Oncologia e Hematologia
Edição XX

Capítulo 4

BIÓPSIA LÍQUIDA EM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS: REALIDADE OU PROMESSA?

RAYANE VALÉRIA DE LIMA CARDOSO[1]
VITÓRIA RÚBIA BERNADES REIS[1]
MARCUS VINÍCIOS NAZARETH DA SILVA[1]
FERNANDA HIPÓLITO SANTOS[1]
MARIANA ZULIANI THEODORO DE LIMA[1]
FELIPE CAVALCANTE SANTOS[1]
GABRIELLE KOVACS POLIZEL[1]
JÚLIA JAPIASSÚ DINIZ DE MEDEIROS[1]
JULIA CORREIA WINTER[1]

[1]Discente – Medicina da Universidade Nove de Julho.

Palavras-chave: *Biópsia Líquida; DNA Tumoral Circulante; Neoplasias Hematológicas.*

DOI: 10.59290/6032910026

EDITORA PASTEUR

INTRODUÇÃO

O perfilamento genômico por biópsia líquida e a análise de DNA tumoral circulante (ctDNA) representam ferramentas de grande relevância e transformação para a medicina de precisão em onco-hematologia. Diferentemente da autópsia tecidual convencional ou do aspirado de medula óssea — procedimentos invasivos e muitas vezes limitados por viés espacial —, o sequenciamento de nova geração (NGS) do ctDNA derivado do plasma permite mapear dinamicamente a carga tumoral total do organismo. A detecção de alterações genéticas em neoplasias hematológicas e linfomas possibilita a identificação de mutações acionáveis, a avaliação da heterogeneidade clonal inter e intralesional e o monitoramento em tempo real da doença residual mensurável (DRM) e da resposta terapêutica (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024; BISIG *et al*., 2025).

A aplicabilidade clínica do ctDNA abrange um amplo espectro de desordens linfoides e mieloides. Em estudos de coorte contendo amostras de neoplasias hematológicas, a análise de biópsia líquida alcançou expressiva taxa de detecção de alterações patogênicas, identificando genes criticamente alterados como TP53, KRAS, MYD88, BTK, BRAF, JAK2, FLT3 e NPM1 (MATA *et al*., 2024; XUE *et al*., 2024). Além disso, observam-se variações significativas na fração alélica somática máxima (MSAF) entre as entidades patológicas: enquanto neoplasias mieloides como a leucemia mieloide aguda (LMA), as síndromes mielodisplásicas (SMD) e as neoplasias mieloproliferativas (NMP) apresentam valores medianos de MSAF elevados, linfomas como o linfoma difuso de grandes células B (DLBCL) e o linfoma de Hodgkin (LH) exibem frações circulantes consideravelmente mais baixas, demandando metodologias de sequenciamento com alta sensibilidade analítica (MATA *et al*., 2024; MACO *et al*., 2022).

No contexto das neoplasias B agressivas e do linfoma de Hodgkin, a quantificação do ctDNA vem se consolidando como um biomarcador prognóstico independente e de precisão. Em metanálises recentes envolvendo o DLBCL, a concentração elevada de ctDNA no *baseline* correlacionou-se com um risco significativamente maior de progressão da doença. A acurácia prognóstica do ctDNA se intensifica ao longo do tratamento: a persistência de ctDNA positivo ao final do esquema terapêutico associa-se a uma elevação drástica no risco de recaída ou óbito. Importante destacar a complementaridade diagnóstica entre o ctDNA e a tomografia por emissão de pósitrons (PET-CT): em pacientes com PET negativo ao fim do tratamento, o ctDNA positivo demonstrou elevada especificidade para a predição de recaída futura, enquanto no PET positivo, um resultado de ctDNA negativo foi capaz de reclassificar o risco e afastar o insucesso terapêutico (FORGHANI *et al*., 2025).

Além das neoplasias linfoides e mieloides agudas, o perfilamento mutacional via ctDNA tem demonstrado utilidade clínica na estratificação e progressão de gamopatias monoclonais e mieloma múltiplo (MM). Observa-se um incremento progressivo no número médio de mutações detectadas via ctDNA à medida que a doença avança da gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS) para o mieloma *smoldering* e o mieloma múltiplo sintomático, apresentando relevante concordância mutacional entre a medula óssea e o plasma no MM. Mutações em RAS/RAF e TP53 mostram-se marcadamente enriquecidas no plasma, com alterações em TET2 atuando como forte preditor de menor sobrevida livre de progressão. Nesse contexto, a integração do ctDNA a outros biomarcadores genômicos e de imagem não apenas amplia a avaliação prognóstica e o diag-

nóstico precoce de clones resistentes subclonais, mas também viabiliza o acompanhamento personalizado minimamente invasivo e contínuo dos pacientes.

O objetivo deste estudo foi compreender de que forma o perfilamento genômico e a análise do ctDNA por biópsia líquida contribuem para a estratificação de risco, o monitoramento da resposta terapêutica e o avanço das terapias de precisão na oncologia hematológica.

MÉTODO

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura realizada por pesquisas na base de dados PubMed. Utilizaram-se os descritores: "*Circulating Tumor DNA", "ctDNA", "Liquid Biopsy", "Hematological Malignancies", "Lymphoma", "Multiple Myeloma*" e "*Leukemia*". Os critérios de inclusão foram: artigos originais, revisões narrativas e sistemáticas com metanálise; publicados em inglês e português, entre 2021 e 2025; disponíveis na íntegra e focados no valor clínico do ctDNA em neoplasias hematológicas. Excluíram-se estudos fora do tema, sem dados sobre a utilidade do ctDNA ou sem acesso ao texto completo. Os artigos selecionados foram submetidos à leitura minuciosa para coleta de dados. Os resultados foram apresentados de forma descritivo-qualitativa, abordando: sensibilidade, doença residual mensurável (MRD), estratificação de risco, monitoramento terapêutico, padronização técnica e vantagens frente às biópsias invasivas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Biópsia líquida e ctDNA: o que está sendo medido?

A biópsia líquida representa uma estratégia de análise de componentes tumorais presentes em fluidos biológicos, principalmente sangue periférico. Entre os principais analitos estão o DNA livre circulante (cfDNA), sua fração derivada das células neoplásicas, denominada DNA tumoral circulante (ctDNA), células tumorais circulantes e vesículas extracelulares. No contexto das neoplasias hematológicas, o ctDNA tem especial interesse porque permite acessar informações moleculares relacionadas ao tumor por meio de uma coleta sanguínea, possibilitando avaliações seriadas ao longo da história da doença. O cfDNA é constituído por fragmentos de DNA liberados por diferentes células do organismo, enquanto o ctDNA corresponde à parcela derivada do tumor, podendo carregar mutações somáticas, alterações de número de cópias, rearranjos e outras alterações moleculares relacionadas à neoplasia (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Essa distinção é fundamental. A simples presença de uma variante no plasma não significa, por si só, que ela tenha origem tumoral. Em neoplasias hematológicas, alterações associadas à hematopoese clonal podem ser detectadas no sangue mesmo na ausência de doença neoplásica ativa, tornando a interpretação molecular mais complexa. Assim, o valor clínico do ctDNA depende não apenas da capacidade tecnológica de detectar uma variante, mas também da atribuição correta de sua origem e do contexto clínico em que o resultado é interpretado (MATA *et al*., 2024; XUE *et al*., 2024).

Um dos aspectos mais relevantes dessa tecnologia é sua capacidade de oferecer uma fotografia molecular dinâmica da doença. Enquanto uma biópsia tecidual representa um determinado sítio anatômico em um momento específico, o ctDNA pode refletir alterações provenientes de diferentes focos tumorais e ser acompanhado longitudinalmente por meio de coletas repetidas. Em linfomas, essa característica é particularmente interessante diante da heterogeneidade intra e interlesional, permitindo identificar alterações que podem não estar presentes no material obtido por uma única biópsia (TALOTTA *et al*., 2023; MATA *et al*., 2024).

Da coleta ao resultado: como o ctDNA é analisado?

A utilização clínica do ctDNA depende de uma cadeia técnica que começa antes mesmo da análise molecular. Após a coleta de sangue periférico, o plasma deve ser separado de forma adequada para reduzir a contaminação por DNA genômico derivado de leucócitos. Variáveis como tipo de tubo, tempo até o processamento, temperatura, centrifugação, armazenamento, ciclos de congelamento e descongelamento e método de extração podem modificar a quantidade e a integridade do cfDNA e, consequentemente, influenciar o resultado final (XUE *et al*., 2024).

Após a extração, diferentes plataformas podem ser utilizadas. Métodos baseados em PCR digital, particularmente a *droplet digital PCR* (ddPCR), apresentam alta sensibilidade para variantes previamente conhecidas e podem ser úteis quando há um marcador molecular definido que será acompanhado longitudinalmente. Já as estratégias baseadas em sequenciamento de nova geração (NGS) permitem a investigação simultânea de múltiplos genes e alterações, sendo utilizadas para perfilamento molecular, genotipagem e identificação de alterações potencialmente associadas à resposta ou resistência terapêutica. Outras abordagens incluem sequenciamento de rearranjos de imunoglobulinas, captura híbrida associada a identificadores moleculares únicos (UMIs), *duplex sequencing* e estratégias baseadas em variantes faseadas, como *Phased Variant Enrichment and Detection Sequencing* (PhasED-Seq) (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024; MATA *et al*., 2024).

A escolha da plataforma deve ser orientada pela pergunta clínica. Um painel amplo pode ser mais apropriado para caracterização molecular inicial, enquanto uma estratégia personalizada e altamente sensível pode ser preferível quando o objetivo é monitorar MRD em concentrações muito baixas. Portanto, não existe um único "teste de ctDNA": existem diferentes plataformas e desenhos analíticos, com diferentes sensibilidades, limites de detecção, custos e aplicações clínicas. Essa distinção é essencial para interpretar resultados aparentemente discordantes entre estudos (LI *et al*., 2024; LOCKWOOD *et al*., 2025).

Outro ponto central é a diferença entre ensaios *tumor-informed* e *tumor-naïve*. Nos ensaios *tumor-informed*, alterações identificadas previamente no tumor são utilizadas para construir um painel personalizado para o paciente, permitindo rastrear de maneira altamente sensível clones tumorais específicos ao longo do tratamento. Nos métodos tumor-naïve ou *plasma-only*, a investigação é realizada diretamente no sangue, sem necessariamente depender de material tumoral previamente caracterizado, o que facilita a logística, mas torna a atribuição de algumas alterações ao tumor potencialmente mais complexa. Na prática, o desenho do ensaio deve ser escolhido de acordo com a doença, o objetivo da análise e a disponibilidade de material diagnóstico (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Principais aplicações clínicas do ctDNA

Genotipagem e caracterização molecular

Uma das primeiras aplicações da biópsia líquida é a caracterização genética da neoplasia. Em diferentes doenças hematológicas, o ctDNA pode identificar mutações associadas à biologia tumoral, prognóstico, resistência e potencialmente à seleção de terapias-alvo (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Em uma série de 271 amostras provenientes de diferentes neoplasias hematológicas, alterações patogênicas foram identificadas em 73,4% das amostras analisadas. Foram observadas alterações características de diferentes entidades, incluindo TP53, KRAS, MYD88 e BTK em linfomas não Hodgkin; TP53, KRAS, NRAS e BRAF em neoplasias plasmocitárias; TP53,

SF3B1, DNMT3A, TET2 e ASXL1 em síndromes mielodisplásicas; JAK2 em neoplasias mieloproliferativas; e FLT3, IDH2 e NPM1 em leucemia mieloide aguda. O estudo também mostrou que algumas alterações detectadas exclusivamente no sangue eram predominantemente subclonais, sugerindo que a biópsia líquida pode acessar populações clonais presentes em baixa frequência (MATA *et al*., 2024).

Esse aspecto modifica a concepção tradicional da biópsia como representação estática do tumor. A possibilidade de acompanhar subclones ao longo do tempo permite estudar evolução clonal e emergência de populações resistentes. Contudo, essa mesma sensibilidade aumenta a necessidade de distinguir mutações relacionadas ao tumor daquelas decorrentes de hematopoese clonal, especialmente em leucemias, neoplasias mieloides e pacientes idosos (MATA *et al*., 2024; XUE *et al*., 2024).

ctDNA e doença residual mensurável

O princípio é simples: após o tratamento, a ausência de doença detectável pelos métodos convencionais não necessariamente significa erradicação molecular completa do clone neoplásico. A persistência de DNA tumoral em níveis muito baixos pode indicar doença residual potencialmente associada à recaída (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Nos linfomas agressivos, particularmente no linfoma difuso de grandes células B (DLBCL), essa aplicação tem produzido alguns dos resultados mais consistentes da literatura. Estudos demonstraram que a redução precoce do ctDNA durante o tratamento se associa a melhor prognóstico e que a persistência de ctDNA ao final da terapia pode identificar pacientes com maior risco de progressão, mesmo quando a avaliação convencional sugere resposta (ALCOCEBA *et al*., 2023).

É importante, entretanto, compreender que MRD por ctDNA e resposta metabólica por PET/CT não representam exatamente a mesma dimensão da doença. O PET avalia atividade metabólica em sítios anatômicos identificáveis, enquanto o ctDNA busca evidência molecular de persistência tumoral sistêmica. Dessa forma, os métodos podem ser complementares, e não necessariamente concorrentes. Revisões recentes ressaltam que pacientes PET-negativos podem permanecer ctDNA-positivos, situação potencialmente compatível com doença residual de baixo volume, enquanto resultados discordantes exigem interpretação integrada ao contexto clínico (FORGHANI *et al*., 2025).

O grande exemplo: linfoma difuso de grandes células B

O DLBCL constitui provavelmente o melhor modelo para compreender por que o ctDNA ultrapassou o conceito de simples ferramenta experimental. No diagnóstico, níveis elevados de ctDNA apresentam associação com maior carga tumoral e fatores clínicos de maior risco. Em diferentes coortes, o ctDNA pré-tratamento mostrou associação com desfechos de sobrevida, enquanto a redução do ctDNA após os primeiros ciclos de tratamento esteve relacionada a maior probabilidade de resposta e melhores resultados clínicos (TALOTTA *et al*., 2023; ALCOCEBA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Em outro estudo, Alcoceba *et al*. identificaram um marcador molecular em aproximadamente 90% dos pacientes avaliados por ctDNA. Após dois ciclos de tratamento, uma redução de 2,5 log no ctDNA, caracterizada como *major molecular response* (MMR), esteve associada a sobrevida livre de progressão em dois anos de 76%, em comparação com ausência de pacientes livres de progressão no grupo que não atingiu essa resposta molecular. A combinação da resposta molecular com a redução do metabolismo tumoral no PET/CT resultou em estratifi-

cação prognóstica ainda mais discriminativa (ALCOCEBA *et al*., 2023).

Esses dados são particularmente importantes porque demonstram que o valor da biópsia líquida não está apenas em dizer "há ou não há DNA tumoral", mas em observar a cinética molecular da doença. Uma queda rápida e profunda do ctDNA durante o tratamento pode indicar resposta molecular favorável antes que a avaliação convencional consiga demonstrar toda a extensão dessa mudança (ALCOCEBA *et al*., 2023; TALOTTA *et al*., 2023).

Uma revisão sistemática e metanálise publicada em 2025, envolvendo 53 estudos, reforçou essa associação. Níveis elevados de ctDNA no diagnóstico estiveram associados a maior risco de progressão, com HR de 2,50, enquanto a positividade ao final do tratamento apresentou associação prognóstica ainda mais forte, com HR de 13,69. O estudo também demonstrou que, em pacientes com PET negativo ao final do tratamento, a positividade do ctDNA apresentou especificidade de 90,8% para recaída subsequente, enquanto, nos pacientes com PET positivo, um resultado negativo de ctDNA reduziu o risco de recaída, demonstrando o potencial da integração entre avaliação molecular e metabólica (FORGHANI *et al*., 2025).

Dados prospectivos mais recentes fortalecem essa evidência. No estudo DIRECT, 155 pacientes com linfoma de grandes células B foram avaliados quanto à presença de MRD baseada em variantes tumorais faseadas ao final da primeira linha. A taxa de controle da doença em dois anos foi de 42% entre pacientes com MRD detectável e 95% entre aqueles sem MRD detectável, com HR de 13,7. O estudo demonstrou ainda que a informação molecular acrescentava valor prognóstico à avaliação radiológica convencional. Ao mesmo tempo, a variação superior a duas ordens de magnitude no limite de detecção entre pacientes e a ocorrência de MRD persistente sem recaída em alguns casos demonstram que a interpretação do teste não pode ser dissociada de suas características analíticas e biológicas (KRUPKA *et al*., 2026).

Portanto, no DLBCL, o ctDNA já deixou de ser apenas uma promessa de genotipagem. Existe uma base substancial para considerá-lo um biomarcador prognóstico de elevado interesse e uma ferramenta de monitoramento molecular em desenvolvimento clínico. O ponto ainda em aberto é saber em que medida um resultado molecular deve modificar efetivamente a conduta terapêutica (FORGHANI *et al*., 2025; KRUPKA *et al*., 2026).

Linfoma de Hodgkin: quando a quantidade do ctDNA também se torna informação biológica

No linfoma de Hodgkin clássico, a utilização do ctDNA apresenta um desafio particular relacionado à biologia da doença e à baixa proporção de células de Reed-Sternberg em relação ao microambiente inflamatório. Apesar disso, estudos demonstraram que o plasma pode preservar informações moleculares importantes sobre a neoplasia (MACO *et al*., 2022; TALOTTA *et al*., 2023).

Em estudo prospectivo com 60 pacientes, um painel de NGS direcionado a genes frequentemente alterados no linfoma de Hodgkin identificou variantes somáticas em 73,5% das amostras de ctDNA com qualidade adequada. Foram observadas alterações envolvendo genes como SOCS1, IGLL5, TNFAIP3, GNA13, STAT6 e B2M, demonstrando a capacidade do ctDNA de reproduzir aspectos relevantes da biologia molecular da doença. O estudo também demonstrou associação entre maiores quantidades de ctDNA e características clínicas de maior risco (CAMUS *et al*., 2021).

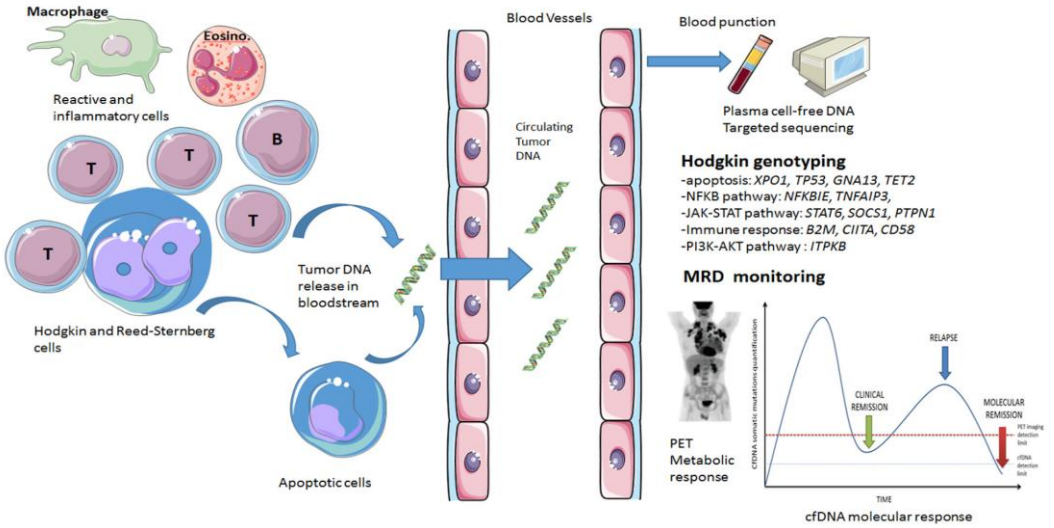
Essa observação é particularmente relevante porque a queda da quantidade de ctDNA não deve ser encarada apenas como "redução de uma mutação", mas como uma medida indireta da diminuição da população clonal detectável

no sangue. Estudos anteriores e revisões da área já haviam demonstrado associação entre redução importante do ctDNA durante o tratamento e melhores desfechos clínicos (MACO *et al*., 2022; TALOTTA *et al*., 2023).

Dados mais recentes reforçam essa relação prognóstica. Uma revisão sistemática com metanálise individual de participantes, publicada em 2026 e envolvendo 1.158 pacientes em dez estudos, encontrou associação entre níveis elevados de ctDNA no diagnóstico e pior sobrevida livre de progressão, com fortalecimento do valor prognóstico nos momentos intermediário e ao final do tratamento. A positividade do ctDNA ao final do tratamento apresentou HR de 13,4 para progressão e associação também com pior sobrevida global. Os autores ressaltam, entretanto, a necessidade de padronização dos ensaios e validação dos limiares prognósticos (SHAHSAVAND *et al*., 2026).

Assim, também no linfoma de Hodgkin, a principal contribuição do ctDNA parece estar na capacidade de transformar a biologia molecular em uma variável acompanhável durante o tratamento (MACO *et al*., 2022; SHAHSAVAND *et al*., 2026). Essa aplicação é ilustrada na figura abaixo **(Figura 4.1)**, que representa o uso da biópsia líquida na caracterização molecular e no monitoramento da doença residual mensurável, em conjunto com a avaliação da resposta terapêutica.

Figura 4.1 Genotipagem do linfoma de Hodgkin e monitoramento da doença residual mensurável por biópsia líquida



Fonte: CAMUS E JARDIN (2021), licença CC BY 4.0.

Mieloma múltiplo: doença sistêmica, heterogeneidade e evolução clonal

O mieloma múltiplo apresenta uma característica que torna particularmente interessante a aplicação da biópsia líquida: a doença pode ser espacialmente heterogênea, envolvendo múltiplos sítios da medula óssea e, em determinados pacientes, manifestações extramedulares. Uma única aspiração de medula óssea, embora fundamental para diagnóstico e acompanhamento, pode não representar integralmente todas as po-pulações clonais presentes no organismo (LI *et al*., 2024; KIM *et al*., 2025).

Em estudo envolvendo 102 pacientes com MGUS, mieloma múltiplo assintomático e mieloma sintomático, observou-se aumento progressivo do número médio de mutações detectadas no ctDNA à medida que a doença evoluía, passando de 1,0 em MGUS para 1,8 em mieloma indolente e 1,9 em mieloma múltiplo sintomático. A concordância entre mutações

identificadas na medula óssea e no ctDNA foi maior nos pacientes com mieloma múltiplo, chegando a 68,9%, em comparação com 25,0% nos pacientes com MGUS. Mutações envolvendo as vias RAS/RAF e TP53 também apresentaram enriquecimento no ctDNA de pacientes com mieloma múltiplo (PARK *et al*., 2025).

Esses resultados sugerem que o ctDNA pode fornecer uma visão complementar da carga molecular da doença e de sua evolução clonal. A literatura mais recente também discute a possibilidade de utilizar ctDNA para identificação de subclones resistentes, avaliação de recaída molecular e monitoramento de pacientes submetidos a estratégias terapêuticas cada vez mais profundas, incluindo CAR-T e anticorpos biespecíficos. Entretanto, baixas concentrações de ctDNA em pacientes com doença mínima e a ausência de padronização ainda limitam sua implementação rotineira (PARK *et al*., 2025; LI *et al*., 2026).

Dessa forma, no mieloma múltiplo, a pergunta não é simplesmente se o ctDNA consegue reproduzir os achados da medula óssea. A questão mais interessante é se ele pode acrescentar informação sistêmica e temporal que uma amostra anatômica isolada não consegue oferecer (PARK *et al*., 2025; LI *et al*., 2026).

Leucemias e neoplasias mieloides

Nas leucemias e neoplasias mieloides, o cenário apresenta particularidades. Como o compartimento medular e sanguíneo já contém diretamente células neoplásicas, o conceito de biópsia líquida assume características distintas daquelas observadas nos linfomas. Ainda assim, o estudo do ctDNA pode representar uma alternativa ou complemento para monitoramento molecular, especialmente quando se busca uma abordagem minimamente invasiva e longitudinal (XUE *et al*., 2024; TALOTTA *et al*., 2023).

Revisões recentes descrevem aplicações do ctDNA em leucemia mieloide aguda e síndromes mielodisplásicas para caracterização molecular, estratificação de risco e monitoramento de MRD. Entre os desafios está a dificuldade em separar mutações verdadeiramente relacionadas à doença de alterações associadas à hematopoese clonal, particularmente em genes como DNMT3A, TET2 e ASXL1 (XUE *et al*., 2024).

No contexto pós-transplante, estudos demonstraram associação entre persistência de ctDNA e maior risco de recaída em pacientes com AML/MDS. Esses achados sustentam a hipótese de que o ctDNA possa funcionar como marcador de vigilância molecular após transplante, embora sua aplicação clínica ainda dependa da definição dos genes mais informativos, do momento ideal de coleta e da diferenciação entre clones relacionados à neoplasia e à hematopoese clonal (YOKOYAMA *et al*., 2021; DAC *et al*., 2026).

Esses achados sustentam a hipótese de que o ctDNA possa funcionar como marcador de vigilância molecular após o transplante. Contudo, diferentemente do cenário idealizado de um “teste universal”, a interpretação em neoplasias mieloides é particularmente dependente da biologia clonal, do momento da coleta, do gene analisado e da capacidade do ensaio de distinguir clone neoplásico de hematopoese clonal (XUE *et al*., 2024; DAC *et al*., 2026).

Um dos maiores problemas: CHIP e falsos positivos biológicos

A alta sensibilidade da biópsia líquida produz uma aparente contradição: quanto mais sensível é o método, maior a necessidade de interpretar cuidadosamente aquilo que ele encontra. A hematopoese clonal de potencial indeterminado, ou CHIP, constitui uma das principais fontes de confusão. Alterações somáticas

podem estar presentes em células hematopoéticas não malignas e aparecer no plasma como variantes detectáveis por NGS. Sem a adequada correlação com o tecido tumoral ou com DNA derivado de leucócitos, determinadas alterações podem ser equivocadamente interpretadas como pertencentes ao clone neoplásico (MATA *et al*., 2024; XUE *et al*., 2024).

Esse problema tem particular importância em neoplasias hematológicas, porque o próprio tecido hematopoético é o compartimento em que a neoplasia se desenvolve. Por isso, a análise de DNA leucocitário pareado pode ser necessária para esclarecer a origem de determinadas variantes. Recomendações técnicas recentes defendem explicitamente a preservação de uma fração leucocitária para avaliação de hematopoese clonal e recomendam que os laudos indiquem o risco de CHIP e as limitações de resultados negativos (MATA *et al*., 2024; HARLÉ *et al*., 2026).

Portanto, um resultado molecular positivo não é sinônimo automático de doença residual, assim como um resultado negativo não é sinônimo automático de ausência de doença. A interpretação precisa considerar identidade molecular, limite de detecção, volume de plasma analisado, qualidade da amostra, contexto clínico e características da doença (LI *et al*., 2024; MATA *et al*., 2024).

O problema do resultado negativo

Outro conceito que merece destaque é que o desempenho do ctDNA não depende apenas da tecnologia, mas também da quantidade de DNA tumoral efetivamente disponível no sangue. Pacientes com baixo volume de doença podem apresentar concentrações muito pequenas de ctDNA, abaixo do limite analítico do teste. O mesmo pode ocorrer em doenças com menor liberação sistêmica de DNA tumoral ou quando o clone dominante está confinado a um compartimento anatômico pouco representado no plasma. Consequentemente, um resultado negativo pode representar ausência de doença detectável pelo método e não necessariamente ausência absoluta de doença (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Esse ponto é especialmente relevante porque o desenvolvimento de tecnologias ultrassensíveis pode criar uma falsa impressão de que existe um limite de detecção único aplicável a todos os pacientes. Estudos recentes demonstram que o limite de detecção pode variar substancialmente entre indivíduos e plataformas, evidenciando que a sensibilidade deve ser considerada em nível paciente-específico e de acordo com a metodologia empregada (KRUPKA *et al*., 2026). Por esse motivo, a interpretação clínica deve evitar frases simplificadas como "ctDNA negativo = remissão molecular", sem especificar o método utilizado, o limite de detecção e o momento da coleta (LI *et al*., 2024; KRUPKA *et al*., 2026).

ctDNA versus biópsia tecidual

A principal vantagem da biópsia líquida é sua capacidade de fornecer informação molecular de maneira minimamente invasiva e repetível. No entanto, essa vantagem não implica substituição universal da biópsia convencional.

Na investigação inicial dos linfomas, a análise histopatológica continua sendo essencial para estabelecer diagnóstico, arquitetura tecidual, imunofenótipo e classificação da neoplasia. Além disso, diferentes entidades hematológicas apresentam alterações moleculares que precisam ser interpretadas em conjunto com morfologia, imunohistoquímica, citometria e dados clínicos (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Por outro lado, uma biópsia tecidual representa apenas um determinado local e um determinado momento da doença. A biópsia líquida oferece a possibilidade de amostragem seriada e pode captar alterações de diferentes focos

tumorais, apresentando vantagem particular para monitoramento longitudinal e estudo de heterogeneidade. A literatura atual, portanto, aponta para uma relação de complementaridade, e não de substituição indiscriminada (TALOTTA *et al*., 2023; MATA *et al*., 2024).

Essa distinção já começa a aparecer também em recomendações clínicas. A diretriz da ASCO publicada em 2026 reconhece situações nas quais o ctDNA pode ser utilizado para caracterização genética quando o tecido é difícil, inviável ou representa risco inaceitável, mas recomenda confirmação tecidual quando o resultado do ctDNA é negativo, inconclusivo ou discordante do cenário clínico. A própria diretriz ressalta que a concentração ou fração de ctDNA, isoladamente, não deve ser usada como substituto genérico da avaliação da doença (LOCKWOOD, 2023).

ctDNA versus PET/CT e medula óssea

A comparação entre ctDNA e métodos convencionais é particularmente interessante porque cada ferramenta responde a uma pergunta diferente. O PET/CT fornece informação anatômica e metabólica; a medula óssea permite avaliação morfológica, imunofenotípica e molecular diretamente no compartimento hematopoético; o ctDNA fornece uma leitura molecular circulante e longitudinal.

No DLBCL, estudos recentes demonstraram que a combinação da resposta molecular com parâmetros de PET/CT pode melhorar a estratificação prognóstica em comparação com cada método isoladamente. Em estudo prospectivo, a associação entre redução de ctDNA e resposta metabólica permitiu identificar grupos com diferenças expressivas de sobrevida livre de progressão, reforçando o caráter complementar das duas abordagens (ALCOCEBA *et al*., 2023; FORGHANI *et al*., 2025).

Assim, a formulação mais adequada não é dizer que “ctDNA substitui PET/CT”, mas que o ctDNA pode acrescentar uma dimensão molecular à avaliação metabólica. A persistência de ctDNA em um paciente aparentemente em remissão metabólica pode levantar a hipótese de doença molecular residual, enquanto a ausência de ctDNA em determinados pacientes com achados metabólicos persistentes pode au-xiliar na interpretação de imagens residuais cuja natureza permaneça incerta. Essa utilização integrada é especialmente atraente porque aproxima a hematologia de um modelo de monitoramento multidimensional da doença (FORGHANI *et al*., 2025).

Padronização: o obstáculo que separa a tecnologia da rotina

A maior limitação atual do ctDNA talvez não seja mais demonstrar que é possível detectar DNA tumoral, mas estabelecer como esse resultado deve ser medido, comparado e utilizado para tomar decisões clínicas. As diferenças entre estudos podem ocorrer desde a coleta da amostra até a interpretação bioinformática. Tipo de tubo, tempo de processamento, centrifugação, método de extração, volume de plasma, plataforma de sequenciamento, utilização de UMIs, profundidade de leitura, definição de positividade e estratégia para cálculo do limite de detecção podem variar substancialmente. Essa heterogeneidade dificulta a comparação direta entre estudos e a definição de pontos de corte universais (LI *et al*., 2024).

O consenso da *Association for Molecular Pathology* e do *College of American Pathologists* analisou mais de 1.200 publicações sobre ctDNA e identificou ampla variabilidade na descrição de variáveis pré-analíticas, desempnho analítico e critérios de validação. A publicação propôs recomendações para aumentar a qualidade e a reprodutibilidade dos ensaios clínicos (LOCKWOOD *et al*., 2025).

Mais recentemente, uma iniciativa de consenso técnico reuniu especialistas e estabeleceu

recomendações envolvendo as etapas pré-analítica, analítica, bioinformática e pós-analítica. Entre os pontos destacados estão utilização de UMIs, dupla centrifugação, controles positivos adequados, preservação de DNA leucocitário para avaliação de CHIP e descrição explícita da frequência alélica variante, das limitações do resultado negativo e do risco de hematopoese clonal (HARLÉ *et al*., 2026).

Essa discussão é essencial para responder à pergunta do capítulo. Um teste pode apresentar excelente desempenho em um estudo de pesquisa e ainda não estar suficientemente padronizado para orientar, de maneira uniforme, a conduta em diferentes hospitais, laboratórios e plataformas (LI *et al*., 2024; HARLÉ *et al*., 2026).

O futuro: de um marcador genético para uma plataforma multidimensional

O futuro da biópsia líquida provavelmente não estará limitado à contagem de mutações. Além do perfil mutacional, novas estratégias in-vestigam características de fragmentação do DNA, padrões epigenéticos, metilação, alterações de número de cópias e assinaturas relacionadas ao comprimento dos fragmentos. A integração dessas diferentes camadas de informação pode aumentar a capacidade de caracterizar a doença quando a quantidade absoluta de ctDNA é muito baixa (TALOTTA *et al*., 2023; LI *et al*., 2024).

Outra perspectiva é o monitoramento molecular em pacientes submetidos às terapias celulares e imunológicas contemporâneas. No contexto de CAR-T e anticorpos biespecíficos, por exemplo, o acompanhamento seriado do ctDNA pode permitir estudar depuração molecular, persistência clonal e emergência de populações resistentes. No mieloma múltiplo, essa possibilidade tem recebido atenção crescente justamente pela necessidade de monitoramento profundo em pacientes que atingem respostas cada vez mais próximas da negatividade molecular (LI *et al*., 2026).

A tendência é, portanto, migrar de uma pergunta binária — "o tumor está presente?" — para perguntas mais sofisticadas: qual clone persiste, onde está a doença molecularmente detectável, como ela está evoluindo e o que deve ser feito diante dessa informação?

Síntese crítica: realidade ou promessa?

Os dados atualmente disponíveis permitem responder de maneira mais precisa à pergunta proposta pelo título deste capítulo. A biópsia líquida baseada em ctDNA já é uma realidade tecnológica e um biomarcador prognóstico relevante, especialmente em determinados linfomas, com destaque para o DLBCL. Estudos retrospectivos, prospectivos e metanálises demonstram associação consistente entre níveis e dinâmica do ctDNA e desfechos como resposta terapêutica, MRD, progressão e recaída. No entanto, isso não significa que o ctDNA já seja um substituto universal para PET/CT, biópsia tecidual ou avaliação de medula óssea (TALOTTA *et al*., 2023; FORGHANI *et al*., 2025; SHAHSAVAND *et al*., 2026).

O verdadeiro limite atual está na transformação de valor prognóstico em utilidade clínica comprovada. Saber que um paciente apresenta maior risco de recaída não responde automaticamente à pergunta sobre qual tratamento deve ser oferecido a ele. Para que o ctDNA seja incorporado como ferramenta capaz de modificar condutas, é necessário demonstrar, em estudos prospectivos e intervencionais, que decisões orientadas por seus resultados efetivamente melhoram desfechos clínicos (LI *et al*., 2024; LOCKWOOD, 2023).

Essa distinção é fundamental: um biomarcador pode prever o prognóstico sem necessariamente ser um biomarcador preditivo de benefício terapêutico. Por isso, a literatura atual sustenta uma visão mais equilibrada. O ctDNA

já apresenta aplicações concretas para genotipagem e avaliação prognóstica e tem crescente potencial para MRD e monitoramento longitudinal; entretanto, sua incorporação generalizada à rotina ainda depende de padronização técnica, validação clínica e demonstração de utilidade para tomada de decisão terapêutica (LI *et al*., 2024; FORGHANI *et al*., 2025; LOCKWOOD, 2023)).

Assim, a resposta mais adequada à pergunta "realidade ou promessa?" é: realidade como tecnologia e biomarcador; promessa como instrumento universal de decisão terapêutica.

CONCLUSÃO

Esta revisão integrativa sobre o perfilamento genômico por biópsia líquida e a análise de DNA tumoral circulante (ctDNA) em neoplasias hematológicas, presentes na Medicina de Precisão utilizada no tratamento de pacientes oncológicos, apresenta resultados muito promissores e vantagens comparativas em relação às biópsias invasivas teciduais.

Após a análise detalhada da aplicação desta tecnologia para identificar mutações moleculares, avaliar a heterogeneidade clonal e o monitoramento da doença residual mínima (MRD) - principal aplicação - os estudos apontaram que o seu uso mostrou-se um método altamente específico e complementar ao uso de exames de imagens, como o PET scan, assim possibilitando um acompanhamento longitudinal do aspecto molecular e morfológico da neoplasia durante o tratamento oncológico do paciente, a fim de que o monitoramento da resposta terapêutica e o risco de remissão e recaída sejam de alta precisão. Além disso, a análise do DNA tumoral circulante promove o rastreamento sensível de clones tumorais específicos e a quantidade de mutações detectadas, otimizando a seleção de terapias-alvo para a mutação genética acometida na neoplasia, melhorando o prognóstico do paciente.

A aplicação da biópsia líquida no tratamento oncológico é favorável, devido à sua característica minimamente invasiva e a personalização atribuída a seus resultados, quando comparada à biópsia tecidual - sendo o seu uso em conjunto altamente recomendado pelos estudos - entretanto o acompanhamento dos aspectos moleculares do DNA precisa ser associado a necessidade de padronização de ensaios e validação de limiares prognósticos, uma vez que os resultados obtidos podem sofrem alterações relacionados a heterogeneidade dos clones e limitações associados à sensibilidade - sendo fundamental a devida correlação com o tecido tumoral selecionado e a atribuição de medidas de análise específicas, como identidade molecular, limite de detecção, volume de plasma analisado, qualidade da amostra, contexto clínico e características da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCOCEBA, M.; STEWART, J. P.; ÁLVAREZ, M. G. *et al*. Molecular Characterization of Diffuse Large-B Cell Lymphoma by Liquid Biopsy at Diagnosis and During Follow-up. OBO "Euroclonality-NGS Group" & "Grupo Colaborativo Linfomas y SLP de CyL". Hematological Oncology, v. 41, p. 332-333, 2023. DOI: 10.1002/hon.3164_236.

BISIG, B.; LEFORT, K.; CARRAS, S. *et al*. Clinical Use of Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Lymphoma. Human Pathology, v. 156, art. 105679, 2025. DOI: 10.1016/j.humpath.2024.105679.

CAMUS, V.; VIENNOT, M.; LEQUESNE, J. *et al*. Targeted Genotyping of Circulating Tumor DNA for Classical Hodgkin Lymphoma Monitoring: A Prospective Study. Haematologica, v. 106, n. 1, p. 154-162, 2021. DOI: 10.3324/haema-tol.2019.237719.

DAC, D. T.; TANAKA, H.; TAKAMI, A. *et al*. The Prognostic Value of Circulating Tumor DNA for Clinical Outcomes in Patients Undergoing Hematopoietic Cell Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis. International Journal of Molecular Sciences, v. 27, n. 11, art. 5076, 2026. DOI: 10.3390/ijms27115076.

FORGHANI, S.; SHAHSAVAND, A.; SAMIEE, R. *et al*. The Prognostic and Clinical Utility of Circulating Tumor DNA in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. npj Precision Oncology, v. 9, art. 385, 2025. DOI: 10.1038/s41698-025-01174-3.

HARLÉ, A.; PAYEN, L.; LESPAGNOL, A. *et al*. Technical Recommendations From a Large-Scale French Delphi Consen-sus: A Step Toward European Harmonization of ctDNA Analysis. European Journal of Cancer, v. 242, art. 116791, 2026. DOI: 10.1016/j.ejca.2026.116791.

KRUPKA, J. A.; MOUTSOPOULOS, I.; CUTMORE, N. H. *et al*. Phased Variant-Supported Circulating Tumor DNA as a Prognostic Biomarker After First-Line Treatment in Large B-Cell Lymphoma: Findings From the DIRECT Study. Journal of Clinical Oncology, v. 44, n. 5, p. 410-420, 2026. DOI: 10.1200/JCO-25-01587.

LI, J.-Y.; ZUO, L.-P.; XU, J. *et al*. Clinical Applications of Circulating Tumor DNA in Hematological Malignancies: From Past to the Future. Blood Reviews, v. 68, art. 101237, 2024. DOI: 10.1016/j.blre.2024.101237.

LIM, J. K.; KUSS, B.; TALAULIKAR, D. Role of Cell-Free DNA in Haematological Malignancies. Pathology, v. 53, n. 3, p. 416-426, 2021. DOI: 10.1016/j.pathol.2021.01.004.

LOCKWOOD, C. M.; BORSU, L.; CANKOVIC, M. *et al*. Recommendations for Cell-Free DNA Assay Validations: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. The Journal of Molecular Diagnostics, v. 25, n. 12, p. 876-897, 2023. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2023.09.004.

MACO, M.; KUPCOVA, K.; HERMAN, V. *et al*. Circulating Tumor DNA in Hodgkin Lymphoma. Annals of Hematology, v. 101, n. 11, p. 2393-2403, 2022. DOI: 10.1007/s00277-022-04949-x.

MATA, D. A.; LEE, J. K.; SHANMUGAM, V. *et al*. Liquid Biopsy-Based Circulating Tumour (ct)DNA Analysis of a Spec-trum of Myeloid and Lymphoid Malignancies Yields Clinically Actionable Results. Histopathology, v. 84, n. 7, p. 1224-1237, 2024. DOI: 10.1111/his.15168.

PARK, S.-S.; KIM, N. Y.; LIM, J.-Y. *et al*. Clinical Implications of Circulating Tumor DNA in Multiple Myeloma and Its Precursor Diseases. Annals of Laboratory Medicine, v. 45, n. 3, p. 279-290, 2025. DOI: 10.3343/alm.2024.0424.

SHAHSAVAND, A.; FORGHANI, S.; KHARAGHANI, M. A. *et al*. Prognostic Utility of Circulating Tumor DNA in Clas-sical Hodgkin Lymphoma: A Systematic Review and Individual Participant Data Bayesian Meta-Analysis. Critical Reviews in Oncology/Hematology, v. 219, art. 105154, 2026. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2026.105154.

TALOTTA, D.; ALMASRI, M.; COSENTINO, C. *et al*. Liquid Biopsy in Hematological Malignancies: Current and Future Applications. Frontiers in Oncology, v. 13, art. 1164517, 2023. DOI: 10.3389/fonc.2023.1164517.

XUE, Y.; XIA, X.; LIU, X. *et al*. Applications of Circulating Tumor DNA in Myelodysplastic Syndromes and Acute Myeloid Leukemia: Promises and Challenges. Frontiers in Bioscience-Landmark, v. 29, n. 2, art. 86, 2024. DOI: 10.31083/j.fbl2902086.

YOKOYAMA, K. Prognostic Impact of Circulating Tumor DNA Status Post-Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplan-tation in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. Rinsho Ketsueki, v. 62, n. 5, p. 486-495, 2021. DOI: 10.11406/rinketsu.62.486.