

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

# ADN tumoral circulante en el cáncer de vejiga músculo invasivo: una revisión sistemática



A.A. Grosso<sup>a</sup>, A. Cadenar<sup>a</sup>, S. Pillozzi<sup>b</sup>, G. Carli<sup>a</sup>, F. Lipparini<sup>a</sup>, F. Di Maida<sup>a</sup>, R. Pichler<sup>c</sup>, W. Krajewski<sup>d</sup>, S. Albisinni<sup>e</sup>, E. Laukhtina<sup>f</sup>, S. Mancon<sup>f</sup>, F. del Giudice<sup>g</sup>, M.C. Mir<sup>h</sup>, F. Soria<sup>i</sup>, M. Moschini<sup>j</sup>, S.F. Shariat<sup>f,k,l,m,n,o,p,q,r</sup>, M. Roupret<sup>s</sup>, J. Yuen-Chun Teoh<sup>t</sup>, L. Antonuzzo<sup>u</sup>, A. Breda<sup>v</sup>, A. Minervini<sup>a</sup>, A. Gallioli<sup>v</sup> y A. Mari<sup>a,\*</sup>, en representación del Grupo de Trabajo de Carcinoma Urotelial de la Sección de Jóvenes Urólogos Académicos - Asociación Europea de Urología (EAU-YAU)

<sup>a</sup> Departamento de Medicina Experimental y Clínica, Universidad de Florencia; Unidad de Urología Oncológica y Andrológica Mínimamente Invasiva, Hospital Careggi, Florencia, Italia

<sup>b</sup> Departamento de Ciencias Biomédicas Experimentales y Clínicas «Mario Serio», Universidad de Florencia, Florencia, Italia

<sup>c</sup> Servicio de Urología, Universidad de Medicina de Innsbruck, Comprehensive Cancer Center Innsbruck (CCCI), Innsbruck, Austria

<sup>d</sup> Departamento de Urología Robótica y Mínimamente Invasiva, Universidad de Medicina de Wrocław, Wrocław, Polonia

<sup>e</sup> Unidad de Urología, Departamento de Ciencias Quirúrgicas, Hospital Universitario Tor Vergata, Universidad de Roma Tor Vergata, Roma, Italia

<sup>f</sup> Servicio de Urología, Universidad de Medicina de Viena, Comprehensive Cancer Center, Viena, Austria

<sup>g</sup> Departamento de Ciencias Urológicas y Materno-Infantiles, Hospital Policlinico Umberto I, Universidad Sapienza de Roma, Roma, Italia

<sup>h</sup> Servicio de Urología, Hospital Universitario La Ribera, Valencia, España

<sup>i</sup> Departamento de Urología, Facultad de Medicina de Turín, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Turín, Italia

<sup>j</sup> Departamento de Urología y División de Oncología Experimental, Instituto de Investigación Urológica, IRCCS Instituto Científico San Raffaele, Milán, Italia

<sup>k</sup> Instituto de Urología y Salud Reproductiva, Universidad Sechenov, Moscú, Rusia

<sup>l</sup> Unidad de Pronóstico y Resultados Oncológicos, Centro Hospitalario de la Universidad de Montreal, Montreal, Quebec, Canadá

<sup>m</sup> Departamento de Urología, Universidad de Texas Southwestern, Dallas, TX, EE. UU.

<sup>n</sup> Departamento de Urología, Segunda Facultad de Medicina, Universidad Charles, Praga, República Checa

<sup>o</sup> División de Urología, Departamento de Cirugía Especial, Hospital Universitario de Jordania, Universidad de Jordania, Ammán, Jordania

<sup>p</sup> Instituto Karl Landsteiner de Urología y Andrología, Viena, Austria

<sup>q</sup> Centro de Investigación de Medicina Basada en la Evidencia, Departamento de Urología, Universidad de Ciencias Médicas de Tabriz, Tabriz, Irán

<sup>r</sup> Departamento de Urología, Universidad Semmelweis, Budapest, Hungría

<sup>s</sup> GRC 5 Predictive Onco-Uro, AP-HP, Urología, Hospital Pitie-Salpetriere, Universidad de la Sorbona, París, Francia

<sup>t</sup> Departamento de Cirugía, Centro de Urología S.H. Ho, Universidad China de Hong Kong, Hong Kong, China

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [andrea.mari@unifi.it](mailto:andrea.mari@unifi.it) (A. Mari).

<sup>u</sup> Departamento de Medicina Experimental y Clínica, Universidad de Florencia; Unidad de Urología Oncológica, Hospital Careggi, Florencia, Italia

<sup>v</sup> Servicio de Urología, Fundación Puigvert, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

Recibido el 7 de agosto de 2024; aceptado el 2 de octubre de 2024

Disponible en Internet el 6 de febrero de 2025

## PALABRAS CLAVE

Cáncer de vejiga;  
Quimioterapia;  
Inmunoterapia;  
Respuesta  
terapéutica

## KEYWORDS

Bladder cancer;  
Chemotherapy;  
Immunotherapy;  
Therapy response

## Resumen

**Objetivos:** Evaluar el papel del ADN tumoral circulante (ctDNA) como biomarcador pronóstico y predictivo en el tratamiento perioperatorio del cáncer de vejiga músculo invasivo muscular (CVMI).

**Métodos:** Realizamos una revisión sistemática de la literatura utilizando PubMed, Medline y Embase, siguiendo las directrices PRISMA. Se incluyeron los estudios publicados entre enero de 2013 y marzo de 2024 que analizaron el ctDNA en los pacientes con CVMI sometidos a cistectomía radical (CR) y a inmunoterapia o quimioterapia perioperatoria.

**Resultados:** Ocho estudios fueron incluidos en la revisión. La detección de ctDNA previa a la CR se asoció con una supervivencia libre de recurrencia baja y un mayor riesgo de enfermedad ganglionar y localmente avanzada. Los niveles de ctDNA en el postoperatorio se correlacionaron con una menor supervivencia libre de enfermedad y mayores tasas de recurrencia. La eliminación de ctDNA durante la quimioterapia neoadyuvante predijo la respuesta al tratamiento. Los niveles de ctDNA tras la inmunoterapia neoadyuvante se correlacionaron con los resultados patológicos y las tasas de recurrencia.

**Conclusiones:** El ctDNA es un biomarcador prometedor en la predicción de los resultados oncológicos del CVMI, y podría guiar la elección del tratamiento perioperatorio. Se necesitan más ensayos controlados aleatorizados para validar estos hallazgos.

© 2025 Los Autores. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de AEU. Este es un artículo Open Access bajo la CC BY licencia (<http://creativecommons.org/licencias/by/4.0/>).

## Circulating tumor DNA in muscle-invasive bladder cancer: A systematic review

### Abstract

**Objectives:** To evaluate the role of circulating tumor DNA (ctDNA) as a prognostic and predictive biomarker in the perioperative management of muscle-invasive bladder cancer (MIBC).

**Methods:** We conducted a systematic literature review using PubMed, Medline, and Embase, following PRISMA guidelines. Studies from January 2013 to March 2024 were included if they examined ctDNA in MIBC patients undergoing radical cystectomy (RC) and perioperative chemotherapy or immunotherapy.

**Results:** Eight studies were included. ctDNA detected before RC was associated with poor recurrence-free survival and higher risk of nodal and locally advanced disease. Postoperative ctDNA levels correlated with shorter disease-free survival and higher recurrence rates. ctDNA clearance during neoadjuvant chemotherapy was predictive of treatment response. ctDNA status post-neoadjuvant immunotherapy correlated with pathological outcomes and recurrence rates.

**Conclusions:** ctDNA is a promising biomarker for predicting oncological outcomes in MIBC, with potential to guide perioperative treatment decisions. Further randomized controlled trials are needed to validate these findings.

© 2025 The Authors. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of AEU. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Introducción

El cáncer de vejiga (CV) ocupa la décima posición entre los cánceres más diagnosticados en todo el mundo, y la décimo tercera entre las causas de muerte relacionadas con el cáncer. Cada año se registran más de 570.000 nuevos casos en todo el mundo, de los cuales aproximadamente el 25% de

los casos corresponden a cáncer de vejiga músculo invasivo (CVMI)<sup>1</sup>. El tratamiento estándar del CVMI no metastásico en los pacientes elegibles para el tratamiento basado en cisplatino incluye de 3 a 4 ciclos de quimioterapia neoadyuvante (QNA) con cisplatino, seguidos de cistectomía radical (CR) y disección de los ganglios linfáticos<sup>2,3</sup>. Sin embargo, sigue existiendo un subgrupo significativo de pacientes en los que

el cisplatino está contraindicado<sup>4,5</sup>. En el contexto del tratamiento adyuvante, la quimioterapia basada en platino representa actualmente el tratamiento de referencia<sup>3</sup>. Recientemente, nivolumab ha sido aprobado en EE. UU. y en Europa como tratamiento adyuvante poscistectomía para todos los pacientes y para aquellos con expresión de PDL1  $\geq 1\%$ , y alto riesgo de recurrencia, respectivamente, debido a su impacto en la supervivencia libre de enfermedad (SLE)<sup>6</sup>. Aunque hasta ahora los hallazgos histopatológicos han sido los únicos elementos reconocidos para estratificar el riesgo, la identificación de pacientes con un riesgo alto de recurrencia tras la CR sigue siendo crucial en este contexto. Para el carcinoma urotelial se han estudiado diversos biomarcadores tisulares, como las citocinas séricas y urinarias, los perfiles de expresión de ARNm y la secuenciación del ADN, como herramientas pronósticas y predictivas, con el fin de mejorar la selección de pacientes y minimizar la toxicidad innecesaria<sup>7-9</sup>. En este contexto, se ha descubierto recientemente el ADN tumoral circulante (ctDNA) como posible biomarcador del CVMI. Las pruebas para determinar los niveles de ctDNA con información tumoral son muy sensibles y específicas, pero también requieren la secuenciación del tumor primario y sangre de referencia para elaborar la prueba específica para cada paciente. Además, al basarse en la obtención de una biopsia líquida, no requiere procedimientos invasivos. Es posible que algunas aplicaciones de la determinación del ctDNA no requieran pruebas específicas para cada paciente (p. ej., la monitorización de la respuesta al tratamiento en enfermedad metastásica con una elevada carga tumoral); sin embargo, para evaluar la enfermedad residual mínima (ERM) y la respuesta al tratamiento en este contexto, se necesitan métodos altamente sensibles con información del tumor. Actualmente, el análisis del ctDNA resulta muy laborioso y utiliza diferentes enfoques, pero todos se basan en la monitorización periódica con el fin de evaluar la respuesta al tratamiento, la carga de enfermedad y predecir los resultados oncológicos<sup>10-12</sup>. De hecho, se ha demostrado que el aumento de los niveles de ctDNA permite detectar la progresión y la recidiva meses antes que las pruebas radiológicas convencionales<sup>13-15</sup>. Estudios recientes han investigado el potencial del ctDNA en el pronóstico y la predicción del manejo perioperatorio del CVMI. Esta revisión sistemática reunió la evidencia disponible sobre el uso del ctDNA como biomarcador pronóstico y predictivo en este contexto.

## Materiales y métodos

Se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura utilizando las bases de datos PubMed, Medline y Embase, siguiendo las directrices establecidas por la declaración Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA). La búsqueda consideró las publicaciones realizadas entre enero de 2013 y marzo de 2024. La estrategia de búsqueda primaria empleó los términos MESH «circulating tumor DNA [Mesh]» y «urinary bladder neoplasms [Mesh]» junto con una lista exhaustiva de palabras clave que incluían «CtDNA», «bladder neoplasms», «bladder cancer» y «cfDNA». Se incluyeron estudios retrospectivos y prospectivos que evaluaban los efectos de la QNA, la quimioterapia adyuvante y/o la inmunoterapia en el tratamiento del CVMI no metastásico (estadios T2-T4a, cualquier N, M0)

después de la CR. Se excluyeron las revisiones, los informes de casos, los metaanálisis y los artículos que solo estaban disponibles como resúmenes o comentarios. La búsqueda bibliográfica inicial identificó 231 registros. Tras eliminar los duplicados, 2 revisores independientes (AAG y GC) examinaron los títulos y los resúmenes (fig. 1). El riesgo de sesgo en los estudios no aleatorizados incluidos se evaluó mediante la herramienta Risk of Bias in Non-randomized Studies of Interventions (ROBINS-I) (tabla 1). Finalmente, 8 estudios cumplieron los criterios de inclusión para esta revisión sistemática (tabla 2). Se informaron los resultados estratificados según el estado (positivo o negativo) de ctDNA para monitorizar y/o predecir el estado de la enfermedad, la recurrencia y la progresión. Los cocientes de riesgos (HR) y los intervalos de confianza del 95% (IC del 95%) se presentaron en diagramas de bosque para ilustrar las relaciones entre los niveles de ctDNA y los resultados de supervivencia.

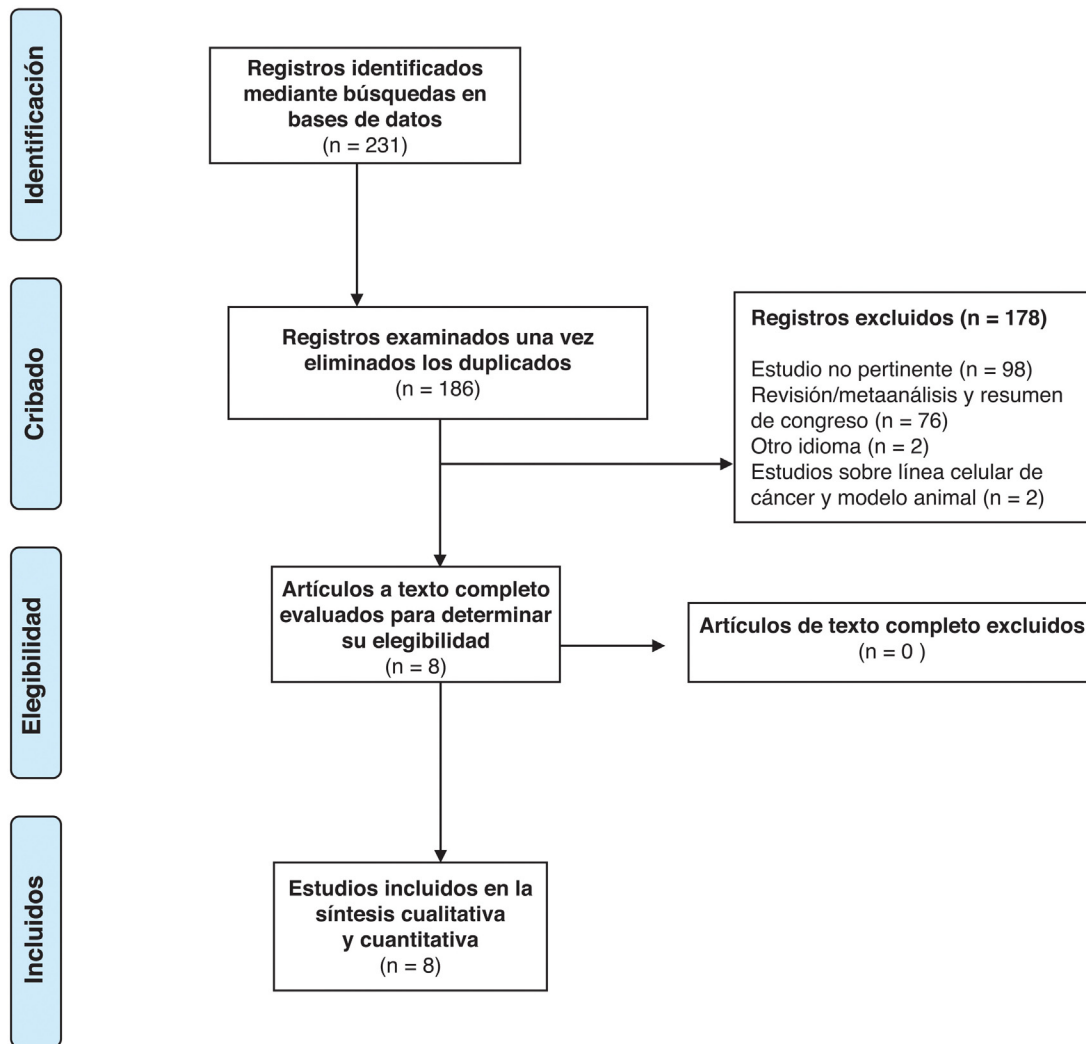
## Resultados

### ADN tumoral circulante y quimioterapia perioperatoria

En total, 8 estudios cumplieron los criterios de inclusión y fueron incluidos en el análisis (tablas 2 y 3). Ben-David et al. evaluaron si el estado del nivel de ctDNA antes de la CR podía predecir los resultados patológicos y oncológicos, y también evaluaron la posible relación entre los cambios dinámicos en los niveles de ctDNA después de la CR y la supervivencia libre de recurrencia (SLR)<sup>16</sup>. En total, se incluyeron 112 pacientes, de los cuales 21 (29%) recibieron tratamiento neoadyuvante y 26 (23%) adyuvante. Se detectó ctDNA antes de la CR en 59 pacientes (53%) y se asoció con una SLR desfavorable (*log-rank*  $p < 0,0001$ ). Un nivel de ctDNA detectable antes de la CR se asoció con resultados adversos, independientemente del estadio clínico ( $< cT2$  vs.  $> cT2$ ) y del uso de terapia neoadyuvante/adyuvante. Los análisis multivariantes revelaron que el ctDNA detectable antes de la CR se asociaba con un mayor riesgo de enfermedad ganglionar (*odds ratio* [OR]: 5,4; intervalo de confianza [IC] del 95%: 1,9-18,2;  $p = 0,003$ ) y enfermedad localmente avanzada (OR: 3,6; IC del 95%: 1,5-9;  $p = 0,005$ ). Los análisis de regresión de Cox mostraron que el ctDNA detectable antes de la CR (cociente de riesgos [HR]: 4,5; IC del 95%: 1-19;  $p = 0,04$ ) y el ctDNA detectable en la ventana de ERM (HR: 9,9; IC del 95%: 2,6-37;  $p < 0,001$ ) eran predictores de recurrencia de la enfermedad (tabla 4).

En un estudio retrospectivo de vida real publicado por Sfakianos et al. se obtuvieron resultados similares, y se observó una relación entre el ctDNA detectable postoperatorio y una SLE más corta en comparación con el ctDNA indetectable (HR: 6,93;  $p < 0,001$ ). Cabe destacar que los pacientes con ctDNA indetectable no parecían beneficiarse de la terapia adyuvante<sup>17</sup>.

Patel et al. fueron pioneros en demostrar la utilidad del ADN libre de células (cfDNA) en plasma para monitorizar la ERM en el contexto perioperatorio del CVMI<sup>18</sup>. En 17 pacientes con CVMI que recibieron metotrexato, vinblastina, doxorubicina y cisplatino como terapia neoadyuvante, se rastreó el ctDNA antes, durante y después del tratamiento y de la cirugía posterior mediante secuenciación de amplicones marcados (Tam-Seq) de un panel de 8 genes específicos



From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097

For more information, visit [www.prisma-statement.org](http://www.prisma-statement.org).

Figura 1 Diagrama de flujo PRISMA de la revisión sistemática.

Tabla 1 Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales mediante la herramienta ROBINS-I

Autores	Confusión	Sesgo de selección	Clasificación de la intervención	Datos faltantes	Medición de los resultados	Informe selectivo de los resultados	Global
Ben-David et al. <sup>16</sup>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo
Sfakianos et al. <sup>17</sup>	Bajo	Intermedio	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo
Patel et al. <sup>18</sup>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo
Birkenkamp-Demtröder et al. <sup>19</sup>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo
Christensen et al. <sup>20</sup>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo
Carrasco et al. <sup>21</sup>	Bajo	Bajo	Bajo	Moderado	Bajo	Bajo	Bajo
Szabados et al. (ABACUS) <sup>22</sup>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo
Powels et al. (IMVIGOR 010) <sup>23</sup>	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo	Bajo

ROBINS-I: Risk of Bias in Non-randomized Studies of Interventions.

**Tabla 2** Características de los estudios incluidos

Autor (año)	Tipo de estudio	N	Contexto de tratamiento	Terapia sistémica	Metodología aplicada
Christensen et al. <sup>20</sup> (2019)	Dos centros Retrospectivo	68	QNA + CR	Cis-Gem	WES del genoma de referencia GRCh38
Powels et al. <sup>23</sup> (2021)	Prospectivo aleatorizado Abierto multicéntrico Internacional fase III	102 581	CR Tratamiento adyuvante para CUTS y CVMI	Atezolizumab	RNeasy mini-kit R WES del tejido tumoral y tras la secuenciación de amplicones en cfDNA plasmático
Patel et al. <sup>18</sup> (2017)	Prospectivo unicéntrico de un solo brazo	17	QNA	MVAC	Combinación de secuenciación de amplicones marcados y secuenciación superficial del genoma completo
Birkenkamp-Demtröder et al. <sup>19</sup> (2018)	Prospectivo unicéntrico de un solo brazo	26	QNA	Cis-Gem	Ensayos ddPCR dirigidos a variantes de nucleótido único, o pequeñas inserciones o deleciones
Carrasco et al. <sup>21</sup> (2022)	Prospectivo unicéntrico de un solo brazo	37	QNA o quimioterapia adyuvante	Cisplatino NEOM	Kit Quant-iT™ PicoGreen™ dsDNA y ddPCR
Szabados et al. <sup>22</sup> (2022)	Fase II Prospectivo multicéntrico Internacional Un solo brazo	95	Contexto neoadyuvante	Atezolizumab	WES de tejido tumoral y ensayo múltiple de ctDNA por PCR-NGS
Ben-David et al. <sup>16</sup> (2024)	Prospectivo unicéntrico	112	CR + QNA CR	ND	Signatera™ (WES del tumor primario)
Sfakianos et al. <sup>17</sup> (2024)	Retrospectivo multicéntrico	167	CR + TNA CR	Quimioterapia, Quimioinmunoterapia, o Inmunoterapia	Análisis del ctDNA (Signatera™; Natera, Austin, TX, EE. UU.) Regresión de Cox

CfDNA: ADN libre de células; Cis-Gem: cisplatino-gemcitabina; CR: cistectomía radical; ctDNA: ADN tumoral circulante; ddPCR: reacción en cadena de la polimerasa digital en gotas; dsDNA: ADN de doble cadena; MVAC: metotrexato, vinblastina, doxorubicina y cisplatino; neoadyuvante; ND: no disponible; NGS: secuenciación de nueva generación; NEOM: no especificado de otra manera; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; QNA: quimioterapia WES: secuenciación genoma completo.

**Tabla 3** ctDNA como factor predictivo de la respuesta al tratamiento sistémico

Estudio		HR	IC 5%	IC 95%	Resultado
Christensen et al. <sup>20</sup> (2019)	Pre-CR	5,4	1,5	19,1	Respuesta a la QNA en la muestra patológica
	Pre-CR	3,4	1,7	6,8	
	Post-CR	17,8	3,9	81,2	
Powels et al. <sup>23</sup> (2021)	Grupo atezolizumab	0,26	0,12	0,56	El cambio en el nivel de ctDNA (de negativo a positivo) tras el tratamiento adyuvante es un factor predictivo de la SLE

CR: cistectomía radical; ctDNA: DNA tumoral circulante; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; QNA: quimioterapia neoadyuvante; SLE: supervivencia libre de enfermedad.

del paciente en tejido tumoral, plasma y orina. Este estudio descubrió que la presencia de ctDNA antes de la QNA no predecía la respuesta temprana al tratamiento ni los resultados de pronóstico, pero la detección de ctDNA tras 2 ciclos

de quimioterapia mostraba una fuerte correlación con la recurrencia, demostrando una alta sensibilidad (83%, IC del 95%: 36-100%) y especificidad (100%; IC del 95%: 42-100%)<sup>18</sup>.

**Tabla 4** ctDNA como factor predictivo de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia libre de recidiva

Estudio		HR	IC 5%	IC 95%	
<i>Christensen et al.</i> <sup>20</sup> (2019)	Grupo QNA	Pre-QNA	15,6	3,5	69
		Pre-QNA	15,2	5	46,8
		Pre-CR	3,4	ND	ND
		Post-CR	37,7	8,5	167,1
<i>Powles et al.</i> <sup>23</sup> (2021)	Brazo de observación		6,19	4,29	8,9
	Brazo de atezolizumab		3,9	2,43	14,47
	ctDNA <sup>+</sup>		0,56	0,41	0,77
	ctDNA <sup>-</sup>		1,07	0,75	1,52
<i>Carrasco et al.</i> <sup>21</sup> (2022)	ctDNA <sup>+</sup>		4,199	ND	ND
<i>Szabados et al.</i> <sup>22</sup> (2022)	Post-CR		78	8,64	707,78
<i>Ben-David et al.</i> <sup>16</sup> (2024)	Pre-CR		4,5	1	19
	Ventana ERD		9,9	2,6	37
	Variante histológica		2,9	1,1	7,7
<i>Sfakianos et al.</i> <sup>17</sup> (2024)	Grupo CR	Post-CR (ventana de ERD)	115,3	5,21	1.8351
		Post-CR (ventana de vigilancia)	23,02	5,51	96,17
	Grupo TNA	Antes de CR	10,61	1,01	1434
		Post-CR (ventana de ERD)	8,89	0,721	109,6
		Post-CR (ventana de monitorización)	4,61	1,21	17,58
	Variante histológica (n = 46)	Post-CR (ventana ERD)	4,93	1,17	20,77
		Post-CR (ventana de monitorización)	28,3	3,52	3.660

CR: cistectomía radical; ctDNA: ADN tumoral circulante; ERD: enfermedad residual mínima; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; ND: no disponible; QNA: quimioterapia neoadyuvante; TNA: tratamiento neoadyuvante.

Otros 2 estudios confirmaron el valor pronóstico del ctDNA postcistectomía. Birkenkamp-Demtröder et al. realizaron un estudio prospectivo en 50 pacientes con CVMI seleccionados para recibir 4 ciclos de cisplatino y gemcitabina (Cis-Gem) neoadyuvante administrados a intervalos de 3 semanas antes de la cistectomía<sup>19</sup>. Utilizando pruebas de reacción en cadena de la polimerasa digital en gotas específicos del tumor para analizar tanto las alteraciones somáticas como de línea germinal, se utilizó ctDNA para detectar la recurrencia metastásica tras la cirugía y evaluar la eficacia del tratamiento. Tras la cistectomía se detectó ctDNA plasmático en el 75% de los pacientes, y el 50% experimentó recurrencia sistémica en una mediana de 275 días después de la intervención. Hubo una relación significativa entre la recurrencia y el hallazgo de niveles más elevados de ctDNA ( $p < 0,001$ )<sup>19</sup>.

El mismo grupo de investigadores amplió más adelante su estudio con una cohorte de 68 pacientes sometidos a 4 ciclos de Cis-Gem neoadyuvante seguidos de cistectomía, utilizando un enfoque personalizado de secuenciación de nueva generación (NGS) de 16 genes para evaluar periódicamente la presencia de ctDNA<sup>20</sup>. La detección de ctDNA en el momento del diagnóstico antes de la QNA fue un factor predictivo potente de la SLR (HR: 29,1; IC: 3,7-230,8;  $p = 0,001$ ). Entre los pacientes con resultados positivos para ctDNA, el 46% experimentó recurrencia en 12 meses, en comparación con solo el 3% de los pacientes ctDNA<sup>-</sup> ( $p < 0,001$ ). El estado de ctDNA pre-cistectomía también pudo predecir la recurrencia (HR: 12,0; IC: 3,8-37,5;  $p < 0,001$ ), con una tasa de recurrencia del 75% en los pacientes ctDNA<sup>+</sup> en compara-

ción con el 11% en los pacientes ctDNA<sup>-</sup> ( $p < 0,001$ ). En todos los pacientes ctDNA<sup>+</sup> precistectomía se detectaron tumores residuales (estadio T1) y/o metástasis ganglionares durante la cistectomía<sup>20</sup>. Notablemente, todos los pacientes en estadio Pt0 en la cistectomía fueron ctDNA<sup>-</sup>. El estado de ctDNA tras la cistectomía mostró un valor pronóstico sólido para la SLR (CRI: 131,3; IC: 16,6-16.993,6;  $p < 0,0001$ ) con una sensibilidad, especificidad y precisión del 100% (IC del 95%: 75,29-100), 98% (IC del 95%: 89,15-99,95%) y 98,39% (IC del 95%: 91,34-99,96%), respectivamente. Mientras se observó recurrencia en el 76% (13 de 17) de los pacientes ctDNA<sup>+</sup>, ninguno de los pacientes ctDNA<sup>-</sup> experimentó recurrencia. Durante el seguimiento, el estado ctDNA<sup>+</sup> identificó con precisión a todos los pacientes con recurrencia metastásica (sensibilidad del 100% y especificidad del 98%).

Más recientemente, Carrasco et al. evaluaron el estado del ctDNA a intervalos de 1, 4, 12 y 24 meses en los pacientes con CVMI previamente sometidos a cirugía, y establecieron una correlación entre estos hallazgos y los resultados patológicos<sup>21</sup>. El ctDNA se cuantificó utilizando el kit Quant-It™ Pico-Green™ dsDNA (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). El estudio demostró que el estado de ctDNA en la cistectomía se correlacionaba con estadios patológicos más avanzados, y que los niveles de cfDNA a los 4 meses de la cirugía servían como marcador pronóstico de la progresión tumoral (HR: 5,290;  $p = 0,033$ ) y de la supervivencia específica al cáncer (HR: 4,199;  $p = 0,038$ ).

## ADN tumoral circulante e inmunoterapia perioperatoria

En el ensayo ABACUS de fase 2 se evaluó atezolizumab como tratamiento neoadyuvante en 40 pacientes con CVMI y se analizó el ctDNA mediante la prueba Signatera™ (Natera) basada en secuenciación de próxima generación y PCR múltiple (PCR-NGS) dirigido a 16 variantes de un solo nucleótido clonales somáticas<sup>22</sup>. Se detectó ctDNA en el 63% de los pacientes antes del tratamiento neoadyuvante y en el 47% después del tratamiento. Cabe destacar que 3 pacientes que eliminaron ctDNA tras el tratamiento neoadyuvante con atezolizumab también obtuvieron una respuesta patológica completa (RPC) en la cirugía. Además, 2 pacientes con enfermedad ctDNA-positiva en la determinación inicial y tras la terapia con atezolizumab neoadyuvante pasaron a un estado ctDNA<sup>-</sup> tras la cirugía y lograron una RPC. El estado del ctDNA tras el tratamiento neoadyuvante se correlacionó con los resultados patológicos en la cistectomía, incluyendo la afectación ganglionar ( $p=0,02$ ) y el estadio T ( $p=0,0005$ ). No se observaron recidivas en los pacientes con estado ctDNA<sup>-</sup> basal y tras el tratamiento neoadyuvante. Los pacientes ctDNA<sup>+</sup> tras la cirugía mostraron una mayor tasa de recidiva (SLR HR: 78,22; IC 95%: 8,64-707,73;  $p < 0,001$ )<sup>22</sup>.

Atezolizumab también se evaluó como terapia adyuvante en los pacientes con CVMI de alto riesgo en el ensayo de fase 3 IMVIGOR010, en el que no se observó ninguna mejora en la SLE. Un análisis retrospectivo en la población evaluable mediante biomarcadores ( $n=581$ ) utilizó la prueba Signatera™ (Natera) para evaluar el ctDNA, aportando datos significativos<sup>23</sup>. Después de la cirugía, el 37% de los pacientes fueron ctDNA<sup>+</sup>: 116 en el brazo de atezolizumab y 98 en el brazo de observación. La detección de ctDNA en este momento se asoció con un mayor riesgo de recurrencia en comparación con los pacientes ctDNA<sup>-</sup> (brazo de observación SLE HR: 6,3; IC del 95%: 4,45-8,92;  $p < 0,0001$ ). Es importante destacar que los pacientes ctDNA<sup>+</sup> tratados con atezolizumab tuvieron una mejor supervivencia global y SLE (SLE HR: 3,36; IC del 95%: 2,44-4,62). No se encontraron diferencias entre los brazos en los pacientes ctDNA<sup>-</sup>. El estado ctDNA<sup>+</sup> persistente tras 2 ciclos de atezolizumab se relacionó con un mayor riesgo de progresión y recurrencia de la enfermedad en comparación con los pacientes ctDNA<sup>-</sup> (SLE brazo de observación HR: 8,65; IC del 95%: 5,67-13,18;  $p < 0,0001$ )<sup>23</sup>. En el estudio de Christensen et al. se desarrollaron paneles NGS personalizados específicos para cada paciente utilizando ADN del tumor primario y leucocitos de 92 pacientes con CVMI no metastásico tratados con QNA seguida de CR<sup>24</sup>. Se realizó secuenciación profunda dirigida en muestras de plasma ( $n=167$ ), sobrenadante de orina ( $n=281$ ) y *pellets* urinarios ( $n=114$ ) recogidas antes de la CR para detectar la ERM y evaluar la respuesta al tratamiento. Los niveles de ctDNA se correlacionaron con el estadio tumoral en las muestras de plasma, pero los resultados en las muestras de sobrenadante y *pellets* urinarios fueron variables. La eliminación de ctDNA se asoció con la respuesta a la QNA (reducción del estadio patológico a  $< T1$ ) en el sobrenadante de orina ( $p < 0,001$ ), pero no en *pellets* ( $p=0,23$ ) ni en plasma ( $p=0,05$ ). Por el contrario, se observó una correlación significativa entre el aclaramiento de ctDNA en plasma y la SLR ( $p < 0,001$ ), pero no en las muestras de sobrenadante ( $p=0,06$ ) ni de *pellets* de orina ( $p=0,53$ )<sup>24</sup>.

## Discusión

Varios biomarcadores urinarios y séricos se han evaluado para determinar su valor potencial en la predicción de los resultados oncológicos del CV<sup>7-9,25-27</sup>. Sin embargo, estos estudios contienen algunos sesgos, como el tamaño reducido de las muestras, la heterogeneidad de los protocolos utilizados para la realización de las pruebas diagnósticas, la obtención de tejidos para el análisis de biomarcadores y discrepancias no desdeñables en los resultados obtenidos<sup>28</sup>. Además, el análisis de tejidos se asocia a dificultades y limitaciones, como la heterogeneidad inter e intratumoral, los cambios dinámicos durante el tratamiento, el riesgo de complicaciones relacionadas con el procedimiento y la disponibilidad limitada de material. El ctDNA ha surgido recientemente como un biomarcador novedoso para predecir los resultados en el CVMI con hallazgos consistentes en todos los estudios disponibles. Nuestra revisión resalta la importancia del ctDNA en diferentes contextos, tanto como marcador pronóstico después de la cistectomía, como posible predictor de respuesta en los contextos de QNA e inmunoterapia preoperatoria. En concreto, el estado del ctDNA y su dinámica han mostrado indicios prometedores en la monitorización de las recidivas y la detección de la ERM, lo que permitiría anticipar la progresión radiológica con un margen temporal significativo. En segundo lugar, dada la toxicidad asociada a la QNA y a la inmunoterapia adyuvante y su impacto en la calidad de vida, la identificación de biomarcadores que puedan predecir y monitorizar las respuestas en estos contextos aportaría beneficios sustanciales. Esto permitiría establecer estrategias de desescalada, con la consecuente reducción de la toxicidad innecesaria para los pacientes. Además, en el caso de los pacientes que obtengan una respuesta molecular completa (ctDNA<sup>-</sup>) tras el tratamiento neoadyuvante confirmada por la ausencia de cáncer residual viable tras la CR, se podría evitar el uso de tratamientos agresivos adicionales en el futuro. Esto podría complementarse con el análisis del ADN tumoral en orina. El ensayo de fase II/III MODERN (NCT05987241) acaba de iniciar el reclutamiento de los pacientes en EE. UU. Este estudio proporcionará nuevos descubrimientos que determinarán si los niveles de ctDNA pueden identificar a los pacientes con mayor riesgo de recurrencia de la enfermedad tras la CR, lo que optimizará el uso postoperatorio de agentes inmunoterápicos como nivolumab y relatlimab para mejorar los resultados de supervivencia y reducir la progresión de la enfermedad. El ensayo IMVIGOR 011 es importante en este campo, ya que evalúa la utilidad clínica de la determinación de los niveles de ctDNA en el contexto del tratamiento adyuvante para el CV<sup>29</sup>. Los pacientes con ctDNA<sup>+</sup> son aleatorizados 2:1 a un año de atezolizumab frente a placebo y los pacientes con ctDNA<sup>-</sup> se someten a observación con pruebas de imagen radiológica cada 6 meses durante 2 años. Si los pacientes con estado ctDNA<sup>-</sup> pasan a un estado ctDNA detectable, pueden cambiar al brazo de aleatorización de atezolizumab frente a placebo. El criterio de valoración primario es la SLE evaluada por el investigador. El análisis presentado en el congreso de la EAU evaluó los resultados clínicos en 171 pacientes con CVMI de alto riesgo que entraron en el cribado de IMvigor011 y permanecieron negativos para ERM durante la ventana de monitorización. Los autores mostraron: a) tasas de SG del 100% a los 12 meses y del 98% a

los 18 meses, en los pacientes que permanecieron negativos para ERM en determinaciones seriadas, y b) tasas de SLE del 92% a los 12 meses y del 88% a los 18 meses, en los pacientes que permanecieron negativos para ERM en determinaciones seriadas. Los autores concluyen que los pacientes que mantienen un estado negativo para ERM en las determinaciones seriadas pueden evitar el tratamiento adyuvante.

En el ensayo TOMBOLA se está evaluando si la recurrencia molecular es un nuevo estadio clínico de la enfermedad. En este ensayo, los pacientes con CMVI tratados con QNA seguida de cistectomía y con estado negativo de ctDNA tras la cirugía son tratados con atezolizumab si el ctDNA pasa a ser detectable. El criterio de valoración primario de este ensayo es la respuesta completa, definida por un estado ctDNA<sup>-</sup> tras atezolizumab en combinación con resultados normales en las pruebas de imagen. Según los hallazgos de este estudio, el 52% de los pacientes fueron ctDNA<sup>+</sup> post-CR y en el 75% se detectaron < 4 meses post-CR. En total, el 55% de los pacientes alcanzaron el criterio de valoración primario de ausencia de evidencia de enfermedad y los resultados de SLR en los pacientes con ctDNA<sup>-</sup> fueron excelentes (HR: 1,14; IC del 95%: 0,81-1,62). En los resultados preliminares del ensayo VOLGA, que se presentaron en el último congreso de ESMO, se observó una supervivencia libre de eventos en los grupos con eliminación de ctDNA y ctDNA<sup>-</sup> en comparación con el grupo ctDNA<sup>+</sup>. El análisis conjunto de estos datos sugiere que la eliminación del ctDNA plasmático durante la fase neoadyuvante puede asociarse a resultados favorables y respalda el valor potencial del ctDNA como biomarcador útil en la predicción de los beneficios del tratamiento en los pacientes con CMVI.

Nuestra revisión tiene varias limitaciones, entre ellas la escasez de datos sobre el uso del ctDNA en estos contextos, la heterogeneidad entre los estudios incluidos y los diferentes criterios de valoración y fases de la enfermedad en que se ha analizado el ctDNA. Además, se emplearon diferentes métodos para determinar el ctDNA. Otra limitación significativa es la falta de información detallada sobre el tiempo transcurrido entre la QNA y la cirugía en los estudios seleccionados, lo que podría afectar a la precisión del ctDNA como biomarcador predictivo en este contexto. No obstante, la incorporación del ctDNA a la práctica clínica parece tener un potencial considerable, y en el futuro podría constituir un elemento fundamental en el proceso de toma de decisiones.

## Conclusiones

En conclusión, el estudio del valor de los niveles de ctDNA en ensayos clínicos ha generado cada vez más datos que respaldan su impacto en el pronóstico y la predicción del tratamiento clínico y quirúrgico del CMVI. Para validar estos hallazgos y promover la implementación del ctDNA en la práctica clínica habitual, se requieren más estudios, en particular ensayos controlados aleatorizados bien diseñados.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Kamoun A, de Reyniès A, Allory Y, Sjö Dahl G, Robertson AG, Seiler R, et al.; Bladder Cancer Molecular Taxonomy Group. A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol.* 2020;77:420–33.
2. Powles T, Bellmunt J, Comperat E, De Santis M, Huddart R, Loriot Y, et al.; ESMO Guidelines Committee. Bladder cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2022;33:244–58.
3. EAU. EAU guidelines. Presented at the EAU Annual Congress Milan 2023. 2023.
4. Galsky MD, Hahn NM, Rosenberg J, Sonpavde G, Hutson T, Oh WK, et al. Treatment of patients with metastatic urothelial cancer 'unfit' for cisplatin-based chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2011;29:2432–8.
5. McFerrin C, Davaro F, May A, Raza S, Siddiqui S, Hamilton Z. Trends in utilization of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy for muscle invasive bladder cancer. *Investig Clin Urol.* 2020;61:565–72.
6. FDA. FDA approves nivolumab for adjuvant treatment of urothelial carcinoma [consultado 23 Ene 2023]. Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-nivolumab-adjuvant-treatment-urothelial-carcinoma>
7. Yoshida T, Kates M, Fujita K, Bivalacqua TJ, McConkey DJ. Predictive biomarkers for drug response in bladder cancer. *Int J Urol.* 2019;26:1044–53.
8. Napolitano L, Orecchia L, Giulioni C, Carbonara U, Tavezza G, Lizzio L, et al. The Role of miRNA in the Management of Localized and Advanced Renal Masses, a Narrative Review of the Literature. *Appl. Sci.* 2023;13:275, <http://dx.doi.org/10.3390/app13010275>.
9. Grosso AA, DI Maida F, Mari A, Raspollini MR, Antonuzzo L, Minerini A. Complete response of metastatic RCC with caval vein thrombus following treatment with pembrolizumab and axitinib: Is it possible to extend the indications for systemic therapy? *Minerva Urol Nephrol.* 2024;76:382–4.
10. Choi J-J, Reich CF, Pisetsky DS. The role of macrophages in the in vitro generation of extracellular DNA from apoptotic and necrotic cells. *Immunology.* 2005;115:55–62.
11. Stroun M, Maurice P, Vasioukhin V, Lyautey J, Lederrey C, Lefort F, et al. The origin and mechanism of circulating DNA. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;906:161–8.
12. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.* 1977;37:646–50.
13. Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med.* 2008;14:985–90.
14. Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B, Ng C, Hrebien S, Cutts RJ, et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. *Sci Transl Med.* 2015;7:302ra133.
15. Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, Jamal-Hanjani M, Constantin T, Salari R, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early stage lung cancer evolution. *Nature.* 2017;545:446–51.
16. Ben-David R, Tillu N, Cumarasamy S, Alerasool P, Rich JM, Kaufmann B, et al. Longitudinal Tumor-informed Circulating Tumor DNA Status Predicts Disease Upstaging and Poor Prognosis for Patients Undergoing Radical Cystectomy. *Eur Urol Oncol.* 2024 Mar 22. S2588-9311(24)00055-5.
17. Sfakianos JP, Basu A, Laliotis G, Cumarasamy S, Rich JM, Kommalapati A, et al. Association of Tumor-informed Circulating Tumor DNA Detectability Before and After Radical Cystectomy with Disease-free Survival in Patients with Bladder Cancer. *Eur Urol Oncol.* 2024. S2588-9311(24)00174-3.

18. Patel KM, van der Vos KE, Smith CG, Moulriere F, Tsui D, Morris J, et al. Association of plasma and urinary mutant DNA with clinical outcomes in muscle invasive bladder cancer. *Sci Rep.* 2017;7:5554.
19. Birkenkamp-Demtröder K, Christensen E, Nordentoft I, Knudsen M, Taber A, et al. Monitoring treatment response and metastatic relapse in advanced bladder cancer by liquid biopsy analysis. *Eur Urol.* 2018;73:535–40.
20. Christensen E, Birkenkamp-Demtröder K, Sethi H, Shchegrova S, Salari R, Nordentoft I, et al. Early detection of metastatic relapse and monitoring of therapeutic efficacy by ultradeep sequencing of plasma cell-free DNA in patients with urothelial bladder carcinoma. *J Clin Oncol.* 2019;37:1547–57.
21. Carrasco R, Ingelmo-Torres M, Gómez A, Trullas R, Roldán FL, Ajami T, et al. Cell-free DNA as a prognostic biomarker for monitoring muscle-invasive bladder cancer. *Int J Mol Sci.* 2022;23:11732.
22. Szabados B, Kockx M, Assaf ZJ, van Dam PJ, Rodriguez-Vida A, Duran I, et al. Final results of neoadjuvant atezolizumab in cisplatin-ineligible patients with muscle-invasive urothelial cancer of the bladder. *Eur Urol.* 2022;82:212–22.
23. Powles T, Assaf ZJ, Davarpanah N, Banchereau R, Szabados BE, Yuen KC, et al. ctDNA guiding adjuvant immunotherapy in urothelial carcinoma. *Nature.* 2021;595:432–7.
24. Christensen E, Nordentoft I, Birkenkamp-Demtröder K, Elbæk SK, Lindskrog SV, Taber A, et al. Cell free urine- and plasma DNA mutational analysis predicts neoadjuvant chemotherapy response and outcome in patients with muscle invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res.* 2023;29:1582–91.
25. Di Maida F, Grosso AA, Tellini R, Lambertini L, Lo Re M, Cadenar A, et al. Analysis of molecular and clinical markers of resistance to bacillus of Calmette-Guérin immunotherapy in patients with urothelial non-muscle invasive bladder cancer. *Minerva Urol Nephrol.* 2022;74:642–6.
26. Di Maida F, Scalici Gesolfo C, Tellini R, Mari A, Sanfilippo C, Lambertini L, et al. Fibronectin urothelial gene expression as a new reliable biomarker for early detection of local toxicity secondary to adjuvant intravesical therapy for non-muscle invasive bladder cancer. *Ther Adv Urol.* 2021;13, 1756287221995683.
27. Mari A, Muto G, Di Maida F, Tellini R, Bossa R, Bisegna C, et al. Oncological impact of inflammatory biomarkers in elderly patients treated with radical cystectomy for urothelial bladder cancer. *Arab J Urol.* 2020;19:2–8.
28. Bedore S, van der Eerden J, Boghani F, Patel SJ, Yassin S, Aguilar K, et al. Protein-Based Predictive Biomarkers to Personalize Neoadjuvant Therapy for Bladder Cancer-A Systematic Review of the Current Status. *Int J Mol Sci.* 2024;25:9899.
29. Jackson-Spence F, Toms C, O'Mahony LF, Choy J, Flanders L, Szabados B, et al. IMvigor011: A study of adjuvant atezolizumab in patients with high-risk MIBC who are ctDNA+ post-surgery. *Future Oncol.* 2023 Mar;19:509–15.