



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ANA CLARA LOPES DE FRANÇA OLIVEIRA

**USO DA BIÓPSIA LÍQUIDA NA DETECÇÃO DE BIOMARCADORES
MOLECULARES PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER COLORRETAL: uma
revisão narrativa**

Barreiras-BA

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA**

ANA CLARA LOPES DE FRANÇA OLIVEIRA

**USO DA BIÓPSIA LÍQUIDA NA DETECÇÃO DE BIOMARCADORES
MOLECULARES PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER COLORRETAL: uma
revisão narrativa**

Professora orientadora: Pablinny Moreira Galdino de Carvalho

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB) como requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Medicina.

**Barreiras-BA
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA

O48 Oliveira, Ana Clara Lopes de França.

Uso da biópsia líquida na detecção de biomarcadores moleculares para o tratamento do câncer colorretal: uma revisão narrativa. / Ana Clara Lopes de França Oliveira. – 2022.

54f.

Orientador: Prof. Dra. Pablinny Moreira Galdino de Carvalho.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina) –. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2022.

1. Cólon (anatomia) - Câncer. 2. Biomarcadores. 3. Biópsia líquida. I. Carvalho, Pablinny Moreira Galdino de. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 616.994347



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA



ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos doze dias do mês de julho, às 16:00h, em sala virtual do Google Meet (<https://meet.google.com/nev-quvb-dzs>), na presença da Banca Examinadora presidida pela Professora **Pablinny Moreira Galdino de Carvalho** e composta pelos examinadores: **Karina Martins De Campos** e **Stefânia Neiva Lavorato**, a aluna **Ana Clara Lopes de França Oliveira** apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: **USO DA BIÓPSIA LÍQUIDA NA DETECÇÃO DE BIOMARCADORES MOLECULARES PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER COLORRETAL: uma revisão narrativa**, como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Bacharelado em Medicina. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela aprovação do referido trabalho, divulgando o resultado formalmente à aluna e demais presentes e eu, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim e pelos demais examinadores.

Pablinny Moreira Galdino de Carvalho

Pablinny Moreira Galdino de Carvalho

Karina Martins De Campos

Karina Martins De Campos

Stefania Neiva
Lavorato:01535
224614

Assinado de forma digital
por Stefania Neiva
Lavorato:01535224614
Dados: 2022.07.14 19:39:53
-03'00'

Stefânia Neiva Lavorato

À minha mãe, **Maria Rita Lopes
Moreira Rosa** e à minha irmã, **Larissa
Lopes de França Oliveira**, minhas grandes
incentivadoras e apoiadoras.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço a Deus, por todas as oportunidades até aqui, por me guiar e dá força diante das adversidades e nos momentos mais difíceis. Pela proteção e por nunca me desamparar.
- Aos meus pais, principalmente à minha mãe, **Maria Rita Lopes Moreira Rosa**, que sempre sonhou e lutou junto comigo e nunca desistiu desse objetivo, tudo que sou é graças a essa grande mulher e mãe, que não mede esforços diante das dificuldades.
- À minha irmã **Larissa Lopes de França Oliveira**, obrigada pelo companheirismo, amor e cuidado. Sempre sonhamos juntas e hoje estamos aqui e seguiremos até o fim.
- Ao meu irmão **Leopoldo Elear Lopes Moreira Rosa** e cunhada **Ana Vitória da Silva Bomfim**, por todo o cuidado e ajuda nessa caminhada.
- Aos meus amigos, em especial a **Brunna Gonçalves Ramalho e Fagner Fernandes da Silva**, por todo o companheirismo, união e parceria diante desses anos. Nas alegrias, desabafos e perrengues, estão sempre dispostos a ajudar, independentemente da situação.
- À **Diego Alves** pela paciência, compreensão e cuidado ao longo da construção desse trabalho.
- À minha orientadora **Prof. Dra. Pablinny Moreira Galdino de Carvalho**, por ter me aceitado nessa etapa final, obrigada pela compreensão e aprendizado compartilhado ao longo desse processo.
- À minha co-orientadora **Dra. Istéfani Luciene Dayse da Silva**, por toda paciência e aprendizado.
- Aos meus professores e pessoas que contribuíram de alguma forma no meu crescimento e desenvolvimento nessa etapa, meu muito obrigada.

*“ No caminho aprendemos
No caminho florescemos
No caminho, nos tornamos”*

Wandy Luz

RESUMO

O câncer colorretal (CCR) é considerado a segunda neoplasia maligna que mais causa mortalidade mundialmente. Em 2020, sua incidência global foi responsável por cerca de 10% dos cânceres diagnosticados, representando 5,25 milhões de casos no mundo. Sabe-se que o diagnóstico precoce e uma terapêutica adequada para o CCR melhoram a sobrevida e a taxa de cura dos pacientes. Atualmente, o diagnóstico se baseia na presença de achados clínicos e na detecção de biomarcadores séricos, como o antígeno carcinoembrionário (CEA) e o antígeno CA19-9, estes também são úteis em termos de monitorização da resposta ao tratamento, além de achados histopatológicos e exames de imagem, métodos esses que variam em termos de sensibilidade e especificidade. A gênese do CCR pode estar relacionada a mutações genéticas somáticas adquiridas ou modificações epigenéticas. Dessa forma, a biópsia líquida surge como uma técnica promissora para o desenvolvimento e análise de novos marcadores moleculares e o conhecimento mais amplo da heterogeneidade tumoral e de mutações antes e após o tratamento de pacientes com câncer colorretal metastático, contribuindo assim para terapêuticas mais efetivas, alcançando melhores resultados em relação a sobrevida e refratariedade desses pacientes. Este estudo trata-se de uma revisão narrativa da literatura, que será desenvolvido a partir de método descritivo de busca e análise crítica, de pesquisas que correlacionem as vantagens do uso da biópsia líquida na detecção de biomarcadores para o tratamento do CCR. A busca pelos artigos será realizada nas seguintes bases de dados eletrônicas: Medline (via PubMed), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), ASCO (American Society of Clinical Oncology) e American Cancer Society, disponíveis *online*, publicados no período de 2012 a 2022, com acesso via internet. Espera-se que esse trabalho possa servir de incentivo a novas pesquisas que associem o uso e a importância da biópsia líquida para melhorar o prognóstico de pacientes com CCR, através de tratamentos direcionados e mais efetivos.

PALAVRAS-CHAVE: biomarcadores; biópsia líquida; câncer colorretal; cfDNA; ctDNA; tratamento.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is considered the second malignant neoplasm that causes more mortality worldwide. In 2020, its global incidence was responsible for about 10% of diagnosed cancers, representing 5.25 million cases worldwide. It is known that early diagnosis and adequate therapy for CRC improve patient survival and cure rate. Currently, the diagnosis is based on the presence of clinical findings and the detection of serum biomarkers, such as carcinoembryonic antigen (CEA) and CA19-9 antigen, these are also useful in terms of monitoring the response to treatment, in addition to histopathological findings and imaging tests, methods that vary in terms of sensitivity and specificity. The genesis of RCC may be related to acquired somatic genetic mutations or epigenetic modifications. Thus, liquid biopsy appears as a promising technique for the development and analysis of new molecular markers and a broader knowledge of tumor heterogeneity and mutations before and after treatment of patients with metastatic colorectal cancer, thus contributing to more effective therapies, achieving better results in relation to survival and refractoriness of these patients. This study is a narrative review of the literature, which will be developed from a descriptive method of search and critical analysis of research that correlates the advantages of using liquid biopsy in the detection of biomarkers for the treatment of CRC. The search for articles will be carried out in the following electronic databases: Medline (via PubMed), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences (LILACS), ASCO (American Society of Clinical Oncology) and American Cancer Society, available online, published from 2012 to 2022, with internet access. It is hoped that this work may serve as an incentive for further research that associates the use and importance of liquid biopsy to improve the prognosis of patients with CRC, through targeted and more effective treatments.

KEYWORDS: liquid biopsy; colorectal cancer; biomarkers; cfDNA; ctDNA; treatment.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

FIGURAS

Figura 1	Processo de seleção dos artigos no Pubmed.....	31
Figura 2	Status de clonalidade das alterações genéticas.....	36

encontradas no sangue

TABELAS

Tabela 1	Características iniciais dos pacientes.....	35
Tabela 2	Informações clínicas e genéticas de.....	40

alguns pacientes do estudo

Tabela 3	Características do paciente e do tratamento.....	43
-----------------	--	----

LISTA DE QUADROS

QUADROS

Quadro 1	Estadiamento do câncer de Colorretal.....	22
Quadro 2	Critérios de inclusão e exclusão.....	29
Quadro 3	Apresentação dos artigos selecionados.....	32
Quadro 4	Caracterização da amostra analisada para..... análise do cfDNA/ctDNA em cada estudo;	33
Quadro 5	Características dos pacientes.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BL	Biópsia líquida
CCR	Câncer colorretal
CEA	Antígeno carcinoembrionário
cfDNA	DNA livre de células
ctDNA	DNA tumoral circulante
CTCs	Células tumorais circulantes
dPCR	PCR digital
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
FIT	Imunoquímicos fecais
FOBT	Exame de sangue oculto nas fezes
HER2	Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano
HR	Intervalo de confiança
ITF	Fração tumoral
INCA	Instituto Nacional de Câncer
mCCR	Câncer colorretal metastático
MRD	Doença residual mínima
NGS	Sequenciamento de próxima geração
OS	Sobrevida global
ORR	Média geral da taxa de resposta
PFS	Sobrevida livre de progressão
VEGF	Fator de crescimento endotelial
WT	Tipo selvagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. PROBLEMA.....	14
3. JUSTIFICATIVA.....	15
4. OBJETIVOS.....	17
4.1 Objetivo Geral.....	17
4.2 Objetivos Específicos.....	17
5. REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
5.1. Epidemiologia do CCR.....	18
5.2 Manifestações clínicas	19
5.3 Fatores de risco	19
5.4 Rastreamento.....	20
5.5 Estadiamento.....	21
5.6 Diagnóstico.....	24
5.7 Tratamento.....	24
5.8 Biópsia líquida no CCR.....	26
6. METODOLOGIA.....	27
6.1 Tipo de Estudo.....	27
6.2 Descrição da Coleta de Dados.....	27
6.3 Descrição da Análise dos Dados.....	28
6.4 Critérios para Inclusão e Exclusão.....	29
7. RESULTADOS.....	29
8.DISSCUSSÃO	43
9. CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	49

1. INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é considerado o terceiro tipo mais frequente em homens e o segundo mais comum em mulheres. Nesse sentido, o prognóstico da doença não depende exclusivamente da fase do diagnóstico, mas também de alternativas de tratamento sistêmico e opções cirúrgicas. Com o auxílio de terapias de rastreamento e novas terapias sistêmicas e procedimentos cirúrgicos complexos, houve uma melhora significativa nos resultados oncológicos. Entretanto, o CCR ainda representa a segunda principal causa de mortalidade ligada ao câncer no mundo (MASFARRÉ et al., 2021).

Hoje, o manejo do CCR depende de níveis de biomarcadores séricos, a biópsia tecidual e achados de imagem. Entretanto, a precisão do diagnóstico e a sensibilidade de métodos patológicos e exames de imagem são insuficientes e a especificidade e o diagnóstico através de biomarcadores séricos são bastante limitados e pobres. A patogênese molecular do CCR é bastante complexa e heterogênea, sendo que suas características patológicas vão ser analisadas através da biópsia ou espécimes cirúrgicos. Essas informações obtidas fornecem uma breve leitura do tumor. Nesse sentido, a biópsia líquida poderia suprir as limitações das técnicas tradicionais, auxiliando no rastreamento e observação da dinâmica evolutiva e heterogeneidade do tumor em tempo real (DING et al., 2020).

Nesse sentido, a biópsia líquida se refere a uma amostragem biológica não sólida, como o sangue, líquido cefalorraquidiano, saliva, urina e outros fluidos corporais. Em pacientes com câncer a biópsia líquida é usada sobretudo para extração de células tumorais circulantes (CTCs), DNA tumoral circulante (ctDNA), além de outros materiais derivados do tumor, como o exossoma (CASTRO-GINER et al., 2018). A biópsia líquida tem a vantagem de ser um método menos invasivo se comparada a biópsia de tecido, além de ter um amplo potencial de aplicações clínicas, podendo oferecer aos médicos uma nova ferramenta que auxilie no gerenciamento clínico em cânceres mais avançados e que possua um tratamento mais complexo, como também contribuir na previsão da resposta clínica ao tratamento e na detecção de recorrência e rastreamento da evolução tumoral (DOMÍNGUEZ-VIGIL., 2018).

Com isso, o ctDNA tem sido utilizado para melhorar o manejo da doença em pacientes com câncer colorretal metastático (mCCR), servindo como biomarcador

preditivo para a seleção do tratamento e como ferramenta de monitorização da resposta. Atualmente, o tratamento que pode ser utilizado em pacientes com mCCR são anticorpos terapêuticos dirigidos contra o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), como cetuximab e panitumumab e o fator de crescimento endotelial (VEGF) com bevacizumab, que em diversas situações são associados com quimioterápicos como 5-fluorouracil, oxaliplatina e irinotecano. Entretanto muitos pacientes não se beneficiam de receber tratamentos sistêmicos. Mutações KRAS, BRAF, NRAS dentre outros genes mutados, podem prever resistência primária à terapia anti-EGFR. A biópsia líquida através do ctDNA pode ser utilizada para detectar mutações em um painel mais amplo de genes que podem conferir resistência se comparada à biópsia de tecido tumoral (MARCUELLO *et al.*, 2019).

Dessa forma, a biópsia líquida pode ser utilizada no tratamento orientado do paciente além de ser importante para a oncologia de precisão, visto que pode contribuir para o conhecimento mais amplo da heterogeneidade intratumoral espacial e temporal em situações em que há o aumento de mecanismos de resistência distintos em diferentes metástases. Além disso, esse método tem o potencial de prever a recorrência da doença, em situações em que ainda se encontra clinicamente indetectáveis (KOLENCIK *et al.*, 2020).

2. PROBLEMA

Como a biópsia líquida pode contribuir para a análise de biomarcadores moleculares no tratamento do câncer colorretal avançado?

3. JUSTIFICATIVA

Atualmente, sabe-se que o diagnóstico precoce do CCR associado a uma terapêutica adequada, contribuem para uma melhora da sobrevida e taxa de cura desses pacientes. As abordagens para o diagnóstico clínico se baseiam em métodos de imagem, marcadores tumorais séricos, como o antígeno carcinoembrionário (CEA) e o antígeno CA19-9 que também serve para monitorização do tratamento, além da biópsia de tecido. No entanto, os marcadores tumorais séricos CEA e o CA19-9 não satisfazem sozinhos as necessidades clínicas, ao passo que possuem baixa sensibilidade e especificidade (BI et al., 2020). Diante de tal cenário, a biópsia líquida pode contribuir para a detecção de novos biomarcadores, através do isolamento de componentes derivados do câncer (VACANTE et al., 2020).

A biópsia líquida é um procedimento minimamente invasivo que pode fornecer um cenário molecular amplo sobre o CCR, sendo uma técnica menos invasiva se comparada às biópsias convencionais que precisam de uma amostra do tecido. A vantagem desse procedimento está em compreender a heterogeneidade do tumor e, conseqüentemente, as razões de recidivas e falhas terapêuticas. Com isso, a biópsia líquida fornece alvos e biomarcadores como o DNA tumoral circulante (ctDNA), células tumorais circulantes (CTCs), microRNAs (miRNAs) e exossomos, que podem contribuir com informações quantitativas e qualitativas relevantes, para o prognóstico da doença, bem como para detecção de doença residual mínima (MRD) (YAMADA et al., 2018), melhorando o monitoramento e no diagnóstico de pacientes com CCR, bem como prever recidivas e resistência as terapêuticas implementadas (VACANTE et al., 2020)

Sabe-se que o tratamento do CCR metastático (mCCR) com anticorpos anti-EGFR prolonga a sobrevida global em pacientes com RAS selvagem (wt). Entretanto, observa-se nesses pacientes uma progressão parcial da doença, por conta do surgimento de mutações em genes da via RAS durante o período de tratamento. A análise dessas mutações contribui para avaliação de subclones resistentes ao câncer, e seus resultados têm o potencial de demonstrar a dinâmica molecular ligada a capacidade de resposta do tumor e resistência ao tratamento instituído (TOLEDO et al., 2017).

As terapias direcionadas expandiram as oportunidades de tratamento para pacientes com mCCR. Os anticorpos monoclonais que têm como alvo o receptor de crescimento epitelial (EGFR) são usados em casos avançados. Entretanto, uma

grande parte dos pacientes não possuem benefícios clínicos, isso porque mutações KRAS (presente em cerca de 40% do CCR), e genes como NRAS, BRAS e amplificação em ERBB2 (receptor tirosina quinase2), prejudicam a resposta terapêutica aos anticorpos anti-EGFR. A biópsia líquida, dessa forma, pode oferecer uma avaliação dinâmica e contínua de resposta ao tratamento implementado (WILLS et al., 2018).

Com isso, a biópsia líquida então surge como uma ferramenta promissora para monitorar o câncer colorretal, visto que pode ser utilizada repetidas vezes, sem a necessidade da análise do tecido tumoral, permitindo que o médico monitore as respostas terapêuticas e a recorrência da doença (JIA et al., 2017). Portanto, o presente trabalho visa servir de referência tanto para a comunidade acadêmica quanto para os profissionais da saúde, demonstrando a relevância da biópsia líquida na detecção de novos biomarcadores tumorais, ao passo que o uso desta técnica contribui para novos métodos de monitoramento da resistência terapêutica em pacientes com CCR avançado, além de fornecer um conhecimento mais amplo sobre a evolução tumoral.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo geral

Descrever através de revisão narrativa, como a biópsia líquida pode ser um método importante para detecção de biomarcadores durante o tratamento do câncer colorretal avançado.

4.2. Objetivos específicos

- Relatar as possíveis aplicações da biópsia líquida em termos de monitorização e efetividade do tratamento de pacientes com câncer colorretal avançado;
- Relatar como a biópsia líquida pode contribuir para identificação de biomarcadores e mutações envolvidas no processo de resistência e resposta ao tratamento.

5. REFERENCIAL TEÓRICO

5.1 Epidemiologia do câncer colorretal

O câncer colorretal atualmente corresponde ao terceiro tipo de câncer mais comum, sendo uma das principais causas de morte relacionada ao câncer mundialmente. Em 2020, sua incidência global foi responsável por cerca de 10% dos cânceres diagnosticados, representando 5,25 milhões de casos no mundo. Diante de uma perspectiva global de novos casos de CCR, pressupõem-se que em 2040, a incidência seja de 3,2 milhões de novos casos, com base nas características populacionais de crescimento e envelhecimento (XI & XU et al., 2021).

De acordo com o INCA, estima-se que no Brasil, para cada ano correspondente ao triênio de 2020 a 2022, a incidência de câncer colorretal em homens seja de 20.540 e em mulheres de 20.470 casos. Esses valores correspondem a risco de 19,64 novos casos para cada 100 mil homens e para mulheres corresponde a 19,03 para cada 100 mil, sendo que na região sudeste e centro-oeste, o câncer colorretal em homens é o segundo com maior incidência, com 28,62/100 mil e 15,40/100mil, respectivamente. Para as mulheres da região sudeste é o segundo mais frequente (INCA, 2020).

A incidência do CCR representa o terceiro câncer mais comum em homens e o segundo em mulheres, a nível mundial. Quando se trata de mortalidade, é a terceira causa de morte em mulheres e a quarta em homens, para estes registra-se taxas de incidência mais altas para mulheres. Sua maior ocorrência leva em consideração variações geográficas, o nível de desenvolvimento do país, sendo que quanto mais desenvolvido maior a incidência. No entanto, com a possibilidade de novos tratamentos e um sistema de triagem mais eficiente, essas elevadas taxas de mortalidade tem diminuído em países mais ricos (YU & HEMMINK et al., 2020). Apesar dessa significativa diminuição em países desenvolvidos, observa-se, no Brasil, um aumento na mortalidade relacionada ao CCR nas últimas décadas, taxas essas que variam entre os diferentes estados brasileiros ao se levar em consideração o desenvolvimento econômico de cada região (MARTIN et al., 2021).

5.2 Manifestações clínicas

Os pacientes com CCR podem manifestar uma variedade de sinais e sintomas,

dentre eles, sangramento retal oculto ou evidente, anemia, dor abdominal, perda de peso, mudanças no hábito intestinal e alterações nas fezes. Entretanto, o CCR na maioria das vezes é uma doença assintomática até que alcance um estágio avançado (DEKKER et al., 2019).

Dessa forma, pacientes com tumores que acometem o colo ascendente podem inicialmente apresentar diarreia e dor abdominal, com o avançar da doença pode aparecer quadro anêmico e a possibilidade de se palpar o tumor no hipocôndrio direito. Já em situações em que o acometimento é do colo transversal, os sintomas podem ser: plenitude abdominal, cólica abdominal, constipação e a presença de sangue oculto nas fezes. Enquanto nos casos de tumores do colo descendente, observa-se fezes afiladas escuras ou com presença de sangue, obstipação intestinal, além de poder ocasionar alternância entre constipação e diarreia (LIMA et al., 2019).

O câncer CCR pode não causar sintomas de forma imediata, mas se houver apresentação clínica ela estará acompanhada de mudanças no hábito intestinal, como diarreia, prisão de ventre ou alterações do formato das fezes, perda de peso não intencional, tenesmo, sangramento retal com aspecto vermelho vivo, cólicas, fraqueza e fadiga (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020).

5.3 Fatores de risco

Observa-se que diversos fatores são importantes para a patogênese do CCR. Dentre os quais, pode estar associada a presença de doenças inflamatórias intestinais crônicas, como a colite ulcerativa e a doença de Crohn, isso porque o início e a progressão dessas doenças estão ligados ao ambiente genético e a interação gene-gene, com isso o microambiente inflamatório é um fator crucial para o desenvolvimento do CCR. Além disso, há componentes nutricionais, como carboidratos refinados, gorduras saturadas e carne vermelha, que podem contribuir com propriedades pró-inflamatórias, fazendo com que a dieta e sua interação dieta-gene cause diversas alterações somáticas, sendo um dos fatores exógenos mais relevante na etiologia do CCR (ALMEIDA et al., 2019)

Nesse cenário, os casos esporádicos de CCR estão relacionados a mutações genéticas somáticas ou modificações epigenéticas, associadas a fatores modificáveis que incluem baixa atividade física, sobrepeso, obesidade, dieta pobre

em nutrientes, tabagismo, ingestão excessiva de álcool e doenças inflamatórias intestinais. Por volta de 35 a 40% exibem susceptibilidade a componentes hereditários, através de história familiar, variações genéticas de baixa penetrância, síndromes de câncer hereditárias, além de aberrações genéticas herdadas desconhecidas (XI & XU et al., 2021).

5.4 Rastreamento

Sabe-se que lesões precursoras de diferentes tipos podem preceder o desenvolvimento do CCR, com isso os testes de triagem para detecção do CCR são relevantes para o rastreamento da doença, mesmo que cada um apresente vantagens e limitações. As características de cada teste afetam a percepção e a preferência do paciente e do médico. A sensibilidade e a especificidade irão definir a precisão do teste, quando há ausência de lesão ou a doença tem potencial de gravidade, a sensibilidade é melhor que a especificidade. Nesse sentido, a colonoscopia é um método de referência para o rastreio do câncer colorretal, sendo recomendada a sua realização a cada 10 anos em pacientes com risco moderado que tenham 50 anos ou mais. Esse método tem a capacidade de detectar por visualização direta lesões cancerígenas e pré-cancerígenas, além de ter uma sensibilidade para detecção de CCR de 95%. Já em casos de adenomas avançados esse valor varia de 88 a 98%. No entanto, suas limitações estão associadas a invasibilidade do procedimento (SIMON et al., 2016).

A diretriz da Sociedade Americana de Câncer para triagem do CCR de 2018 orienta através de uma recomendação qualitativa, que adultos com 45 anos ou mais, de risco médio para o CCR façam triagem regular com teste de sangue oculto nas fezes de alta sensibilidade ou exame visual, levando em consideração a preferência do paciente e a disponibilidade do teste. Dessa forma, todos os resultados positivos em teste de triagem não colonoscópicos precisam ser acompanhados por uma colonoscopia oportuna. Além disso, evidências apoiam o uso do teste de sangue oculto nas fezes para rastreio do CCR, sendo que os primeiros que mostraram resultados importantes foram os baseados em guiaic (FOBT), que atuam na detecção da atividade da peroxidase envolvendo a porção heme da hemoglobina, no entanto, estão sujeitos a resultados falso positivos, em decorrência de medicamentos, carne vermelha e peroxidases dietéticas. Em contrapartida, tem-se

os testes imunquímicos fecais (FITs), que utilizam anticorpos que detectam seletivamente o componente da globina. Por ser específico para a hemoglobina humana, ele não apresenta interferência de medicamentos e alimentos, apresentando assim vantagens em relação ao gFOBT. O FIT e o FOBT variam em desempenho devido a quantidade de testes comercializados. Outro teste de fezes realizado é o mt-sDNA que avalia múltiplos alvos em busca de seções anormais do DNA de células cancerosas ou pólipos e sangue oculto nas fezes (WOLF et al., 2018).

5.5 Estadiamento

Na atualidade, o estadiamento do CCR é de grande importância para definição do tratamento mais adequado para cada paciente, essa análise pré-operatória precisa é vital, visto que se realizado de forma imprecisa pode levar a situações inesperadas no processo cirúrgico, relacionadas a margens de ressecção e desfechos oncológicos insatisfatórios. Dessa forma, a partir da análise de diretrizes internacionais, o estadiamento radiológico de neoplasias colorretais tem como pilar a tomografia computadorizada (TC) com a presença de contraste, colonografia por TC, ultrassons endoscópicas, ressonância magnética e tomografia por emissão de pósitrons (PET-CT) (REALI et al., 2021).

O método de estadiamento mais utilizado fundamenta-se no sistema TNM de Classificação dos Tumores Malignos, que vai avaliar a extensão anatômica da doença, se baseando nas características do tumor primário (T), no aspecto dos linfonodos das cadeias de drenagem linfática do órgão acometido (N), além da ausência ou presença de metástase (M). Estes critérios vão ser graduados, geralmente de T0 a T4, de N0 a N3 e de M0 a M1. Dessa forma, a medida que se determina a extensão da doença e a identificação dos órgãos, obtém-se informação sobre a patogênese do tumor, a disponibilidade terapêutica, prevenindo complicações e melhorando o prognóstico do paciente (INCA, 2021).

O câncer colorretal em estágio inicial é chamado de estágio 0, e posteriormente varia de I a IV, sendo que quanto menor o número, menos ele se espalhou, enquanto números mais altos sugerem câncer mais avançado (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017).

Quadro 1: Estadiamento do câncer de Colorretal

Estágio	Fase	Descrição
0	Tis, N0, M0	Câncer em estágio inicial. Não cresceu além da camada interna do colón e reto
I	T1 ou T2, N0, M0	O câncer cresceu da mucosa muscular para a submucosa (T1), além da muscular própria (T2) Não se espalhou para linfonodos (N0) ou locais distantes (M0)
IIA	T3, N0, M0	O câncer evoluiu para camadas mais externas do colón ou reto (T3), porém não passou por elas.
IIB	T4a, N0, M0	O câncer cresceu através do colón ou reto, mas não disseminou para outros tecidos ou órgãos (T4a)
IIC	T4b, N0, M0	O câncer cresceu através da parede do colón ou reto, se espalhou para outros órgãos ou tecidos próximos (T4b)
IIIA	T1 ou T2, N1/N1c, M0 T1, N2a, M0	Cresceu através da mucosa para submucosa (T1) ou para a musculatura própria (T2) Disseminou para 1 a 3 nódulos linfáticos próximos (N1), mas não para os próprios nódulos (N1c) Disseminou para 4 a 6 linfonodos próximos

		(N2a)
IIIB	T3 ou T4a, N1/N1c, M0 T2 ou T3, N2a, M0 T1 ou T2, N2b, M0	O câncer evoluiu nas camadas externas do colón ou reto (T3) ou através do peritônio visceral (T4a) O câncer cresceu na mucosa própria e se espalhou para 4 a 6 linfonodos próximos (N2a) Disseminou para 7 ou mais linfonodos próximos (N2b)
IIIC	T4a, N2a, M0 T3 ou T4a, N2b, M0 T4b, N1 ou N2, M0.	O câncer cresceu através da parede do colón ou reto incluindo peritônio (T4a) Disseminou para 7 ou mais linfonodos próximos
IVA	Qualquer T, qualquer N, M1a	O câncer pode ou não ter crescido através da parede (qualquer T) Pode ou não ter se espalhado para linfonodos próximos (qualquer N) Se espalhou para um órgão distante ou conjunto distante de gânglios (M1a)
IVB	Qualquer T, qualquer N, M1b	Disseminou-se para mais de um órgão distante ou conjunto distante de linfonodos (M1b)
IVC	Qualquer T, qualquer N, M1c	O câncer se espalhou para partes distantes do peritônio e pode ou não ter se disseminado

	para órgão distantes ou linfonodos (M1c)
--	--

Fonte: American Joint Committee on Cancer. Capítulo 20 - cólon e reto. In: *AJCC Cancer Staging Manual*. 8ª ed. New York, NY: Springer; 2017

5.6 Diagnóstico

Hoje, métodos de diagnóstico precoce para o câncer colorretal são relevantes para se obter melhores taxas de cura. Com isso, os mecanismos primários para esse diagnóstico se baseiam na detecção de sangue oculto nas fezes, análise de marcadores tumorais séricos como o CEA e CA19-9, além do toque retal. No entanto, sabe-se que a presença do marcador tumoral CEA não satisfaz totalmente as necessidades em âmbito clínico, devido a baixa sensibilidade e especificidade desse marcador (BI et al., 2020).

Associado a presença de marcadores, a apresentação clínica do paciente, relacionada ao local acometido são parâmetros para o diagnóstico. Sendo assim, lesões do colón direito e esquerdo podem causar hematoquezia, através de sangue oculto nas fezes que causa anemia e fadiga ao paciente. Em lesões retais tem-se a presença de sangramento e tenesmo. Com isso, cerca de 30% dos indivíduos com carcinoma colorretal são diagnosticados com quadro agudo e sintomas sub obstrutivos. A importância do diagnóstico precoce se baseia no fato de que as metástases estão presentes no momento do diagnóstico em 20-25% dos casos de câncer de colón e 18% nos casos de câncer retal, respectivamente. Dessa forma, a colonoscopia, associada à biópsia para análise histopatológica são consideradas o padrão ouro para o diagnóstico de lesões do cólon e reto. A tomografia computadorizada, ressonância magnética e a colonografia podem auxiliar no diagnóstico do CCR (DE ROSA et al., 2015).

5.7 Tratamento

Atualmente, as recomendações de diretrizes consideram que a excisão mesorretal junto com a ressecção de áreas mesentéricas de drenagem linfática regional do tumor com ablação do intestino grosso são o padrão utilizado em pacientes com CCR. Diante disso, nota-se que a cirurgia do câncer de colón é

menos exigente que a de reto, sua realização vai se basear na localização tumoral, através de hemicolecotomia direita ou esquerda, parcial ou total e excisão transversal ou excisão do sigmoide/retossigmoide (PASCHKE et al., 2018). No câncer de reto, a ressecção cirúrgica é mais indicada para o tratamento curativo, é realizada através da excisão total do mesorreto (TME). O desenvolvimento das terapias oncológicas e o uso de terapias neoadjuvantes antes da ressecção cirúrgica do câncer retal contribuiu para o aumento da taxa de sobrevida, da sobrevida livre de doença, além de diminuir a taxa de recorrência local. O uso de terapias neoadjuvantes atualmente é padrão ouro para o tratamento de câncer retal médio e baixo localmente avançados antes da ressecção cirúrgica, no qual a administração desses neoadjuvantes através de radioterapia ou quimioterapia auxiliam na redução do tamanho do tumor e preserva os esfíncteres distais (LEOW et al., 2021).

A escolha de um tratamento para pacientes com CCR envolve uma abordagem multimodal baseada nas características do tumor, por exemplo em relação a localização, presença de metástases e progressão do tumor, além de fatores relacionados ao paciente. Em indivíduos sem doença metastática ou com metástases hepáticas ou pulmonares ressecáveis sem indicativos de mau prognóstico, recomenda-se a ressecção cirúrgica da metástase, sendo que a quimioterapia não contribuiu nos valores de sobrevida geral. Já para pacientes com doença metastática potencialmente ressecável, vão iniciar o tratamento com quimioterápicos para reduzir o número e tamanho das metástases e posteriormente fazer a ressecção cirúrgica para indivíduos com doença disseminada irressecável, o tratamento será paliativo e não curativo, com o intuito de diminuir os sintomas. Além disso, para pacientes com doença irressecável e sem opções de tratamento intensivo ou sequencial sem sintomas com baixo risco de deterioração, o objetivo vai ser prevenir a progressão da doença e aumentar a vida livre de tratamento (MÁRMOL et al., 2017).

Dessa forma, a aplicação da biópsia líquida no mCCR tem o potencial de monitorar a resposta ao tratamento, além de detectar possíveis casos de recidiva mais precoce do que as modalidades clínicas, laboratoriais ou de imagens utilizadas. A análise do ctDNA pode identificar alterações genéticas no período da cascata carcinogênica. Em casos metastáticos, a amostra de plasma coletadas e a análise de mutações em ctDNA podem monitorar a carga tumoral, a resposta terapêutica e casos de recaída (HOLM et al., 2020).

Além disso, o cfDNA é de grande importância para a detecção de mutações específicas do tumor na circulação. No mCCR, observa-se um aumento da frequência de mutações KRAS, estas são responsáveis por mecanismos de resistência à anticorpos monoclonais. A análise dessas mutações pode ser feita em tecidos tumorais, no entanto, essa abordagem não reflete de forma suficiente a biologia da doença no início do tratamento com EGFR direcionada. Através da biópsia líquida e da análise de cfDNA, pode-se detectar mutações específicas do tumor e selecionar de forma mais efetiva pacientes para terapias direcionadas (SPINDLER et al., 2015).

5.8 Biópsia líquida no CCR

O CCR, por ser um problema de saúde pública global sendo a terceira neoplasia maligna que mais é diagnosticada na atualidade, impõe desafios visto que em determinadas ocasiões a falta de sintomas específicos da doença pode acarretar na sobreposição de sintomas de outras doenças não cancerosas, dificultando ainda mais o diagnóstico clínico. A biópsia líquida, surge como uma técnica não invasiva para análise de novos biomarcadores tumorais, através de células tumorais, exossomos, fragmentos de DNA tumoral circulante (cfDNA/ctDNA) e miRNAs em estágios iniciais, trazendo vantagens em relação ao monitoramento da eficácia do tratamento e progressão tumoral, mecanismos de resistência medicamentosa, heterogeneidade e evolução tumoral em tempo real. A medida que muitos cânceres são diagnosticados em estágios avançados, os biomarcadores também são cruciais para detecção precoce (UMWALI et al., 2021). A detecção desses biomarcadores, a exemplo do ctDNA, permite uma melhor caracterização e uma forma menos agressiva de demonstrar a heterogeneidade molecular do tumor e sua evolução tumoral se comparada as técnicas atuais (MASFARRÉ et al., 2021).

Atualmente, os métodos utilizados para análise de ctDNA evoluíram e se baseiam em reação de cadeia polimerase digital (dPCR) de um ou múltiplos locis até plataformas de sequenciamento de próxima geração de todo o genoma. O predomínio de mutações RAS no ctDNA é fortemente concordante com mutações RAS em tumores de pacientes com CCR, no entanto o status RAS no plasma pode demonstrar um valor prognóstico e preditivo mais importante em comparação ao RAS do tumor. Visto que no mCCR, o status KRAS do tumor não foi associado a

sobrevida livre de doença (PFS), já na análise do plasma com a presença de alterações em BRAS e KRAS tiveram influência na PFS. Além disso, as medições do ctDNA podem monitorar de forma segura e cinética a dinâmica do tumor em paciente que apresentam CCR que passaram por tratamento, avaliando a evolução molecular e a resistência adquirida (XIE; KIM, [s. d.] et al., 2020).

Em pacientes com mCCR com KRAS/NRAS/BRAF do tipo selvagem de modo geral são sensíveis a terapia anti-EGFR inicial. Entretanto, esses tumores comumente desenvolvem resistência adquirida no primeiro mês de tratamento, sendo a principal causa de falha no tratamento de pacientes que receberam terapia direcionada. Dessa forma, mecanismos de resistência adquirida a partir de terapia anti-EGFR é provocado por desvio de ativação de vias de sinais e alterações secundários de receptores EGFR. Cerca de 40% de pacientes com CCR tem mutações nos códons 12 e 13 do exon 2 do KRAS, essas mutações podem predizer que há falha no tratamento com anti-EGFR. A análise do ctDNA pode auxiliar no monitoramento desses pacientes em tempo real e de forma não invasiva de identificar resistência adquirida a terapias anti-EGFR em casos de CCR avançado e pode orientar sobre os tratamentos seguintes (BI et al, 2020).

6. METODOLOGIA

6.1 Tipo de Estudo

Trata-se de uma revisão narrativa da literatura científica baseada em uma pesquisa principalmente qualitativa de caráter amplo que se propõe a descrever sobre determinado tema, a partir do ponto de vista teórico ou contextual, através da interpretação e análise da produção científica atual de forma sistemática e com rigidez metodológica (BRUM et al, 2015). Este estudo foi desenvolvido a partir de método descritivo de busca e análise crítica, de pesquisas que correlacionem o uso da biópsia líquida no monitoramento do tratamento de pacientes com câncer colorretal.

6.2 Descrição da Coleta de Dados

Foram buscados estudos científicos, disponíveis *online*, publicados no período de janeiro de 2012 a janeiro de 2022, que possuíam como tema principal o uso da

biópsia líquida em casos de câncer colorretal e como essa técnica pode auxiliar no tratamento de pacientes com a doença, além de contribuir para um maior conhecimento sobre resistência medicamentosa. Os descritores foram selecionados a partir das definições encontradas nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), sendo aplicados os seguintes descritores: Biópsia líquida, Câncer colorretal, Câncer de colón e reto, Tratamento, Fatores de risco, Diagnóstico, Rastreamento. Em inglês: Liquid biopsy, Colorectal cancer, Colon and rectum cancer, Treatment, Risk factors, Diagnosis, Screening. Sendo utilizados descritores em português e inglês nas bases de dados MedLine (via PubMed), Bireme, Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), ASCO (American Society of Clinical Oncology) e American Cancer Society. Esses termos foram lançados sozinhos e em combinação booleana por meio da utilização dos operadores “E” (“AND”, “Y”) e “OU” (“OR”, “O”).

A estratégia de busca foi a seguinte “Colorectal cancer” AND “ Treatment”; “Colorectal cancer” AND “Risck factores”; “Liquid biopsy AND colorectal cancer AND “Colorectal cancer” AND “Screening”; “Colorectal cancer AND “cfDNA””. Além da combinação booleana e utilização do operador “E” (“AND”). Lançando-se apenas os dois termos em conjunto: “câncer colorretal e tratamento”, ou “câncer colorretal e diagnóstico”, ou em associação aos demais termos e/ou descritores, por meio do operador “E” (“AND”).

Os artigos e estudos encontrados foram filtrados com base nos critérios de inclusão e exclusão, sendo excluídos aqueles que não tinham relação com o tema de enfoque do estudo. Nesse sentido, para a seleção e análise dos artigos foram avaliados o título do trabalho, em seguida os resumos, se condizentes com o objetivo da pesquisa, houve a leitura na íntegra dos trabalhos escolhidos, descartando aqueles que não responderam aos objetivos do estudo.

6.3 Descrição da Análise dos Dados

O estudo foi conduzido por meio do método de revisão narrativa, a partir de fontes secundárias, realizado através de coleta de dados e pesquisas bibliográficas, voltadas ao tema proposto e dos dados a serem apresentados.

Para esta análise e correlação entre os estudos que levam em consideração as análises bibliográficas que demonstre a importância da técnica no tratamento

direcionado de pacientes com CCR. Além disso, foram checados alguns pontos de observação entre os estudos, sendo estes: Palavras-chave; Ano de publicação; Autor; Jornal; Bases de dados; Referências.

Em seguida os dados foram categorizados para a análise e comparação de seu conteúdo permitindo assim, evidenciar os benefícios da biópsia líquida para o tratamento do CCR. Possíveis vieses metodológicos ou hipóteses adversas nos artigos foram descritas na redação deste trabalho.

6.4 Critérios para Inclusão e Exclusão

Quadro 2 Critérios de inclusão e exclusão
Critério de inclusão
<ul style="list-style-type: none"> • Estudos que associem o uso da biópsia líquida na detecção de biomarcadores tumorais em pacientes com CCR.
<ul style="list-style-type: none"> • Ensaio clínico randomizado, coorte prospectiva, coorte retrospectiva e estudos descritivos, estudos de caso controle, que se associem ao tratamento do CCR através da biópsia líquida.
<ul style="list-style-type: none"> • Estudos publicados nos últimos 10 anos (2012 a 2022).
<ul style="list-style-type: none"> • Pesquisas publicadas em inglês e português.
Critério de exclusão
<ul style="list-style-type: none"> • Estudos que comparavam sensibilidade e especificidade dos métodos de análise da biópsia líquida
<ul style="list-style-type: none"> • Estudos duplicados
<ul style="list-style-type: none"> • Estudos em que não se obteve acesso na integra ao artigo
<ul style="list-style-type: none"> • Estudos em que os resultados estão previstos para 2023

7. RESULTADOS

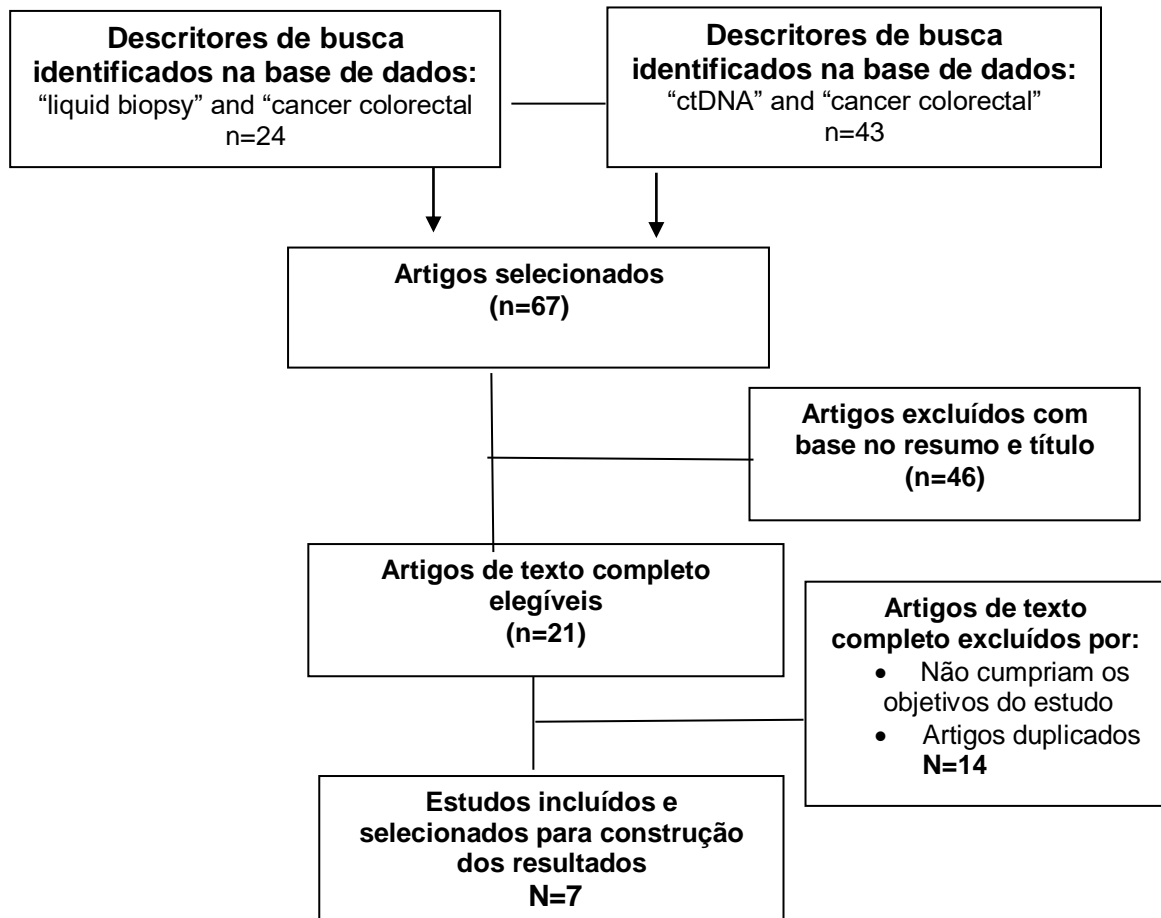
Através da utilização dos descritores de busca dessa pesquisa na base de dados Medline/Pudmed, foram encontrados uma quantidade considerável de resultados. Na base de dados Medline/Pubmed, ao se utilizar da combinação de

descritores “liquid biopsy and cancer colorectal”, obteve-se um retorno de 24 resultados, estes foram a princípio avaliados para integrar a pesquisa. Com a combinação de descritores “cfDNA” and “cancer colorectal”, o retorno dos resultados correspondeu a 43 estudos.

Após a fase inicial de busca mediante os descritores acima citados, foram incluídos os artigos que já no título correlacionavam o papel da biópsia líquida na análise de biomarcadores voltados para o tratamento e resposta dos pacientes com CCR. Desse modo, dos 67 artigos encontrados através da combinação dos dois grupos de descritores, foram selecionados 21 artigos através da análise dos títulos e resumos, sendo que 14 deles corresponderam as buscas pela combinação de descritores “liquid biopsy and cancer colorectal” e 7 deles por meio da combinação “cfDNA” and “cancer colorectal”. Esses 21 artigos seguiram para a leitura do texto na íntegra.

Na etapa de leitura do texto completo, aplicando-se os critérios de inclusão e exclusão proposto na metodologia desse trabalho, 7 artigos foram selecionados para compor os resultados e discussão desse estudo, os artigos estão relacionados ao papel da biópsia líquida na análise de biomarcadores voltados para avaliar a resposta ao tratamento de pacientes com câncer colorretal avançado. A metodologia e os resultados feitos através da seleção e exclusão dos artigos estão descritos de forma esquemática na Figura 1, os artigos selecionados e as características dos estudos estão no Quadro 3.

Figura 1 - Processo de seleção dos artigos no Pubmed



Dos artigos selecionados, que constam no Quadro 3, foram observados as vantagens e o potencial uso da biópsia líquida no tratamento e resposta de pacientes com mCCR. Dentre os estudos, notou-se respostas relacionadas a sobrevida geral, resposta parcial e completa ao tratamento, sobrevida livre de doença e informações relacionadas a mutações em marcadores que podem ser importantes no conhecimento mais amplos sobre resposta e resistência ao tratamento. Através da biópsia líquida é possível ter um conhecimento maior em termos da heterogeneidade do tumor e possíveis respostas e resistência ao tratamento. Os estudos utilizados correspondem a ensaios clínicos publicados entre janeiro de 2012 a janeiro de 2022.

Quadro 3 - Apresentação dos artigos selecionados

Número	Título do Artigo	Autor/ Ano	Tipo de estudo
1	Longitudinal liquid biopsy and mathematical modeling of clonal evolution forecast time to treatment failure in the prospect-c phase ii colorectal cancer clinical trial	KHAN, K et al., 2018	Ensaio clínico prospectivo de fase II
2	Randomized study of FOLFIRI plus either panitumumab or bevacizumab for wild-type KRAS colorectal cancer- WJOG 6210G	SHITARA, K et al., 2016	Estudo randomizado de fase II
3	Radiologic and Genomic Evolution of Individual Metastases during HER2 Blockade in Colorectal Cancer	SIRAVEGNA, G et al., 2018	Estudo multicêntrico de fase II
4	Clinical utility of KRAS status in circulating plasma DNA compared to archival tumour tissue from patients with metastatic colorectal cancer treated with anti-epidermal growth factor receptortherapy	SPINDLER, K. et al., 2015	Estudo prospectivo de fase II
5	Clinical validation of prospective liquid biopsy monitoring in patients with wild-type RAS metastatic colorectal cancer treated with FOLFIRI-cetuximab	TOLEDO, R et al., 2019	Ensaio clínico prospectivo
6	A higher ctDNA fraction decreases survival in regorafenib-treated metastatic colorectal cancer patients. Results from the regorafenib's liquid biopsy translational biomarker phase II pilot study	USELD, M, et al., 2020	Estudo exploratório prospectivo
7	Monitoring levels of circulating cell-free DNA in patients with metastatic colorectal cancer as a potential biomarker of responses to regorafenib treatment	PASTOR, B., et al., 2021	Estudo multicêntrico de fase II prospectivo

Fonte: elaborado pela autora

Quadro 4 - Caracterização da amostra analisada para análise do cfDNA/ctDNA em cada estudo

Identificação do artigo	Nº amostral
1	45
2	117
3	30
4	133
5	23
6	30
7	43

Fonte: elaborado pela autora

O artigo 1, de KHAN *et al*, trata-se de um estudo prospectivo de fase II que apresenta pacientes com câncer colorretal metastático (mCRC) do tipo selvagem RAS (WT) que foram tratados com anticorpos monoclonais anti-EGFR (cetuximabe). Esse estudo teve como objetivo avaliar o valor dos perfis de mutações subclonais na via RAS em cfDNA, a fim de prever a resposta às terapias anti-EGFR, além disso observou-se o tempo de resposta e de resistência a terapêutica anti-EGFR em mCCR refratários a quimioterapia.

A amostra do estudo reuniu 47 pacientes entre 2012 e 2016, 2 pacientes foram excluídos da análise por amostra insuficiente. Os pacientes selecionados realizaram amostragem de tecido de depósito metastáticos em momentos predefinidos, pré e pós-tratamento, o plasma foi coletado a cada 4 semanas até o avanço da doença.

Na coorte 1, 22 pacientes do estudo foram testados para a presença de anomalias da via RAS relacionadas a resistência primária e adquirida ao tratamento com anti-EGFR, em que 19 pacientes apresentaram aberrações da via RAS na progressão, sendo que a maioria com mutação KRAS apresentou substituição de aminoácidos nos códons 12, 13 e 61. Na coorte 2, dos 23 elegíveis, foi coletada amostra de plasma com progressão da doença (PD) e/ou na linha de base de pacientes com resistência primária (11 pacientes) e benefício clínico a longo prazo (4 pacientes), com um painel genético de 77 genes específicos.

Investigou-se a concentração de cfDNA e alterações de hotspots da via RAS, foram analisadas 143 amostras de plasma usando PCR digital (dPCR), 10 amostras foram excluídas e não foram testadas devido à hemólise. Das amostras analisadas, 11 mostravam pacientes que tinham aberrações da via RAS em seu cfDNA basal, 2 tinham amplificação ERBB2, 2 apresentavam alteração BRAF e 1 paciente com mutação PIK3CA. Dessa maneira, a constatação de aberrações envolvidas com a via RAS no cfDNA basal, mostrou significativa associação com inferior sobrevida livre de progressão (HR,3,41; CI. 1,24-9,37: P=0,02), além de uma pior sobrevida global (HR,2,78; CI, 1,09-7,11; P=0,03) e revelou propensão de baixa taxa de resposta em comparação com os pacientes WT (0% vs.36,4%; P=0,09).

O estudo 2, de Shitara *et al*, comparou o uso de panitumumabe mais fluorouracil, leovorina e irinotecano (FOLFIRI) com bevacizumabe mais FOLFIRI como quimioterapia para pacientes com mCCR de exon 2 KRAS do tipo selvagem (wt) e objetivou explorar os valores de oncogenes de ctDNA e biomarcadores circulantes.

Trata-se de um estudo multicêntrico, aberto e randomizado de fase II, que aconteceu entre abril 2011 e fevereiro 2014, a amostra era formada por 121 pacientes, 2 pacientes de cada braço do estudo foram excluídos devido a inelegibilidade da amostra. Dessa forma, o conjunto de análise completa, inclui 59 pacientes no braço 1 FOLFIRI mais panitumumabe que teve um tempo médio de acompanhamento de 15,4 meses, e SG mediana de 16,2 meses e 58 pacientes no braço 2 FOLFIRI mais bevacizumabe, com acompanhamento médio de 13,4 e OS mediana de 13,4 (HR,1,16; IC 95%, 0,75-180). Dentre as análises de OS ou PFS a partir de fatores clínicos e patológicos, notou-se possíveis interações entre histórico de cirurgia anterior e resultado do tratamento em OS, além de fatores como idade e duração da quimioterapia mostrarem interação em PFS.

Mutações RAS ou BRAF no ctDNA foram identificadas em um total de 19 pacientes (17,4%) sendo 14 referentes a mutação RAS ou mutações BRAF em 5 pacientes. Dessa forma, os pacientes que apresentaram qualquer mutação em RAS ou BRAF tiveram uma pior OS com FOLFIRI mais panitumumab se comparado ao braço FOLFIRI mais bevacizumab (mediana correspondente a 5,4 vs 8,2 meses; HR, 0,42). Além disso, OS foi melhor observada em pacientes que eram WT para os genes examinados no braço 1 do que aqueles do braço 2 (mediana 18,9 vs 16,1 meses), o que resultou em uma interação significativa (p para interação= 0,026). De

acordo com as observações do estudo uma possível interação entre mutações oncogênicas e tratamento foi notada para PFS ($p=0,054$).

Tabela 1 - Características iniciais dos pacientes

Características	FOLFIRI panitumumabe (n=59)		FOLFIRI + bevacizumabe (n=58)	
	n	%	n	%
Idade				
<65	34	57,6	29	50
65 ou mais	25	42,4	29	50
Tratamento prévio de 1º linha				
FOLFOX + bevacizumabe	45	76,3	45	77,6
CapeOX+bevacizumabe	14	23,7	12	20,7
SOX+bevacizumabe	0	0	1	1,7

CapeOX: capecitabina + oxaliplatina; **FOLFOX:** combinação de fluorouracil, leucovorina e irinotecano;
SOX: oxaliplatina

Fonte: adaptação de SHITARA *et al.*, 2016.

O estudo 3, de Siravegna e colaboradores, buscou analisar a evolução de pacientes com metástases individuais no decorrer do tratamento para descobrir possíveis determinantes de resistência, a análise do ctDNA evidenciou alterações associadas à resistência em pacientes refratários. Além de observar mecanismos moleculares de resistência ao bloqueio duplo de HER2 em pacientes com CCR por meio da biópsia líquida.

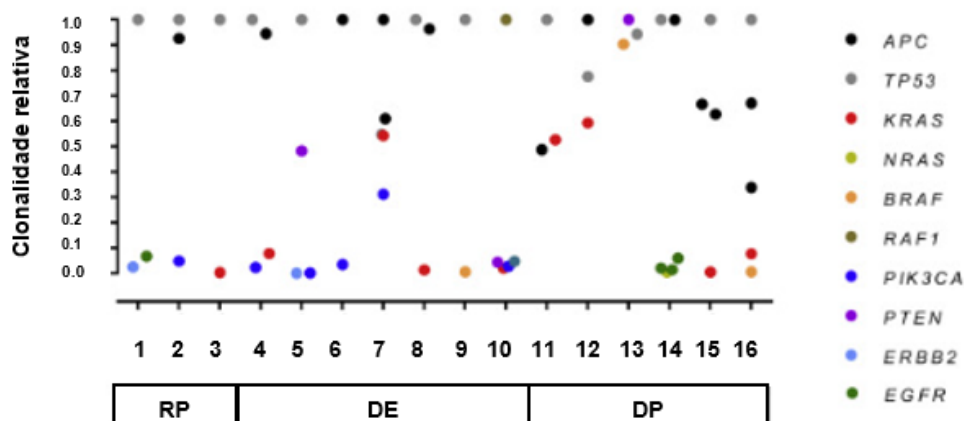
É um estudo retrospectivo do projeto HERACLES, a amostra da pesquisa contou com 30 pacientes, destes, 2 alcançaram resposta completa (RC), 6 tiveram resposta parcial (PR), 15 apresentaram doença estável (SD) e 7 não se beneficiaram da terapêutica e mostraram progressão da doença (DP). Dessa forma, a figura 3 traz as características genéticas e a resposta terapêutica de acordo com as alterações encontradas. As amostras de sangue foram obtidas antes do tratamento e a cada 15 dias durante a terapia. Em 52 amostras de plasma, foram

realizados o sequenciamento de DNA de próxima geração (NGS), que corresponde a amostra de 29 dos 30 participantes, no qual utilizou o painel do NGS de DNA do tumor circulante de 73 genes (ctDNA) específicos. Sendo que 29/52 amostras foram coletadas na linha de base e 23 foram coletadas na progressão.

Através da avaliação do ctDNA, alterações genéticas foram encontradas em 50 das 52 amostras do estudo, essas evidenciaram a presença de mutações KRAS, NRAS, PIK3CA, BRAF, EGFR, ERBB2, MARP2K1 E MET e/ou mudança no número de cópias. A alteração do número de cópias no ERBB2a esteve presente em 51 das 52 amostras, com sensibilidade de 97,9% (IC de 95%, 87,2-99,8%). Já as alterações de RAS/RAF foram observadas na linha de base em 6 de 7 pacientes com resposta refratária, porém somente 3 de 22 casos apresentaram benefício clínico, com isso a via MAPK se destaca como relevante e principal mediador da resistência ao anti-HER2.

As amostras de sangue que apresentaram mutações na linha de base tiveram frequência de alelos variantes (VAFs) mais altos em genes como KRAS e BRAS, conferiam resistência a agentes direcionados no mCCR. A dinâmica dos alelos APC, TP53 e ERBB2 acompanhou a resposta clínica do paciente, aumentando com a progressão e diminuindo à medida que havia resposta ao tratamento.

Figura 3: Status de clonalidade das alterações genéticas encontradas no sangue



Legenda: RP: resposta parcial; DE: doença estável; DP: doença progressiva

Fonte: Extraído e adaptado de SIRAVEGNA *et al.*, 2018.

O estudo 4, de Spindler et al, demonstra a relevância clínica das mutações no KRAS (códon 12 e 13) quando detectadas no plasma se comparados a tecido tumoral em pacientes com mCCR que foram tratados antes com terapia anti-EGFR, cetuximab e irinotecano, obtidas pré-tratamento. Além de avaliar a concentração de cfDNA total correlacionando ao desfecho clínico do paciente.

É um estudo multicêntrico prospectivo de fase II, no qual pacientes com mCCR resistentes à quimioterapia comprovada através de exames histopatológicos e funções orgânicas adequadas foram incluídos. A partir disso, os pacientes que possuíam resistência ao 5-FU, oxaliplatina e irinotecano fizeram uso de irinotecano 180mg/m² e cetuximab 500mg/m² até o avanço da doença ou toxicidade inaceitável. Valores de p bilateral foram considerados significantes quando menor que 0,05.

A amostra do estudo foi de 140 pacientes, 7 apresentaram amostras de baixo volume e 133 passaram para detecção confiável de mutações. Com isso, 30 pacientes apresentavam mutações KRAS no plasma e 103 possuíam status KRAS wt antes da terapia. A taxa de controle da doença foi de 70% em pacientes com mutações tumorais KRAS, porém acentuadamente menor (50%) naqueles com mutações KRAS detectadas no plasma.

A análise desse status de mutação KRAS no plasma demonstrou um efeito prejudicial elevado seja em relação PFS seja em termos de OS, à medida que não houve diferença no OS quando analisado o status de KRAS do tecido tumoral. Na análise multivariada, somente o status de KRAS no plasma permaneceu como um forte fator prognóstico para OS e PFS com um HR de 2,98 (IC 95% 1,53-5,80, p=0,001) e 2,84 (1,46-5,53, p=0,002), respectivamente. A presença de KRAS em tecidos tumorais não demonstrou relação com a sobrevida.

Além disso, o nível basal de cfDNA foi relativamente maior em pacientes que apresentaram um resultado ruim ao tratamento. Assim a avaliação do valor prognóstico do cfDNA demonstrou que os níveis baixos de cfDNA contribuíram para uma PFS e OS mais longos, enquanto o aumento do número de alelos diminui a sobrevida mediana e conseqüentemente uma sobrevida mais curta. O PSF HR para pacientes com níveis de cfDNA altos foi de 1,52 (IC 95% 0,99-2,35, p=0,03) e OS HR 2,18 (IC 95% 1,34-3,55 p<0,00001), isso indica um forte efeito prejudicial sobre a sobrevida dos pacientes.

Quadro 5 - Características dos pacientes

	Pacientes N=140	Valor de p
Status de mutação do tumor		0,42
Tipo selvagem	92	
Mutação KRAS	48	
Status de mutação do plasma		0,06
Tipo selvagem	103	
Mutação KRAS	30	

Fonte: Adaptado de SPINDLER *et al.*, 2015.

O estudo 5, de Toledo e colaboradores, é um ensaio clínico prospectivo que traz a biópsia líquida como ferramenta de monitorização de pacientes com mCCR de KRAS do tipo selvagem (wt) não tratados e que poderiam ser candidatos a terapia de primeira linha (FOLFIRI mais cetuximab).

Uma amostra de 25 pacientes com mCCR KRAS wt fizeram parte do estudo, os pacientes receberam tratamento de primeira linha com cetuximab (400mg/m²) e FOLFIRI (irinotecano ,180mg/m²; ácido fólico, 400mg/m² e fluorouracil, 400mg/m²). Com isso, todos foram avaliados de acordo com a genotipagem do tumor, sendo que 23 foram analisados em termos de resposta ao medicamento e ao resultado clínico, dois pacientes foram excluídos pois as amostras do plasma foram insuficientes. Quando incluídos somente pacientes sem a detecção de mutações KRAS/NRAS/BRAF/PIK3CA antes do tratamento 89,5% se beneficiaram do tratamento.

Com isso, 17 casos demonstram benefícios clínicos, sendo 3 pacientes com doença estável, 11 com resposta parcial e 3 com resposta completa, já aqueles que não apresentaram benefícios clínicos, 3 possuíam mutações BRAF e 1 dos

pacientes carregava mutações BRAF/PIK3CA, essas alterações foram detectadas antes do tratamento, presentes no cfDNA no plasma. Em seguida, analisou-se as alterações nos níveis de mutação do cfDNA no decorrer do tratamento com FOLFIRI-cetuximab que foram relacionados aos resultados clínicos dos pacientes. Dessa forma, 4 pacientes apresentaram mutações BRAF/PIK3CA antes do início do tratamento, no cfDNA, observou-se KRAS e PIK3CA apresentaram mutações em três e um paciente adicional, respectivamente.

O aumento rápido nos alelos mutantes circulantes, estava associado a resultados clínicos ruins em indivíduos WT mCCR e buscou-se investigar se esse mesmo padrão acontecia em pacientes com mCCR com mutações antes do tratamento. Avaliou-se o status cfDNA basal dos 4 pacientes com mutações BRAF ou BRAF/PIK3CA, estes apresentaram rápida evolução clínica. Depois de uma breve diminuição dos níveis de mutação no DNA plasmático após o início do tratamento, observou posteriormente um aumento dos níveis de mutação cfDNA durante o tratamento (aumento médio de 376%). Dos 4 pacientes, um apresentava níveis de cfDNA mutados, com BRAF de 3,64% e PIK3CA de 2,62%, níveis esses que diminuíram para 0,11% e 0,06%, três meses depois do início do tratamento, no entanto, os níveis de cfDNA nas respectivas mutações aumentaram para 16,07% e 10,47% após 6 meses o que coincidiu com a deterioração clínica.

Outro paciente apresentou aumento dos níveis de cfDNA e BRAF de 488% após um mês de tratamento. Dois pacientes mostraram um aumento muito rápido e uma explosão de mutação do cfDNA que foi seguida de intensa deterioração clínica e rápida disseminação de metástase. Dessa forma, as sobrevidas dos pacientes com mCCR foram significativamente diferentes ao se analisar o status genético. Aqueles com mutação BRAF antes do tratamento e os que sofreram com eventos de explosão de mutação do ctDNA progrediram mais rápido do que os com status de cfDNA wt continuado e os que mostraram aumento nos níveis de mutação do cfDNA que foi reduzido através do retratamento com FOLFIRI- cetuximab.

Tabela 2 - Informações clínicas e genéticas de alguns pacientes do estudo

Paciente/ tumor	Status do estudo	Biópsia líquida e resultados clínicos	Interpretação
1- CCR	Vivo com a doença	CfDNA em todas as análises de BL	Status ctDNA associado a resposta prolongada ao FOLFIRI-cetuximabe ou aumento moderado da mutação no ctDNA associado a resistência
2- CCR	Morto	Explosão de mutação cfDNA KRAS e mutação somática BRAF após tratamento com cetuximabe	Explosão de ctDNA KRAS e BRAF associadas a rápida deterioração clínica
3- CCR	Vivo sem doença	Continuação do cfDNA em todas as análises de BL	Status continuado associado a resposta prolongada a FOLFIRI-cetuximabe ou mutação rara associada a resistência causando progressão da doença

Fonte: Adaptação de Toledo et al 2016.

O artigo 6, de Unseld e seus auxiliares, é um estudo exploratório prospectivo de biomarcador de fase II, tinha por objetivo investigar uma possível pertinência do ctDNA como marcador prognóstico e/ou preditivo de pacientes tratados com regorafenibe.

A amostra de 30 pacientes com mCCR foi inscrita no estudo. A coorte inclui mais homens (n=20) do que mulheres (n=10) com idade média de 60 anos (33-78). Além disso, o ctDNA foi avaliado no plasma em dois momentos, o primeiro, 2 semanas antes do tratamento e o segundo a cada 4 semanas após o início do tratamento através do sequenciamento de próxima geração. Cobrindo cerca de 68 genes específicos, como genes frequentemente mutados no CCR, APC, BRAF,

KRAS, NRAS ou TP53. Com isso, um total de 21 pacientes apresentou doença progressiva e não responderam ao tratamento com regorafenibe, a OS média do início do diagnóstico foi de 41 meses (IC 95%:32-50), já a OS mediana foi de 4,8 meses e o PFS mediano de 2,1 meses.

A mutação KRAS foi detectada no DNA plasmático de 13/14 pacientes. Na análise do ctDNA, foi identificado 3 casos, em que as mutações KRAS não foram detectadas no tecido, mas houve a detecção no plasma. Esses 3 pacientes fizeram tratamento com cetuximabe, e essas mutações foram possivelmente adquiridas como consequência de terapia prévia dirigida por EGFR. Além das mutações KRAS, outros genes frequentemente mutados foram detectados, como o APC, SMAD, TP53 e PIC3CA.

As estatísticas foram usadas para avaliar variáveis clínicas e genéticas associadas ao nível basal de ctDNA. Em dois pacientes, mutações puderam ser identificadas no final do tratamento e se observou um aumento ctDNA durante o tratamento. Nesse sentido, 6/13 pacientes que possuíam amostra no final do tratamento e que foram analisadas, demonstraram a presença de novas mutações que não estavam presentes no início do tratamento.

Foram identificados em 12/30 pacientes genes condutores bem definidos no CCR, sendo amplificação de ERBB2, KRAS, RET e deleções. A fração tumoral (IFT) mostrou uma relação de significância com OS, o ITF>5% aumentou para 2,9 o risco de morte quando calculada desde a data do diagnóstico ($P=0,027$, IC 95%: 1,1-7,5) ou tratamento inicial com regorafenibe ($P=0,028$). Com isso, a avaliação e monitoramento dos níveis de ctDNA, através da análise de várias alterações genéticas é uma ferramenta promissora e ter um potencial significativo em casos de CCR em estágios avançados.

O estudo 7, de Pastor e seus assistentes, é um estudo de fase II multicêntrico, prospectivo aberto e de braço único de pacientes com mCCR refratário a terapia padrão. Buscou-se avaliar a resposta tumoral em 2 meses de tratamento com regorafenibe. Analisou-se ainda a dinâmica do cfDNA total e concentração de ctDNA mutante durante o tratamento instituído em termos de sobrevida global (OS) e sobrevida livre de progressão (PSF).

Dessa maneira, dos 55 pacientes aptos, 12 foram descartados pois suas amostras basais não cumpriram os requisitos ou foram perdidas no transporte, assim 43 pacientes, foram incluídos para a análise de cfDNA, todos eram refratários aos

agentes citotóxicos padrão disponíveis (anti-EGFR ou antiangiogênicos). Possíveis alterações no nível total de cfDNA circulante foram avaliadas em 136 amostras de plasma, realizou-se essas análises pré- tratamento e pós tratamento. Considerando as mutações pontuais incluiu-se códons KRAS 12, 13, 61, códons NRAS 12,13 e BRAF. Valores de $p < 0,05$ foram estatisticamente significantes, o limiar de 26 ng/ml foi escolhido como base para a cfDNA.

A maioria dos pacientes (97,7%) foi previamente tratada com agentes antiangiogênicos (bevacizumab ou aflibercept), ao passo que 22/43 receberam terapia prévia com anticorpo monoclonal anti-EGFR (cetuximab ou panitumumab). No começo do estudo, 33/43 pacientes apresentavam mutações RAS/BRAF, dos quais 30 tinham mutações pontuais em RAS, 2 mutações pontuais em BRAF e 1 paciente tinha mutações KRAS e BRAF, já a análise de mutações no ctDNA de 27 pacientes, demonstrou RAS e/ou BRAF em 25 das amostras. A análise do plasma revelou grande heterogeneidade clonal dos tumores.

Ao se comparar a relação entre marcadores de DNA circulantes dentre os 41 pacientes avaliados, os que obtiveram melhor controle e resposta do tumor (N=33), exibiram uma concentração basal mediana de cfDNA de 19,4 ng.ml se comparado aqueles com 48,77 ng.ml do tumor em progressão (N=8; $P=0,078$). Sendo assim, pacientes com cfDNA > 26ng.ml possuíam um OS menor se comparados com aqueles com uma concentração abaixo do limiar. As concentrações de ctDNA mutante RAS maiores que 2ng.ml tiveram OS mais curto do que aqueles abaixo do limiar ($p=0,0154$). Desse modo, a associação entre as concentrações de OS e cfDNA evidenciou uma correlação positiva entre os dois, com isso quanto maior a concentração basal de cfDNA, maior o risco de morte.

Durante o tratamento, observou-se que os pacientes sem o controle da doença tinham concentrações mais altas de cfDNA no final do tratamento do que os que apresentaram doença estável e melhor resposta ($P=0,0076$). Nos pacientes com melhor resposta e controle tumoral as concentrações medianas de cfDNA ficaram entre 19,4-36,67 ng/ml, nos que tiveram progressão as concentrações medianas de cfDNA ficaram entre 48,77-239,2 ng/ml.

Tabela 3 - Características dos pacientes e dos tratamentos

	TEXCAN População N=55	População sem análise de cfDNA	População com análise de cfDNA
Média de idade	62,7 (52,6-68,9)	67,7 (59,7-70)	62,1 (50,5-68,3)
Status do genótipo do tumor			
KRAS TER	34	7	27
Mutante KRAS	21	5	16
NRAS WT	34	8	26
Mutante NRAS	3	0	3
Mutante BRAF	6	1	5
Tratamento antiangiogênico prévio	54	12	42
Tratamento anti- EGFR	28	6	22

TEXCAN: é um estudo multicêntrico

Fonte: adaptação de PASTOR *et al.*, 2021.

8. DISCUSSÃO

O CCR ainda se configura como uma das principais causas de mortes relacionada ao câncer no mundo. Nota-se em casos mais avançados do CCR mecanismos de resposta e resistência ao tratamento padrão, que são baseados em quimioterapia e regimes direcionados, a exemplo dos anticorpos monoclonais anti-EGFR. Entretanto, apesar das combinações de drogas, a sobrevida desses pacientes não ultrapassa 30 meses. Tumores que apresentam mutações ativas em genes KRAS ou BRAF são comumente refratários ao bloqueio de EGFR (CORTI *et al.*, 2019). Dessa maneira, a biópsia líquida traz novas abordagens para o tratamento e para o monitoramento da doença, através da análise de painéis genômicos e mutações que podem estar presentes antes ou após o tratamento dos pacientes.

A cerca da biópsia líquida e seus componentes, nota-se que o DNA livre de células (cfDNA) vai ser liberado na corrente sanguínea através de mecanismos patológicos e fisiológicos. Em pacientes com câncer, uma fração do cfDNA presente no sangue é derivada do tumor, e vai ser conhecido como ctDNA. Este pode

fornecer informações relevantes em termos de identificação de alterações genéticas que possam ocorrer na cascata carcinogênica, além de monitorar a carga tumoral e avaliar a resposta terapêutica e refratariedade da doença (HOLM *et al.*, 2020).

A partir da análise dos resultados dessa revisão narrativa, observa-se que há poucos ensaios clínicos que abordam a relação de biomarcadores através da biópsia líquida tanto em termos de monitorização quanto em relação ao tratamento de pacientes com mCCR nos últimos anos. Através dos estudos publicados, foi observado variações nas análises dos medicamentos quimioterápicos implementados e o tipo de resposta dos pacientes de acordo com os tipos de mutações presentes.

Todos os estudos trouxeram pacientes com mutações KRAS, BRAF no ctDNA, alguns traziam análises de outras mutações presentes como APC, EGFR, ERBB2, NRAS, MAPK2K1, MET, PIK3CA e TP53. Com isso, mutações em KRAS e BRAF levam a tumorigênese através da ativação da via MAPK, que pode contribuir com a hiperproliferação no epitélio, além de estarem associadas a via PI3K, que desempenha um papel relevante na interação tumor-hospedeiro, aumentando angiogênese e facilitando o estabelecimento de metástases (KOLENČÍK *et al.*, 2020).

Diante dos artigos selecionados, os estudos 1, 2, 3, 4 e 5 incluem pacientes com mCCR que apresentam RAS do tipo selvagem (WT) no momento do diagnóstico. A partir disso, a terapia quimioterápica implementada foi desde a aplicação de medicamentos anti-EGFR (cetuximabe), anti- VEGF, anticorpos monoclonais inibidores de EGFR, agentes antineoplásicos (irinotecano), além de regimes combinados como o FOLFIRI, respectivamente. Os estudos 6 e 7 avaliaram os níveis basais do ctDNA, e sua dinâmica em termo de monitorização, sobrevida e prognóstico de pacientes com mCCR.

Os estudos 1 e 2 apresentaram amostras de pacientes que possuíam mutações na via RAS ou BRAF em seu cfDNA/ctDNA basal. No primeiro estudo, 16 pacientes apresentaram aberrações no cfDNA, essas alterações demonstraram uma inferior sobrevida livre de progressão ($p=0,02$) e uma pior sobrevida geral ($p=0,03$) se comparado a pacientes com WT ($p=0,09$). O estudo demonstra ainda que os pacientes que possuem essas aberrações não tem benefício terapêutico com anti-EGFR. No segundo estudo, mutações em RAS ou BRAF detectada no ctDNA estavam presentes em 19 pacientes, nestes foi observada uma melhor OS para os

que faziam tratamento com panitumumabe mais FOLFIRI e que eram WT para os genes examinados ($p=0,026$). Ainda voltado ao tratamento quimioterápico padrão, no estudo 4, pacientes com mCCR tratados com anti-EGFR e irinotecano foram avaliados em relação a presença de mutações em KRAS presentes no plasma e como a concentração de ctDNA pode interferir no desfecho clínico dos selecionados, indivíduos com cfDNA baixos apresentaram PFS e OS maiores, já o aumento dos níveis de alelos desse DNA representam uma pior OS ($<0,0001$) e PSF ($<0,03$). A presença de mutação KRAS no plasma revela um efeito desfavorável em termos de PFS e OS.

No 3º artigo, avaliou-se por meio da biópsia líquida e análise do ctDNA de pacientes com mCCR a evolução do tratamento quimioterápico e possíveis mecanismos de resistência. Das 52 amostras de plasma analisadas, dos 29 pacientes do estudo, 50 apresentaram algum tipo de mutação no ctDNA, seja em RAS seja no número de cópias, a exemplo do ERBB2. Além disso, 6 dos 7 pacientes com resposta refratária possuíam aberrações em RAS/RAF. O aumento dos alelos variantes em KRAS e BRAF contribuíam para resistência a tratamentos direcionados. Dessa forma, o CCR, por apresentar um perfil genético muito heterogêneo e mutável, que adquire novas mutações ao longo do desenvolvimento tumoral, pode se beneficiar da biópsia líquida em termos de monitoramento da doença e resposta ao tratamento, através da observação de novas mutações no ctDNA (LÁZARO *et al.*, [s. d.] 2020).

Já Toledo e auxiliares, fizeram uso da BL como mecanismo de monitorização para indivíduos com mCCR KRAS WT que podem ser candidatos a terapia de primeira linha com FOLFIRI e cetuximabe. Com isso, 23 pacientes foram inclusos sendo observado o resultado clínico e a resposta ao tratamento. Pacientes que não apresentaram mutações BRAF/KRAS/NRAS/PIK3CA antes do tratamento obtiveram melhor resposta, os 4 pacientes que possuíam essas mutações não demonstraram resposta favorável, mostrando uma rápida evolução clínica. Durante o tratamento foi observado um aumento do cfDNA nessas mutações que culminaram com deterioração clínica dos pacientes. Nesse sentido, ao se analisar o status genético desses pacientes, nota-se respostas variadas em termos de sobrevida, isso porque para aqueles com mutações BRAF com expansão de mutações no ctDNA a deterioração clínica foi mais significativa do que para os que tinham status cfDNA wt.

Os estudos 6 e 7 consideraram investigar a pertinência do ctDNA em pacientes que utilizam da regorafenibe como tratamento. No artigo 7 os indivíduos com mCCR eram refratários a terapia padrão. O estudo de Unseld e assistentes cobriu o sequenciamento de 68 genes específicos, sendo os genes mais mutados foram APC, BRAF, KRAS, NRAS e TP53. Nota-se, em uma parcela dos indivíduos analisados, que durante e após o final do tratamento houve um aumento do ctDNA e a presença de novas mutações. O aumento da fração tumoral (IFT) demonstrou valores significantes em relação à OS, com IFT>5% aumentando em 2,9 o risco de morte em casos avançados.

Já no trabalho 7, a OS e PSF foram avaliadas a partir da dinâmica do ctDNA total e a concentração mutante dessa amostra. Dos 43 incluídos para análise do cfDNA todos eram refratários a terapia padrão e 136 amostras de plasma foram observadas. Dessa forma, 33 pacientes apresentavam mutações em RAS ou BRAF ou possuíam as duas mutações. A concentração basal do cfDNA de 19,4 ng.ml demonstrou um melhor controle e resposta tumoral (N=33), já aqueles com valores maiores que 48 ng.ml com tumores em progressão, obtiveram pior controle e uma OS menor. Valores de cfDNA mutante em RAS maiores que 2 ng.ml demonstraram OS mais curta ($p=0,0154$), nesse sentido, quanto maior for a concentração basal de cfDNA maiores serão os riscos de mortalidade. Estudos demonstram que indivíduos com mCCR com baixos níveis de cfDNA possuem um melhor prognóstico se comparados aos que estão aumentados. Além disso, pacientes com mutações nos alelos RAS na BL apresentam piores resultados em detrimento de pacientes RAS do tipo selvagem (NORMANNO *et al.*, 2018).

Um número crescente de evidências moleculares demonstra a heterogeneidade intramural do CCR e o dinamismo da evolução clonal exercida pelos tratamentos. Estudos apontam a relevância biológica do ctDNA como uma ferramenta sensível para entender a complexidade do tumor e como método potencial para direcionar mecanismo de adaptação à terapia (CREMOLINI *et al.*, 2018). A partir dos estudos selecionados, é perceptível notar o quanto a biópsia líquida pode ser uma técnica promissora nos casos de câncer colorretal metastático, visto que é um método menos invasivo, que traz uma análise mais abrangente sobre as características genéticas do tumor. Refletindo, dessa forma, para uma dinâmica mais eficiente em termos de monitorização e resposta ao tratamento pré-definido, assim como o conhecimento mais amplo sobre as mutações e novas aberrações

que podem aparecer durante a abordagem terapêutica, podendo instituir tratamentos direcionados, prevendo a refratariedade da doença e melhorando a sobrevida global desses pacientes.

Diante disso, por meio dos estudos apresentados, observa-se que a biópsia líquida é uma ferramenta promissora em termos de monitoramento e resposta ao tratamento de pacientes com câncer colorretal avançado. A análise do ctDNA em série pode detectar mecanismos de resistência secundária que não foram identificados por biópsias de tecido, prevendo assim o tempo e a causa da falha de tratamento (Bl *et al.*, 2020). Entretanto, são necessários mais estudos voltados para o uso da BL em pacientes com CCR, se utilizando de uma população amostral maior, a fim de prever de forma mais efetiva esses mecanismos de resistência e melhorar a resposta de pacientes quimio-refratários. Além disso, é necessária uma padronização na técnica, seja na parte de coleta para evitar perdas de amostras seja nos métodos que irão ser utilizados, para melhor avaliação qualitativa e quantitativa dos estudos.

9. CONCLUSÃO

Sendo assim, diante dos resultados levantados, a biópsia líquida se configura como uma técnica não invasiva em expansão que pode auxiliar no monitoramento e tratamento de pacientes com CCR, trazendo um conhecimento mais amplo em relação a heterogeneidade tumoral e mecanismo de resistência terapêutica que os pacientes estão sujeitos, devido a mutabilidade do CCR.

No entanto, mais estudos clínicos são necessários para ampliar a compreensão sobre esses biomarcadores e como eles podem auxiliar de forma positiva no prognóstico e na tomada de decisão clínica dos pacientes com CCR.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Carolina Vieira De *et al.* Role of diet and gut microbiota on colorectal cancer immunomodulation. [s. l.], v. 9327, n. 2, 2019.

American Joint Committee on Cancer. Chapter 20 - Colon and Rectum. In: AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017. Disponível: <https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/detection-diagnosis-staging/staged.html#references>

BI, Feifei *et al.* Circulating tumor DNA in colorectal cancer : opportunities and challenges. [s. l.], v. 12, n. 3, p. 1044–1055, 2020a.

BI, Feifei *et al.* Circulating tumor DNA in colorectal cancer: Opportunities and challenges. **American Journal of Translational Research**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 1044–1055, 2020b.

CASTRO-GINER, Francesc *et al.* Cancer Diagnosis Using a Liquid Biopsy: Challenges and Expectations. **Diagnostics**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 31, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/diagnostics8020031>

CORTI, Giorgio *et al.* A Genomic Analysis Workflow for Colorectal Cancer Precision Oncology. **Clinical Colorectal Cancer**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 91-101.e3, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2019.02.008>

DE ROSA, Marina *et al.* Genetics, diagnosis and management of colorectal cancer (Review). **Oncology Reports**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 1087–1096, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/or.2015.4108>

DEKKER, Evelien *et al.* Colorectal cancer. **The Lancet**, [s. l.], v. 394, n. 10207, p. 1467–1480, 2019. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)

DING, Yuhan *et al.* Perspectives of the Application of Liquid Biopsy in Colorectal

Cancer. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/6843180>

DOMÍNGUEZ-VIGIL, Irma G. *et al.* The dawn of the liquid biopsy in the fight against cancer. **Oncotarget**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 2912–2922, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23131>

FERN, Diego *et al.* Clinical Perspective and Translational Oncology of Liquid Biopsy. [s. l.], p. 1–17,

ID, MATILDA HOLM *et al.* PLOS ONE Detection of KRAS mutations in liquid biopsies from metastatic colorectal cancer patients using droplet digital PCR , Idylla , and next generation sequencing. [s. l.], p. 1–13, 2020.

INCA. Estimativa 2020. Acesso em 15 de agosto de 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/sintese-de-resultados-e-comentarios>

INCA. Estadiamento. Acesso em 15 de agosto de 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estadiamento>

JIA, Shiyu *et al.* Clinical and biological significance of circulating tumor cells, circulating tumor DNA, and exosomes as biomarkers in colorectal cancer. **Oncotarget**, [s. l.], v. 8, n. 33, p. 55632–55645, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17184>

KHAN, Khurum H. *et al.* Longitudinal liquid biopsy and mathematical modeling of clonal evolution forecast time to treatment failure in the prospect-c phase ii colorectal cancer clinical trial. **Cancer Discovery**, [s. l.], v. 8, n. 10, p. 1270–1285, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-0891>

Knight, S. R., Shaw, C. A., Pius, R., Drake, T. M., Norman, L., Ademuyiwa, A. O., ... Nakazwe, M. (2021). Global variation in postoperative mortality and complications after cancer surgery: a multicentre, prospective cohort study in 82 countries. *The Lancet*, 397(10272), 387–397. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00001-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00001-5)

KUHN, Peter; HICKS, James. Liquid Biopsy in Colorectal Carcinoma : [s. l.],

LEOW, Yeen Chin *et al.* Pathological Complete Response After Neoadjuvant Therapy in Rectal Adenocarcinoma: a 5-Year Follow-up. **Indian Journal of Surgery**, [s. l.], 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12262-021-02945-5>

LIMA, Jéssica Ferreira de *et al.* Diagnóstico E Estadiamento : Revisão Colorretal Cancer , Diagnosis and. **Arquivos do MUDI**, [s. l.], p. 315–329, 2019.

MARCUELLO, María *et al.* Molecular Aspects of Medicine Circulating biomarkers for early detection and clinical management of colorectal cancer. **Molecular Aspects of Medicine**, [s. l.], v. 69, n. January, p. 107–122, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.06.002>

MÁRMOL, Inés *et al.* Colorectal carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 18, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms18010197>

MARTIN, Francis L. *et al.* Age-Related and Gender-Related Increases in Colorectal Cancer Mortality Rates in Brazil Between 1979 and 2015: Projections for Continuing Rises in Disease. **Journal of Gastrointestinal Cancer**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 280–288, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12029-020-00399-8>

MASFARRÉ, Laura *et al.* Ctdna to guide adjuvant therapy in localized colorectal cancer (Crc). **Cancers**, [s. l.], v. 13, n. 12, p. 1–20, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cancers13122869>

MASI, Gianluca *et al.* Rechallenge for Patients With. [s. l.], p. 1–8, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.5080>

NORMANNO, N. *et al.* RAS testing of liquid biopsy correlates with the outcome of metastatic colorectal cancer patients treated with first-line FOLFIRI plus cetuximab in

the CAPRI-GOIM trial. **Annals of Oncology**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 112–118, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx417>

PASCHKE, Stephan *et al.* Are colon and rectal cancer two different tumor entities? A proposal to abandon the term colorectal cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 19, n. 9, p. 1–24, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms19092577>

PASTOR, Brice *et al.* Monitoring levels of circulating cell-free DNA in patients with metastatic colorectal cancer as a potential biomarker of responses to regorafenib treatment. **Molecular Oncology**, [s. l.], v. 15, n. 9, p. 2401–2411, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12972>

REALI, Claudia *et al.* Influence of incorrect staging of colorectal carcinoma on oncological outcome: are we playing safely? **Updates in Surgery**, [s. l.], 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13304-021-01095-3>

SHITARA, Kohei *et al.* Randomized study of FOLFIRI plus either panitumumab or bevacizumab for wild-type KRAS colorectal cancer-WJOG 6210G. **Cancer Science**, [s. l.], v. 107, n. 12, p. 1843–1850, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cas.13098>

SIMON, Karen. Colorectal cancer development and advances in screening. **Clinical Interventions in Aging**, [s. l.], v. 11, p. 967–976, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/CIA.S109285>

SIRAVEGNA, Giulia *et al.* Radiologic and Genomic Evolution of Individual Metastases during HER2 Blockade in Colorectal Cancer. **Cancer Cell**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 148-162.e7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.06.004>

SPINDLER, Karen Lise Garm *et al.* Clinical utility of KRAS status in circulating plasma DNA compared to archival tumour tissue from patients with metastatic colorectal cancer treated with anti-epidermal growth factor receptor therapy. **European Journal of Cancer**, [s. l.], v. 51, n. 17, p. 2678–2685, 2015. Disponível em:

em: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.06.118>

TOLEDO, Rodrigo A. *et al.* Clinical validation of prospective liquid biopsy monitoring in patients with wild-type RAS metastatic colorectal cancer treated with FOLFIRI-cetuximab. **Oncotarget**, [s. l.], v. 8, n. 21, p. 35289–35300, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13311>

UMWALI, Yvette *et al.* Roles of exosomes in diagnosis and treatment of colorectal cancer. **World Journal of Clinical Cases**, [s. l.], v. 9, n. 18, p. 4467–4479, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i18.4467>

UNSELD, Matthias *et al.* A higher ctDNA fraction decreases survival in regorafenib-treated metastatic colorectal cancer patients. Results from the regorafenib's liquid biopsy translational biomarker phase II pilot study. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 148, n. 6, p. 1452–1461, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ijc.33303>

VACANTE, Marco *et al.* The liquid biopsy in the management of colorectal cancer: An overview. **Biomedicines**, [s. l.], v. 8, n. 9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines8090308>

Verbanac, D., Čeri, A., Hlapčić, I., Shakibaei, M., Brockmueller, A., Krušlin, B., ... Barišić, K. (2021). Profiling colorectal cancer in the landscape personalized testing—advantages of liquid biopsy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9). <https://doi.org/10.3390/ijms22094327>

WOLF, Andrew M.D. *et al.* Colorectal cancer screening for average-risk adults: 2018 guideline update from the American Cancer Society. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, [s. l.], v. 68, n. 4, p. 250–281, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3322/caac.21457>

XI, Yue; XU, Pengfei. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. **Translational Oncology**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 101174, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101174>

XIE, Hao; KIM, Richard D. The Application of Circulating Tumor DNA in the Screening , Surveillance , and Treatment Monitoring of Colorectal Cancer. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], Disponível em: <https://doi.org/10.1245/s10434-020-09002-7>

YAMADA, Takeshi *et al.* Liquid biopsy for the management of patients with colorectal cancer. **Digestion**, [s. l.], v. 99, n. 1, p. 39–45, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000494411>

YU, Hongyao; HEMMINKI, Kari. Genetic epidemiology of colorectal cancer and associated cancers. **Mutagenesis**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 207–219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mutage/gez022>