



Biopsia líquida como herramienta emergente en cáncer: Una mirada desde el tamizaje molecular y su uso en estadios tempranos

Liquid biopsy as an emerging tool in cancer: a molecular screening perspective and its use in early stages

Gabriela Guerrón-Gomez¹, Ixchel Mairym Rodriguez-Parada¹, Maria Paula Gomez-Gomez², Juan Pablo Castañeda-González³, Rafael Parra-Medina^{1,2,4*}

¹Instituto de Investigación, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-FUCS, Bogotá, Colombia

²Departamento de Patología, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-FUCS, Bogotá, Colombia

³Departamento de Medicina interna, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud-FUCS, Bogotá, Colombia

⁴Departamento de Patología, Instituto Nacional de Cancerología (INC), Bogotá, Colombia

Aceptado: 15 marzo 2025

Publicado: 18 noviembre 2025

*Correspondencia: Rafael Parra-Medina. rafa.parram@gmail.com

Resumen

La biopsia líquida (BL) tiene como objetivo examinar en biofluidos alteraciones moleculares a través de la detección de células tumorales circulantes (CTC), ADN tumoral circulante (ctADN), ácidos nucleicos incluyendo el ADN libre de células (cfADN), ARN libre de células, entre otros. En la actualidad la BL se está consolidando como una herramienta fundamental en oncología, no solo como complemento al diagnóstico histopatológico convencional, sino también como apoyo en casos de no contar con tejido histopatológico para el estudio molecular y como seguimiento de los pacientes con mutaciones puntuales. El carácter mínimamente invasivo posiciona a esta prueba molecular como una herramienta prometedora que transformará el abordaje clínico y diagnóstico en cáncer. En los últimos años, la BL se ha consolidado principalmente en pacientes con cáncer en estadios avanzados y con alta carga de enfermedad. Sin embargo, también ha surgido como una herramienta innovadora como tamizaje molecular y en pacientes en estadios tempranos, lo cual se presenta en esta revisión narrativa destacando la evidencia actual de estudios poblacionales que han utilizado la BL en cribado poblacional, y estudios que han utilizado la BL en estadios tempranos, obteniendo resultados prometedores en estos dos escenarios. Además, en esta revisión se destacan las técnicas moleculares basadas en secuenciación de próxima generación (NGS) utilizadas en los diferentes estudios científicos.

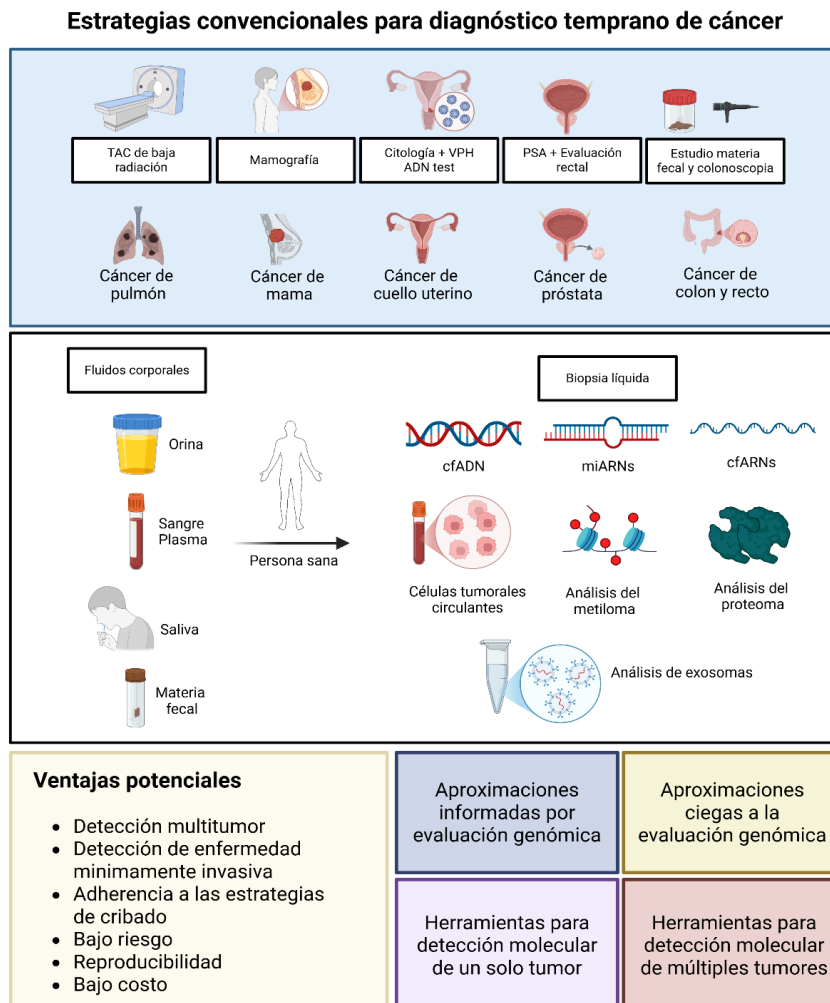
Palabras clave: Biopsia líquida. Cáncer. Tamizaje. Estadios tempranos.

Abstract

Liquid biopsy (LB) aims to examine molecular alterations in biofluids by detecting circulating tumor cells (CTCs), circulating tumor DNA (ctDNA), nucleic acids, including cell-free DNA (cfDNA), and cell-free RNA, among others. Currently, LB is consolidating as a fundamental tool in oncology, complementing conventional histopathological diagnosis and supporting cases where histopathological tissue is unavailable for molecular analysis and monitoring patients with point mutations. The minimally invasive nature of this molecular test positions it as a promising tool that will transform the clinical and diagnostic approach to cancer. In recent years, LB has been established primarily in patients with advanced cancer and a high disease burden. However, it has also emerged as an innovative tool for molecular screening and early-stage patients. This narrative review presents the current evidence from population-based studies that have used BL in population screening, and from studies that have used BL in early stages, obtaining promising results in both settings. Furthermore, this review highlights the molecular techniques based on next-generation sequencing (NGS) used in various scientific studies.

Keywords: Liquid biopsy. Cancer. Screening. Early stages.

Resumen gráfico



Puntos clave

- El desafío actual de la ciencia es obtener una herramienta para realizar pruebas de detección rutinarias para diversas neoplasias sólidas y hematológicas antes de que estas causen síntomas, lo que permite aumentar la posibilidad de curación. Actualmente, existen herramientas de detección para el cáncer como la citología cervicovaginal que han impactado positivamente el control del cáncer de cuello uterino hasta en un 70% desde 1950. Otras pruebas de uso rutinario incluyen la mamografía, la colonoscopia/prueba fecal y la tomografía computarizada de baja dosis para detección del cáncer de mama, colon y recto y de pulmón, respectivamente.
- El cáncer es una enfermedad multiómica que permite gestionar diversas estrategias para el diagnóstico temprano desde una perspectiva molecular. La biopsia líquida tiene como objetivo examinar en biofluidos alteraciones moleculares a través de la detección de células tumorales circulantes (CTC), ADN tumoral circulante (ctADN), ácidos nucleicos incluyendo el ADN libre de células (cfADN), ARN libre de células, entre otros.
- En los últimos años, múltiples estudios han intentado demostrar la utilidad clínica de las biopsias líquidas para el diagnóstico temprano del cáncer, ya sea como herramientas de detección para un único cáncer o de múltiples neoplasias. Hasta la fecha, se han reportado diferentes enfoques, explotando numerosos componentes de los análisis ejecutables en los fluidos corporales. Hoy en día, las tecnologías genómicas de alto rendimiento permiten el estudio y la identificación de alteraciones genéticas y epigenéticas en ctADN, células tumorales circulantes (CTCs) y vesículas extracelulares.

Introducción

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial y es responsable de 9.7 millones de muertes anuales¹. El cáncer de mayor mortalidad es el de pulmón (18,7%), seguido del cáncer colorrectal (9,3%), hepático (7,8%) y finalmente seno y estómago (6,8%)². Mundialmente, el cáncer con mayor incidencia es el de pulmón (12,4%), seguido por el cáncer de seno (11,5%), colorrectal (9,6%), próstata (7,3%) y estómago (4,9%). Por género, se registran más fallecimientos relacionados con cáncer en hombres comparado con las mujeres, siendo el cáncer de pulmón el más frecuente en hombres y el de seno en mujeres².

En países de ingresos altos, el cáncer se ha posicionado como la principal causa de muerte prematura por enfermedades no transmisibles lo que refleja cambios en los perfiles de riesgo en diferentes poblaciones y la necesidad de implementar mejores estrategias de diagnóstico y tratamiento en el futuro^{1,3}. En la actualidad, uno de los principales objetivos en la comunidad científica es generar avances en la medicina de precisión, con el fin de ofrecer a las poblaciones un diagnóstico temprano y opciones de tratamiento personalizadas y eficaces⁴.

Tradicionalmente, el análisis microscópico de tejidos ha sido el estándar de oro para el diagnóstico de neoplasias; sin embargo, el diagnóstico histopatológico presenta limitaciones. Entre ellas, se encuentra su carácter invasivo, el aumento de la morbimortalidad en los pacientes y la escasa utilidad en estadios tempranos de la enfermedad⁵. Además, cuando la cantidad de tejido de la biopsia es muy pequeña, solo es posible analizar las características histopatológicas de una región del tumor, sesgando la caracterización morfológica y molecular completa. Asimismo, la biopsia no proporciona datos sobre la progresión del tumor ni su respuesta al tratamiento a lo largo del tiempo^{6,7}. Se debe tener en cuenta que el tejido, desde que es extraído, hasta la interpretación histopatológica y posterior almacenamiento, sufre una serie de procesos preanalíticos que pueden ocasionar falsos positivos o negativos a nivel molecular⁸.

En los últimos años, la biopsia líquida (BL) se ha posicionado como un complemento al diagnóstico histopatológico tradicional. Al ser un método mínimamente invasivo que analiza fluidos corporales, como sangre, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo y orina -entre otros-, permite el seguimiento a nivel molecular de los pacientes con cáncer que se encuentran en

tratamiento con quimioterapia o terapia dirigida. Dada la capacidad para detectar mutaciones relacionadas con resistencia a la terapia y variantes con impacto en la respuesta clínica, su uso es de suma importancia⁹. Igualmente, se ha demostrado su utilidad en pacientes que no cuentan con tejido histológico suficiente para el estudio molecular, ya sea por agotamiento del tejido o por difícil acceso anatómico¹⁰.

Para la detección de mutaciones específicas, es fundamental el uso de métodos sensibles que permitan diferenciar el ADN tumoral del ADN de células normales, con el fin de identificar aberraciones genéticas específicas del cáncer. La detección puede realizarse mediante plataformas de gen único o a través de paneles genéticos. En el primer grupo se incluyen técnicas como la PCR en tiempo real y la PCR digital, mientras que la detección basada en paneles se realiza mediante secuenciación de nueva generación (NGS)¹¹. Para el uso de PCR se requiere de la caracterización de las mutaciones que se van a identificar, bien sean accionables o no accionables con impacto terapéutico, a través del diseño de cebadores específicos de alelo, como en el sistema de mutación refractaria a la amplificación (ARMS) o sondas (en la PCR digital). Sin embargo, debido a la cantidad de variables genéticas que pueden ser dianas terapéuticas y a su capacidad de ser detectadas mediante biopsia líquida, la NGS se ha convertido en la herramienta ideal, ya que permite analizar múltiples genes de forma simultánea para identificar variantes. En los últimos años, se ha demostrado que tiene una mayor sensibilidad y especificidad para la detección de alteraciones moleculares con impacto clínico^{12,13}.

En la actualidad, la BL ha demostrado ser útil para la identificación de alteraciones genómicas mediante la evaluación del ctDNA (DNA tumoral circulante). Teniendo en cuenta la cantidad de ctDNA presente en el plasma y factores como el tamaño y la extensión del tumor, así como sus propiedades histológicas y funcionales, es posible detectar variantes genéticas¹⁴. La eficacia del ctADN se relaciona con la concentración de células tumorales y la tasa de recambio celular. En estadios iniciales, el ctDNA

representa una fracción mínima del cfDNA total (<1%), y en estadios avanzados, mayor al 90%, lo cual explica el aumento en la sensibilidad diagnóstica de esta prueba a medida que progresa la enfermedad¹⁵. Se ha documentado una tasa de detección de ctDNA en un 86–100% de pacientes con cáncer metastásico, mientras que en tumores localizados disminuye significativamente esta proporción, alcanzando un 49–78% en dicha enfermedad¹⁶. Un ejemplo de su utilidad es en el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) metastásico. En este contexto, las recomendaciones de la guía europea de oncología médica (ESMO) indican que los carcinomas escamosos presentan mayores niveles de ctDNA en comparación con los adenocarcinomas, lo cual facilita su detección mediante biopsia líquida¹⁴. El objetivo de esta revisión narrativa es destacar la evidencia actual sobre su uso en la detección temprana del cáncer y su aplicación en pacientes con enfermedad en estadios iniciales.

Principios básicos de biopsia líquida

La BL es el estudio de un biofluido que puede ser sangre, líquido cefalorraquídeo, orina, saliva, líquido amniótico o líquido ascítico. El objetivo es examinar las células tumorales circulantes (CTC), ADN tumoral circulante (ctADN)¹², ácidos nucleicos, incluyendo el ADN libre de células (cfADN), ARN libre de células, incluido el ARNm, los ARN largos no codificantes (lncARN) y los microARN (miARN). También vesículas extracelulares (VE), plaquetas entrenadas por el tumor (TEP), proteínas y los metabolitos de este¹⁷. A continuación, se definen estos componentes celulares:

ADN libre circulante (cfDNA)

Son moléculas de ADN fragmentado y libre en el plasma, que generalmente se derivan de células apoptóticas y necróticas. Su identificación es importante, ya que refleja el estado fisiológico del ADN¹⁸. Su estudio se ha centrado principalmente en la caracterización de la longitud e integridad de los fragmentos, ya que se ha demostrado que el ctDNA presenta un mayor grado de fragmentación

en comparación con el ADN libre circulante (cfDNA) de origen no tumoral¹⁸.

ADN tumoral circulante (ctDNA)

Es una porción de cfDNA que pasa por el líquido corporal al ser liberado por células tumorales después de la apoptosis, necrosis o lisis de las células tumorales circulantes¹⁹. En individuos con cáncer, la cantidad total de cfDNA suele ser mayor que en personas sanas, en gran parte debido a la liberación de ctDNA por las células malignas²⁰. El ctDNA se puede distinguir del cfDNA liberado de un tejido sano debido a la presencia de alteraciones genéticas y/o epigenéticas específicas, como reordenamientos, variaciones en el número de copias, mutaciones puntuales somáticas y marcadores de metilación propios del tumor²¹.

Células tumorales circulantes (CTCs)

Son las células que se desprenden del tumor y viajan por el torrente sanguíneo, linfático o líquidos corporales. Se pueden encontrar como células aisladas o en grupos tumorales. Las CTCS alcanzan el sistema circulatorio mediante la transición epitelio-mesenchimal, la intravasación activa o por desprendimiento pasivo del tumor primario²¹. Estas células tienen la capacidad de organizarse en otras partes del cuerpo, distintas de la zona del tumor primario, y causar metástasis⁷.

ARN tumoral circulante (ctRNA)

El ARN tumoral circulante (ctRNA) es una fracción del ARN libre que proviene de células tumorales y ofrece información sobre la actividad genética del tumor en tiempo real. Su análisis permite detectar perfiles de expresión génica asociados al diagnóstico, pronóstico y respuesta al tratamiento²². Además, algunos ctRNAs, como ciertos microARNs, se proponen como biomarcadores no invasivos útiles en distintos tipos de cáncer²³.

MicroARN (miRNAs)

Son nucleótidos monocatenarios endógenos (18-25 nucleótidos de longitud), que intervienen en la

regulación de múltiples procesos celulares mediante la modulación de la traducción del ARN. Se considera un biomarcador ampliamente estudiado en BL, especialmente por su utilidad para el diagnóstico y tratamiento del cáncer, debido a sus altas concentraciones y estabilidad en plasma^{24,25}. Los miARNs más investigados en el contexto del cáncer son miR-21 y mi-R155, los cuales han demostrado actuar como oncogenes en diversos tipos de cáncer. El reto actual se centra en determinar si poseen suficiente especificidad y sensibilidad para el diagnóstico de los diferentes tipos de cáncer, especialmente en estadios tempranos^{25,26}.

ARN largo no codificante (lncRNAs)

A este grupo pertenecen los ARN no codificantes (ncARN) que poseen más de 200 nucleótidos. Se ha demostrado que desempeñan un papel importante en la patogénesis del cáncer, al regular activadores transcripcionales claves^{25,27}. Los lncRNAs se pueden detectar en la circulación y se han propuesto como biomarcadores prometedores para el estudio del cáncer. Entre los principales lncRNAs relacionados con el cáncer están PVT1, MALAT1 y HOTAIR^{28,29}.

Vesículas extracelulares (EVs)

Son partículas nanométricas ligadas a lípidos que son liberadas por las células al espacio extracelular tanto en condiciones normales como patológicas³⁰. Dentro de este grupo se incluyen los exosomas, ectosomas, microvesículas, cuerpos apoptóticos, entre otros^{20,31}. En su interior pueden contener ADN, ARN, microARN y proteínas. Su papel es fundamental en la comunicación intercelular, la evasión de la respuesta inmune, la angiogénesis, el crecimiento del tumor y el desarrollo de metástasis^{32,33}. En general, son elementos clave para el estudio de la progresión del cáncer.

Plaquetas educadas por el tumor (TEP)

Corresponden a plaquetas que interactúan con células tumorales, adquiriendo así información sobre el comportamiento tumoral. Participan en respuestas locales y sistémicas relacionadas con el crecimiento

tumoral³³. Debido a su abundancia en sangre y su fácil aislamiento, representan un objetivo importante para el estudio del cáncer mediante BL^{20,33}.

Uso de la biopsia líquida para el tamizaje molecular del cáncer

La detección temprana del cáncer es fundamental para mejorar el pronóstico y la supervivencia de los pacientes, lo cual permite intervenir para prevenir la progresión de la enfermedad. Sin embargo, muchas veces los tumores malignos en fases iniciales son asintomáticos y difíciles de identificar con las herramientas convencionales. En este contexto, la BL ha cobrado un interés creciente como método no invasivo que permite detectar señales tumorales a través de fluidos corporales. Esta técnica tiene el potencial de innovar en el diagnóstico del cáncer, al permitir un monitoreo más constante, seguro y accesible, especialmente en poblaciones en riesgo o donde los recursos diagnósticos son limitados³⁴. En los últimos años, las tecnologías en BL han avanzado significativamente, posicionándose como una herramienta prometedora para la detección temprana del cáncer. Entre ellas, destaca la detección de ctADN, que podría permitir la identificación de diferentes tumores. Esto representa una ventaja frente a los métodos de cribado convencionales³⁵.

El estudio PATHFINDER realizado en siete hospitales oncológicos de Estados Unidos para la detección temprana de diferentes tipos de tumores en adultos asintomáticos, evaluó la viabilidad de la BL para la detección de cáncer en una cohorte de 6.662 adultos mayores de 50 años³⁶. Mediante el análisis de metilación en cfDNA, se logró identificar señales de cáncer en una fase presintomática, lo que permitió orientar estudios diagnósticos específicos según el tipo de neoplasia. Se detectaron indicios de la presencia de células tumorales en el 1,4% de los participantes, con un 38% de verdaderos positivos³⁶. Asimismo, se logró que la mayoría de los participantes fuera evaluada mediante pruebas de laboratorio e imágenes oportunas, con un número reducido de procedimientos invasivos. Estos resultados demuestran el potencial de las pruebas de detección precoz

de múltiples tipos de cáncer (MCED por sus cifras en inglés) como una herramienta útil en el cribado oncológico temprano, y subrayan la importancia de seguir investigando su utilidad clínica y optimizando su precisión diagnóstica³⁶.

El programa GRail-MCED, actualmente en desarrollo en el Reino Unido, evalúa el uso de BL como herramienta de tamizaje para la detección temprana de más de 50 tipos de tumores malignos mediante la prueba Galleri, un test sanguíneo que detecta ctDNA con alteraciones de metilación y puede sugerir el tejido de origen del tumor. En su fase actual, se lleva a cabo un ensayo aleatorizado y controlado con más de 140.000 participantes entre 50 y 77 años³⁷. El objetivo principal es observar un cambio en el estadio al momento del diagnóstico, con análisis de mortalidad específica por cáncer tras cinco años de seguimiento. Aunque la sensibilidad global de la prueba para cáncer en estadio temprano es limitada (27,5%), aumenta al 52,8% cuando se enfoca en 12 tipos de cáncer de alta necesidad clínica, como los de páncreas, hígado, vías biliares, esófago, ovario y estómago, que carecen de métodos efectivos de tamizaje y suelen diagnosticarse en etapas avanzadas. El estudio piloto podría extenderse a un millón de personas entre 2024 y 2026, busca evaluar la viabilidad de implementar este sistema a gran escala y generar evidencia para respaldar o no su adopción como estrategia nacional de tamizaje³⁷.

Si bien los niveles de ctDNA en estadios iniciales suelen ser bajos, estudios recientes han demostrado su presencia en la mayoría de los pacientes oncológicos, con un valor pronóstico significativo. Gracias al perfilado Personalizado del Cáncer mediante Secuenciación Profunda (CAPP-Seq por sus siglas en inglés), una técnica de secuenciación profunda altamente sensible, se han detectado mutaciones específicas del ctDNA incluso en concentraciones muy bajas³⁸. Esta metodología emplea paneles de genes que incluyen las mutaciones más frecuentes en cáncer de pulmón y permite una detección precisa gracias a herramientas bioinformáticas que ayudan a diferenciar las verdaderas mutaciones tumorales de posibles errores de secuenciación

o cambios genéticos que no están relacionados con el cáncer. Además, se desarrolló el algoritmo Lung-CLiP (Lung Cancer Likelihood in Plasma), un modelo de inteligencia artificial que analiza diversas características del ADN libre circulante, como mutaciones y patrones de fragmentación, para estimar la probabilidad de que un paciente tenga cáncer de pulmón, sin necesidad de conocer previamente el tumor³⁸. Tanto CAPP-Seq como Lung-CLiP son métodos aplicados en biopsia líquida para detectar y analizar ctDNA en sangre, facilitando el diagnóstico temprano y la estratificación del cáncer de pulmón³⁸.

Otra aplicación de la BL para la detección temprana es el uso de saliva, que ha comenzado a ganar reconocimiento como una muestra biológica útil para la detección de enfermedades sistémicas, incluido el cáncer. Wong et al., en la Universidad de California, de Estados Unidos, desarrollaron la tecnología EFIRM (Electric Field-Induced Release and Measurement), una plataforma que permite detectar de manera rápida y directa mutaciones frecuentes en ctADN y miARN en muestras de plasma y saliva, sin necesidad de realizar una extracción previa del material genético³⁹. Esta tecnología ha demostrado ser capaz de identificar fragmentos ultracortos de ctADN, lo que la convierte en una herramienta prometedora para detectar el cáncer en fases tempranas, cuando la presencia de material tumoral en circulación es muy baja. Por su simplicidad y precisión, EFIRM podría facilitar la implementación de pruebas de detección en entornos clínicos cotidianos, ayudando a mejorar el diagnóstico temprano³⁹. Así Asimismo, la BL ha emergido como una herramienta prometedora en el diagnóstico temprano del cáncer de próstata, especialmente en hombres con PSA en rangos límite (2–10 ng/mL)⁴⁰. El test ExoDx™ Prostate IntelliScore (EPI), basado en orina, detecta la expresión de tres genes (*ERG*, *PC3* y *SPDEF*) asociados a cáncer de alto grado. Validado prospectivamente, permite evitar hasta un 26% de biopsias innecesarias con un valor predictivo negativo del 89%, siendo reconocido por las National Comprehensive Cancer Network Guidelines (NCCN)⁴⁰. Otra

prueba similar, SelectMDx, analiza los genes *HOXC6* y *DLX1* y ha mostrado evitar aproximadamente el 35% de las biopsias, con valores predictivos negativos en torno al 95%. Ambos ensayos pueden mejorar su precisión cuando se combinan con otros biomarcadores o con imágenes como la resonancia magnética multiparamétrica (mpMRI). Esta última, por sí sola, ha demostrado alta eficacia en la detección de cáncer clínicamente significativo, especialmente en pacientes con biopsias previas negativas⁴⁰. A pesar del avance de estas herramientas, aún no se ha definido la mejor manera de integrarlas para maximizar su rendimiento diagnóstico.

Por otro lado, el uso de inteligencia artificial también se ha implementado para la detección temprana de cáncer en BL. Recientemente se evaluó la utilidad de un método basado en digestión enzimática sensible a metilación (MRE-Seq), combinado con un modelo de predicción basado en redes neuronales profundas, para analizar patrones de metilación en ADN libre circulante⁴¹. El análisis se centró en 63.266 sitios CpG (secuencias del ADN donde una citosina es seguida de una guanina y que suelen estar sujetas a metilación), con el objetivo de identificar la presencia de cáncer colorrectal y de pulmón en pacientes sanos. El modelo logró una precisión alta, con un AUC de 0,978 y sensibilidad del 78,1% para cáncer colorrectal, y un AUC de 0,956 con sensibilidad del 66,3% para cáncer de pulmón, ambos con una especificidad del 99,2%. Incluso en estadios iniciales, la sensibilidad fue adecuada⁴¹. Este hallazgo respalda el uso del perfil epigenético en cfDNA como una herramienta prometedora para el tamizaje oncológico no invasivo.

Biopsia líquida en estadios tempranos

En los últimos años, el uso de la biopsia líquida ha cobrado relevancia en el abordaje del cáncer en estadios tempranos. Este término se refiere a fases iniciales de la enfermedad, cuando el tumor aún se encuentra localizado y no se ha diseminado a otras partes del cuerpo⁴². Si bien las CTCs se encuentran presentes en la mayoría de los tumores en estadios avanzados, su sensibilidad en tumores en estadios

tempranos (baja carga tumoral) es incierta¹⁷. El estudio CCGA (Circulating Cell-free Genome Atlas) se diseñó con el objetivo de validar una prueba de BL para su posible uso en programas de tamizaje poblacional⁴³. La prueba se basa en el análisis de cfDNA obtenido de muestras de sangre, con la finalidad de detectar señales tumorales y estimar el tejido de origen del cáncer. La prueba mostró una especificidad del 99,5%. La sensibilidad general fue del 51,5%, aumentando según el estadio: 16,8% en estadio I, 40,4% en estadio II, 77% en estadio III y 90,1% en estadio IV. En los 12 tipos de cáncer definidos como de alta prioridad clínica (esófago, estómago, hígado, pulmón, ovario, páncreas, vejiga, colorrectal, cabeza y cuello, linfoma, sistema nervioso central y hematolinfoides) la sensibilidad combinada en estadios I a III fue del 67,6%⁴³. Además, la prueba logró identificar correctamente el origen del tumor en casi el 89% de los casos positivos. Se demostró que la BL basada en cfDNA puede detectar múltiples tipos de cáncer con alta especificidad y una sensibilidad aceptable en etapas tempranas, lo que respalda su uso potencial como herramienta de tamizaje poblacional⁴³.

El uso de la BL en la secuenciación dirigida en profundidad (es decir, enfocada en un conjunto específico de genes relevantes y realizada con alta cobertura para detectar variantes de baja frecuencia) también ha demostrado ser de utilidad para el análisis molecular del cáncer de mama en estadios tempranos. En Japón, se realizó un estudio piloto para evaluar la utilidad clínica del panel Oncomine Pan-Cancer en 109 pacientes con cáncer de mama, incluyendo estadios tempranos. La detección de ctDNA fue posible en el 40% de los casos tras excluir variantes asociadas a hematopoyesis clonal, con tasas de detección del 38% y 36% en estadios I y II-III, respectivamente. Para el cáncer de mama, la importancia de este hallazgo radica en los bajos niveles de ctDNA circulantes en este tipo de tumor⁴⁴. Para lograr la elevada sensibilidad, el estudio integró técnicas como el etiquetado molecular único (UMT), que permite distinguir errores técnicos de mutaciones reales, y además implementó la secuenciación

paralela del ADN de leucocitos con el fin de identificar y excluir variantes no tumorales. Se logró identificar alteraciones relevantes en genes como *TP53*, *PIK3CA* y *AKT1*, con implicaciones terapéuticas. En conjunto, estos resultados respaldan el uso de BL como una herramienta complementaria en el abordaje del cáncer de mama en estadios iniciales⁴⁴. De manera similar, se ha demostrado que el ctADN puede utilizarse para el diagnóstico precoz del cáncer de pulmón (estadios I o II) con buena sensibilidad y especificidad¹³. Debido al avance de técnicas de secuenciación de alta sensibilidad como TEC-Seq (*Targeted Error Correction Sequencing*), es posible detectar mutaciones específicas en el ctDNA presente en la sangre, incluso cuando el tumor aún no es clínicamente evidente. TEC-Seq es una técnica que combina la identificación de genes comúnmente alterados en cáncer con NGS, incorporando un riguroso sistema de corrección de errores que permite identificar alteraciones genéticas que tienen muy baja frecuencia, con alta especificidad. En el estudio publicado por Phallen et al., se detectaron mutaciones somáticas (alteraciones genéticas adquiridas por las células tumorales que no están presentes en el ADN normal del paciente) en el ctDNA de aproximadamente el 59% de los pacientes con cáncer de pulmón en estadios I o II⁴⁵. Además, se evidenció una alta concordancia entre las mutaciones encontradas en sangre y las presentes en las muestras tumorales, lo que respalda la implementación de este método⁴⁵. Esta alternativa ofrece una opción no invasiva para detectar de manera precoz el cáncer de pulmón y podría aplicarse en programas de tamizaje dirigidos a poblaciones de alto riesgo, facilitando un diagnóstico oportuno y mejorando significativamente el pronóstico de los pacientes.

Además de su potencial para la detección de múltiples tipos de cáncer, se ha demostrado que la detección de ctADN inmediatamente después de finalizar el tratamiento o durante la vigilancia predice un alto riesgo de recurrencia en cánceres de mama en estadios tempranos, colorrectales, de pulmón y de vejiga. La ESMO ha propuesto de manera reciente el uso del ctADN para la caracterización temprana de la

enfermedad¹⁴. La relevancia en estadios tempranos de esta prueba se observa en la detección de enfermedad residual molecular (MRD por sus siglas en inglés) después del tratamiento local definitivo para tumores sólidos, detectable únicamente mediante técnicas moleculares como la PCR, secuenciación genómica o el análisis de CTC¹⁴. También permite detectar de manera temprana la recaída molecular, es decir, la presencia de enfermedad residual no visible clínicamente, pero identificable a nivel molecular durante el tratamiento adyuvante o el seguimiento. La especificidad para predecir recaída es del 90% si no se administra ningún tratamiento adicional después del resultado positivo de la prueba y la sensibilidad aproximada del 50% para la detección de MRD¹⁴.

Técnicas para la detección de biopsia líquida en tamizaje molecular y en estadios tempranos

Para el estudio de los diferentes biomarcadores en el diagnóstico del cáncer se prefiere el uso del plasma, pues el suero tiene la desventaja de presentar con el tiempo lisis de las células sanguíneas y esto interfiere con el correcto análisis de la muestra³³. Los biomarcadores más utilizados suelen ser el cfDNA y, dentro de este, el ctDNA. Uno de los principales retos en el estudio de este tipo de moléculas es la cantidad de ctDNA que se puede analizar, ya que en ocasiones la proporción de este dentro del fragmento total de cfDNA es tan baja como 0,01% e incluso menor en estadios tempranos de la enfermedad. Es por este tipo de dificultades que se ha convertido en una necesidad encontrar diversas plataformas de alta precisión con capacidades y características únicas para el estudio de cada biomarcador⁴⁶.

En términos generales, los métodos de detección en BL se pueden clasificar en dos grupos según el enfoque:

Método dirigido: donde los paneles están diseñados para secuenciar regiones genómicas específicas, es decir, identifican mutaciones frecuentes en

el cáncer que va a ser estudiado. Su principal ventaja es que proporcionan información detallada de los objetivos seleccionados, lo que aumenta la sensibilidad para detectar mutaciones en estadios tempranos de la enfermedad⁴⁷. La desventaja es que, al ser tan específico, puede pasar por alto mutaciones fuera de las regiones seleccionadas o aquellas que sean nuevas o inesperadas. Entre este grupo encontramos técnicas como: Tam-seq, Safe-seqS, CAPP-seq, Q-PCR, BEAming⁴⁷.

Método no dirigido: proporciona una secuenciación completa y general de todo el genoma o exoma. Su principal ventaja es que de esta forma se pueden identificar mutaciones nuevas o inesperadas en los diferentes tipos de cáncer, lo que lo hace una gran herramienta experimental. Sin embargo, dado su abordaje general, puede pasar por alto mutaciones de baja frecuencia en regiones específicas, lo que disminuye su sensibilidad. Entre estos podemos encontrar la secuenciación del genoma completo (WGS, por sus siglas en inglés) y la secuenciación del exoma completo (WES, por sus siglas en inglés)⁴⁸. Es importante resaltar que ningún método es superior al otro, pues poseen enfoques diferentes y su viabilidad depende del biomarcador a identificar, el tipo de cáncer, el estadio de la enfermedad y el objetivo clínico de estudio.

A continuación se describirán las principales plataformas utilizadas en BL, clasificadas según la tecnología empleada para su realización: 1) NGS, en la actualidad es ampliamente utilizada debido a las múltiples ventajas que ofrece para el análisis de la biopsia líquida, entre ellas la posibilidad de emplear pequeñas cantidades de material genético para la generación de bibliotecas genómicas con esta información, así como su capacidad de identificar una amplia gama de alteraciones genómicas⁴⁹. 2) Reacción en cadena de la polimerasa, en sus distintas variantes (digital PCR [dPCR], Real time PCR [RT-PCR])⁵⁰ (**Figura 1**). Se busca destacar sus ventajas, limitaciones y evidencia de su uso en estadios tempranos del cáncer.



Figura 1. Técnicas moleculares actuales utilizadas en biopsia líquida para la detección temprana del cáncer.

Plataformas utilizadas en secuenciación de nueva generación (NGS)

Deep Sequencing: Es una técnica avanzada de secuenciación que permite una detección altamente sensible y específica del ctDNA. Permite evaluar múltiples biomarcadores simultáneamente; mediante esta técnica se han podido detectar mutaciones con una frecuencia alélica de hasta 0,2%⁵¹. Entre sus limitaciones se encuentra la necesidad de realizar un mayor número de secuenciaciones para detectar mutaciones con baja frecuencia alélica, lo que incrementa los costos⁵². Uchida et al. identificaron, en 288 pacientes con NSCLC, mutaciones del *EGFR* en el ctADN. Las mutaciones se buscaron en >100.000 lecturas obtenidas de cada región del exón, encontrando una sensibilidad para la detección de deleciones del exón 19 en estadios tempranos (IA-III A) de solo el 22,2% y en estadios tardíos (IIIB-IV) del 72,7%⁵³.

TAm-Seq (Tagged-Amplicon Deep Sequencing): Mediante esta técnica se busca amplificar regiones específicas de interés. Utiliza cebadores dirigidos a zonas concretas para realizar una fase inicial de preamplificación; posteriormente, las plantillas obtenidas se someten a un proceso de amplificación individual. Su principal desventaja radica en que solo detecta mutaciones conocidas y presenta

dificultades en la detección de mutaciones en regiones genómicas altamente repetitivas⁵⁴. Gale et al. realizaron un estudio comparativo entre la plataforma de biopsia líquida InVision, que utiliza la tecnología mejorada TAm-Seq y la dPCR para el análisis de variantes de un solo nucleótido. El estudio demostró que eTAM-Seq es comparable a dPCR, altamente específico y sensible para la detección de mutaciones de baja frecuencia. Detectó el 94,08% de las mutaciones en una fracción alélica del 0,25%-0,33%, con una especificidad del 99,9%⁵⁵.

Safe-SeqS (Safe-Sequencing System): Este sistema emplea “códigos de barras” moleculares para etiquetar cada molécula de ADN antes de la amplificación. Combina la secuenciación profunda y la amplificación por PCR con identificadores moleculares únicos (UMIs)⁵⁶. Esta herramienta permite identificar mutaciones puntuales conocidas y variaciones en el número de copias. Entre sus ventajas se destaca la capacidad de identificar y corregir errores de secuenciación. Su principal limitación radica en la necesidad de contar con una cantidad suficiente de ctDNA en la muestra para garantizar una detección precisa, lo que restringe su uso en estadios tempranos de la enfermedad, donde los tumores no siempre liberan una cantidad abundante de ctDNA a la circulación⁵⁷. Fredebohm et al. realizaron un ensayo

para identificar mutaciones de KIT en pacientes con tumores colorrectales y del estroma gastrointestinal (GIST) mediante Safe-SeqS, encontrando que este método permite la detección de variaciones de secuencia de novo con una especificidad del 98,9%. Asimismo, sugieren el uso de esta herramienta para el genotipado de tumores GIST antes del tratamiento, así como para la monitorización posterior de mutaciones de resistencia en pacientes que reciben terapia dirigida⁵⁸.

FAST-SeqS (Fast Aneuploidy Screening Test-Sequencing System): Es una técnica de secuenciación masiva que utiliza pares de cebadores para amplificar secuencias repetitivas del genoma. Ha sido adaptada para la detección de aneuploidías en ctDNA⁵⁸. Su principal beneficio radica en que no requiere conocimiento previo de la composición tumoral, además de ser un método rápido y de bajo costo. Sin embargo, su desventaja principal es la disminución de sensibilidad en muestras donde la fracción de ctDNA es menor al 10%⁵⁷. No es un método adecuado para la detección de alteraciones genéticas específicas, ni para el análisis de la heterogeneidad del tumor. El uso de FAST-SeqS en estadios tempranos del cáncer es limitado, debido a la baja liberación de ctDNA a la circulación en estas etapas⁵⁸.

CAPP-Seq (Cancer Personalized Profiling by Deep Sequencing): Es una técnica que combina la captura por afinidad híbrida de múltiples regiones genómicas con la secuenciación profunda y un sistema bioinformático especializado⁵⁹. Inicialmente, se definen áreas mutadas recurrentes, luego, mediante oligonucleótidos biotinilados (selectores) complementarios a estas regiones, se realiza la hibridación de los selectores con el área de interés⁶⁰. Finalmente, se lleva a cabo la secuenciación profunda de la región seleccionada. Su principal ventaja es la capacidad de detectar concentraciones extremadamente bajas de ctDNA, lo cual es especialmente útil en estadios tempranos del cáncer⁶¹. Esta técnica permite detectar múltiples mutaciones, reordenamientos, alteraciones en el número de copias e incluso variantes de un solo nucleótido. Entre sus limitaciones se encuentra la detección únicamente

de mutaciones conocidas, su complejidad técnica y alto costo⁶². CAPP-Seq se ha utilizado para el diagnóstico del NSCLC, mostrando buenos resultados al detectar mutaciones del EGFR con una sensibilidad alélica de hasta el 0,02% y una especificidad del 96%. La versión mejorada, CAPP-Seq con iDES (*Integrated Digital Error Suppression*), detecta mutaciones del EGFR con una frecuencia alélica tan baja como 0,004%^{59,61}.

Plataformas utilizadas en reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

ddPCR (Droplet-digital PCR): Se realiza mediante la emulsión de gotas de agua-aceite. Cada gota contiene una sola cadena de ADN, la cual, en caso de estar mutada o no, se puede diferenciar mediante citometría de flujo. Al realizar esta técnica solo se pueden cribar variantes conocidas. Su principal desventaja radica en el limitado número de genes que puede identificar en una sola reacción^{60,63}.

BEAMing (Beads, Emulsion, Amplification and Magnetics): En esta técnica se utilizan gotas de agua en una emulsión de aceite que contiene cebadores, reactivos y esferas magnéticas con sondas de hibridación específicas. Estas esferas son procesadas con citometría de flujo⁶³. Ha demostrado ser una técnica altamente sensible y específica en la detección de mutaciones en estadios tempranos de cáncer de pulmón.

Estrategias recientemente empleadas para obtener firmas fragmentómicas son las *linked-read sequencing*, que extrae información extensa de lecturas cortas, así como el enfoque DELFI (*DNA evaluation of fragments for early interception*), el cual se utiliza para la detección temprana del cáncer²⁰. Igualmente, se utiliza el método *hybrid capture sequencing* para evaluar la longitud de los fragmentos de ctDNA y para la detección de la enfermedad mínima residual (MRD). También la tecnología de *long-read sequencing* permite la lectura de fragmentos largos de ácidos nucleicos, así como los patrones de metilación. Asimismo, existen los métodos epigenéticos, que evalúan la metilación de islas CpG en genes de supresión tumoral asociados con la carcinogénesis³³.

Retos y desafíos de la biopsia líquida

Existen diversos retos a enfrentar, dado que, a pesar de los avances significativos en la aplicación de la BL en oncología, aún persisten limitaciones técnicas que obstaculizan su adecuada implementación. Uno de los principales desafíos es el costo de las pruebas y la baja sensibilidad en estadios tempranos de la enfermedad⁶⁴, lo cual disminuye su precisión diagnóstica. Esto se atribuye a la escasa concentración de ctDNA en circulación en el torrente sanguíneo, lo cual incrementa el riesgo de falsos negativos y reduce su utilidad en el diagnóstico temprano. A esto se suma la dificultad para identificar el órgano de origen del tumor cuando no existe un contexto clínico definido, lo cual restringe su aplicación en escenarios de cribado⁶⁴.

A su vez, constituye un desafío significativo la heterogeneidad tumoral en la precisión de la BL, dado que la variabilidad genética dentro de un mismo tumor, como en los sitios metastásicos, puede generar una representación genética incompleta en el análisis de ctADN, lo cual dificulta la identificación de todos los clones tumorales⁶⁵. Esta diversidad complica la toma de decisiones terapéuticas y la evaluación pronóstica, al no ser posible detectar todos los componentes tumorales. Adicionalmente, la falta de uniformidad agravada por fenómenos biológicos como la hematopoyesis clonal puede generar falsos positivos, especialmente en contextos de tamizaje poblacional debido a la aparición de mutaciones somáticas en pacientes sin neoplasias⁶⁵.

Adicionalmente, la falta de estandarización en los protocolos de procesamiento y análisis de muestras sigue representando un desafío para su implementación generalizada en la práctica clínica, lo que incrementa el costo y la accesibilidad de las pruebas de BL⁶⁵. La integración de las BL en los trabajos clínicos actuales exige superar desafíos logísticos, incluyendo una adecuada capacitación del personal de salud y las poblaciones seleccionadas, dado que la mayoría de sus contextos son controlados y limitados. Esto destaca la necesidad de realizar estudios en distintas instituciones diseñados para

tener seguimiento a lo largo del tiempo, con la meta de validar su uso rutinario en distintos escenarios clínicos⁶⁴.

El futuro de los avances tecnológicos está encaminado a incrementar las capacidades y aplicaciones de la BL en el futuro, con el potencial de transformar el diagnóstico, tratamiento y seguimiento del cáncer⁶⁶. Su desarrollo estará involucrado directamente con elementos como el acceso y la disponibilidad generalizada para una mayor población, lo cual será fundamental para aprovechar todo el potencial en la atención, diagnóstico y tratamiento clínico.

Conclusiones

La BL se está consolidando como una herramienta fundamental en la oncología, no solo como complemento al diagnóstico histopatológico convencional, sino también como estrategia emergente para la detección y seguimiento en estadios tempranos y como tamizaje molecular. El carácter mínimamente invasivo de esta prueba y su potencial para el monitoreo en tiempo real de la enfermedad la posicionan como una prometedora tecnología que transformará el abordaje clínico y diagnóstico de esta patología.

En estadios tempranos del cáncer, caracterizados por una baja carga tumoral y una limitada eficacia en los métodos diagnósticos convencionales, la BL ha adquirido una utilidad cada vez mayor. El avance de tecnologías altamente sensibles, como CAPP-Seq, TEC-Seq y modelos de inteligencia artificial como Lung-CLiP, identifican alteraciones moleculares incluso cuando el ctDNA circulante se encuentra en niveles mínimos, ampliando significativamente las oportunidades para un diagnóstico temprano y oportuno, una adecuada estratificación pronóstica y la detección de enfermedad residual mínima. Por otro lado, estudios como PATHFINDER, CCGA y GRAIL-MCED han aportado evidencia sólida sobre el uso de la BL como herramienta de cribado poblacional multitumoral, con una especificidad alta y una sensibilidad aceptable, especialmente en tumores sin métodos efectivos de detección temprana. Además, nuevas fuentes biológicas como saliva y

orina, y biomarcadores como los miARN, lncRNA, vesículas extracelulares y las plaquetas educadas por el tumor permiten que se abran nuevas rutas para ampliar la aplicación de esta herramienta.

Si bien la evidencia ha demostrado beneficios clínicos claros, aún persisten retos que deben abordarse para garantizar su adopción generalizada a nivel mundial. Entre estos desafíos se incluyen la estandarización de las técnicas, la mejora de la sensibilidad en estadios tempranos con baja carga tumoral, la validación clínica en diversas poblaciones y la sostenibilidad económica de su implementación a nivel tanto nacional como internacional. La BL representa un avance significativo en el diagnóstico y manejo del cáncer. Su integración progresiva en la práctica clínica ofrece la posibilidad de identificar la enfermedad en etapas más tempranas y de manera más precisa, así como de personalizar los tratamientos según las características moleculares de cada paciente, con el fin de mejorar los desenlaces a largo plazo. A medida que se superen las barreras técnicas y se acumulen más estudios con evidencia científica de calidad, es posible que la BL se convierta en una herramienta de uso rutinario en el manejo del cáncer, capaz de redefinir los estándares de diagnóstico, monitoreo y tratamiento.

Financiamiento

Esta investigación no recibió ninguna subvención específica de agencias de financiamiento de los sectores público, comercial o sin fines de lucro.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Contribución de autoría

Los autores certifican haber contribuido de igual manera con la concepción, diseño, material científico e intelectual y redacción del manuscrito.

Referencias

1. Bray F, Laversanne M, Cao B, Varghese C, Mikkelsen B, Weiderpass E, et al. Comparing cancer and cardiovascular disease trends in 20 middle- or high-income countries 2000–19: a pointer to national trajectories towards achieving Sustainable Development Goal target 3.4. *Cancer Treat Rev.* 2021;100:.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: an overview. *Int J Cancer.* 2021 Aug 15;149(4):778-89.
3. de Souza JA, Hunt B, Asirwa FC, Adebamowo C, Lopes G. Global health equity: cancer care outcome disparities in high-, middle-, and low-income countries. *J Clin Oncol.* 2016;34(1):6–13. Disponible en: <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.62.2860>
4. Johnson KB, Wei WQ, Weeraratne D, Frisse ME, Misulis K, Rhee K, Zhao J, Snowdon JL. Precision medicine, AI, and the future of personalized health care. *Clin Transl Sci.* 2021;14(1):86–93. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/cts.12884>
5. Bray J, Eward W, Breen M. Evaluating the relevance of surgical margins. Part one: the problems with current methodology. *Vet Comp Oncol.* 2023;21:1-11.
6. Hirahata T, ul Quraish R, Quraish A ul, ul Quraish S, Naz M, Razzaq MA. Liquid biopsy: a distinctive approach to the diagnosis and prognosis of cancer. *Cancer Inform.* 2022;21:.
7. Ho HY, Chung KS, Kan CM, Wong SC. Liquid biopsy in the clinical management of cancers. *Int J Mol Sci.* 2024;25:.
8. Kapila SN, Boaz K, Natarajan S. The post-analytical phase of histopathology practice: storage, retention and use of human tissue specimens. *Int J Appl Basic Med Res.* 2016;6(1):3–7. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/2229-516X.173982>
9. Ma L, Guo H, Zhao Y, Liu Z, Wang C, Bu J, et al. Liquid biopsy in cancer: current status, challenges and future prospects. *Signal Transduct Target Ther.* 2024 Dec 2;9(1):336. [Internet]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/39617822>
10. Isla D, Lozano MD, Paz-Ares L, Salas C, de Castro J, Conde E, et al. New update to the guidelines on testing predictive biomarkers in non-small-cell lung cancer: a national consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. *Clin Transl Oncol.* 2023 May 1;25(5):1252-67.
11. Cheung AHK, Chow C, To KF. Latest development of liquid biopsy. *J Thorac Dis.* 2018;10(Suppl):S1645-51.
12. Garcia J, Kamps-Hughes N, Geiguer F, Couraud S, Sarver B, Payen L, et al. Sensitivity, specificity, and accuracy of a liquid biopsy approach utilizing molecular amplification pools. *Sci Rep.* 2021 Dec 1;11(1):.
13. Chen M, Zhao H. Next-generation sequencing in liquid biopsy: cancer screening and early detection. *Hum Genomics.* 2019;13:34.
14. Pascual J, Attard G, Bidard FC, Curigliano G, De Mattos-Arruda L, Diehn M, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol.* 2022 Aug 1;33(8):750-68.
15. Bartolomucci A, Nobrega M, Ferrier T, Dickinson K, Kaorey N, Nadeau A, et al. Circulating tumor DNA to monitor treatment response in solid tumors and advance precision oncology. *NPJ Precis Oncol.* 2025;9:.

16. Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y, Agrawal N, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014 Feb 19;6(224):.
17. Cree IA. Liquid biopsy for cancer patients: principles and practice. *Pathogenesis*. 2015;2:1-4.
18. Qi T, Pan M, Shi H, Wang L, Bai Y, Ge Q. Cell-free DNA fragmentomics: the novel promising biomarker. *Int J Mol Sci*. 2023;24:.
19. De Rubis G, Rajeev Krishnan S, Bebawy M. Liquid biopsies in cancer diagnosis, monitoring, and prognosis. *Trends Pharmacol Sci*. 2019;40:172-86.
20. Souza VGP, Forder A, Brockley LJ, Pewarchuk ME, Telkar N, de Araújo RP, et al. Liquid biopsy in lung cancer: biomarkers for the management of recurrence and metastasis. *Int J Mol Sci*. 2023;24:.
21. Ramirez-Garrastacho M, Bajo-Santos C, Line A, Martens-Uzunova ES, de la Fuente JM, Moros M, Soekmadji C, Tasken KA, Llorente A. Extracellular vesicles as a source of prostate cancer biomarkers in liquid biopsies: a decade of research. *Br J Cancer*. 2022;126(3):331–350. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01610-8>
22. Beylerli O, Gareev I, Sufianov A, Ilysova T, Guang Y. Long noncoding RNAs as promising biomarkers in cancer: long non-coding RNAs and cancer. *Noncoding RNA Res*. 2022;7:66-70.
23. Kolenda T, Guglas K, Baranowski D, Sobocińska J, Kopczyńska M, Teresiak A, et al. cfRNAs as biomarkers in oncology: still experimental or applied tool for personalised medicine already? *Rep Pract Oncol Radiother*. 2020;25:783-92.
24. Shigeyasu K, Toden S, Zumwalt TJ, Okugawa Y, Goel A. Emerging role of microRNAs as liquid biopsy biomarkers in gastrointestinal cancers. *Clin Cancer Res*. 2017;23:2391-9.
25. Toden S, Goel A. Non-coding RNAs as liquid biopsy biomarkers in cancer. *Br J Cancer*. 2022;126(3):351-60. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01672-8>
26. Si ML, Zhu S, Wu H, Lu Z, Wu F, Mo YY. miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene*. 2007;26(19):2799-803. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210083>
27. Schmitt AM, Chang HY. Long noncoding RNAs in cancer pathways. *Cancer Cell*. 2016;29:452-63.
28. Doyle LM, Wang MZ. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis. *Cells*. 2019;8:.
29. Stevic I, Buescher G, Ricklefs FL. Monitoring therapy efficiency in cancer through extracellular vesicles. *Cells*. 2020;9:.
30. Chaves JJ, Parra-Medina R. Biopsia líquida en oncología. En: *Patología oncológica molecular aplicada*. 1ª ed. Capítulo 6. p. 134–138.
31. Connal S, Cameron JM, Sala A, Brennan PM, Palmer DS, Palmer JD, et al. Liquid biopsies: the future of cancer early detection. *J Transl Med*. 2023;21:.
32. Turning the tide of early cancer detection. *Nat Med*. 2024;30:1217.
33. Schrag D, Beer TM, McDonnell CH, Nadauld L, Dilaveri CA, Reid R, et al. Blood-based tests for multicancer early detection (PATHFINDER): a prospective cohort study. *Lancet*. 2023 Oct 7;402(10409):1251-60.
34. Turnbull C, Wald N, Sullivan R, Pharoah P, Houlston RS, Aggarwal A, et al. GRAIL-Galleri: why the special treatment? *Lancet*. 2024;403:431-2.
35. Chabon JJ, Hamilton EG, Kurtz DM, Esfahani MS, Moding EJ, Stehr H, et al. Integrating genomic features for non-invasive early lung cancer detection. *Nature*. 2020 Apr 9;580(7802):245-51.
36. Batool SM, Yekula A, Khanna P, Hsia T, Gambin AS, Ekanayake E, et al. The Liquid Biopsy Consortium: challenges and opportunities for early cancer detection and monitoring. *Cell Rep Med*. 2023;4:.
37. Ionescu F, Zhang J, Wang L. Clinical applications of liquid biopsy in prostate cancer: from screening to predictive biomarker. *Cancers (Basel)*. 2022;14:.