

PERAN *CIRCULATING TUMOR DNA* (ctDNA) PADA KANKER PAYUDARA STADIUM AWAL

Ni Kadek Vani Apriyanti^{1*}, Ni Made Ayu Mas Nathasari², Astari Rahayu Dewi³

¹Departemen Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Mahasaraswati Denpasar

²Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mahasaraswati Denpasar

³Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Mahasaraswati Denpasar

ABSTRAK

Circulating tumor DNA (ctDNA) merupakan biomarker tumor yang banyak diteliti saat ini dan menunjukkan potensi dalam penatalaksanaan kanker payudara. Analisis ctDNA bersifat minimal invasif dengan mendeteksi fragmen DNA yang dilepaskan tumor ke sirkulasi. Deteksi dan analisis ctDNA memungkinkan untuk melihat panel mutasi tertentu dan profil personal tumor sehingga terapi yang direncanakan akan lebih personal. ctDNA menunjukkan peran dalam menilai respon kemoterapi dan terapi endokrin pada kanker payudara stadium awal. Penilaian kadar ctDNA secara serial untuk melihat perubahan konsentrasinya lebih valid dalam menilai respon terapi. Namun, deteksi ctDNA pada stadium awal masih menjadi tantangan karena rendahnya konsentrasi ctDNA dalam darah. Kombinasi analisis ctDNA dengan modalitas deteksi dini konvensional menunjukkan keunggulan dibandingkan deteksi ctDNA saja dalam skrining populasi asimtomatis. Meskipun memiliki potensi yang sangat besar untuk mewujudkan terapi personal pada kanker payudara, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk merancang metode deteksi ctDNA yang terstandar dan mampu mendeteksi pada konsentrasi sangat rendah.

Kata Kunci: ctDNA, kanker payudara stadium awal, *liquid biopsy*, biomarker

ABSTRACT

Circulating tumor DNA (ctDNA) is a tumor biomarker that has been widely studied and demonstrates considerable potential in the management of breast cancer. ctDNA analysis is minimally invasive and can detect DNA fragments released by tumors into the bloodstream. ctDNA analysis enables the identification of specific mutations and tumor molecular profiles, thereby facilitating personalized treatment strategies. ctDNA has shown promise in evaluating responses to chemotherapy and endocrine therapy in early-stage breast cancer. Serial ctDNA measurements may reflect changes in disease burden in response to treatment. However, ctDNA detection in early-stage breast cancer remains challenging due to the low concentration of ctDNA in circulation. The combination of ctDNA analysis with conventional screening modalities may provide advantages over ctDNA-based screening alone in asymptomatic populations. Although ctDNA holds significant potential for advancing personalized therapy in breast cancer, further studies are required to develop standardized detection methods and improve the sensitivity of ctDNA detection at low concentrations.

Keywords: ctDNA, early-stage breast cancer, *liquid biopsy*, biomarker

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu keganasan yang paling sering dijumpai pada perempuan dan menjadi penyebab utama mortalitas akibat kanker di dunia. Meskipun kemajuan dalam deteksi dini serta perkembangan terapi telah memperbaiki prognosis pasien, kekambuhan penyakit dan resistensi terapi masih menjadi tantangan utama, termasuk pada pasien kanker payudara stadium awal. Maka, diperlukan pendekatan diagnosis dan *monitoring* yang lebih sensitif untuk mendukung terapi yang lebih personal dan meningkatkan luaran klinis pasien (Mazzitelli dkk., 2023; Malik dan Zaheer, 2025).

Dalam beberapa tahun terakhir, perkembangan teknologi *liquid biopsy* telah membuka peluang baru dalam terapi kanker payudara. *Liquid biopsy* lahir sebagai pendekatan minimal invasif, yang khususnya berperan ketika jaringan tumor tidak adekuat atau tidak tersedia, yang memungkinkan identifikasi biomarker tumor spesifik sesuai perjalanan penyakit. Berbagai komponen dapat diisolasi dari cairan tubuh dan digunakan dalam analisis *liquid biopsy*, seperti *circulating tumor cell* (CTC), *extracellular vesicles* (EVs), *tumor-educated platelets* (TEPs) atau *circulating tumor DNA* (ctDNA) (Malik dan Zaheer, 2025; Parums, 2025).

Cell-free DNA (cfDNA) pertama kali dijelaskan pada individu sehat oleh Mandel pada tahun 1948 dan pada tahun 1977 dilaporkan bahwa terdapat peningkatan kadar cfDNA pada serum pasien kanker, menekankan adanya potensi besar sebagai biomarker tumor.

cfDNA tersusun atas fragmen kecil dari nuklear *double-stranded* (*coding* dan *non-coding*) dan *mitochondrial DNA* (mtDNA), berukuran sekitar 40-200 *base pairs* (bp). Fraksi cfDNA plasma yang berasal dari sel tumor, atau dikenal sebagai ctDNA, semakin banyak dimanfaatkan dalam bidang onkologi presisi. DNA dari tumor dapat memasuki sirkulasi darah melalui berbagai mekanisme, termasuk apoptosis maupun nekrosis sel tumor (Parums, 2025; Panet dkk., 2024; Easaw dkk., 2025).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ctDNA berperan penting dalam mengidentifikasi target molekuler tertentu pada kanker payudara metastasis, seperti mutasi pada gen *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic* subunit alfa (PIK3CA) maupun gen estrogen receptor 1 (ESR1). Selain itu, pemeriksaan ctDNA juga dapat digunakan untuk mendeteksi perubahan molekuler yang muncul sebagai mekanisme resistensi terhadap terapi target. Namun, penerapan analisis ctDNA pada kanker payudara stadium awal masih menjadi tantangan yang besar. Hal ini disebabkan oleh konsentrasi ctDNA yang relatif lebih rendah pada kanker stadium awal sehingga menyebabkan terbatasnya sensitivitas dari sebagian besar metode pemeriksaan. Selain itu, tingkat deteksi ctDNA pada stadium awal juga dipengaruhi oleh subtype kanker payudara. Kanker payudara dengan ekspresi *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2)-positif dan *triple negative breast cancer* (TNBC) diketahui memiliki tingkat pelepasan ctDNA yang lebih tinggi dibandingkan

subtipe luminal. Meskipun demikian, perkembangan teknologi sekuensing dan bioinformatika terus meningkatkan pemanfaatan ctDNA pada kanker payudara stadium awal (Panet dkk., 2024; Malik dan Zaheer, 2025).

Tinjauan literatur ini bertujuan untuk membahas lebih lanjut mengenai potensi klinis analisis ctDNA pada kanker payudara stadium lanjut, terutama perannya dalam deteksi dini dan skrining serta *monitoring* respon terapi.

METODE

Artikel ini merupakan *literature review* yang mengkaji mengenai peran *circulating tumor DNA* (ctDNA) dalam deteksi dan *monitoring* terapi kanker payudara stadium awal. Artikel ilmiah dalam Bahasa Indonesia maupun Bahasa Inggris dari tahun 2016 – 2026 dikumpulkan dari beberapa *database* seperti PubMed, Google Scholar, dan ScienceDirect. Artikel yang dipilih berupa artikel asli, meta analisis dari studi klinis, dan *review*. Hasil dari artikel tersebut kemudian disintesis, dirangkum, dan dijabarkan kembali dalam bentuk narasi deksriptif.

PEMBAHASAN

Circulating tumor DNA (ctDNA)

Circulating tumor DNA (ctDNA) merupakan fragmen DNA yang berasal dari sel tumor dan beredar di dalam darah. Pelepasan ctDNA ke sirkulasi dapat terjadi melalui berbagai mekanisme terutama kematian sel seperti apoptosis, nekrosis, onkosis, ferroptosis, piroptosis, dan fagositosis. Selain itu, ctDNA juga dapat dilepaskan

melalui proses penuaan sel (*senescence*) maupun sekresi aktif melalui *extracellular vesicle* (EV) dan pelepasan DNA mitokondria (mtDNA). Beragam mekanisme ini menyebabkan karakteristik ctDNA yang ditemukan dalam darah menjadi sangat bervariasi. Ukuran fragmen DNA dan keterkaitannya dengan nukleosom dapat memberikan petunjuk mengenai mekanisme pelepasannya. Fragmen cfDNA berukuran pendek (<200 bp) umumnya dihasilkan dari apoptosis akibat pemotongan DNA yang dimediasi caspase. Fragmen kemudian dikemas dalam badan apoptotik, difagositosis oleh makrofag, dan akhirnya dilepas kembali ke aliran darah. Fragmen yang lebih pendek (<100 bp) dilaporkan lebih kaya akan ctDNA dan mtDNA yang mengandung perubahan genomik spesifik tumor. Sebaliknya, fragmen DNA berukuran besar (>200 bp) lebih sering berkaitan dengan nekrosis. Namun, kontribusi nekrosis terhadap total cfDNA masih belum sepenuhnya dipahami karena DNA dari sel nekrotik dapat mengalami degradasi lanjutan oleh enzim DNase I atau diproses kembali oleh makrofag menjadi fragmen yang lebih kecil (Shanchez-Herrero, 2022; Parums, 2025).

Integritas cfDNA juga memiliki nilai diagnostik. Pasien kanker cenderung menunjukkan integritas cfDNA yang lebih tinggi dibandingkan individu sehat. Hal ini mengindikasikan bahwa nekrosis berperan besar dalam pelepasan ctDNA, terutama pada tumor agresif dan stadium lanjut. Perbedaan ini disebabkan oleh fakta bahwa sel normal lebih sering mengalami apoptosis,

sedangkan sel kanker dapat mengalami kematian melalui berbagai mekanisme lain, seperti nekrosis dan autofagi. Selain melalui kematian sel, sel tumor hidup juga dapat melepaskan ctDNA melalui EVs yang berperan dalam komunikasi antar-jaringan dan transportasi materi genetik tumor. vesikel besar cenderung mengandung fragmen ctDNA kecil. DNA dalam EV juga dilaporkan memiliki sensitivitas yang baik dalam mendeteksi mutasi pada kanker stadium awal (Shanchez-Herrero, 2022; Parums, 2025).

Karakteristik ctDNA seperti pola fragmentasi, jejak nukleosom, motif ujung DNA, perubahan genetik, dan profil metilasi DNA dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi asal jaringan tumor. Proses pemotongan DNA diketahui tidak terjadi secara acak, karena terdapat lokasi genom tertentu yang lebih sering menjadi titik akhir fragment ctDNA. Variasi motif ujung DNA yang lebih besar juga ditemukan pada pasien kanker, sehingga berpotensi untuk membedakan fragmen ctDNA dari DNA sel sehat (Parums, 2025; Babirou dkk., 2022).

Jumlah ctDNA dalam sirkulasi ditentukan oleh keseimbangan antara proses pelepasan DNA dan pembersihan (*clearance*) dari tubuh. Secara umum, cfDNA memiliki waktu paruh singkat, berkisar 16 menit hingga 2,5 jam. Eliminasi cfDNA terjadi melalui tiga mekanisme utama, yakni degradasi oleh enzim DNase dalam aliran darah, pembersihan aktif DNA dan nukleosom oleh sel tubuh, serta filtrasi melalui organ, seperti ginjal dan kelenjar getah bening. Kadar ctDNA pada pasien

kanker umumnya lebih tinggi dibandingkan individu sehat karena peningkatan kematian sel tumor melalui berbagai mekanisme sehingga jumlah DNA yang dilepaskan akan melebihi kapasitas sistem pembersihan tubuh dan terjadi akumulasi ctDNA dalam sirkulasi. Selain itu, ctDNA dapat bertahan lebih lama dalam sirkulasi karena terlindung dalam EV sehingga tidak mudah dihancurkan oleh enzim maupun sistem imun (Shanchez-Herrero, 2022).

Metode Deteksi dan Analisis ctDNA

Analisis ctDNA telah mengalami perkembangan pesat, mulai dari metode sederhana berbasis *polymerase chain reaction* (PCR) hingga teknologi next-generation sequencing (NGS) yang lebih canggih. Teknik PCR yang digunakan di awal perkembangan deteksi ctDNA memiliki tingkat spesifisitas yang tinggi namun dengan kemampuan terbatas mendeteksi satu jenis mutasi dalam satu waktu dan sensitivitas yang masih rendah. Di sisi lain, teknologi NGS memungkinkan analisis berbagai gen secara bersamaan bahkan mencakup seluruh eksom genom (Tegeler, 2024; Panet, 2024).

Pada kanker payudara, terdapat tiga strategi utama dalam deteksi ctDNA. Pertama adalah pendekatan *untargeted*, yang memanfaatkan whole-genome sequencing (WGS) atau whole-exome sequencing (WES) untuk mengeksplorasi mutasi baru pada DNA tumor. metode ini berguna dalam menilai heterogenitas tumor dan mengidentifikasi target terapi potensial. Akan tetapi, biaya pemeriksaan yang

tinggi serta sensitivitas yang relatif rendah menjadi keterbatasan utama pendekatan ini. Strategi kedua adalah pendekatan targeted, yang berfokus pada panel mutasi spesifik yang berperan dalam progresivitas tumor, respon terapi, maupun resistensi terapi seperti mutasi gen *ESR1* dan *PIK3CA*. Pendekatan ini bermanfaat untuk menentukan kandidat terapi target, memantau respon terapi, serta mengidentifikasi timbulnya resistensi selama terapi. Pendekatan ketiga adalah metode yang dipersonalisasi (*tumor-informed*), dimana profil genetik dari jaringan tumor primer digunakan untuk merancang panel sekuensing khusus untuk masing-masing pasien (Tegeler, 2024; Panet, 2024).

Perbedaan utama dalam metode analisis ctDNA terletak pada jumlah mutasi yang dapat dideteksi. Pendekatan untargeted mampu mengidentifikasi banyak mutasi, sedangkan metode targeted dan tumor-informed berfokus pada mutasi spesifik tumor. Meskipun hanya mendeteksi sedikit mutasi, metode yang lebih terarah tetap memiliki manfaat klinis penting dalam menentukan terapi pasien dengan biaya yang lebih rendah (Tegeler, 2024; Panet, 2024).

ctDNA untuk Deteksi Dini dan Skrining

Deteksi ctDNA cukup menantang pada kanker payudara stadium awal karena kadarnya yang sangat rendah dalam sirkulasi. Saat ini, mamografi masih menjadi baku emas dalam skrining kanker payudara, meskipun penggunaannya terbatas pada kelompok

usia tertentu. Sebagian besar kasus kanker payudara juga masih terdiagnosis ketika gejala klinis telah muncul (Tegeler, 2024). Keterbatasan utama dari studi yang menganalisis ctDNA pada kanker payudara stadium awal adalah hanya berfokus pada deteksi satu atau beberapa mutasi saja dalam plasma, seperti TP53 sehingga mutasi lain tidak terdeteksi dan dapat menimbulkan hasil negatif palsu. Tantangan utama saat ini adalah memilih antara pendekatan deteksi *non-tumor-informed* atau *tumor-informed*. Pada kanker payudara *triple negative* (TNBC), pendekatan *non-tumor-informed* cenderung lebih efektif karena karakter mutasinya yang lebih heterogen dibandingkan subtype lain. Selain itu, proporsi pasien dengan ctDNA positif juga lebih tinggi pada subtype TNBC dan HER2-positif (Mazzitelli dkk., 2023; Malik dan Zaheer, 2025; Tegeler, 2024).

Terdapat beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk menilai efektivitas ctDNA sebagai metode skrining pada kanker payudara. Uji *multi-cancer early detection* (MCED) Galleri® merupakan metode skrining berbasis ctDNA yang tersedia secara komersial yang tervalidasi berdasarkan hasil penelitian *Circulating Cell-Free Genome Atlas*. Namun, kemampuan deteksi pada kanker payudara khususnya stadium awal masih rendah, yakni hanya sekitar 2,6% kasus kanker payudara stadium 1 yang berhasil terdeteksi. Angka ini jauh lebih rendah dibandingkan tingkat deteksi pada stadium lanjut yang mencapai 90% (Klein dkk., 2021). Hasil ini serupa dengan hasil dari uji prospektif PATHFINDER yang

menunjukkan tingkat deteksi secara umum sangat baik namun dengan sensitivitas yang rendah pada stadium awal (Schrag dkk., 2023). Tes MCED lain bernama CancerSEEK mengombinasikan panel mutase ctDNA terarah dengan analisis protein multiple untuk mendeteksi berbagai jenis kanker. Hasil studi observasional awal menunjukkan median sensitivitas sekitar 70% pada delapan jenis tumor termasuk kanker payudara (Cohen dkk., 2018). Berbagai penelitian lain seperti STRIVE, RENOVATE, dan NHS-Galleri masih berjalan untuk menilai manfaat peran tes MCED secara klinis untuk mendukung strategi skrining kanker di masa mendatang. Sejauh ini, penggunaan ctDNA dalam skrining kanker payudara masih sebagai pelengkap metode deteksi konvensional, sehingga diperlukan penelitian skala besar untuk meningkatkan sensitivitas pemeriksaan agar potensi ctDNA dalam deteksi dini kanker payudara dapat dimanfaatkan secara optimal (Ravera dkk., 2021; Easaw dkk., 2025).

Dalam penerapan tes MCED berbasis darah, beberapa aspek penting perlu diperhatikan. Tingkat spesifisitas yang tinggi sangat diperlukan untuk meminimalkan hasil positif palsu yang menimbulkan kecemasan psikologis serta paparan radiasi dari pemeriksaan lanjutan yang tidak perlu. Di sisi lain, sensitivitas pemeriksaan juga harus tinggi untuk skrining populasi karena prevalensi kanker di masyarakat yang relatif rendah. Hingga saat ini, manfaat klinis MCED masih belum sepenuhnya terbukti terutama terkait kemampuan mendeteksi kanker payudara stadium

dini untuk meningkatkan peluang kesembuhan, menurunkan mortalitas, dan memperpanjang angka kesintasan. Hal ini berkaitan dengan sensitivitas deteksi kanker stadium awal yang masih rendah, sehingga penggunaan tes MCED berbasis darah sebagai metode skrining rutin populasi belum direkomendasikan (Tegeler, 2024).

Meskipun demikian, beberapa studi awal menunjukkan hasil yang baik ketika ctDNA dikombinasikan dengan pencitraan konvensional. Sebuah penelitian pada pasien dengan hasil mamografi mencurigakan menemukan adanya mutasi PIK3CA dan TP53 pada jaringan tumor, dengan sebagian pasien juga menunjukkan mutasi yang sama pada plasma darah meskipun dalam kadar rendah sesuai karakteristik stadium awal kanker (Rodriguez dkk., 2019). Penelitian lain yang melibatkan pasien dengan hasil mamografi dan ultrasonografi mencurigakan menunjukkan bahwa kombinasi pemeriksaan ctDNA dan pencitraan memiliki nilai prediktif positif sebesar 92,45%, sensitivitas 74,24%, dan spesifisitas 92%. Temuan ini mengindikasikan bahwa integrasi ctDNA dengan metode pencitraan berpotensi meningkatkan akurasi diagnosis dini kanker payudara (Zhang dkk., 2019). Penelitian Barbirou dkk (2022) menggunakan analisis WGS NGS ctDNA dan menemukan tidak ada variasi yang signifikan dari fraksi tumor cfDNA antara kelompok pasien yang terdiagnosis kanker payudara dan lesi jinak berdasarkan mamografi, menekankan rendahnya kadar ctDNA pada kanker payudara stadium awal.

Namun, penelitian ini juga menemukan adanya mutasi spesifik kanker payudara hanya pada kelompok terdiagnosis kanker payudara, menekankan perlunya penggunaan metode yang lebih sensitif dan spesifik pada kondisi ini (Barbiou dkk., 2022).

ctDNA untuk *Monitoring Respon Terapi*

Neoadjuvant chemotherapy (NAT) merupakan pilihan terapi pada kanker payudara subtype TNBC, positif HER-2 dan luminal *high-risk* stadium II-III. Peran ctDNA selama NAT banyak diteliti sebagai indikator untuk menilai respon terapi, terutama membantu menentukan strategi peningkatan (*escalation*) maupun pengurangan intensitas terapi (*de-escalation*). Perubahan kadar ctDNA berkaitan erat dengan respon patologis, *recurrence-free survival* (RFS) dan *overall survival* (OS). Berbagai penelitian menilai ctDNA sebelum, selama, dan setelah NAT dengan hasil yang bervariasi (Panet, 2024).

Sebuah meta-analisis sebelumnya menunjukkan bahwa deteksi ctDNA saat baseline (sebelum NAT) berkaitan dengan *relapse-free survival* (RFS) dan *overall survival* (OS) yang lebih buruk namun tidak dapat memprediksi *pathological complete response* (pCR) (Papakonstantinou dkk., 2022). Perbedaan dari luaran dan hasil pCR ini berkaitan dengan perbedaan ctDNA *shedding* pada subtype kanker payudara yang berbeda, dimana lebih tinggi pada subtype TNBC dibandingkan luminal. Karakteristik uji ctDNA dan validitas analisisnya juga penting ketika

menginterpretasikan hasil penelitian (Panet dkk., 2024).

Penurunan atau tidak terdeteksinya ctDNA selama terapi pada pasien kanker payudara stadium awal yang menjalani kemoterapi neoadjuvan berkaitan dengan respon terapi yang lebih baik. Studi I-SPY2 pada pasien kanker payudara stadium awal negatif HER2 menunjukkan kadar/keberadaan ctDNA yang menetap setelah tiga minggu menyelesaikan kemoterapi neoadjuvan berkaitan dengan peluang tercapainya *pathological complete response* (pCR) yang lebih rendah. Sebaliknya *clearance* ctDNA ini berkaitan dengan hasil terapi yang lebih baik, terutama pada kanker payudara *triple-negative* (TNBC) (Magbanua dkk., 2021). Hasil serupa juga ditemukan pada penelitian lain yang melaporkan bahwa penurunan signifikan frekuensi alel varian ctDNA setelah satu siklus kemoterapi neoadjuvan dapat memprediksi tercapainya pCR (Cavallone dkk., 2020). Deteksi ctDNA sebelum pemberian terapi endokrin neoadjuvan (*neoadjuvant endocrine therapy*/NET) berkaitan dengan skor *residual cancer burden* yang lebih tinggi setelah NET. Pasien dengan kadar ctDNA yang terdeteksi persisten sebelum operasi juga memiliki risiko yang lebih tinggi mengalami rekurensi jauh (Grinshpun dkk., 2026).

Kadar ctDNA yang tetap terdeteksi atau meningkat setelah terapi berkaitan dengan prognosis yang lebih buruk, termasuk peningkatan risiko kekambuhan dan penurunan angka ketahanan hidup. Penelitian PREDICT-DNA/TBCRC040 melaporkan bahwa pasien TNBC dengan ctDNA yang masih

terdeteksi sebelum operasi memiliki risiko kekambuhan sekitar 12 kali lebih tinggi, terlepas dari tercapainya pCR (Hunter dkk., 2025). Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa dinamika ctDNA selama NAC dapat memberikan stratifikasi risiko yang lebih akurat dibandingkan parameter klinikopatologis konvensional, seperti *residual cancer burden* (RCB). Pasien dengan ctDNA yang tidak terdeteksi setelah terapi cenderung memiliki luaran jangka panjang yang sangat baik, bahkan pada kasus yang masih menunjukkan penyakit residual saat operasi (Waks dkk., 2024).

SIMPULAN

Pemanfaatan ctDNA sebagai biomarker skrining kanker payudara pada populasi asimtomatik menunjukkan sensitivitas yang cenderung rendah berkaitan dengan variasi metode pemeriksaan dan rendahnya kadar ctDNA pada stadium awal. Pengembangan tes terstandar yang dapat mendeteksi kadar ctDNA yang sangat rendah (*ultralow level*) sangat diperlukan untuk mengatasi hal tersebut. Sebaliknya, ctDNA menunjukkan manfaat klinis yang baik dalam memprediksi respon terapi pada kanker payudara stadium awal, baik terapi neoadjuvant, adjuvant dan endokrin. Pemeriksaan ctDNA secara serial masih menjadi pilihan pendekatan yang optimal untuk mengevaluasi respon terapi. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk menentukan waktu terbaik analisis ctDNA sehingga dapat digunakan untuk memprediksi respon

terapi dan menjadi pertimbangan dalam pemberian terapi yang lebih personal.

REFERENSI

- Barbirou, M., Miller, A.A., Gafni, E., Mezlini, A., Zidi, A., Boley, N., dkk. 2022. Evaluation of cfDNA as an early detection assay for dense tissue breast cancer. *Sci Rep.* 12:8458
- Cavallone, L., Aguilar-Mahecha, A., Lafleur, J., Brousse, S., Aldamry, M., Roseshter, T., dkk. 2020. Prognostic and predictive value of circulating tumor DNA during neoadjuvant chemotherapy for triple negative breast cancer. *Sci Rep.* 10:14704
- Cohen, J.D., Li, L., Wang, Y., Thoburn, C., Afsari, B., Danilova, L., dkk. 2018. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science.* 359:926–30
- Easaw, S., Hsu, J., Steuerwald, N., Heeke, A.L. 2025. Liquid clues: tracking early-stage breast cancer with ctDNA - a mini review. *Front Oncol.* 15:1634859
- Grinshpun, A., Dustin, D., Cal, M., Hughes, M., DiLullo, M., Moore, M., dkk. 2026. Circulating tumor DNA in neoadjuvant endocrine therapy for early breast cancer. *ESMO Open.* 11(3): 1-5
- Hunter, N., Parsons, H.A., Cope, L., Canzoniero, J.V., Denbow, R., Navarro, F., dkk. 2025. Circulating tumor DNA, pathologic response after neoadjuvant therapy, and survival: First results from TBCRC 040 (the PREDICT-DNA trial). *JCO.* 43:1009–9
- Klein, E.A., Richards, D., Cohn, A., Tummala, M., Lapham, R., Cosgrove, D., dkk. 2021. Clinical validation of a targeted methylation-based multi-cancer early detection test using an

- independent validation set. *Ann Oncol.* 32:1167–77
- Magbanua, M.J.M., Swigart, L.B., Wu, H.T., Hirst, G.L., Yau, C., Wolf, D.M., dkk. 2021. Circulating tumor DNA in neoadjuvant-treated breast cancer reflects response and survival. *Ann Oncol.* 32:229–39
- Malik, S., Zaheer, S. 2025. The impact of liquid biopsy in breast cancer: Redefining the landscape of non-invasive precision oncology. *The Journal of liquid Biopsy.* 8:100299
- Mazzitelli, C., Santini, D., Corradini, A.G., Zamagni, C., Trerè, D., Montanaro, L., dkk. 2023. Liquid Biopsy in the Management of Breast Cancer Patients: Where Are We Now and Where Are We Going. *Diagnostics (Basel, Switzerland).* 13(7):1241
- Panet, D., Papakonstantinou, A., Borrell, M., Vivancos, J., Vivancos, A., Oliveira, M. 2024. Use of ctDNA in early breast cancer: analytical validity and clinical potential. *Breast Cancer.* 10:50
- Papakonstantinou, A., Gonzalez, N.S., Pimentel, I., Sunol, A., Zamora, E., Ortiz, C., dkk. 2022. Prognostic value of ctDNA detection in patients with early breast cancer undergoing neoadjuvant therapy: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 104:102362
- Parums, D.V. 2025. A Review of Circulating Tumor DNA (ctDNA) and the Liquid Biopsy in Cancer Diagnosis, Screening, and Monitoring Treatment Response. *Med Sci Monit.* 2025;3
- Ravera, F., Cirmena, G., Dameri, M., Gallo, M., Vellone, V.G., Fregatti, P., dkk. 2021. Development of a horizontal data integration classifier for non-invasive early diagnosis of breast cancer: the RENOVATE study protocol. *BMJ Open.* 11:e054256
- Rodriguez, B.J., Córdoba, G.D., Aranda, A.G., Álvarez, M., Vicioso, L., Pérez, C.L., dkk. 2019. Detection of TP53 and PIK3CA mutations in circulating tumor DNA using next-generation sequencing in the screening process for early breast cancer diagnosis. *J Clin Med.* 8:1183
- Sa´nchez-Herrero, E., Robado de Lope, L., Gonza´lez-Rumayor, V., Romero, A., Serna-Blasco, R., Provencio, M. 2022. Circulating Tumor DNA as a Cancer Biomarker: An Overview of Biological Features and Factors That may Impact on ctDNA Analysis. *Front Oncol.* 12:943253
- Schrag, D., Beer, T.M., McDonnell, C.H., Nadauld, L., Dilaveri, C.A., Reid, R., dkk. 2023. Blood-based tests for multicancer early detection (PATHFINDER): a prospective cohort study. *Lancet.* 402:1251–60
- Tegeler, C.M., Hartkopf, A.D., Banys-Paluchowski, M., Krawczyk, N., Fehm, T., Jaeger, B.A.S. 2024. Circulating Tumor DNA in Early and Metastatic Breast Cancer—Current Role and What Is Coming Next. *Cancers.* 16: 3919.
- Waks, A.G., Tarantino, P., Li, T., Ogayo, E.R., Rahman, T., DiLullo M., dkk. 2024. Prevalence and dynamics of circulating tumor DNA (ctDNA) among patients (pts) with HER2+ breast cancer (BC) receiving neoadjuvant paclitaxel/trastuzumab/pertuzumab (THP) in the DAPHNe trial. *JCO.* 42:588–8
- Zhang, X., Zhao, W., Wei, W., You, Z., Ou, X., Sun, M., dkk. 2019. Parallel analyses of somatic mutations in plasma circulating tumor DNA (ctDNA) and matched tumor tissues

in early-stage breast cancer. *Clin
Cancer Res.* 25:6546–6553