sớm ung thư đại trực tràng

2.4.1. Đặc điểm ctDNA trong ung thư đại trực tràng giai đoạn sớm

Sự phụ thuộc của khả năng sống trên 5 năm vào giai đoạn trong ung thư đại trực tràng, từ 94-66% với giai đoạn sớm từ I-III cho đến chỉ còn 11% ở giai đoạn IV, đã phản ánh rõ rệt vai trò quan trọng của việc sàng lọc và phát hiện sớm bệnh. Ở Mỹ, nội soi đại trực tràng vẫn là công cụ tối ưu trong sàng lọc, phương pháp này cho độ chính xác cao, tuy nhiên có tính xâm lấn và không thoải mái cho người bệnh, cũng là những yếu tố khiến người bệnh thường phản nản. Ở châu Âu, các xét nghiệm tìm máu trong phân (Fecal occult blood test- FOBT) hay là hóa mô miễn dịch phân (Fecal immunochemical test- FIT) được sử dụng khá rộng rãi. Các nghiên cứu ngẫu

nhiên có đối chứng (RCT) đã chỉ ra rằng các xét nghiệm này làm giảm tỉ lệ tử vong của UTĐTT. Tuy nhiên, tỉ lệ dương tính giả của xét nghiệm cao và độ nhạy đối với những tổn thương tiền ung thư như u biểu mô tuyến tiền triển còn hạn chế. Một sự cải tiến đáng chú ý cho những phương pháp này chính là các xét nghiệm phát hiện trên mẫu máu của người bệnh, không có tính chất xâm lấn, giảm rủi ro khi xét nghiệm và có thể thực hiện một cách dễ dàng trong thực hành lâm sàng thường quy.

Methyl hóa DNA là một đặc trưng được tìm thấy trong phần lớn các khối u và cũng được quan sát thấy ở nang tế bào ống tuyến bất thường cũng như trong các u biểu mô tuyến tiền ác tính, sự methyl hóa đã đánh dấu sự hiện diện của một chỉ điểm sinh học mới trong sàng lọc chẩn đoán ung thư sớm. Một nghiên cứu tổng quan hệ thống về tiềm năng của cfDNA trong chẩn đoán UTĐTT cũng cho thấy những chỉ điểm methyl hóa biểu sinh của ctDNA có thể là thành phần có tiềm năng nhất tham gia vào sàng lọc UTĐTT dựa trên xét nghiệm máu. Vùng khởi đầu của gen SEPT9 (promoter gene) được nghiên cứu nhiều nhất trong UTĐTT. Trong năm 2016, xét nghiệm Epi ProColon dựa trên sự methyl hóa gen SEPT9 trong sàng lọc UTĐTT đã được chấp thuận bởi Cục Quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Hoa Kỳ (FDA). Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm lần lượt trong khoảng 52-90% và 88-95%.⁶ Mặc dù, xét nghiệm gen SEPT9 đã cho thấy sự hơn hẳn so với xét nghiệm chỉ số CEA và xét nghiệm FITs trong sàng lọc UTĐTT, tuy nhiên vẫn còn có nhược điểm là sự methyl hóa của SEPT9 không phân biệt tốt giữa UTĐTT với những polyp và u biểu mô tuyến lành tính.

Sự kết hợp của nhiều chất chỉ điểm sinh học được thấy dường như đạt được độ nhạy cao hơn, do vậy, chúng cũng được nghiên cứu nhiều hơn trong phát hiện và sàng lọc UTĐTT, với nhiều nghiên cứu nhằm lượng giá khả năng phát hiện bệnh khi kết hợp giữa xét nghiệm methyl hóa gen SEPT9 và sự methyl các gen khác. Nhóm kết hợp giữa sự methyl hóa gen BCAT1 và IZKF1 đạt độ nhạy 66% và độ đặc hiệu 94% phát hiện UTĐTT trong một nghiên cứu phân tích hơn 2000 cá thể, bao gồm 129 người bệnh UTĐTT.⁷ Độ nhạy đối với u biểu mô tuyến tiền triển tuy nhiên lại tương đối thấp (6%) và một nghiên cứu sau đó cũng báo cáo sự methyl hóa thường xuất hiện nhiều hơn ở những người bệnh giai đoạn muộn. Tác giả Lee và các cộng sự đã đặc biệt tìm kiếm một chất chỉ điểm trong huyết tương mà có thể được dùng trong chẩn đoán sớm UTĐTT, những người bệnh ở giai đoạn sớm là I và II, một nhóm gen methyl hóa APC, MGMT, RASSF2A và WIF1 có thể phát hiện 86% trong tổng số người bệnh với độ nhạy đạt 92%.⁸ Tương tự, Tanzer và các cộng sự đã chỉ ra sự kết hợp giữa sự methyl hóa của gen SEPT9 và ALX4 có thể phát hiện các tổn thương tiền ung thư cũng như ung thư ở giai đoạn sớm.⁹

Fei Xu và các cộng sự năm 2021 cũng đã báo cáo về sự methyl hóa của các gen SEPT9, SDC-2 và BCAT1 đối với khả năng phát hiện UTĐTT với sự tham gia của 234 người bao gồm 104 người bệnh UTĐTT và 103 người bệnh có polyp đại trực tràng cùng 60 người chứng khỏe mạnh. Nghiên cứu đã chỉ ra BCAT1 và SEPT9 có khả năng phân biệt giữa nhóm UTĐTT với nhóm polyp đại trực tràng với mức độ methyl hóa cao hơn, lần lượt là 83,7% so với 6,1% và 83,7% so với 5,4%.¹⁰

2.4.2. Giá trị và ứng dụng ctDNA trong sàng lọc sớm ung thư đại trực tràng

Hiện nay, nhờ sự ứng dụng tiềm năng ctDNA, trên thế giới đã có nhiều phương pháp tầm soát sớm ung thư dựa trên kỹ thuật sinh thiết lỏng. Quy trình CANCERSEEK, được trung tâm nghiên cứu Ung thư Ludwig, Đại học John Hopkins phát triển, có thể phát hiện 8 loại ung thư, trong đó có UTĐTT, đã được Cục quản lý thuốc và thực phẩm Mỹ (Food and Drug Administration - FDA) phê chuẩn vào năm 2019. Phương pháp xét nghiệm CANCERSEEK dựa vào phát hiện đột biến của 16 gen ung thư đặc trưng đồng thời kết hợp với 8 dấu ấn sinh hoá để đưa ra kết luận nguy cơ mắc ung thư. Nhờ vào sự phân tích đồng thời nhiều đặc điểm, nhóm tác giả đã phát hiện được ctDNA ở 43% người bệnh UTĐTT giai đoạn I, so với việc phát hiện 70% ở giai đoạn II và III.¹¹

Bên cạnh CANCERSEEK, GRAIL cũng là quy trình có khả năng sàng lọc đồng thời nhiều loại ung thư (hơn 50 loại) giai đoạn sớm, trong đó có UTĐTT. Xét nghiệm này đã được phép đưa vào sử dụng trên lâm sàng, tuy chưa được ứng dụng rộng rãi trong cộng đồng, nhưng những số liệu thực tế đã chứng minh đây là một công cụ tiềm năng trong tương lai gần. Phương pháp GRAIL dựa trên các biến đổi methyl hoá đặc trưng của DNA khối u phóng thích vào máu. Các biến đổi này thường liên quan đến cơ chế kiểm soát biểu hiện của nhiều gen gây ung thư và xuất hiện ở giai đoạn sớm trong quá trình hình thành và phát triển của khối u. Sử dụng dữ liệu của các dấu ấn methyl hóa tiềm năng từ việc giải trình tự toàn bộ gen và hệ thống dữ liệu bộ gen người có liên hệ đến các tất cả

các loại ung thư phổ biến (The Cancer Genome Atlas - TCGA), nhóm nghiên cứu đã thiết kế bộ dò lai bắt giữ bao phủ hơn 100.000 vùng trình tự mục tiêu và hơn 1.000.000 đảo nucleotide CpG. Hiệu quả của tổ hợp mô hình này đã được kiểm chứng trên thử nghiệm lâm sàng. Cụ thể, một nghiên cứu mới đây áp dụng phương pháp này của nhóm tác giả với sự tham gia của khoảng 4.000 tình nguyện viên (bao gồm 2.800 người bệnh ung thư và 1.200 người khỏe mạnh) đạt độ nhạy 51,5% và độ đặc hiệu 99,5%.¹² Với một số ung thư phổ biến, độ nhạy tăng lên là 67,6%. Có thể nói, xét nghiệm GRAIL là phương pháp không xâm lấn đầy hứa hẹn nhằm phát hiện ung thư ở các giai đoạn sớm (I-IIIa). Hơn thế nữa, phương pháp còn có thể phân biệt nguồn gốc khối u với độ chính xác khá cao. Tuy nhiên, do yêu cầu của phương pháp phân tích, dung lượng giải trình tự khá lớn (30.000X) làm tăng chi phí xét nghiệm giảm khả năng tiếp cận của bệnh nhân.

Tại Việt Nam đã có những bước tiến đầu trong phát triển công cụ sàng lọc phát hiện sớm ung thư dựa trên khảo sát ctDNA trong máu ngoại vi từ kỹ thuật sinh thiết lỏng. Một nghiên cứu được thực hiện ở Việt Nam ở 50 bệnh nhân UTĐTT giai đoạn sớm chưa di căn và nhóm chứng để tìm các đột biến có nguồn gốc khối u thông qua phân tích ctDNA từ kỹ thuật sinh thiết lỏng kết hợp với giải trình tự gen thế hệ mới với độ phủ sâu, đã phát hiện 33 đột biến có nguồn gốc khối u trên 28 bệnh nhân (56%), với tần suất nhiều nhất ở các gen APC (36,4%), tiếp đến là gen TP53 (12,1%), gen KMT2C, FBXW7, KMT2D và PIK3CA (9,1% mỗi gen).¹³ Bên

cạnh đó, những đặc điểm về sự methyl hóa và kích thước phân mảnh DNA tự do trong mẫu máu cũng được tích hợp phân tích đồng thời để tăng độ chính xác cho khả năng phát hiện UTĐTT giai đoạn sớm. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Hữu Thịnh và cộng sự trên 157 bệnh nhân UTĐTT và nhóm chứng đã cho thấy hiệu quả khi thiết lập mô hình phân tích phối hợp các đặc điểm này với độ nhạy đạt và độ đặc hiệu lần lượt đạt 96,8% và 97%.¹⁴ Trên những hiểu biết nền tảng đã đạt được và sự cải tiến, nhóm nghiên cứu đã xây dựng một quy trình phát hiện sớm bốn loại ung thư phổ biến bao gồm vú, phổi, gan và đại trực tràng từ kỹ thuật sinh thiết lỏng thông qua khảo sát DNA có nguồn gốc khối u, quy trình có tên là SPOT-MAS (Screening for Presence Of Tumor by DNA Methylation And Size) với độ nhạy trong phát hiện sớm ung thư của phương pháp đạt 73,9%, độ đặc hiệu đạt 95,9% và giá trị tiên đoán dương tính là 95,4%.¹⁵ Mô hình phân tích của quy trình dựa trên bốn đặc tính của ctDNA gồm sự methyl hóa các gen liên quan, sự methyl hóa toàn bộ hệ gen, sự thay đổi số lượng bản sao trên toàn bộ hệ gen và kích thước đặc trưng của cfDNA do khối u phóng thích. Quy trình phát hiện sớm ung thư SPOT-MAS cũng đã được lượng giá sự hiệu quả dựa trên một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng đa trung tâm, với việc phân tích mẫu máu sinh thiết lỏng của 2.795 người tình nguyện, cho thấy giá trị phát hiện của ung thư sớm trên nhóm người không triệu chứng với giá trị tiên đoán dương tính đạt 60% và sự chính xác trong dự đoán nguồn gốc khối u đạt 83,3%.¹⁵

Những kết quả thu được đã phần nào chứng tỏ tiềm năng của phương pháp sàng lọc phát hiện sớm ung thư nói chung và UTĐTT nói riêng dựa trên mẫu máu sinh thiết lỏng thông qua phân tích những đặc trưng của ctDNA. Tuy nhiên, để đưa được những xét nghiệm này vào thực hành lâm sàng một cách rộng rãi vẫn cần thời gian và hệ dữ liệu nghiên cứu lớn hơn.

III. KẾT LUẬN

Ung thư đại trực tràng là một bệnh lý phổ biến, đặc trưng bởi tỷ lệ mắc cao trong quần thể cũng như tiên lượng xấu khi bệnh được chẩn đoán ở giai đoạn muộn, do đó việc sàng lọc phát hiện sớm bệnh là rất quan trọng. Những hiểu biết mới về ctDNA đối với phát hiện sớm ung thư đã mở ra những hướng tiếp cận đầy triển vọng. Tuy chưa được ứng dụng trong thực hành lâm sàng một cách rộng rãi và dữ liệu nghiên cứu còn chưa đầy đủ, nhưng với những đánh giá bước đầu đã đạt được trong mối liên quan giữa ctDNA và UTĐTT đã cho thấy tiềm năng to lớn trong việc sàng lọc sớm hiệu quả ung thư và UTĐTT trong cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Wolpin BM, Meyerhardt JA, Mamouni EJ, Mayer RJ.** Adjuvant Treatment of Colorectal Cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2007;57(3):168-185. doi:10.3322/canjclin.57.3.168.
2. **Lieberman DA, Williams JL, Holub JL, et al.** Race, ethnicity, and sex affect risk for polyps >9 mm in average-risk individuals. *Gastroenterology*. 2014;147(2):351-358; quiz e14-5. doi:10.1053/j.gastro.2014.04.037.

3. **Ferlitsch M, Reinhart K, Pramhas S, et al.** Sex-specific prevalence of adenomas, advanced adenomas, and colorectal cancer in individuals undergoing screening colonoscopy. *JAMA*. 2011;306(12):1352-1358. doi:10.1001/jama.2011.1362.
4. **Street W.** Colorectal Cancer Facts & Figures 2020-2022.
5. **Mazouji O, Ouhajjou A, Incitti R, Mansour H.** Updates on Clinical Use of Liquid Biopsy in Colorectal Cancer Screening, Diagnosis, Follow-Up, and Treatment Guidance. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:660924. doi:10.3389/fcell.2021.660924.
6. **Warren JD, Xiong W, Bunker AM, et al.** Septin 9 methylated DNA is a sensitive and specific blood test for colorectal cancer. *BMC Medicine*. 2011;9(1):133. doi:10.1186/1741-7015-9-133.
7. **Pedersen SK, Symonds EL, Baker RT, et al.** Evaluation of an assay for methylated BCAT1 and IKZF1 in plasma for detection of colorectal neoplasia. *BMC Cancer*. 2015;15(1):654. doi:10.1186/s12885-015-1674-2.
8. **Lee BB, Lee EJ, Jung EH, et al.** Aberrant methylation of APC, MGMT, RASSF2A, and Wif-1 genes in plasma as a biomarker for early detection of colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(19):6185-6191. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0111.
9. **Tänzer M, Balluff B, Distler J, et al.** Performance of epigenetic markers SEPT9 and ALX4 in plasma for detection of colorectal precancerous lesions. *PLoS One*. 2010;5(2):e9061. doi:10.1371/journal.pone.0009061.
10. **Xu F, Yu S, Han J, et al.** Detection of Circulating Tumor DNA Methylation in Diagnosis of Colorectal Cancer. *Clin Transl Gastroenterol*. 2021;12(8):e00386. doi:10.14309/ctg.0000000000000386.
11. **Marcuello M, Vymetalkova V, Neves RPL, et al.** Circulating biomarkers for early detection and clinical management of colorectal cancer. *Molecular Aspects of Medicine*. 2019;69:107-122. doi:10.1016/j.mam.2019.06.002.
12. **Liu MC.** Transforming the landscape of early cancer detection using blood tests-Commentary on current methodologies and future prospects. *Br J Cancer*. 2021;124(9):1475-1477. doi:10.1038/s41416-020-01223-7.
13. **Nguyen HT, Luong A, Huy T, et al.** Ultra-Deep Sequencing of Plasma-Circulating DNA for the Detection of Tumor-Derived Mutations in Patients with Nonmetastatic Colorectal Cancer. *Cancer Investigation*. 2021;40:1-29. doi:10.1080/07357907.2021.2017951.
14. **Nguyen HT, Khoa Huynh LA, Nguyen TV, et al.** Multimodal analysis of ctDNA methylation and fragmentomic profiles enhances detection of nonmetastatic colorectal cancer. *Future Oncol*. 2022;18(35):3895-3912. doi:10.2217/fon-2022-1041.
15. **Nguyen THH, Lu YT, Le VH, et al.** Clinical validation of a ctDNA-Based Assay for Multi-Cancer Detection: An Interim Report from a Vietnamese Longitudinal Prospective Cohort Study of 2795 Participants. *Cancer Investigation*. 2023;41(3):232-248. doi:10.1080/07357907.2023.2173773.