

ARTÍCULO DE REVISIÓN

La biopsia líquida en el diagnóstico y monitoreo de pacientes oncológicos: Oportunidades y retos en Latinoamérica

Liquid biopsy in the diagnosis and monitoring of cancer patients: opportunities and challenges in Latin America

Ana Lorena Montealegre-Páez¹, Rafael Pacheco-Orozco¹, Héctor Martínez-Gregorio², Felipe Vaca-Paniagua^{2,3}, Javier Ardila⁴, Federico Cayol⁵, Javier Oliver^{6,7}, Cecilia Frecha⁸, Javier López⁹, David Carreño⁹, Sandra Perdomo^{1,10,11}

Fecha de sometimiento: 17/05/2019, fecha de aceptación: 26/05/2020

Disponible en internet: 31/06/2020

<https://doi.org/10.35509/01239015.44>

Abstract

In recent years, the study of circulating nucleic acids has made great progress in the field of oncology, allowing for significant advances in clinical applications of liquid biopsy in diverse areas such as prognosis, staging, recurrence prediction, selection and monitoring of treatments, among others. This advance is largely due to the development of new and better technologies, some of which have even been validated for the diagnosis and clinical follow-up of certain types of cancer. However, the use of liquid biopsy as an additional tool in clinical oncology remains under study. Given the worldwide importance of this technological advance, a literature review was conducted to establish the current status of the use of liquid biopsy in oncology, as well as its current clinical applications, with a particular focus on Latin America.

Keywords: Liquid biopsy, Latin America, Cell-Free Nucleic Acids, Molecular Targeted Therapy.

Resumen

En los últimos años el estudio de los ácidos nucleicos circulantes ha tenido grandes avances en el campo de la oncología, lo que ha permitido avanzar de forma importante en las aplicaciones clínicas de la biopsia líquida en diferentes áreas como el pronóstico, la estadificación, la predicción de recurrencia, la selección y monitorización de tratamientos, entre otros. Lo anterior se debe en gran parte al desarrollo de nuevas y mejores tecnologías, algunas de las cuales incluso han sido autorizadas para el diagnóstico y seguimiento clínico de ciertos tipos de cáncer. No obstante, la utilización de la biopsia líquida como herramienta de apoyo clínico sigue siendo objeto de estudio. Debido a la importancia que ha cobrado este avance tecnológico a nivel mundial, se realizó una revisión de literatura con el fin de establecer el estado actual del uso de biopsia líquida en oncología, así como sus aplicaciones clínicas actuales, con un énfasis en Latinoamérica.

Palabras clave: Biopsia líquida; América Latina; Ácidos nucleicos libres de células; Terapia molecular dirigida.

¹ Instituto de Investigación en Nutrición, Genética y Metabolismo, Facultad de Medicina, Universidad El Bosque, Bogotá, D. C., Colombia

² Laboratorio Nacional en Salud: Diagnóstico Molecular y Efecto Ambiental en Enfermedades Crónico-Degenerativas, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Tlalnepantla de Baz, México

³ Subdirección de Investigación Básica, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México

⁴ Instituto de Genética Humana, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia

⁵ Sección de Oncología, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

⁶ Servicio de Oncología Médica, Hospitales Universitarios Regional y Virgen de la Victoria, Málaga, España

⁷ Instituto de Investigación Biomédica de Málaga, Málaga, España

⁸ Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Técnicas - CONICET, Buenos Aires, Argentina

⁹ Laboratorio especializado de Clínica Colsanitas, Grupo INPAC, Clínica Colsanitas S.A., Bogotá, D. C., Colombia

¹⁰ Departamento de Patología y Laboratorios, Hospital Universitario Fundación Santafé de Bogotá, Bogotá, D. C., Colombia

¹¹ International Agency of Research on Cancer, Lyon, France

Introducción

En los últimos años se han logrado importantes avances en el desarrollo de nuevos y mejores biomarcadores para el diagnóstico y tratamiento del cáncer (1), una enfermedad que en 2018 registró a nivel mundial más de nueve millones de personas fallecidas, de los cuales 665.650 casos ocurrieron en América Latina y El Caribe (2).

El desarrollo de nuevas tecnologías y el refinamiento de las técnicas moleculares han ofrecido la posibilidad de estudiar nuevos biomarcadores en el campo de la oncología, entre los que se encuentran los ácidos nucleicos circulantes (3). De estos, aquellos con mayor evidencia clínica son: el ADN libre circulante (cell-free DNA, cfDNA), el ADN tumoral circulante (circulating tumor DNA, ctDNA) y el ARN libre circulante (cell-free RNA, cfRNA); que son ácidos nucleicos derivados tanto del tumor como de células tumorales circulantes (CTCs) y de exosomas. Su análisis ha permitido clasificar los tumores de manera más precisa y menos invasiva, mediante la descripción de perfiles genómicos, estableciendo su asociación directa a un adecuado diagnóstico y pronóstico, así como a la selección de tratamientos dirigidos y en consecuencia a la predicción de la respuesta terapéutica (4).

En respuesta a la importancia y sobre todo a la aplicación que ha tenido en los últimos años el estudio de la biopsia líquida en diferentes tipos de cáncer, se realizó una búsqueda en PubMed de publicaciones entre 2003 y 2018 con los términos “liquid biopsy”, “cell tumor DNA”, “cfRNA”, “circulating tumoral cells”, “cancer diagnosis” y “cancer treatment”, con el fin de conocer el estado de desarrollo actual de este tema, las aplicaciones clínicas de la detección de los ácidos nucleicos circulantes, así como sus ventajas y limitaciones. Adicionalmente, con el propósito de evaluar el uso potencial de las pruebas de biopsia líquida en Latinoamérica, se identificaron los medicamentos oncológicos de diana molecular cuya respuesta puede ser monitoreada por medio del uso de biopsias líquidas y que están disponibles en tres países latinoamericanos: Colombia, Argentina y México. Esta información se obtuvo a través de las páginas oficiales de los ministerios de salud de cada uno de los países anteriormente mencionados (5-7).

Biogénesis y naturaleza de los ácidos nucleicos circulantes

Las células tumorales circulantes (CTCs) fueron los primeros biomarcadores no invasivos en ser identificados en sangre periférica cuando Thomas Ashworth descubrió niveles elevados de estas células en pacientes con cáncer en 1869 (8). Estas células se originan a partir del tumor primario, que al separarse del tejido tumoral ingresan al sistema vascular, desde donde pueden migrar a otros tejidos dando origen a las metástasis (9). Debido a que las CTCs se presentan en cantidades muy limitadas, su detección y caracterización molecular es difícil. Sin embargo, se ha reportado que su liberación y eliminación es constante a lo largo del curso neoplásico (10). En sujetos sanos o con enfermedades no malignas, los niveles de CTCs son inexistentes, mientras que niveles detectables de estas células se han encontrado en pacientes con carcinomas metastásicos de pulmón, próstata, mama, colon, entre otros (9).

En 1948 se reportó la presencia de cfDNA en distintos líquidos corporales gracias a los estudios realizados por Mandel y Métais (11-13). Sin embargo, no fue sino hasta 1977 que se observaron niveles elevados de estos ácidos nucleicos circulantes acelulares en pacientes con cáncer (14), pero debido a las limitaciones técnicas de la época, su potencial uso fue subestimado (4,11). En la última década se ha comenzado a considerar la utilidad real de estos biomarcadores, en gran parte debido al desarrollo de nuevas tecnologías que han hecho más fácil su detección (8). La utilidad del cfDNA se ha aplicado a diversas áreas, como el diagnóstico prenatal y el rechazo de trasplantes; y se ha evidenciado que sus concentraciones se ven elevadas en diferentes estadios fisiológicos y patológicos como traumas, actividad física, procedimientos quirúrgicos, infarto agudo de miocardio, entre otros (9,11). En el campo de la oncología, este cfDNA es estudiado como ADN tumoral circulante (circulating tumor DNA, ctDNA), pues dichos fragmentos de ADN contienen alteraciones somáticas compatibles con las encontradas en los tumores sólidos de pacientes con cáncer (14,15). Aunque hay varias teorías sobre cómo el ctDNA llega al torrente sanguíneo, la más plausible es que estas secuencias sean liberadas por células apoptóticas y necróticas, y después fagocitadas por macrófagos. En pacientes con cáncer, los macrófagos no son eficientes en la eliminación de los detritos

celulares, causando una acumulación de ctDNA (1,16). No obstante, la vida media de esta molécula altamente fragmentada es de aproximadamente 15 minutos, y es depurada principalmente por el hígado y el riñón (17).

Otro ácido nucleico que ha mostrado tener potencial como biomarcador en pacientes oncológicos es el cfRNA, que a diferencia del cfDNA, es secretado por las células de forma activa al torrente sanguíneo pero que al igual que este último, también ofrece información en tiempo real sobre los niveles de expresión tumoral. Diversas clases de cfRNA han sido estudiadas como potenciales biomarcadores en cáncer, entre ellos el ARN mensajero (RNAm), que ofrece información sobre el nivel de expresión y mutaciones del genoma y la homeostasis celular, y el ARN no codificante, que corresponde a casi el 80% del total de ARN circulante. Dentro de este último, los microRNAs (miRNA) tienen un papel importante en la regulación de la expresión génica y diversos estudios han mostrado su potencial utilidad como indicadores de estadio y origen tumoral en diferentes tipos de cáncer (15,18-21). Otros tipos de cfRNA como los piwiRNA, ARN nuclear pequeño, ARN nucleolar, el ARN no codificante de cadena larga (lcRNA) y el ARN circular han mostrado tener un papel significativo en el desarrollo de distintos tipos de cáncer, aunque su potencial utilidad continúa en estudio (15).

Asimismo, las células tumorales también liberan microvesículas, las microvesículas más estudiadas hasta el momento han sido los exosomas, que se liberan por exocitosis. Estas estructuras subcelulares fueron descritas por primera vez en 1983 y al igual que los ácidos nucleicos son liberadas a diferentes fluidos corporales. Su contenido consta de proteínas, ADN, mRNAs y miRNAs, por lo que ofrecen información completa de la dinámica tumoral. La mayor utilidad de los exosomas se ha visto en pacientes en quienes el aislamiento de ácidos nucleicos circulantes es difícil, pues los exosomas en su interior suelen tener múltiples fragmentos de ADN y mRNA, lo cual aumenta su concentración en sangre y de esta manera hace más fácil su detección (22). La presente revisión se enfocará en las metodologías y aplicaciones de las CTCs y el ctDNA en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, teniendo en cuenta que estos biomarcadores cuentan con una mayor evidencia en investigación y aplicación clínica en los últimos años.

Fuentes biológicas y tecnologías disponibles para la detección de ácidos nucleicos circulantes y CTCs a partir de biopsia líquida

La sangre (plasma) no es el único fluido corporal en el que se pueden encontrar estas moléculas, otros fluidos como la saliva, el líquido cefalorraquídeo, la orina, el líquido pleural y muestras de lavado bronquial también pueden contener biomarcadores no invasivos como ctDNA o CTCs (22). La obtención de estos fluidos requiere técnicas menos invasivas, menos riesgosas y que causan menos morbilidad para los pacientes (3,23). Al estar en contacto directo con el tumor, estos fluidos representan una fuente directa de biomarcadores tumorales (23-26).

Las tecnologías actualmente disponibles permiten detectar tanto ácidos nucleicos circulantes como CTCs y exosomas. Una de las más importantes ha sido la secuenciación masiva en paralelo, conocida también como secuenciación de nueva generación (NGS, Next Generation Sequencing), la cual ha facilitado el análisis de ADN y ARN (27), así como la PCR en tiempo real y la PCR digital, esta última presenta una exactitud y sensibilidad superiores a la PCR en tiempo real convencional. Para el aislamiento de CTCs, actualmente se usan diferentes tecnologías o metodologías basadas en las propiedades físicas y biológicas de estas células. Las características de las diferentes técnicas tanto de ácidos nucleicos circulantes como de CTCs se encuentran descritas en la tabla 1

Tabla 1. Tecnologías y metodologías usadas en biopsia líquida

Molécula	Tecnologías/Metodologías		Descripción	Límite de detección más bajo	Referencias
Células tumorales circulantes (CTCs)	Basadas en las propiedades físicas (tamaño, densidad, cargas eléctricas y deformabilidad)	Ficoll	Procesos de centrifugación basados en el gradiente de densidad.	5 células por mL	(10,28-30)
		OncoQuick™			
		ISET	Filtración (por tamaño de las células tumorales)		
		DEP (dielectrophoresis)	Movimiento de partículas neutras por efectos de polarización en un campo eléctrico no uniforme.		
		DEP-FFF (dielectrophoresis-field-flow-fractionation)	En esta técnica se utilizan las pequeñas diferencias en las alturas, a las que las células son repelidas por el método DEP, las cuales se traducen en las diferencias en la velocidad en que transitan cuando son sometidas a DEP.		
	Basadas en las propiedades biológicas (expresión de proteínas de superficie y capacidad de invasión)	CellSearch*	En esta tecnología se utilizan nanopartículas de óxido de hierro que están marcadas con EpCAM, luego las CTC son detectadas por la citoqueratina positiva. No obstante, se agrega un paso más que consiste en la identificación de células que expresan CD45 (células que expresan citoqueratinas pero que no expresan CD45) y que además tienen las características citomorfológicas de células tumorales.		(10,28, 31)
	EPISPOT (EPithelial ImmuNOspot)	Detecta proteínas liberadas por células epiteliales tumorales a través del uso de anticuerpos marcados con fluorocromos.		(32)	
	Secuenciación de nueva generación (NGS, Next Generation Sequence)		Secuenciación masiva en paralelo de millones de fragmentos de ADN, que tiene la capacidad de detectar mutaciones específicas en genes frecuentemente alterados en el cáncer.	>2%	
ctDNA	ddPCR (Droplet digital PCR)		Esta técnica utiliza miles de vesículas o gotas del tamaño de un nanolitro cada una, y en cada una de estas gotas se lleva a cabo una reacción independiente de PCR, lo que permite mayor sensibilidad y especificidad.	0,001%	(22)(33,34)
cfRNA					
Exosomas					
	qPCR (PCR en tiempo real)		Se fundamenta en la técnica de PCR de punto final. Emplea sondas de fluorescencia que pueden detectar y cuantificar la amplificación del ADN en un ciclo determinado de la reacción.	0,1%	

*Tecnología aprobada por la FDA para la detección de mutaciones en el gen EGFR en CPCNP (cáncer de pulmón de células no pequeñas).

Aplicaciones clínicas de la biopsia líquida

En el campo de la oncología, la biopsia líquida ha demostrado utilidad en diferentes fases del desarrollo tumoral: puede ser utilizada como fuente de diagnóstico en los casos en que el tejido tumoral es escaso o como complemento a la biopsia de tejido y otros métodos de diagnóstico y seguimiento empleados en la actualidad, con limitaciones en cuanto a sensibilidad,

especificidad, accesibilidad y costos (35, 36). También ha permitido hacer estadificación y seguimiento de la enfermedad, detección de enfermedad mínima residual después de procedimientos quirúrgicos en diferentes tipos de cáncer y monitorización de la respuesta terapéutica (9). Con respecto a este último aspecto, ha permitido explicar algunos mecanismos de resistencia a los tratamientos administrados, particularmente los basados en terapia de diana molecular (fig. 1) (36).

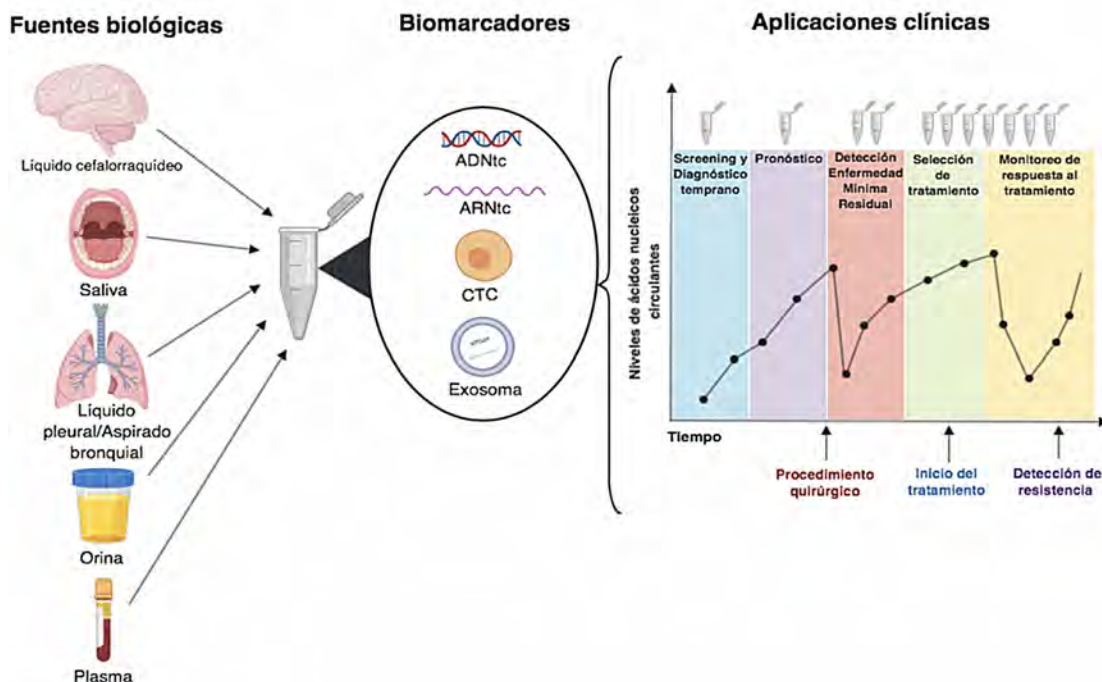


Figura 1. Fuentes biológicas y aplicaciones clínicas de la biopsia líquida.

Biomarcadores en biopsia líquida como herramienta diagnóstica

Aunque la biopsia de tejido tumoral ha sido siempre el Gold Standard en oncología para obtener información genética del tumor en el momento del diagnóstico, existen limitaciones en su utilización para realizar la caracterización genómica del tumor debido a la heterogeneidad intratumoral. El cáncer es una enfermedad dinámica, esto quiere decir que a medida que progresa el tumor va generando subpoblaciones de células o clones que contienen nuevas mutaciones que le confieren mayor capacidad de crecimiento, invasión, transformación y adaptabilidad, conformando así un microambiente tumoral. En este orden de

ideas, el perfil mutacional inicial del tumor no es el mismo en todas sus células y se va modificando en estadios avanzados en respuesta a cambios en el tamaño tumoral, el microambiente y la terapia. En la resistencia terapéutica se seleccionan células con mutaciones que ayudan al tumor a sobrevivir, resultando también en que algunas de estas alteraciones como las encontradas en las metástasis difieran de aquellas en el tumor primario. Lo anterior se ha descrito en algunos patrones mutacionales de utilidad clínica en KRAS, BRAF y PIK3CA en cáncer colorrectal, de mama, de páncreas, cáncer renal y meduloblastoma (37). Debido a que toda la diversidad de subgrupos de células del tumor primario y las metástasis liberan ácidos nucleicos, la biopsia líquida

permite conocer en tiempo real los diferentes tipos de subclones presentes en un tumor, mientras que, por el contrario, la biopsia de tejido permite conocer solamente una fracción de dichos subclones que puede no ser representativa y limita la información analizable sobre los cambios mutacionales que se desarrollan en el transcurso de la enfermedad. Esta limitación es aún mayor durante la progresión de la enfermedad ya que no es posible realizar biopsias de tejido seriadas debido a los riesgos y morbilidades que conlleva este procedimiento invasivo para los pacientes (3,17,37,38).

Uso de biopsia líquida en el pronóstico y predicción de respuesta terapéutica

El sistema TNM (tamaño-nódulos-metástasis), del American Joint Committee on Cancer (AJCC), siempre ha sido utilizado como referencia para la estadificación de la enfermedad facilitando la predicción de supervivencia o la selección del tratamiento inicial. Sin embargo, el uso de marcadores moleculares en algunos tumores ha mejorado significativamente la estadificación de algunos tipos de cáncer, entre ellos los gliomas y el cáncer de tiroides. En el primer caso, la identificación de mutaciones en los genes IDH1 e IDH2 ha definido categorías de clasificación que contribuyen a un mejor entendimiento clínico de esta enfermedad (39). En el cáncer de tiroides las mutaciones en el gen BRAF pueden predecir la formación de metástasis, estadios avanzados III y IV e incluso la recurrencia de enfermedad; al igual que las mutaciones en el gen TERT que pueden ayudar a establecer el pronóstico de un paciente (40,41). La detección de estos marcadores moleculares en biopsia líquida ha cobrado mayor importancia en esta área, debido a la posibilidad de garantizar un diagnóstico más temprano y en algunos casos un mejor pronóstico.

En la selección terapéutica se ha descrito que ciertos tratamientos pueden beneficiar a algunos pacientes según el perfil genómico y que dichas alteraciones pueden ser identificadas en los ácidos nucleicos circulantes. Ejemplo de ello ha sido el uso de inhibidores de tirosina quinasa en pacientes con estadios avanzados de adenocarcinoma pulmonar que expresan alteraciones en los genes EGFR, ALK y ROS1, o de Trastuzumab en cáncer de mama HER2/NEU positivos, así como en el uso de cetuximab en cáncer colorrectal (35).

En cuanto a la predicción de la supervivencia en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), se ha visto que la presencia de mutaciones en el gen KRAS en el ctDNA no solo corresponden a las mismas mutaciones del tumor primario, sino que además se relacionan con un pobre pronóstico de supervivencia global (42,43). Asimismo, un estudio realizado en 69 pacientes con cáncer colorrectal metastásico y mutaciones en el gen KRAS, encontró que la supervivencia disminuía a medida que los niveles de ctDNA aumentaban. La evidencia en el pronóstico del ctDNA se ha extendido a otros tipos de cánceres como el de cervix, páncreas y melanoma (42,44).

Igualmente la biopsia líquida ha mostrado ser de utilidad en el monitoreo de la respuesta terapéutica en cánceres metastásicos. Se ha evidenciado que al iniciar un tratamiento los niveles de ctDNA suelen aumentarse, probablemente debido a la muerte celular, no obstante, después de la primera o segunda semana de tratamiento, estos niveles disminuyen en los pacientes que presentan una respuesta terapéutica favorable (45). Adicionalmente, los cambios genéticos detectables en el ctDNA reflejan los cambios adaptativos en el tumor como consecuencia del tratamiento administrado (42,45). Esto permite que el ctDNA también sea útil en el monitoreo de la resistencia a los tratamientos (45,46). En cáncer colorrectal, se ha descrito que subclones celulares específicos e indetectables en el tejido tumoral al momento del diagnóstico, pueden presentar mutaciones en el gen KRAS (mutaciones intrínsecas de resistencia), lo que genera resistencia al tratamiento con anticuerpos anti EGFR (44,47).

Actualmente, se conoce que el ctDNA permite la detección de micrometástasis en pacientes con cáncer de mama y páncreas e incluso se ha demostrado su potencial para detectar enfermedad mínima residual o predecir recurrencias. En un estudio realizado por Tie et al. se analizaron 1.046 muestras de plasma postoperatorias de 230 pacientes con cáncer colorrectal en estadio II, con el fin de determinar la capacidad del ctDNA de detectar enfermedad mínima residual y recurrencias. La presencia de ctDNA postoperatorio pudo predecir la recurrencia hasta 167 días antes que los métodos imageneológicos y en un mayor porcentaje de pacientes (85%) comparado con la detección de niveles de antígeno carcinoembrionario (41%) (48). Para la detección de enfermedad mínima residual se recomienda que los niveles de ctDNA sean medidos de

6 a 8 semanas después de la cirugía y antes de iniciar cualquier tratamiento adyuvante (49). Estos resultados resaltan la ventaja del uso de la biopsia líquida frente a los métodos diagnósticos convencionales (tabla 2).

Tabla 2. Ventajas y limitaciones de los métodos tradicionales de diagnóstico y seguimiento del cáncer frente a la biopsia líquida

Método	Ventajas	Limitaciones	Referencias
Ultrasonido (US)	No invasivo, accesible, rápido, no expone a radiación ionizante.	Operador dependiente, requiere colaboración del paciente para su realización.	
TAC	No operador dependiente, rápido, alta disponibilidad, cómodo para el paciente.	Expone al paciente a radiación ionizante, uso de medio de contraste (nefrotóxico).	
Imagen			(50,51)
PET/TC	Permite obtener información metabólica y anatómica de todo el cuerpo. Valor pronóstico intrínseco.	Expone al paciente a radiación ionizante.	
RMN	No hay exposición a radiación ionizante.	Uso de medio de contraste (fibrosis nefrogénica sistémica), incómodo para el paciente y alto costo.	
Marcadores séricos (CA 19-9, CA15-3, CA 27-29, ACE, alfafetoproteína, APE, etc.)	No invasivo, accesible, monitorean respuesta al tratamiento, detección de recurrencia	Pueden elevarse en otras condiciones no neoplásicas Vida media extensa. Baja sensibilidad y especificidad para tamizaje	(52-55)
Biopsia líquida	No invasiva, fácil de obtener, ofrece información real sobre la dinámica tumoral.	Requiere tecnología avanzada para su análisis, es de alto costo y escasa accesibilidad.	(14,17,38)

Avances en el uso de biomarcadores no invasivos en el diagnóstico temprano

Finalmente, el uso de la biopsia líquida como metodología de tamización y diagnóstico temprano aún continúa en estudio. Se cree que, debido al tamaño reducido del tumor en etapas tempranas, es más difícil aislar del plasma sanguíneo una cantidad significativa de ctDNA que permita la detección (56). Se ha demostrado que en pacientes con enfermedad avanzada el ctDNA llega a ser hasta el 40% del total de cfDNA, porcentaje que disminuye en etapas tempranas incluso hasta el 0,01%(57). Además, la identificación de mutaciones somáticas de novo ha sido uno de los grandes retos en el diagnóstico

temprano de cáncer (58). Lo anterior se debe, en gran parte, a que en la actualidad no existen tecnologías que tengan la capacidad de detectar ctDNA liberado de lesiones precancerosas o en etapas tempranas y que al mismo tiempo disminuyan los falsos positivos que puedan detectarse cuando se realice, por ejemplo, una tamización en población sana (45). Una limitación adicional es la presencia de falsos positivos en plasma. Un estudio reciente evidenció que una de las causas de estos falsos positivos es la hematopoyesis clonal, un evento común en poblaciones mixtas de leucocitos tanto en población sana como en pacientes oncológicos (12). Estas mutaciones pueden estar presentes en el 65% de los pacientes oncológicos, por lo que se sugiere realizar análisis pareado de plasma y células de sangre periférica para garantizar una especificidad alta (59).

Aplicaciones de la biopsia líquida en América Latina

Son pocos los estudios de biopsia líquida realizados hasta el momento en América Latina. Sin embargo, los estudios existentes se han enfocado en la determinación de alteraciones moleculares (ctDNA) y su uso como biomarcador en el monitoreo del tratamiento y la evaluación de su valor pronóstico en cánceres de alta prevalencia en la región (60,61).

Los cánceres de pulmón, colon, mama y próstata se agrupan dentro de los cinco cánceres de mayor incidencia en Latinoamérica (62). Adicionalmente, en este grupo de neoplasias existen subtipos histopatológicos cuyo tratamiento incluye terapia dirigida a dianas moleculares y que, por lo tanto, se beneficiarían de los estudios moleculares en biopsia líquida (tabla 3). A continuación describimos los principales escenarios en los que el uso de pruebas moleculares en biopsia líquida tiene una aplicación en el manejo clínico de estos 4 cánceres y la evidencia existente en Latinoamérica.

Tabla 3. Tipos de cáncer que se beneficiarían de los estudios moleculares con biopsia líquida en Latinoamérica

Tipo de cáncer	Medicamento	Indicación	Porcentaje reportado de resistencia	Tiempo estimado de adquisición de resistencia	Tiempo aproximado de adquisición de resistencia detectado con biopsia líquida	Referencias
Pulmón	Crizotinib	NSCLC metastásico con ALK/ROS positivo	~100	8 meses	10,2 meses	(63-65)
	Erlotinib	NSCLC metastásico con mutación en EGFR		10-14 meses	15-344 días	
	Gefitinib				9,2 meses	
Colorrectal	Cetuximab	CCR avanzado (mutación en RAS)	~100	10 meses	22 semanas	(66-75)
	Panitumumab			9,6 meses	3,6 meses	
Mama	Lapatinib	Enfermedad avanzada con amplificación HER2 (ErbB2)	66-88	7 meses	147 días	(76-82)
	Pertuzumab			20,2 meses	Sin información	
	Trastuzumab			15-20 meses	8 meses	
	Tamoxifeno	Enfermedad metastásica, ER positivo		8 meses	147 días	
	Fulvestran			25,8 meses	6,7 meses	
Próstata	Abiraterona	Enfermedad metastásica, resistente a castración	~100	8-11 meses	1-2 meses	(83-85)
	Bicalutamida			5,7 meses	Sin información	

Análisis de alteraciones en ctDNA para diagnóstico y seguimiento en cáncer de pulmón:

Un reporte reciente de 6 países en Latinoamérica indicó que entre el 14,4%-34,3% de los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) tienen mutaciones en el gen *EGFR*, y son candidatos a terapia de primera línea con inhibidores tirosina quinasa (Erlotinib o Gefitinib) (86). Aunque la recomendación actual es determinar la presencia de alteraciones en el gen *EGFR* en tejido tumoral; las guías actuales también sugieren que en los casos clínicos en los que el tejido es limitado y/o insuficiente para realizar las pruebas moleculares, se puede realizar el ensayo de ctDNA en plasma (87).

En este escenario, la biopsia líquida podría superar las limitaciones de heterogeneidad tumoral de las biopsias de tejido, permitiendo la detección de mutaciones compuestas asociadas a la resistencia específica a inhibidores tirosina quinasa. Además, durante el seguimiento del paciente, la determinación en biopsia líquida (plasma y/o orina) de mecanismos de resistencia molecular (detección de alteraciones en ctDNA) a los medicamentos de diana molecular de primera línea permite la detección anticipada de la resistencia al tratamiento en comparación con los marcadores radiológicos convencionales, así como definir el cambio terapéutico a los tratamientos de segunda línea (88,89).

Los casos de CPCNP con reordenamientos en el gen ALK, candidatos a terapia con inhibidores de ALK (crizotinib), tienen una frecuencia en Latinoamérica del 6,55% (90). La evaluación de mutaciones de resistencia intrínsecas o adquiridas mediante el uso de biopsias líquidas puede detectar de forma anticipada la resistencia del tratamiento a los inhibidores de ALK de segunda generación (91).

Valor pronóstico y detección de mecanismos de resistencia a tratamiento en cáncer de mama:

La detección de ctDNA en plasma en cáncer de mama no está indicada en las guías de manejo actual y continúa siendo una herramienta de investigación; sin embargo, son numerosos los estudios que han mostrado resultados favorables en la identificación de alteraciones genómicas accionables, el seguimiento de las respuestas al tratamiento, la resistencia terapéutica y la detección de la progresión de la enfermedad (92). En particular, la detección de mecanismos de resistencia al tratamiento de cáncer de mama metastásico con inhibidores de aromatasa y terapia anti-HER2 mediante análisis de ctDNA en plasma permite anticipar la resistencia antes de la confirmación clínica y radiológica (93,94).

Hasta el momento no existen estudios latinoamericanos que confirmen la utilidad del uso de biopsia líquida y su posible implementación en el manejo clínico de pacientes con cáncer de mama (95).

Prueba de ctDNA para diagnóstico y seguimiento en cáncer colorrectal (CCR):

Las guías y recomendaciones para el tratamiento de CCR (96,97) incluyen la detección de alteraciones en los genes KRAS, NRAS y BRAF en tejido tumoral como parte del algoritmo de diagnóstico y manejo terapéutico. Sin embargo, estudios recientes han descrito las ventajas de la detección de estas alteraciones en ctDNA postquirúrgico para definir los pacientes con mayor riesgo de recurrencia a quimioterapia adyuvante en estadios tempranos (98). En Latinoamérica, De Figueiredo et al. realizaron un seguimiento a un paciente con adenocarcinoma metastásico en colon sigmoide analizando el ctDNA mediante biopsias líquidas seriadas y evidenciaron la correspondencia entre el perfil mutacional en tumor y en plasma, así como la predicción de la progresión de la enfermedad incluso antes de ser detectada mediante métodos imagenológicos (99).

Detección de ARV-7 (variante de corte y empalme del receptor de andrógenos) y mecanismos de resistencia en cáncer de próstata metastásico (CPm):

Se ha demostrado que la presencia de la variante de corte y empalme AR-V7 está correlacionada con una mejora en la supervivencia de pacientes tratados con quimioterapia con taxanos, en comparación con aquellos que reciben agentes dirigidos a inhibir el receptor de andrógenos. Por lo tanto, la detección molecular de AR-V7 se ha validado como biomarcador predictivo y una herramienta para determinación de conducta terapéutica en pacientes con CPm (100). En los últimos años se han desarrollado pruebas moleculares comerciales para la detección de ARV-7 en CTCs que pueden ser implementadas en la práctica clínica y que han demostrado su utilidad para predecir la resistencia a los inhibidores de receptor de estrógenos (abiraterona, enzalutamida) (101,102). Adicionalmente, estudios complementarios de ctDNA en plasma han permitido detectar otras alteraciones puntuales asociadas a la resistencia en CPm con las mutaciones en el gen AR. Actualmente, no existen estudios en Latinoamérica que evalúen la aplicación clínica de la biopsia líquida en pacientes con CPm (103).

La biopsia líquida es un método que ha permitido mejorar el diagnóstico y el manejo clínico en pacientes con cáncer. Sin embargo, su mayor ventaja ha sido la capacidad de monitorear la respuesta a los tratamientos de diana molecular, dando la posibilidad de predecir la resistencia. Aunque cada vez son más los estudios que dan cuenta del potencial de los ácidos nucleicos circulantes como la aproximación al marcador tumoral ideal, esta estrategia se encuentra aún en etapa de investigación, y aún falta esclarecer su uso en la tamización y el diagnóstico temprano. En Latinoamérica su potencial aplicación es amplia ya que existe evidencia de uso clínico en los 4 cánceres más prevalentes de la región. El desarrollo de nuevas tecnologías permitirá establecer el conocimiento necesario para solventar las limitaciones actuales en la detección temprana, el seguimiento y el pronóstico. De esta forma, la biopsia líquida dará paso al desarrollo de tratamientos más precisos, eficaces y de mayor seguridad, lo que reducirá las tasas de mortalidad y los costos en los sistemas de salud.

Bibliografía

- Heitzer E, Ulz P, Geigl JB. Circulating tumor DNA as a liquid biopsy for cancer. *Clin Chem*. 2015;61(1):112-23. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.222679>
- All cancers excl. non-melanoma skin cancer [Internet]. 2018 [consultado el 4 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today>
- Perakis S, Speicher MR. Emerging concepts in liquid biopsies. *BMC Med*. 2017;15(1):1-12. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0840-6>
- Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: Circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Cancer Discov*. 2014;4(6):650-61. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-13-1014>
- Portal de compras del IMSS @Inicio [Internet]. [Consultado el 15 de noviembre de 2018]. Disponible en: <http://compras.imss.gob.mx/>
- Precios de remedios - Precios de medicamentos en Argentina [Internet]. [Consultado el 16 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.preciosderemedios.com.ar/>
- Termómetro de precios de medicamentos [Internet]. [Consultado el 16 de noviembre de 2018]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/MT/Paginas/termometro-de-precios.aspx>
- Lianidou ES, Strati A, Markou A. Circulating tumor cells as promising novel biomarkers in solid cancers. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2014;51(3):160-71. <https://doi.org/10.3109/10408363.2014.896316>
- Brock G, Castellanos-Rizaldos E, Hu L, Coticchia C, Skog J. Liquid biopsy for cancer screening, patient stratification and monitoring. *Transl Cancer Res*. 2015;4(3):280-90.
- Toss A, Mu Z, Fernandez S, Cristofanilli M. CTC enumeration and characterization: moving toward personalized medicine. *Ann Transl Med*. 2014; 2(11):108.
- Diaz LA, Bardelli A. Liquid biopsies: Genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol*. 2014;32(6):579-86. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.45.2011>
- Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, et al. Liquid biopsies come of age: Towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223-38. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.7>
- Schwarzenbach H, Hoon DSB, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(6):426-37. <https://doi.org/10.1038/nrc3066>
- Patel KM, Tsui DWY. The translational potential of circulating tumour DNA in oncology. *Clin Biochem*. 2015;48(15):957-61. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.04.005>
- Zaporozhchenko IA, Ponomaryova AA, Rykova EY, Laktionov PP. The potential of circulating cell-free RNA as a cancer biomarker: challenges and opportunities. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018;18(2):133-145. <https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1425143>
- Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: Monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013;10(8):472-84. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2013.110>
- Han X, Wang J, Sun Y. Circulating Tumor DNA as Biomarkers for Cancer Detection. *Genomics, Proteomics Bioinforma*. 2017;15(2):59-72. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.12.004>
- Connolly ID, Li Y, Gephart MH, Nagpal S. The "Liquid Biopsy": the Role of Circulating DNA and RNA in Central Nervous System Tumors. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2016;16(3): 25. <https://doi.org/10.1007/s11910-016-0629-6>
- Hetta HF, Zahran AM, Shafik EA, El-Mahdy RI, Mohamed NA, Nabil EE, et al. Circulating miRNA-21 and miRNA-23a expression signature as potential biomarkers for early detection of non-small-cell lung cancer. *Microna*. 2019;8(3):206-15. <https://doi.org/10.2174/1573399815666190115151500>
- Zembska A, Jawiarczyk-Przybyłowska A, Wojtczak B, Volanowski M. MicroRNA Expression in the Progression and Aggressiveness of Papillary Thyroid Carcinoma. *Anticancer Res*. 2019;39(1):33-40. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13077>
- Yu X, Liang J, Xu J, Li X, Xing S, Li H, et al. Identification and Validation of Circulating MicroRNA Signatures for Breast Cancer Early Detection Based on Large Scale Tissue-Derived Data. *J Breast Cancer*. 2018;21(4):363. <https://doi.org/10.4048/jbc.2018.21.e56>
- Siravegna G, Marsoni S, Siena S, Bardelli A. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017;14(9):531-48. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.14>
- Wang Y, Springer S, Mulvey CL, Silliman N, Schaefer J, Sausen M, et al. Detection of somatic mutations and HPV in the saliva and plasma of patients with head and neck squamous cell carcinomas. *Sci Transl Med*. 2015;7(293):1-8. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa8507>
- Wang Y, Springer S, Zhang M, McMahon KW, Kinde I, Dobbyn L, et al. Detection of tumor-derived DNA in cerebrospinal fluid of patients with primary tumors of the brain and spinal cord. *Proc Natl Acad Sci*. 2015;112(31):9704-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1511694112>
- Ward DG, Bryan RT. Liquid biopsies for bladder cancer. *Transl Androl Urol*. 2017;6(2):331-5. <https://doi.org/10.21037/tau.2017.03.08>
- Buttitta F, Felicioni L, Del Grammastio M, Filice G, Di Lorito A, Malatesta S, et al. Effective assessment of EGFR mutation status in bronchoalveolar lavage and pleural fluids by next-generation sequencing. *Clin Cancer Res*. 2013;19(3):691-8. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-1958>
- Malapelle U, Pisapia P, Rocco D, Smeraglio R, Di Spirito M, Bellocicene C, et al. Next generation sequencing techniques in

- liquid biopsy: focus on non-small cell lung cancer patients. *Transl Lung Cancer Res.* 2016;5(5):505-10. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2016.10.08>
28. Alix-Panabières C, Pantel K. Technologies for detection of circulating tumor cells: Facts and vision. *Lab Chip.* 2014;14(7):57-62. <https://doi.org/10.1039/C3LC50644D>
29. Neumann MHD, Bender S, Krahn T, Schlange T. ctDNA and CTCs in Liquid Biopsy-Current Status and Where We Need to Progress. *Comput Struct Biotechnol J.* 2018; 16:190-5. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.05.002>
30. Gascoyne PRC, Shim S. Isolation of circulating tumor cells by dielectrophoresis. *Cancers (Basel).* 2014;6(1):545-79. <https://doi.org/10.3390/cancers6010545>
31. Balic M, Lin H, Williams A, Datar RH, Cote RJ. Progress in circulating tumor cell capture and analysis: implications for cancer management. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012;12(3):303-12. <https://doi.org/10.1586/erm.12.12>
32. Alix-Panabières C. EPISPOT assay: Detection of viable DTCs/CTCs in solid tumor patients. *Recent Results Cancer Res.* 2012;195:69-76. https://doi.org/10.1007/978-3-642-28160-0_6
33. Taylor SC, Laperriere G, Germain H. Droplet Digital PCR versus qPCR for gene expression analysis with low abundant targets: From variable nonsense to publication quality data. *Sci Rep.* 2017;7(1):2409. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02217-x>
34. Finotti A, Allegretti M, Gasparello J, Giacomini P, Spandidos DA, Spoto G, et al. Liquid biopsy and PCR-free ultrasensitive detection systems in oncology (Review). *Int J Oncol.* 2018;53(4):1395-434. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4516>
35. Ludwig JA, Weinstein JN. Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection. *Nat Rev Cancer.* 2005;5(11):845-56. <https://doi.org/10.1038/nrc1739>
36. Karachaliou N, Mayo-de-las-Casas C, Molina-Vila MA, Rosell R. Real-time liquid biopsies become a reality in cancer treatment. *Ann Transl Med.* 2015;3(3):36.
37. Aparicio S, Caldas C. The Implications of Clonal Genome Evolution for Cancer Medicine. *N Engl J Med.* 2013; 368(9):842-51. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1204892>
38. Chu D, Park BH. Liquid biopsy: unlocking the potentials of cell-free DNA. *Virchows Arch.* 2017;471(2):147-54. <https://doi.org/10.1007/s00428-017-2137-8>
39. Cohen AL, Holmen SL, Colman H. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2013;13(5):345. <https://doi.org/10.1007/s11910-013-0345-4>
40. Kim WW, Ha TK, Bae SK. Clinical implications of the BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma and chronic lymphocytic thyroiditis. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2018;47(1):4. <https://doi.org/10.1186/s40463-017-0247-6>
41. Lee SE, Hwang TS, Choi YL, Han HS, Kim WS, Jang MH, et al. Prognostic Significance of TERT Promoter Mutations in Papillary Thyroid Carcinomas in a BRAF (V600E) Mutation-Prevalent Population. *Thyroid.* 2016;26(7):901-10. <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0488>
42. Rapisuwon S, Vietsch EE, Wellstein A. Circulating biomarkers to monitor cancer progression and treatment. *Comput Struct Biotechnol J.* 2016;14:211-22. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.05.004>
43. Gautschi O, Huegli B, Ziegler A, Gugger M, Stahel RA, Betticher DC, et al. Origin and prognostic value of circulating KRAS mutations in lung cancer patients. *Cancer Lett.* 2007;254(2):265-73. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2007.03.008>
44. Speicher MR, Pantel K. Tumor signatures in the blood. *Nat Biotechnol.* 2014;32(5):441-3. <https://doi.org/10.1038/nbt.2897>
45. Corcoran RB, Chabner BA. Application of Cell-free DNA Analysis to Cancer Treatment. *N Engl J Med.* 2018;379(18):1754-65. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1706174>
46. Jung A, Kirchner T. Liquid biopsy in tumor genetic diagnosis. *Dtsch Arztebl Int.* 2018;115(10):169-74. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0169>
47. Mouliere F, Chandrananda D, Piskorz AM, Moore EK, Morris J, Ahlborn LB, et al. Enhanced detection of circulating tumor DNA by fragment size analysis. *Sci Transl Med.* 2018;10(466):eaat4921. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat4921>
48. Tie J, Wang Y, Tomasetti C, Li L, Springer S, Kinde I, et al. Circulating tumor {DNA} analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage {II} colon cancer. *Sci Transl Med.* 2016;8(346):346ra92. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf6219>
49. Francis G, Stein S. Circulating cell-free tumour DNA in the management of cancer. *Int J Mol Sci.* 2015;16(6):14122-42. <https://doi.org/10.3390/ijms160614122>
50. Altun E, Jewells VS, Fielding JR. Imaging in Oncology. In: *Clinical Radiation Oncology* [Internet]. Elsevier; 2016 [consultado el 13 de noviembre de 2018]. p. 186-205. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323240987000101> <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-24098-7.00010-1>
51. O'Brien SA, Ladrón De Guevara HD. Imágenes en oncología: generalidades y aplicaciones. *Rev. Med. Clin Condes.* 2013;24(4):571-7. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70197-4](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70197-4)
52. Perkins GL, Slater ED, Sanders GK, Prichard JG. Serum Tumor Markers. *Am Fam Physician.* 2003; 68(6):1075-82
53. Henry NL, Hayes DF. Cancer biomarkers. *Mol Oncol.* 2012;6(2):140-6. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.01.010>
54. Goossens N, Nakagawa S, Sun X, Hoshida Y. Cancer biomarker discovery and validation. *Transl Cancer Res.* 2015;4(3):256-69. doi: 10.3978/j.issn.2218-676X.2015.06.04.
55. Mayeux R. Biomarkers: Potential Uses and Limitations. *NeuroRx.* 2004;1(2):182-8. <https://doi.org/10.1602/neurorx.1.2.182>

56. Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B, Ng C, Hrebien S, Cutts RJ, et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. *Sci Transl Med*. 2015;7(302):1-12. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aab0021>
57. Fernandez-Cuesta L, Perdomo S, Avogbe PH, Leblay N, Delhomme TM, Gaborieau V, et al. Identification of Circulating Tumor DNA for the Early Detection of Small-cell Lung Cancer. *EBioMedicine*. 2016;10:117-23. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.06.032>
58. Phallen J, Sausen M, Adleff V, Leal A, Hruban C, White J, et al. Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA. *Sci Transl Med*. 2017;9(403). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aan2415>
59. Coombs CC, Gillis NK, Tan X, Berg JS, Ball M, Balasis ME, et al. Identification of Clonal Hematopoiesis Mutations in Solid Tumor Patients Undergoing Unpaired Next-Generation Sequencing Assays. *Clin Cancer Res*. 2018;24(23):5918-24. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1201>
60. Normando SRC, Delgado PO, Rodrigues AKSB, David Filho WJ, Fonseca FLA, Cruz FJSM, et al. Circulating free plasma tumor DNA in patients with advanced gastric cancer receiving systemic chemotherapy. *BMC Clin Pathol*. 2018;18(1):12. <https://doi.org/10.1186/s12907-018-0079-y>
61. Perdomo S, Avogbe PH, Foll M, Abedi-Ardekani B, Lescher Facciolla V, Anantharaman D, et al. Circulating tumor DNA detection in head and neck cancer: evaluation of two different detection approaches. *Oncotarget*. 2017;8(42):72621-32. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20004>
62. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
63. Cardona AF, Arrieta O, Zapata MI, Rojas L, Wills B, Reguart N, et al. Acquired Resistance to Erlotinib in EGFR Mutation-Positive Lung Adenocarcinoma among Hispanics (CLICaP). *Target Oncol*. 2017;12(4):513-23. <https://doi.org/10.1007/s11523-017-0497-2>
64. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). First-line systemic anticancer treatment for advanced or metastatic non-small-cell lung cancer [Internet]. 2018 [consultado el 13 de marzo de 2019]. p. 1-14. Disponible en: <https://pathways.nice.org.uk/pathways/lung-cancer#path=view%3A/pathways/lung-cancer/first-line-systemic-anticancer-treatment-for-advanced-or-metastatic-non-small-cell-lung-cancer.xml&content=view-node%3Anodes-chemotherapy>
65. Metro G, Tazza M, Matocci R, Chiari R, Crinò L. Optimal management of ALK-positive NSCLC progressing on crizotinib. *Lung Cancer*. 2017;106:58-66. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2017.02.003>
66. Van Cutsem E, Köhne C-H, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien C-R, Makhson A, et al. Cetuximab and Chemotherapy as Initial Treatment for Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2009;360(14):1408-17. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805019>
67. Van Cutsem E, Köhne C-H, Láng I, Folprecht G, Nowacki MP, Cascinu S, et al. Cetuximab Plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin As First-Line Treatment for Metastatic Colorectal Cancer: Updated Analysis of Overall Survival According to Tumor KRAS and BRAF Mutation Status. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):2011-9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.33.5091>
68. Heinemann V, Fischer von Weikersthal L, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran S-E, et al. Randomized comparison of FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: German AIO study KRK-0306 (FIRE-3). *J Clin Oncol*. 2013;31(18_suppl):LBA3506-LBA3506. https://doi.org/10.1200/jco.2013.31.18_suppl.lba3506
69. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, Hartmann JT, Aparicio J, de Braud F, et al. Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin With and Without Cetuximab in the First-Line Treatment of Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(5):663-71. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.20.8397>
70. Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, de Braud F, Schuch G, Zube A, et al. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study. *Ann Oncol*. 2011;22(7):1535-46. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq632>
71. Tveit KM, Guren T, Glimelius B, Pfeiffer P, Sorbye H, Pyrhonen S, et al. Phase III Trial of Cetuximab With Continuous or Intermittent Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin (Nordic FLOX) Versus FLOX Alone in First-Line Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: The NORDIC-VII Study. *J Clin Oncol*. 2012;30(15):1755-62. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.0915>
72. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al. Randomized, Phase III Trial of Panitumumab With Infusional Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin (FOLFOX4) Versus FOLFOX4 Alone As First-Line Treatment in Patients With Previously Untreated Metastatic Colorectal Cancer: The PRIME Study. *J Clin Oncol*. 2010;28(31):4697-705. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.4860>
73. Diaz Jr LA, Williams RT, Wu J, Kinde I, Hecht JR, Berlin J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature*. 2012;486(7404):537-40. <https://doi.org/10.1038/nature11219>
74. Siena S, Sartore-Bianchi A, García-Carbonero R, Karthaus M, Smith D, Tabernero J, et al. Dynamic molecular analysis and clinical correlates of tumor evolution within a phase II trial of panitumumab-based therapy in metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(1):119-26. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx504>
75. National Institute for Health and Care Excellence. NICE Guidelines. Managing advanced and metastatic colorectal cancer [Internet]. NICE Pathways. 2017 [consultado el 13 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://pathways.nice.org.uk/pathways/colorectal-cancer#path=view%3A/pathways/colorectal-cancer/managing-advanced-and-metastatic-colorectal-cancer.xml&content=view-node%3Anodes-biological-therapy-as-second-line-treatment-for-metastatic-disease>

76. Nafi SNM, Generali D, Kramer-Marek G, Gijzen M, Strina C, Cappelletti M, et al. Nuclear HER4 mediates acquired resistance to trastuzumab and is associated with poor outcome in HER2 positive breast cancer. *Oncotarget*. 2014;5(15):5934-49. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.1904>
77. Fribbens C, Garcia Murillas I, Beaney M, Hrebien S, O'Leary B, Kilburn L, et al. Tracking evolution of aromatase inhibitor resistance with circulating tumour DNA analysis in metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(1):145-53. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx483>
78. Ministerio de Salud y Protección Social, Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud, Instituto Nacional de Cancerología. Guía de Práctica Clínica para la detección temprana, tratamiento integral, seguimiento y rehabilitación del cáncer de mama [Internet]. Colombia. 2017 [consultado el 13 de marzo de 2019]. Disponible en: http://gpc.minsalud.gov.co/gpc_sites/Repositorio/Conv_500/GPC_cancer_mama/gpc_cancer_mama_profesionales.aspx
79. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Advanced breast cancer overview - NICE Pathways [Internet]. NICE Pathways. 2016 [consultado el 13 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://pathways.nice.org.uk/pathways/advanced-breast-cancer#path=view%3A/pathways/advanced-breast-cancer/managing-advanced-breast-cancer.xml&content=view-node%3Anodes-hrpos-and-her2pos>
80. Schafer JM, Bentrem DJ, Takei H, Gajdos C, Badve S, Jordan VC. A mechanism of drug resistance to tamoxifen in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002;83(1-5):75-83. [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(02\)00251-0](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(02)00251-0)
81. Agrawal A, Robertson JFR, Cheung KL, Gutteridge E, Ellis IO, Nicholson RI, et al. Biological effects of fulvestrant on estrogen receptor positive human breast cancer: short, medium and long-term effects based on sequential biopsies. *Int J Cancer*. 2016; 138(1):146-59. <https://doi.org/10.1002/ijc.29682>
82. Swain SM, Baselga J, Kim S-B, Ro J, Semiglazov V, Campone M, et al. Pertuzumab, Trastuzumab, and Docetaxel in HER2-Positive Metastatic Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(8):724-34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1413513>
83. Penson DF, Armstrong AJ, Concepcion R, Agarwal N, Olsson C, Karsh L, et al. Enzalutamide Versus Bicalutamide in Castration-Resistant Prostate Cancer: The STRIVE Trial. *J Clin Oncol*. 2016;34(18):2098-106. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.64.9285>
84. Instituto Nacional de Cancerología. Guía de práctica clínica (GPC) para la detección temprana, seguimiento y rehabilitación del cáncer de próstata [Internet]. [Consultado el 13 de marzo de 2019]. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/IETS/GPC_Comple_Prostata.pdf
85. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Treating hormone-relapsed metastatic prostate cancer. NICE pathways [Internet]. 2018 [consultado el 13 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://pathways.nice.org.uk/pathways/prostate-cancer#path=view%3A/pathways/prostate-cancer/treating-hormone-relapsed-metastatic-prostate-cancer.xml&content=view-index>
86. Arrieta O, Cardona AF, Martín C, Más-López L, Corrales-Rodríguez L, Bramuglia G, et al. Updated Frequency of EGFR and KRAS Mutations in NonSmall-Cell Lung Cancer in Latin America: The Latin-American Consortium for the Investigation of Lung Cancer (CLICaP). *J Thorac Oncol*. 2015;10(5):838-43. <https://doi.org/10.1097/JTO.0000000000000481>
87. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-46. <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0388-CP>
88. Chaudhuri AA, Chabon JJ, Lovejoy AF, Newman AM, Stehr H, Azad TD, et al. Early Detection of Molecular Residual Disease in Localized Lung Cancer by Circulating Tumor DNA Profiling. *Cancer Discov*. 2017;7(12):1394-403. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-0716>
89. Chen S, Zhao J, Cui L, Liu Y. Urinary circulating DNA detection for dynamic tracking of EGFR mutations for NSCLC patients treated with EGFR-TKIs. *Clin Transl Oncol*. 2017;19(3):332-40. <https://doi.org/10.1007/s12094-016-1534-9>
90. Arrieta O, Cardona AF, Bramuglia G, Cruz-Rico G, Corrales L, Martín C, et al. Molecular Epidemiology of ALK Rearrangements in Advanced Lung Adenocarcinoma in Latin America. *Oncology*. 2019; 96(4):207-16. <https://doi.org/10.1159/000493733>
91. Niu X, Perdomo S, Blackhall F. Molecular resistance mechanisms of ALK inhibitors and implications for therapeutic management of ALK -rearranged lung cancer patients. *Transl Cancer Res*. 2017;6(2):S239-45. <https://doi.org/10.21037/tcr.2017.03.22>
92. De Mattos-Arruda L, Caldas C. Cell-free circulating tumour DNA as a liquid biopsy in breast cancer. *Mol Oncol*. 2016;10(3):464-74. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2015.12.001>
93. Fribbens C, Garcia Murillas I, Beaney M, Hrebien S, O'Leary B, Kilburn L, et al. Tracking evolution of aromatase inhibitor resistance with circulating tumour DNA analysis in metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(1):145-53. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx483>
94. Beddowes E, Sammut SJ, Gao M, Caldas C. Predicting treatment resistance and relapse through circulating DNA. *The Breast*. 2017;34:S31-5. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2017.06.024>
95. Pinto JA, Saravia CH, Flores C, Araujo J, Martínez D, Schwarz LJ, et al. Precision medicine for locally advanced breast cancer: frontiers and challenges in Latin America. *Ecancermedicalscience*. 2019;13:896. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2019.896>
96. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management

- of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2016; 27(8):1386-422. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw235>
97. López RI, Castro JL, Cedeño H, Cisneros D, Corrales L, González-Herrera I, et al. Consensus on management of metastatic colorectal cancer in Central America and the Caribbean: San José, Costa Rica, August 2016. *ESMO Open.* 2018;3(3):e000315. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2017-000315>
 98. Tie J, Wang Y, Tomasetti C, Li L, Springer S, Kinde I, et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci Transl Med.* 2016;8(346):346ra92-346ra92. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf6219>
 99. De Figueiredo Barros BD, Kupper BEC, Aguiar Junior S, de Mello CAL, Begnami MD, Chojniak R, et al. Mutation Detection in Tumor-Derived Cell Free DNA Anticipates Progression in a Patient With Metastatic Colorectal Cancer. *Front Oncol.* 2018;8:306. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00306>
 100. Markowski MC, Silberstein JL, Eshleman JR, Eisenberger MA, Luo J, Antonarakis ES. Clinical Utility of CLIA-Grade AR-V7 Testing in Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *JCO Precis Oncol.* 2017; 2017(1):1-9. <https://doi.org/10.1200/PO.17.00127>
 101. Antonarakis ES, Lu C, Luber B, Wang H, Chen Y, Nakazawa M, et al. Androgen Receptor Splice Variant 7 and Efficacy of Taxane Chemotherapy in Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *JAMA Oncol.* 2015;1(5):582-91. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.1341>
 102. Armstrong AJ, Halabi S, Luo J, Nanus DM, Giannakakou P, Szmulewitz RZ, et al. Prospective Multicenter Validation of Androgen Receptor Splice Variant 7 and Hormone Therapy Resistance in High-Risk Castration-Resistant Prostate Cancer: The PROPHECY Study. *J Clin Onco.* 2019;37(13):1120-9. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.01731>
 103. Lallous N, Volik SV, Awrey S, Leblanc E, Tse R, Murillo J, et al. Functional analysis of androgen receptor mutations that confer anti-androgen resistance identified in circulating cell-free DNA from prostate cancer patients. *Genome Biol.* 2016;17(1):10. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0864-1>