

BIÓPSIA LÍQUIDA NO DIAGNÓSTICO ONCOLÓGICO DE PEQUENOS ANIMAIS: Avanços, Desafios e Perspectivas

LIQUID BIOPSY IN THE ONCOLOGICAL DIAGNOSIS OF SMALL ANIMALS: Advances, Challenges and Perspectives

Rafaela Andrade Simões de Lima¹

Vitória Lopes Peixoto²

Prof^a. Dr^a. Mariana Batista Rodrigues Faleiro³

RESUMO

A biópsia líquida é frequentemente apresentada como uma alternativa à biópsia tecidual, especialmente diante das limitações dos métodos convencionais. O presente estudo teve como objetivo analisar, de forma crítica, a aplicabilidade da biópsia líquida na oncologia veterinária, abordando seus fundamentos biológicos, biomarcadores envolvidos, aplicações clínicas, limitações e perspectivas futuras. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, realizada a partir de busca sistematizada em bases de dados científicas, incluindo PubMed, Scopus, Web of Science, SciELO e Google Scholar, contemplando estudos publicados entre 2015 e 2025. Foram selecionados 12 artigos que atenderam aos critérios de elegibilidade. Os resultados evidenciaram predominância de estudos na espécie canina e centralidade dos biomarcadores DNA livre de células (cfDNA) e DNA tumoral circulante (ctDNA), associados ao avanço de técnicas de sequenciamento de nova geração. Observou-se maior aplicabilidade da técnica no monitoramento longitudinal da doença, especialmente na avaliação da resposta terapêutica e progressão tumoral. No entanto, limitações relacionadas à sensibilidade em estágios iniciais, à heterogeneidade tumoral e à ausência de padronização metodológica ainda restringem sua aplicação clínica. Conclui-se que a biópsia líquida apresenta potencial relevante como ferramenta complementar aos métodos diagnósticos tradicionais, com perspectivas de expansão a partir da integração de biomarcadores e avanços tecnológicos na medicina de precisão.

Palavras-chave: Biomarcadores tumorais; biópsia líquida ; diagnóstico precoce ; oncologia veterinária; pequenos animais

ABSTRACT

Liquid biopsy is often presented as an alternative to tissue biopsy, particularly in response to the limitations of conventional diagnostic methods. This study aimed to critically evaluate the applicability of liquid biopsy in veterinary oncology, addressing

¹ Acadêmico(a) do 10º Período do curso de medicina veterinária pelo Centro Universitário Mais. E-mail: rafaelalima@aluno.facmais.edu.br

² Acadêmico(a) do 10º Período do curso de medicina veterinária pelo Centro Universitário Mais. E-mail: vitorialopes@aluno.facmais.edu.br

³ Professor(a)-Orientador(a). Doutor em ciência animal. Docente do Centro Universitário Mais. E-mail: mariana@facmais.edu.br

its biological foundations, key biomarkers, clinical applications, limitations, and future perspectives. An integrative literature review was conducted based on a systematic search of major scientific databases, including PubMed, Scopus, Web of Science, SciELO, and Google Scholar, covering studies published between 2015 and 2025. A total of 12 studies met the inclusion criteria and were analyzed. The findings revealed a predominance of studies in dogs and highlighted the central role of cell-free DNA (cfDNA) and circulating tumor DNA (ctDNA), supported by advances in next-generation sequencing technologies. Liquid biopsy demonstrated greater consistency in longitudinal disease monitoring, particularly for assessing therapeutic response and tumor progression. However, its clinical application remains limited by factors such as reduced sensitivity in early-stage disease, tumor heterogeneity, and lack of methodological standardization. Overall, liquid biopsy represents a valuable complementary tool to traditional diagnostic methods, with future potential linked to multimodal biomarker integration and ongoing developments in precision medicine.

Keywords: Tumor biomarkers; liquid biopsy; early diagnosis; veterinary oncology; small animals

1 INTRODUÇÃO

Segundo Dalek, De Nardi e Rodaski (2009), o diagnóstico precoce das neoplasias assume papel central na definição de condutas terapêuticas e na melhoria do prognóstico clínico. Tradicionalmente, o diagnóstico oncológico em pequenos animais baseia-se na associação entre exame clínico, métodos de imagem, citologia e biópsia tecidual, sendo o exame histopatológico considerado o padrão-ouro para confirmação diagnóstica (Dalek; De Nardi; Rodaski, 2009; Santos; Alessi, 2023). Contudo, embora essencial, a biópsia tecidual apresenta limitações importantes, especialmente em função de sua natureza invasiva, dos riscos associados ao procedimento e da representatividade restrita da amostra analisada (Alix-Panabières; Pantel, 2016).

As neoplasias configuram-se como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em cães e gatos, especialmente em indivíduos geriátricos, refletindo o aumento da expectativa de vida dos animais de companhia e os avanços nas capacidades diagnósticas da medicina veterinária (Withrow; Vail; Page, 2020; Flory; Wilson-Robles, 2024). Evidências epidemiológicas indicam que uma parcela significativa da população canina desenvolverá algum tipo de câncer ao longo da vida, consolidando essa condição como um dos principais desafios clínicos contemporâneos (Alshammari *et al.*, 2025).

As limitações dos métodos diagnósticos convencionais tornam-se particularmente evidentes diante da complexidade biológica das neoplasias, sobretudo em função da heterogeneidade intratumoral, que compromete a representatividade de amostras únicas e, conseqüentemente, a acurácia diagnóstica e prognóstica (Alix-Panabières; Pantel, 2016; Mouliere *et al.*, 2021). Do ponto de vista fisiopatológico, a heterogeneidade intratumoral, definida pela coexistência de subpopulações celulares com perfis genéticos e moleculares distintos em um mesmo tumor, configura-se como um dos principais desafios da oncologia contemporânea (Mouliere *et al.*, 2021). Tal variabilidade exerce influência direta sobre a progressão tumoral, a resposta às terapias e o desenvolvimento de

resistência, evidenciando a limitação de abordagens baseadas em amostragens pontuais para a adequada representação da dinâmica tumoral (Alix-Panabières; Pantel, 2016; Mouliere *et al.*, 2021).

Diante desse cenário, observa-se a intensificação do desenvolvimento de estratégias diagnósticas menos invasivas e capazes de fornecer informações dinâmicas sobre a biologia tumoral, refletindo a transição para abordagens mais integradas na oncologia contemporânea (Mouliere *et al.*, 2021). Diante dessas limitações, a biópsia líquida emerge como uma abordagem promissora, definida como a análise de material tumoral em fluidos biológicos, sendo descrita como “uma alternativa não invasiva para caracterização molecular do câncer” (Alix-Panabières; Pantel, 2016; Nowosh; Gomes, 2019; Losque *et al.*, 2022). Entre os principais biomarcadores envolvidos, destacam-se o DNA tumoral circulante (ctDNA), o DNA livre de células (cfDNA), as células tumorais circulantes (CTCs), os microRNAs e as vesículas extracelulares, os quais refletem diferentes dimensões da biologia tumoral (Chibuk *et al.*, 2021).

Diferentemente das biópsias teciduais convencionais, a biópsia líquida permite a avaliação longitudinal da doença, possibilitando o monitoramento contínuo da progressão tumoral e da resposta terapêutica, sendo considerada uma ferramenta capaz de capturar a dinâmica tumoral em tempo real (Mouliere *et al.*, 2021; Losque *et al.*, 2022). Na medicina humana, essa abordagem já apresenta aplicações consolidadas no âmbito da medicina de precisão, sendo descrita como uma tecnologia emergente com potencial para transformar o manejo do câncer (Alix-Panabières; Pantel, 2016). Entretanto, na medicina veterinária, sua aplicação ainda se encontra em fase de consolidação, sendo limitada por desafios relacionados à padronização metodológica, à validação clínica e à variabilidade dos biomarcadores analisados (Kruglyak *et al.*, 2021).

No âmbito da oncologia comparada, o estudo das neoplasias em animais de companhia assume relevância crescente, uma vez que cães e gatos compartilham exposições ambientais e desenvolvem tumores espontâneos com características semelhantes às neoplasias humanas (Paoloni; Khanna, 2008). Sob a perspectiva da oncologia comparada, esses animais são considerados modelos experimentais valiosos para a investigação do câncer, contribuindo para a compreensão dos mecanismos de carcinogênese e resposta terapêutica. (Paoloni; Khanna, 2008).

Apesar dos avanços científicos observados, persiste uma lacuna significativa entre o potencial teórico da biópsia líquida e sua incorporação na prática da clínica veterinária, especialmente em função da ausência de padronização dos protocolos analíticos e da limitada validação de biomarcadores específicos (Nowosh; Gomes, 2019; Kruglyak *et al.*, 2021). Tal cenário evidencia a necessidade de aprofundamento teórico e metodológico, considerando que a aplicação clínica ainda depende de validação robusta e reprodutível (Garnica *et al.*, 2020; Losque *et al.*, 2022).

Nesse contexto, torna-se necessária uma análise crítica e integrativa da literatura científica, capaz de elucidar não apenas os avanços, mas também as limitações e inconsistências associadas à aplicação da biópsia líquida na oncologia veterinária (Nowosh; Gomes, 2019; Chibuk *et al.*, 2021). Assim, o presente estudo tem como objetivo analisar, sob uma perspectiva crítica, a aplicabilidade da biópsia líquida no diagnóstico oncológico de cães e gatos, discutindo seus fundamentos biológicos, biomarcadores envolvidos, aplicações clínicas, limitações e perspectivas futuras.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Fundamentos da biópsia líquida

A caracterização tumoral constitui um dos pilares da oncologia, sendo fundamental para o diagnóstico, estadiamento e definição das estratégias terapêuticas, tradicionalmente baseada na análise histopatológica de amostras teciduais (Withrow; Vail; Page, 2020). Contudo, segundo Alix-Panabières e Pantel (2016), a biópsia tecidual, embora considerada padrão-ouro, apresenta limitações relevantes, sobretudo em função de sua natureza invasiva e da representatividade da amostra. Para esses autores, a análise de fragmentos tumorais isolados pode não refletir adequadamente a complexidade biológica da neoplasia (Alix-Panabières; Pantel, 2016). Observa-se que, Mouliere *et al.* (2021) apontam que a necessidade de métodos capazes de representar a dinâmica tumoral tem impulsionado o desenvolvimento de novas abordagens diagnósticas na oncologia contemporânea.

Paralelamente ao avanço da medicina de precisão, a biópsia líquida emerge como uma estratégia inovadora, definida como a análise de material tumoral circulante em fluidos biológicos, especialmente no sangue periférico (Alix-Panabières e Pantel 2016; Losque *et al.*, 2022). De acordo com Mouliere *et al.* (2021), essa abordagem fundamenta-se no princípio de que tumores sólidos liberam continuamente componentes biológicos na circulação, permitindo a obtenção de informações moleculares de forma dinâmica e minimamente invasiva. Para Chibuk *et al.* (2021), esses componentes incluem DNA tumoral circulante (ctDNA), DNA livre de células (cfDNA), células tumorais circulantes (CTCs), microRNAs e vesículas extracelulares, os quais refletem diferentes aspectos da biologia tumoral. Conforme destacado por Garnica *et al.* (2020), a integração desses biomarcadores possibilita uma compreensão mais abrangente da heterogeneidade tumoral, ampliando o potencial diagnóstico da técnica.

Diferentemente das biópsias teciduais convencionais, a biópsia líquida permite o monitoramento longitudinal da doença por meio de coletas seriadas, possibilitando a avaliação da progressão tumoral, da resposta terapêutica e da detecção precoce de recidivas (Mouliere *et al.*, 2021). Alix-Panabières e Pantel (2016) afirmam que essa capacidade de acompanhamento dinâmico configura-se como um dos principais avanços no contexto da medicina de precisão. Entretanto, apesar de seu potencial, Kruglyak *et al.* (2021) explicam que a aplicação clínica da biópsia líquida ainda enfrenta desafios importantes, especialmente relacionados à sensibilidade analítica, padronização metodológica e validação dos biomarcadores. Assim, a consolidação dessa abordagem na oncologia veterinária depende do avanço de estudos clínicos robustos e da integração de diferentes tecnologias analíticas (Chibuk *et al.*, 2021).

2.2 Biomarcadores tumorais circulantes

2.2.1 DNA livre de células (cfDNA)

A presença de DNA solúvel na circulação sanguínea foi inicialmente descrita por Mandel e Métáís (1948), estabelecendo as bases para a compreensão dos ácidos nucleicos extracelulares. Posteriormente, Leon *et al.* (1977) demonstraram a associação entre níveis séricos de DNA livre de células (cfDNA) e pacientes oncológicos, evidenciando sua relação com a resposta terapêutica. De acordo com

esses autores, a maior fração do cfDNA origina-se de células não tumorais submetidas a processos de morte celular, como apoptose e necrose. Desde então, conforme destacado por Cristiano *et al.* (2019), o cfDNA passou a ser reconhecido como uma importante fonte de informação molecular na oncologia.

Em termos moleculares, o cfDNA consolidou-se como um dos principais pilares da biópsia líquida, sendo amplamente investigado como biomarcador para o diagnóstico precoce e não invasivo do câncer (Cristiano *et al.*, 2019; Losque *et al.*, 2022). De acordo com Mouliere *et al.* (2021), a principal vantagem do cfDNA reside em sua capacidade de refletir dinamicamente alterações moleculares associadas à progressão tumoral. Para Flory *et al.* (2022), essa aplicabilidade estende-se à medicina veterinária, na qual métodos baseados em sequenciamento de nova geração têm permitido a identificação de múltiplas alterações genômicas em neoplasias caninas. Assim, os autores descrevem o cfDNA como uma ferramenta capaz de capturar a complexidade molecular do câncer em tempo real. (Flory *et al.*, 2022; Barbosa e Souza, 2025).

Além da detecção de mutações somáticas, avanços tecnológicos recentes têm ampliado significativamente o escopo analítico do cfDNA por meio da incorporação de abordagens multi-ômicas (Barbosa e Souza, 2026). Segundo Rolfo *et al.* (2023), essas estratégias integram diferentes camadas moleculares, incluindo padrões de metilação do DNA, fragmentômica e organização de nucleossomos, aumentando a sensibilidade e a especificidade diagnóstica. De acordo com Mouliere *et al.* (2021), padrões de fragmentação e organização do cfDNA apresentam elevada capacidade de caracterização tumoral, contribuindo para o aprimoramento da detecção precoce e da análise molecular das neoplasias.

Métodos baseados em fragmentômica e na análise estrutural do cfDNA têm demonstrado potencial relevante na identificação de alterações tumorais, especialmente em neoplasias com baixa carga tumoral (Mouliere *et al.*, 2021). Segundo Rolfo *et al.* (2023), a integração dessas diferentes estratégias analíticas potencializa a capacidade diagnóstica da biópsia líquida. Assim, o cfDNA consolida-se como um biomarcador central na oncologia de precisão, com aplicações relevantes no diagnóstico, prognóstico e monitoramento terapêutico do câncer (Mouliere *et al.*, 2021; Rolfo *et al.*, 2023).

2.2.2 DNA tumoral circulante (ctDNA)

O DNA tumoral circulante (ctDNA) corresponde à fração do DNA livre circulante (cfDNA) derivada de células neoplásicas, incluindo células viáveis, apoptóticas e necróticas, refletindo diretamente a atividade tumoral (Ray e Vohra, 2022; Barbosa e Souza 2025). Conforme esses autores, a liberação do ctDNA na corrente sanguínea está associada à carga tumoral, ao grau de vascularização e ao *turnover* celular.

A dinâmica de liberação do ctDNA é influenciada por fatores biológicos complexos, incluindo taxa proliferativa tumoral, hipóxia, necrose, vascularização e atividade do microambiente tumoral, os quais modulam diretamente a quantidade de material genético liberado na circulação (Mouliere *et al.*, 2021; Rolfo *et al.*, 2023). Além disso, mecanismos fisiológicos de depuração, especialmente hepáticos e renais, interferem diretamente na concentração circulante desses biomarcadores, impactando sua detectabilidade e sensibilidade analítica (Siravegna *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2024). Dessa forma, a interpretação dos níveis circulantes de ctDNA deve

considerar não apenas a carga tumoral, mas também fatores biológicos e metabólicos associados à dinâmica tumoral.

De acordo com Rolfo *et al.* (2023), a curta meia-vida do ctDNA, estimada em minutos a poucas horas, confere a esse biomarcador a capacidade de representar de forma dinâmica a biologia tumoral em tempo real. Para Ray e Vohra (2022), essa característica distingue o ctDNA de outros marcadores convencionais, como um indicador dinâmico da atividade tumoral.

Paralelamente ao desenvolvimento das plataformas de sequenciamento, os avanços tecnológicos têm ampliado significativamente a capacidade de detecção do ctDNA, especialmente por meio de técnicas baseadas em sequenciamento de nova geração e metodologias digitais de alta precisão (Lee *et al.*, 2024; Barbosa e Souza 2025). Segundo Lee *et al.* (2024), essas abordagens permitem a identificação de alterações genômicas com elevada sensibilidade, mesmo em cenários de baixa carga tumoral. Para Rolfo *et al.* (2023), essa elevada acurácia reforça o papel do ctDNA como um biomarcador central na oncologia de precisão. Assim, o ctDNA possibilita não apenas a detecção precoce da doença, mas também o refinamento da estratificação prognóstica e a individualização das decisões terapêuticas (Rolfo *et al.*, 2023; Lee *et al.*, 2024).

A análise do ctDNA tem se destacado, por sua capacidade de identificar mutações acionáveis à resposta terapêutica, sendo considerada uma ferramenta central na medicina de precisão (Siravegna *et al.*, 2017; Barbosa e Souza 2025), além de permitir a detecção de alterações genômicas relevantes para a seleção de terapias-alvo (Rolfo *et al.*, 2023). Segundo Verzè *et al.* (2022), o monitoramento longitudinal do ctDNA permite a avaliação da resposta terapêutica e a detecção de doença residual mínima após tratamentos com intenção curativa. Esses autores, demonstram que a persistência do ctDNA após o tratamento está associada ao aumento do risco de recorrência tumoral, reforçando seu potencial prognóstico. De forma complementar, Saha *et al.* (2022) destacam que a análise dinâmica do ctDNA permite acompanhar alterações moleculares associadas à evolução tumoral em tempo real, ampliando as possibilidades de monitoramento terapêutico e prognóstico na oncologia de precisão.

A quantificação seriada do ctDNA tem demonstrado relevância clínica na avaliação da eficácia terapêutica ao longo do tempo (Alix-Panabières, Pantel; 2016; Rolfo *et al.*, 2023). De acordo com Budhbaware *et al.* (2024), reduções nos níveis de ctDNA estão frequentemente associadas à resposta positiva ao tratamento, enquanto aumentos podem indicar progressão tumoral ou resistência terapêutica. Para esses autores, a obtenção dessas informações de forma não invasiva permite ajustes terapêuticos mais rápidos e fundamentados (Barbosa e Souza 2025). Assim, conforme sintetizado por Rolfo *et al.* (2023), o ctDNA tem sido descrito como um dos biomarcadores mais promissores da oncologia moderna, com impacto direto na tomada de decisão clínica e na personalização do tratamento.

2.2.3 Células tumorais circulantes (CTC)

As células tumorais circulantes (CTCs) foram descritas pela primeira vez por Thomas Ashworth em 1869, sendo caracterizadas como células neoplásicas íntegras que se desprendem do tumor primário ou de lesões metastáticas e passam a circular na corrente sanguínea (Siravegna *et al.*, 2017). Segundo Lin *et al.* (2021), essas células desempenham papel central na cascata metastática, sendo responsáveis pela disseminação tumoral para sítios distantes. Para esses autores, a

compreensão dos mecanismos envolvidos na circulação e sobrevivência das CTCs representa uma estratégia promissora para a identificação de alvos terapêuticos (Lin *et al.*, 2021).

Por serem descritas como elementos-chave no processo de metástase, as CTCs têm sido amplamente investigadas como biomarcadores com relevância diagnóstica, prognóstica e preditiva em tumores sólidos (Lin *et al.*, 2021). De acordo com Capuozzo *et al.* (2023), a detecção dessas células no sangue periférico permite uma abordagem minimamente invasiva para o monitoramento da progressão tumoral. Para Castro-Giner *et al.* (2018), as CTCs podem ser encontradas tanto em células isoladas quanto em *clusters* que são os aglomerados multicelulares. Segundo Liu *et al.* (2020), esses *clusters* representam uma adaptação biológica que aumenta a resistência ao estresse hemodinâmico e potencializa a capacidade metastática.

De acordo com Carneiro *et al.* (2020), avanços tecnológicos, especialmente no desenvolvimento de micro dispositivos microfluídicos, têm permitido o isolamento dessas células com elevada sensibilidade e pureza. Para esses autores, tais tecnologias possibilitam a preservação da integridade celular, permitindo análises funcionais e moleculares mais precisas. Apesar de apresentarem meia-vida relativamente curta na circulação, as CTCs fornecem informações valiosas sobre a biologia tumoral em tempo real (Carneiro *et al.*, 2020).

A quantificação e a caracterização das CTCs têm demonstrado relevante aplicabilidade clínica na avaliação da agressividade tumoral e do potencial metastático (Alix-Panabières; Pantel, 2016; Arechederra *et al.*, 2020). Evidências indicam que a presença e a carga dessas células na circulação estão associadas à progressão da doença e à resposta terapêutica (Arechederra *et al.*, 2020). Além disso, a análise das CTCs possibilita o acesso a informações genéticas, genômicas, proteômicas e transcriptômicas, ampliando sua utilidade no contexto da medicina de precisão (Scher *et al.*, 2016). Sob a ótica da medicina de precisão, as CTCs constituem uma plataforma dinâmica para o monitoramento tumoral e para o suporte à tomada de decisão clínica, consolidando-se como um dos principais biomarcadores emergentes na oncologia contemporânea (Alix-Panabières; Pantel, 2016; Mouliere *et al.*, 2021; Barbosa e Souza 2025).

2.2.4 microRNAs e vesículas extracelulares

Os microRNAs (miRNAs) consistem em pequenas moléculas de RNA não codificante que atuam na regulação pós-transcricional da expressão gênica, participando do controle de diferentes processos celulares relacionados à proliferação, diferenciação e apoptose (Fish *et al.*, 2020; Padilha e Feitosa, 2022). Alterações nos padrões de expressão dessas moléculas têm sido associadas à carcinogênese, à progressão tumoral e ao desenvolvimento de metástases, uma vez que os miRNAs modulam vias diretamente envolvidas no comportamento biológico das neoplasias (Calin; Croce, 2006). Além disso, a elevada estabilidade desses biomarcadores em fluidos biológicos, associada à possibilidade de detecção por métodos minimamente invasivos, reforça seu potencial para aplicação clínica no diagnóstico e monitoramento do câncer (Mitchell *et al.*, 2008).

No contexto da biópsia líquida, os microRNAs (miRNAs) circulantes, particularmente aqueles associados a vesículas extracelulares, têm sido reconhecidos como biomarcadores com potencial diagnóstico e prognóstico em oncologia (Mitchell *et al.*, 2008; Valadi *et al.*, 2007; Fish *et al.*, 2020). De acordo com

Mitchell *et al.* (2008), miRNAs apresentam estabilidade em fluidos biológicos, mantendo-se detectáveis mesmo após exposição a RNases, o que favorece sua aplicação em análises clínicas. Para Lopes *et al.* (2025), os exossomos tumorais atuam como transportadores dessas moléculas, protegendo seu conteúdo e refletindo com fidelidade a biologia tumoral. Na perspectiva desses autores, os exossomos carregam uma diversidade de biomoléculas, incluindo miRNAs e proteínas, sendo considerados veículos altamente informativos sobre o estado biológico e a dinâmica tumoral (Théry *et al.*, 2018; Lopes *et al.*, 2025).

Do ponto de vista funcional, os miRNAs exercem papel direto na modulação de vias de sinalização envolvidas na progressão tumoral, na disseminação metastática e resistência às terapias antineoplásicas (Calin; Croce, 2006; Saha *et al.*, 2022). Conforme Rupaimoole; Slack (2017) e Borchardt *et al.* (2026), essas moléculas modulam processos-chave da tumorigênese, incluindo angiogênese, evasão do sistema imune e estabelecimento de nichos metastáticos. Além disso, biomarcadores derivados de vesículas extracelulares têm demonstrado elevado potencial diagnóstico, uma vez que refletem o estado fisiopatológico das células de origem e preservam características moleculares do tumor (Théry *et al.*, 2018; Tian *et al.*, 2021). Do ponto de vista molecular, esses biomarcadores vêm sendo reconhecidos como ferramentas relevantes para o diagnóstico, prognóstico e monitoramento do câncer (Tian *et al.*, 2021; Tian *et al.*, 2021; Saha *et al.*, 2022).

As vesículas extracelulares, incluindo exossomos, desempenham papel central na comunicação intercelular ao transportar DNA, RNA e proteínas entre células (Théry *et al.*, 2018). Segundo Dobra *et al.* (2020), vesículas derivadas de tumores estão envolvidas em processos críticos, como crescimento tumoral, transição epitélio-mesenquimal e metástase. Para Rontogianni *et al.* (2019), o perfil proteômico dessas vesículas pode ser correlacionado com subtipos específicos de neoplasias, permitindo avanços na estratificação tumoral e caracterização molecular. Assim, conforme sintetizado por Tian *et al.* (2021), a integração de miRNAs e vesículas extracelulares na biópsia líquida representa uma abordagem promissora para a oncologia de precisão, ampliando as possibilidades diagnósticas e terapêuticas.

2.3 Aplicações da biópsia líquida na oncologia veterinária

A análise da literatura científica evidencia que a aplicação da biópsia líquida na oncologia veterinária tem sido objeto de crescente interesse, especialmente em função de seu potencial diagnóstico e prognóstico (Nowosh; Gomes, 2019; Flory *et al.*, 2023). e acordo com o exposto por esses autores, o diagnóstico de neoplasias em pequenos animais ainda ocorre, na maioria dos casos, em estágios avançados da doença, o que limita as possibilidades terapêuticas. Diante dessas limitações diagnósticas, a identificação de biomarcadores circulantes surge como uma estratégia promissora para a detecção precoce do câncer.

De acordo com Flory *et al.* (2023), a biópsia líquida permite a identificação de alterações tumorais antes do aparecimento de sinais clínicos evidentes. Para esses autores, a detecção precoce amplia significativamente as opções terapêuticas disponíveis, além de possibilitar intervenções mais eficazes. Além do diagnóstico precoce, a biópsia líquida apresenta relevância no monitoramento da progressão tumoral (Nowosh; Gomes, 2019; Losque *et al.*, 2022). Segundo Alix-Panabières *et al.* (2020), a principal vantagem dessa abordagem reside em sua natureza minimamente invasiva, permitindo coletas seriadas ao longo do tempo. Para esses

autores, essa característica possibilita a avaliação dinâmica da doença, superando limitações associadas a métodos diagnósticos tradicionais.

Sob a perspectiva da medicina integrada, a biópsia líquida tem sido considerada uma ferramenta complementar aos métodos diagnósticos convencionais, cuja interpretação deve ser integrada aos dados clínicos, exames de imagem e demais informações laboratoriais, permitindo uma avaliação mais abrangente da doença neoplásica (Alix-Panabières; Pantel, 2016; Nowosh; Gomes, 2019; Losque *et al.*, 2022). Dessa forma, a integração entre diferentes abordagens diagnósticas constitui um dos principais fundamentos da medicina de precisão, contribuindo para maior acurácia na caracterização e no monitoramento tumoral (Flory *et al.*, 2023).

Do ponto de vista terapêutico, a análise de biomarcadores circulantes também tem sido associada ao monitoramento da resposta ao tratamento, uma vez que variações em seus níveis podem refletir alterações na carga tumoral ao longo do tempo (Flory *et al.*, 2023). Segundo Flory *et al.* (2023) essa possibilidade de acompanhamento dinâmico tem sido destacada como um avanço relevante na condução clínica de pacientes oncológicos. Entretanto, apesar dos avanços observados, a aplicação da biópsia líquida ainda enfrenta limitações importantes que, de acordo com Bernardes *et al.* (2025), desafios metodológicos, como a padronização dos protocolos de coleta e análise, impactam diretamente a reprodutibilidade dos resultados. Para esses autores, a variabilidade técnica constitui um dos principais entraves para a consolidação da técnica na prática clínica (Bernardes *et al.*, 2025).

Além disso, Shen *et al.* (2025) afirmam que a sensibilidade e a especificidade da biópsia líquida ainda são variáveis, dependendo do tipo tumoral e da carga de biomarcadores circulantes. Conforme descrito por Fish *et al.* (2020) a detecção limitada em estágios iniciais representa um desafio significativo. Nesse contexto, a técnica é considerada promissora, embora ainda esteja em processo de validação clínica. (2020).

No contexto da prática veterinária, ainda não há consenso sobre a melhor forma de incorporação da biópsia líquida nos protocolos diagnósticos (Nowosh; Gomes, 2019; Fish *et al.*, 2020). Segundo Flory *et al.* (2023), a técnica pode ser particularmente útil em casos nos quais a obtenção de amostras teciduais é inviável ou apresenta risco elevado. Para esses autores, sua aplicação pode auxiliar na confirmação diagnóstica e no monitoramento de recidivas.

Apesar dessas limitações, a literatura aponta para uma tendência de evolução da biópsia líquida em direção a abordagens mais integradas (Nowosh; Gomes, 2019). De acordo com Zhu *et al.* (2026), o futuro dessa tecnologia está na incorporação de sistemas multimodais, capazes de integrar diferentes biomarcadores e dados clínicos. Para esses autores, essa abordagem representa “um avanço significativo na integração diagnóstica em oncologia”.

Assim, conforme sintetizado por Alix-Panabières *et al.* (2020), a biópsia líquida apresenta elevado potencial para transformar o diagnóstico e o manejo do câncer em pequenos animais. Entretanto, sua consolidação depende do avanço de estudos clínicos robustos e da padronização metodológica. Dessa forma, a técnica configura-se como uma ferramenta promissora, cuja aplicação plena ainda requer validação científica mais aprofundada.

3 METODOLOGIA

O presente estudo caracteriza-se como uma revisão integrativa da literatura com abordagem sistematizada, conduzida conforme recomendações adaptadas do protocolo PRISMA para organização, rastreabilidade e transparência metodológica, com o objetivo de reunir, analisar e sintetizar o conhecimento disponível acerca da biópsia líquida como estratégia inovadora no diagnóstico oncológico de pequenos animais. Essa abordagem metodológica permite a integração de evidências provenientes de diferentes delineamentos, incluindo estudos experimentais, observacionais e teóricos, proporcionando uma compreensão abrangente do fenômeno investigado (Whittemore; Knafl, 2005). Nessa perspectiva, a revisão integrativa mostra-se particularmente adequada para áreas emergentes ou com produção científica heterogênea, como a oncologia veterinária, contribuindo para a sistematização do conhecimento e para a identificação de lacunas teóricas e metodológicas na literatura.

A busca bibliográfica foi realizada em bases de dados científicas reconhecidas, incluindo PubMed, Scopus, Web of Science, SciELO (Scientific Electronic Library Online), CAB Abstracts e Google Scholar, contemplando artigos publicados nos idiomas inglês, português e espanhol. Foram selecionados estudos publicados no período de 2015 a 2025, com ênfase em publicações mais recentes, visando garantir a atualização das informações e a inclusão de avanços científicos na área.

Foram utilizados como descritores, isoladamente ou combinados por operadores booleanos (AND, OR), os seguintes termos: biópsia líquida (*liquid biopsy*), oncologia veterinária (*veterinary oncology*), DNA tumoral circulante (*circulating tumor DNA*), DNA livre de células (*cell-free DNA*), células tumorais circulantes (*circulating tumor cells*), pequenos animais (*small animals*), cães (*dogs*), gatos (*cats*), biomarcadores tumorais (*tumor biomarkers*), microRNA e diagnóstico oncológico (*oncological diagnosis*). A estratégia de busca foi adaptada conforme as especificidades de cada base de dados, visando maximizar a sensibilidade e a abrangência dos resultados.

Os critérios de inclusão contemplaram estudos originais, revisões sistemáticas e meta-análises com relevância clínica na oncologia veterinária, especialmente aqueles relacionados à utilização de biomarcadores tumorais circulantes e às aplicações diagnósticas da biópsia líquida em pequenos animais. Foram excluídos estudos sem aplicabilidade clínica, literatura cinzenta (como trabalhos de conclusão de curso, dissertações e resumos simples), duplicatas e publicações que não apresentavam relação direta com o tema investigado.

Em virtude da heterogeneidade metodológica observada na literatura disponível, optou-se pela seleção de estudos considerados mais robustos do ponto de vista analítico e metodológico, priorizando publicações com maior impacto científico, relevância clínica e contribuição teórica para o avanço da oncologia de precisão e da biópsia líquida em pequenos animais.

A seleção dos estudos foi realizada em etapas sequenciais, incluindo triagem por títulos, resumos e palavras-chave, seguida de leitura na íntegra dos artigos elegíveis, conforme recomendado para revisões com abordagem sistematizada.

As informações extraídas dos estudos selecionados foram organizadas em eixos temáticos previamente definidos, incluindo tipos de biomarcadores, fundamentos biológicos, aplicações clínicas, metodologias analíticas e limitações da técnica. Posteriormente, os dados foram analisados de forma descritiva e comparativa, permitindo a identificação de padrões, divergências e lacunas na literatura científica.

A apresentação dos resultados e do processo de seleção dos estudos foi estruturada conforme diretrizes de transparência recomendadas para revisões científicas, como as orientações do protocolo PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), que visam garantir clareza, reprodutibilidade e rigor metodológico.

Este texto foi elaborado pelos autores do artigo, com o auxílio de ferramentas de inteligência artificial generativa, incluindo ChatGPT e NotebookLM, utilizadas em momentos específicos para exploração de ideias e revisão textual (abril de 2026). Após a utilização dessas ferramentas, os autores revisaram, editaram e validaram integralmente o conteúdo, assumindo total responsabilidade pela precisão, integridade e originalidade das informações apresentadas de acordo com as normas da Unimais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca bibliográfica resultou na identificação inicial de $n = 142$ estudos. Após a remoção de duplicatas ($n = 28$), permaneceram $n = 114$ artigos para triagem. A análise de títulos e resumos levou à exclusão de $n = 61$ estudos, sendo $n = 53$ selecionados para leitura na íntegra. 12 estudos compuseram a análise principal dos resultados, enquanto referências complementares foram utilizadas para fundamentação teórica. Os estudos incluídos, publicados entre 2015 e 2025, abordaram a aplicação da biópsia líquida na oncologia veterinária sob diferentes perspectivas metodológicas e clínicas. Observou-se maior concentração de publicações no período de 2020 a 2025, evidenciando o caráter recente e emergente dessa abordagem. Em termos geográficos, verificou-se predominância de estudos conduzidos em países com maior investimento em pesquisa biomédica, especialmente Estados Unidos e países europeus, o que reflete a distribuição desigual da produção científica na área.

Quanto às espécies avaliadas, a maioria dos estudos concentrou-se na espécie canina, com participação mais limitada de felinos e outras espécies, evidenciando uma lacuna relevante na literatura. Em relação aos tipos tumorais, destacaram-se principalmente linfomas, carcinomas mamários e sarcomas histiocíticos, além de investigações envolvendo múltiplos tipos de neoplasias, sugerindo uma aplicação transversal da técnica na oncologia veterinária.

No que se refere aos biomarcadores, observou-se predominância de estudos envolvendo DNA tumoral circulante (ctDNA) e DNA livre de células (cfDNA), seguidos por microRNAs e vesículas extracelulares, refletindo o avanço das abordagens moleculares na caracterização tumoral. Os estudos selecionados foram sistematizados no quadro 1, no qual são apresentados os principais trabalhos incluídos na revisão, contemplando as espécies avaliadas, os biomarcadores investigados, as metodologias empregadas e os principais achados descritos na literatura.

Quadro 1 – Síntese dos estudos sobre biópsia líquida em pequenos animais

Autor / Ano	Espécie	Tipo de neoplasia	Biomarcador analisado	Método utilizado	Principais achados
Flory <i>et al.</i> , 2022	Cães	Diversos tumores	ctDNA	Sequenciamento de nova geração (NGS)	Demonstrou viabilidade de teste sanguíneo para detecção de múltiplos tipos de câncer em cães.
Flory <i>et al.</i> , 2023	Cães	Neoplasias diversas	ctDNA	NGS	Detectou neoplasias em 54,7% dos cães avaliados, incluindo casos em estágio inicial.
Flory <i>et al.</i> , 2024	Cães	Tumores diversos	cfDNA e ctDNA	NGS + quantificação molecular	Validou teste sanguíneo para rastreamento de câncer em ambiente clínico.
Kruglyak <i>et al.</i> , 2021	Cães	Tumores sólidos e hematológicos	cfDNA	Sequenciamento genômico	Demonstrou potencial do cfDNA para detecção abrangente de câncer em cães.
Garnica <i>et al.</i> , 2020	Cães	Linfoma multicêntrico	microRNA em vesículas extracelulares	Sequenciamento e análise molecular	Identificou microRNAs como biomarcadores para previsão de resposta à quimioterapia.
Fish <i>et al.</i> , 2020	Cães	Carcinoma mamário	microRNA circulante	PCR quantitativo	microRNAs circulantes mostraram potencial como biomarcadores diagnósticos.

Prouteau <i>et al.</i> , 2021	Cães	Sarcoma histiocítico, melanoma oral e linfoma	ctDNA	Sequenciamento molecular	Confirmou presença de DNA tumoral circulante em diferentes neoplasias caninas.
Chibuk <i>et al.</i> , 2021	Cães e gatos	Diversos tumores	Biomarcadores tumorais circulantes	Revisão científica	Destacou potencial da biópsia líquida na medicina de precisão veterinária.
Alshammari <i>et al.</i> , 2025	Cães e gatos	Neoplasias diversas	cfDNA e ctDNA	NGS	Revisão recente destacando avanços da biópsia líquida na prática veterinária.
Novais <i>et al.</i> , 2024	Cães	Carcinoma mamário	Vesículas extracelulares	Análise proteômica	Identificou proteínas com potencial diagnóstico e prognóstico.
Wilson <i>et al.</i> , 2018	Cães	Doenças sistêmicas	cfDNA	Quantificação molecular	Demonstrou correlação entre níveis de cfDNA e processos patológicos.
Alix-Panabière; Pantel, 2016	Humanos / comparativo	Diversos	ctDNA e CTCs	Revisão científica	Estabeleceu fundamentos da biópsia líquida aplicáveis à oncologia comparada.

Fonte: Criado pelos autores

Esse padrão pode ser compreendido, segundo Paoloni e Khanna (2008), não apenas a maior disponibilidade de dados clínicos em cães, mas também sua relevância como modelo translacional na oncologia comparada. Entretanto, conforme argumentam Chibuk *et al.* (2021), essa concentração impõe restrições à generalização dos achados, uma vez que diferenças fisiopatológicas entre espécies podem influenciar a liberação e a detecção de biomarcadores tumorais

. Assim, a predominância de estudos em cães não apenas reflete a disponibilidade de dados metodológicos e históricos, mas também configura uma lacuna epistemológica relevante na oncologia veterinária.

No que se refere aos biomarcadores, a centralidade do cfDNA e do ctDNA decorre da convergência entre mecanismos biológicos e viabilidade analítica. Conforme Mouliere *et al.* (2021), esses fragmentos são liberados na circulação principalmente por apoptose e necrose celular, enquanto Rolfo *et al.* (2023) demonstram que o uso de sequenciamento de nova geração (NGS) permite elevada sensibilidade na detecção de alterações genômicas. Em termos metodológicos, estudos multicêntricos conduzidos por Flory *et al.* (2022; 2023) apresentam evidências mais robustas, ao utilizarem amostras clínicas amplas e plataformas padronizadas, demonstrando capacidade consistente de detecção multicâncer. Em contraste, investigações como a de Kruglyak *et al.* (2021), embora relevantes, apresentam maior variabilidade de desempenho, possivelmente em função de diferenças no desenho amostral e na heterogeneidade dos tumores incluídos.

Essa discrepância evidencia um ponto central da discussão: a sensibilidade da biópsia líquida não é uma propriedade fixa da técnica, mas resulta da interação entre fatores biológicos e metodológicos. A carga tumoral, o estágio da doença e o tipo histológico atuam como variáveis moderadoras, influenciando diretamente a quantidade de biomarcadores disponíveis na circulação. Além disso, diferenças na profundidade de sequenciamento, nos algoritmos de análise e nos critérios de detecção introduzem vieses metodológicos que impactam a comparabilidade dos resultados, conforme discutido por Rolfo *et al.* (2023). Assim, estudos com maior padronização técnica e controle de variáveis clínicas tendem a apresentar maior robustez analítica.

A heterogeneidade intratumoral constitui um dos principais fatores explicativos dessas limitações. Segundo Alix-Panabières e Pantel (2016), tumores são compostos por subclones geneticamente distintos, o que resulta em padrões desiguais de liberação de cfDNA e ctDNA. Essa variabilidade compromete a representatividade molecular da amostra sanguínea, especialmente em neoplasias com baixa taxa proliferativa, nas quais a liberação de biomarcadores circulantes é reduzida (Mouliere *et al.*, 2021). Em contrapartida, a menor sensibilidade observada em estágios iniciais não deve ser interpretada como falha da técnica, mas como consequência da biologia tumoral.

No âmbito clínico, a evidência disponível indica que a biópsia líquida apresenta maior consistência quando aplicada ao monitoramento longitudinal da doença do que ao diagnóstico isolado. Flory *et al.* (2023) demonstram que a quantificação seriada de ctDNA permite inferir variações na carga tumoral, favorecendo a avaliação da resposta terapêutica e a detecção de recidivas. Essa aplicação se mostra particularmente relevante em contextos nos quais a repetição de biópsias teciduais é limitada por risco ou inviabilidade técnica.

A análise comparativa dos biomarcadores evidencia que suas contribuições são complementares, e não redundantes. Enquanto cfDNA e ctDNA são mais eficazes na detecção de alterações genéticas tumorais, as células tumorais circulantes (CTCs) fornecem informações adicionais sobre heterogeneidade e potencial metastático, embora sua aplicação seja limitada por baixa sensibilidade de detecção (Castro-Giner *et al.*, 2018; Scher *et al.*, 2016). Sob uma abordagem multimodal, estudos que combinam CTCs e ctDNA tendem a apresentar maior capacidade de monitoramento, ao integrar informações genômicas e celulares.

Biomarcadores emergentes, como microRNAs e vesículas extracelulares, ampliam o escopo da biópsia líquida ao incorporar dimensões relacionadas à regulação gênica e à comunicação intercelular. Garnica *et al.* (2020) e Novais *et al.* (2024) demonstram associação entre esses marcadores e progressão tumoral em

neoplasias mamárias caninas. No entanto, a aplicação clínica desses biomarcadores ainda é limitada por baixa padronização metodológica e variabilidade nos protocolos de análise, o que compromete sua reprodutibilidade (Tian *et al.*, 2021; Shen *et al.*, 2025).

A partir da síntese dos estudos, torna-se evidente que abordagens baseadas em biomarcadores isolados apresentam limitações estruturais na captura da complexidade tumoral. Nesse sentido, a integração de múltiplos biomarcadores emerge como estratégia mais consistente para aumento da acurácia diagnóstica, conforme proposto por Alix-Panabières *et al.* (2020). Essa abordagem multimodal permite superar parcialmente as limitações impostas pela heterogeneidade tumoral e pela variabilidade metodológica.

Apesar dos avanços, persistem limitações importantes que condicionam a aplicação clínica da biópsia líquida (Quadro 2). Entre elas, destacam-se a ausência de padronização entre protocolos laboratoriais, o custo elevado das tecnologias de sequenciamento e o reduzido tamanho amostral de muitos estudos, fatores que introduzem vieses e limitam a generalização dos resultados. Além disso, a menor sensibilidade em tumores em estágio inicial permanece como um desafio relevante, associado à baixa concentração de biomarcadores circulantes.

Quadro 2 – Principais vantagens e limitações da biópsia líquida na oncologia veterinária

Vantagens	Limitações
Método minimamente invasivo	Ausência de padronização
Permite monitoramento longitudinal	Sensibilidade reduzida em estágios iniciais
Possibilita análise molecular dinâmica	Alto custo tecnológico
Auxilia medicina de precisão	Variabilidade metodológica
Detecta resistência terapêutica	Baixa validação clínica veterinária
Permite coletas seriadas	Pequeno número de estudos multicêntricos

Fonte: Elaborado pelos autores com base em Alix-Panabières e Pantel (2016), Mouliere *et al.* (2021), Rolfo *et al.* (2023) e Flory *et al.* (2023).

Diante desse cenário, a evolução da biópsia líquida na oncologia veterinária tende a ocorrer em direção a modelos integrativos, alinhados à medicina de precisão. A incorporação de múltiplos biomarcadores, associada ao avanço das tecnologias de sequenciamento e à integração com dados clínicos, representa o caminho mais promissor para sua consolidação. Com base na medicina translacional, a oncologia comparada desempenha papel estratégico, ao permitir a validação de biomarcadores em modelos naturais, contribuindo para o avanço simultâneo da medicina veterinária e humana.

Em síntese, a biópsia líquida representa uma ferramenta promissora, porém ainda em consolidação. Sua aplicação clínica eficaz depende da superação de limitações biológicas, da padronização metodológica e da realização de estudos clínicos mais robustos. Assim, sua maior contribuição, no cenário atual, reside na

atuação complementar aos métodos diagnósticos tradicionais, especialmente quando integrada a abordagens multimodais.

Apesar do avanço expressivo das pesquisas envolvendo biópsia líquida e oncologia de precisão, a incorporação dessas tecnologias à rotina da medicina veterinária brasileira ainda ocorre de forma limitada e desigual (Alix-Panabières; Pantel, 2016). Diferentemente do cenário observado em centros internacionais altamente especializados, a realidade nacional ainda é marcada por restrições estruturais, econômicas e metodológicas que dificultam a ampla implementação dessas abordagens na prática clínica (Rolfo *et al.*, 2023).

Um dos principais entraves está relacionado ao elevado custo das plataformas de sequenciamento de nova geração (NGS), PCR digital e análises multiômicas, tecnologias frequentemente necessárias para detecção e caracterização de biomarcadores tumorais circulantes (Lee *et al.*, 2024). Além disso, a dependência de infraestrutura laboratorial altamente especializada e de ferramentas bioinformáticas complexas restringe a realização dessas análises a centros de pesquisa, universidades e laboratórios privados de maior porte, limitando sua disponibilidade em grande parte do território nacional (Kruglyak *et al.*, 2021).

Do ponto de vista metodológico, a ausência de protocolos padronizados representa outro desafio importante para a consolidação da técnica (Bernardes *et al.*, 2025). Diferenças relacionadas à coleta, conservação, processamento e análise das amostras podem interferir diretamente na estabilidade dos biomarcadores e na reprodutibilidade dos resultados (Mouliere *et al.*, 2021). Esse cenário se torna ainda mais complexo quando considerados os diferentes métodos analíticos empregados nos estudos disponíveis, os quais frequentemente utilizam plataformas distintas e critérios heterogêneos de interpretação molecular (Rolfo *et al.*, 2023).

À luz da oncologia comparada, outro aspecto que merece atenção refere-se à forte dependência da literatura produzida em contextos internacionais (Paoloni; Khanna, 2008). Embora cães e gatos representem modelos espontâneos relevantes para investigação translacional do câncer, grande parte das evidências disponíveis ainda deriva de estudos conduzidos em países com maior investimento em pesquisa biomédica e infraestrutura molecular avançada (Chibuk *et al.*, 2021). Isso dificulta a extrapolação direta de determinados protocolos para a realidade clínica brasileira, especialmente diante das diferenças econômicas, estruturais e epidemiológicas existentes entre os sistemas de pesquisa (Nowosh; Gomes, 2019).

Paralelamente, a medicina de precisão veterinária no Brasil ainda se encontra em processo de consolidação científica e institucional (Alshammari *et al.*, 2025). A limitada disponibilidade de estudos multicêntricos nacionais, associada à concentração de grupos especializados em regiões específicas do país, contribui para a desigualdade na produção científica e no acesso às tecnologias diagnósticas avançadas (Flory *et al.*, 2023). Em muitos casos, a integração entre pesquisa acadêmica, diagnóstico molecular e aplicação clínica permanece fragmentada, o que reduz a velocidade de incorporação de novas ferramentas à prática veterinária (Nowosh; Gomes, 2019).

Ainda assim, os avanços observados nos últimos anos indicam uma tendência progressiva de expansão da oncologia molecular veterinária no país (Alix-Panabières, 2020). O aumento do interesse por biomarcadores circulantes, associado ao fortalecimento da oncologia comparada e da medicina translacional, sugere que a biópsia líquida poderá assumir papel cada vez mais relevante no monitoramento e caracterização das neoplasias em pequenos animais (Flory *et al.*, 2023). Entretanto, para que essa incorporação ocorra de maneira consistente, serão

necessários investimentos em infraestrutura laboratorial, padronização metodológica e formação de redes colaborativas de pesquisa capazes de ampliar a validação clínica desses biomarcadores na medicina veterinária brasileira (Rolfo *et al.*, 2023).

Esta revisão apresenta limitações relacionadas à heterogeneidade metodológica dos estudos incluídos, ao reduzido número de investigações envolvendo felinos e à predominância de estudos conduzidos em populações caninas, fatores que limitam a extrapolação universal dos achados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise da literatura evidencia que a biópsia líquida representa um avanço relevante no diagnóstico oncológico de pequenos animais, sobretudo por possibilitar a obtenção de informações moleculares do tumor de forma minimamente invasiva. Biomarcadores como ctDNA, cfDNA, microRNAs, vesículas extracelulares e células tumorais circulantes demonstram aplicabilidade potencial tanto no diagnóstico quanto no monitoramento da doença, ainda que com desempenhos distintos a depender do contexto clínico.

Os estudos analisados indicam que a técnica apresenta maior consistência quando empregada no acompanhamento longitudinal dos pacientes, permitindo avaliar a resposta terapêutica e a progressão tumoral ao longo do tempo. Por outro lado, sua aplicação no diagnóstico precoce ainda encontra limitações importantes, principalmente em decorrência da baixa carga tumoral em estágios iniciais e da heterogeneidade biológica das neoplasias.

Outro aspecto relevante diz respeito à variabilidade metodológica observada entre os estudos, que dificulta a comparação dos resultados e evidencia a necessidade de padronização dos protocolos laboratoriais. Além disso, o custo das tecnologias envolvidas e a concentração de pesquisas em centros especializados ainda restringem sua aplicação na rotina clínica veterinária.

Diante desse cenário, a biópsia líquida deve ser compreendida, no momento, como uma ferramenta complementar aos métodos diagnósticos tradicionais, com maior utilidade em abordagens integradas. A tendência de evolução da área aponta para o uso combinado de múltiplos biomarcadores, associado à incorporação de tecnologias de alta sensibilidade e à integração com dados clínicos, o que pode ampliar sua acurácia diagnóstica.

Assim, embora ainda em processo de consolidação, a biópsia líquida apresenta potencial consistente para contribuir com o aprimoramento do diagnóstico, prognóstico e monitoramento das neoplasias em pequenos animais. Sua efetiva incorporação à prática clínica dependerá do avanço de estudos clínicos mais robustos, da validação de biomarcadores específicos e da superação das limitações metodológicas atualmente existentes.

A principal contribuição desta revisão consiste na integração crítica entre fundamentos biológicos, limitações metodológicas e perspectivas translacionais da biópsia líquida na oncologia veterinária, evidenciando que a efetividade clínica da técnica depende não apenas do avanço tecnológico, mas também da compreensão da dinâmica tumoral e da padronização analítica.

REFERÊNCIAS

ALIX-PANABIÈRES, Catherine; PANTEL, Klaus. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy. **Cancer Discovery**, v. 6, n. 5, p. 479-491, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1483>. Acesso em: 16 mar. 2026.

ALIX-PANABIÈRES, Catherine. The future of liquid biopsy. **Nature**, v. 579, p. S9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/d41586-020-00844-5>. Acesso em: 7 abr. 2026.

ALSHAMMARI, A. H. *et al.* Advancing veterinary oncology: next-generation diagnostics for early cancer detection and clinical implementation. **Animals**, v. 15, n. 3, p. 389, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani15030389>. Acesso em: 10 mar. 2026

ARECHEDERRA, M.; ÁVILA, M. A.; BERASAIN, C. Biópsia líquida para manejo do câncer: uma ferramenta revolucionária, mas ainda limitada. **Laboratório Avançado de Medicina**, v. 1, n. 3, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/almed-2020-0009>. Acesso em: 4 abr. 2026.

ASHWORTH, T. R. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. **Australian Medical Journal**, 14, 146-149, 1869. Disponível em: <https://circulatingtumorcells.com/wp-content/uploads/2015/06/Ashworth-1869.pdf>. Acesso em: 5 maio 2026.

BARBOSA, Catarine Aparecida Vieira; DE ARRUDA SOUZA, Thiago. Importância e aplicabilidade da biópsia líquida e dos biomarcadores. **Repositório Institucional do UNILUS**, 2026. Disponível em: <http://revista.lusiada.br/index.php/rtcc/article/view/2304>. Acesso em: 2 abr. 2026.

BERNARDES, A. C. T. *et al.* Análise das vantagens e limitações da biópsia líquida: uma revisão da literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. e76661, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv8n1-123>. Acesso em: 22 abr. 2026.

BORCHARDT, F. *et al.* Liquid biopsy analysis of the EV-associated micro-RNA signature in vulvar carcinoma. **Cancers**, v. 18, n. 3, p. 438, 2026. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cancers18030438>. Acesso em: 7 abr. 2026.

BUDHBAWARE, T.; RATHORED, J.; SHENDE, S. Molecular methods in cancer diagnostics: a short review. **Annals of Medicine**, v. 56, n. 1, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07853890.2024.2353893>. Acesso em: 6 abr. 2026.

CALIN, G. A.; CROCE, C. M. MicroRNA signatures in human cancers. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, n. 11, p. 857–866, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17060945/>. Acesso em: 10 mar. 2026.

CAPUOZZO, M. *et al.* Liquid biopsy in veterinary oncology: current applications and future perspectives. **Cells**, v. 12, n. 22, p. 2590, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells12222590>. Acesso em: 5 maio 2026.

CARNEIRO, A. *et al.* Células tumorais circulantes: contribuição portuguesa para a medicina de precisão. **Portuguese Journal of Surgery**, n. 47, p. 23-29, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34635/rpc.806>. Acesso em: 4 abr. 2026.

CASTRO-GINER, F. *et al.* Cancer diagnosis using liquid biopsy: challenges and expectations. **Diagnosics**, v. 8, n. 2, p. 31, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/diagnostics8020031>. Acesso em: 22 abr. 2026.

CHIBUK, J. *et al.* Horizons in veterinary precision oncology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 664718, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.664718>. Acesso em: 16 mar. 2026.

CRISTIANO, S. *et al.* Genome-wide cell-free DNA fragmentation in cancer patients. **Nature**, v. 570, p. 385–389, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1272-6>. Acesso em: 6 abr. 2026.

DALEK, Cláudio Roberto; DE NARDI, Alexandre Barbosa; RODASKI, Suzane. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2009.

DOBRA, G. *et al.* Small extracellular vesicles as tumor signal amplifiers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21155359>. Acesso em: 7 abr. 2026.

FISH, E. J. *et al.* Circulating microRNA as biomarkers of canine mammary carcinoma in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 3, p. 1282–1290, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvim.15764>. Acesso em: 10 mar. 2026.

FLORY, A. *et al.* Clinical validation of a multi-cancer early detection liquid biopsy test. **PLOS ONE**, v. 17, n. 4, e0266623, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266623>. Acesso em: 16 mar. 2026.

FLORY, A. *et al.* Cancer detection in clinical practice using liquid biopsy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 37, n. 1, p. 258–267, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvim.16616>. Acesso em: 16 mar. 2026.

FLORY, A.; WILSON-ROBLES, H. Noninvasive blood-based cancer detection in veterinary medicine. **Veterinary Clinics of North America**, v. 54, n. 3, p. 541-558, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2023.12.008>. Acesso em: 14 mar. 2026.

GARNICA, T. K. *et al.* Liquid biopsy based on extracellular vesicles. **Scientific Reports**, v. 10, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77366-7>. Acesso em: 16 mar. 2026.

KRUGLYAK, K. M. *et al.* Blood-based liquid biopsy for cancer detection in dogs. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 704835, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.704835>. Acesso em: 16 mar. 2026.

LEE, J. S. *et al.* Clinical practice guidelines for ctDNA assays. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 44, n. 3, p. 195-209, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3343/alm.2023.0389>. Acesso em: 20 abr. 2026.

LEON, S. A. *et al.* Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. **Cancer Research**, v. 37, n. 3, p. 646–650, 1977. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/837366/>. Acesso em: 10 mar. 2026.

LIN, D. *et al.* Circulating tumor cells: biology and clinical significance. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00817-8>. Acesso em: 20 abr. 2026.

LIU, M. C. *et al.* Sensitive and specific multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA. **Annals of Oncology**, v. 31, n. 6, p. 745-759, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33506766/>. Acesso em: 10 mar. 2026.

LOPES, A. R. F. A. *et al.* Papel dos exossomos tumorais como biomarcadores. **Caderno Pedagógico**, v. 22, n. 9, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.54033/cadpedv22n9-402>. Acesso em: 6 abr. 2026.

LOSQUE, T. C. *et al.* Biópsia líquida: novas metodologias. **Revista Transformar**, v. 15, n. 2, p. 264-276, 2022. Disponível em: <https://www.fsj.edu.br/transformar/index.php/transformar/article/view/647>. Acesso em: 2 abr. 2026.

MANDEL, P.; METAIS, P. Les acides nucléiques du plasma sanguin. **C R Seances Soc Biol Fil.**, v. 142, p. 241-243, 1948. Disponível em: <https://www.scienceopen.com/document?vid=73c869d2-fa17-4136-893b-ef6848d23dac>. Acesso em: 6 abr. 2026.

MITCHELL, P. S. *et al.* Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. **PNAS**, v. 105, n. 30, p. 10513–10518, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0804549105>. Acesso em: 10 mar. 2026.

MOULIERE, F. *et al.* Liquid biopsy: beyond screening. **Nature Reviews Cancer**, v. 21, p. 71-88, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41568-020-00314-2>. Acesso em: 16 mar. 2026.

NOVAIS, A. A. *et al.* Exploring canine mammary cancer through liquid biopsy: proteomic profiling of small extracellular vesicles. **Cancers**, v. 16, n. 14, p. 2562, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cancers16142562>. Acesso em: 10 mar. 2026.

NOWOSH, V.; GOMES, C. O. M. S. Biópsia líquida e suas aplicações em medicina veterinária: revisão. ***Clínica Veterinária***, v. 24, n. 139, p. 36–52, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.46958/rcv.2019.XXIV.n.139.p.36-52>. Acesso em: 15 mar. 2026.

PADILHA, M. D. I. M.; FEITOSA, R. Desregulação de microRNAs no câncer. ***RECIMA 21***, v. 3, n. 12, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.47820/recima21.v3i12.2492>. Acesso em: 6 abr. 2026.

PAOLONI, M.; KHANNA, C. Translation of cancer treatments. ***Nature Reviews Cancer***, v. 8, p. 147-156, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrc2273>. Acesso em: 16 mar. 2026.

PROUTEAU, A. *et al.* Circulating tumor DNA is detectable in canine histiocytic sarcoma, oral malignant melanoma, and multicentric lymphoma. ***Scientific Reports***, v. 11, n. 1, p. 877, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80332-y>. Acesso em: 5 maio 2026.

RAY, A.; VOHRA, T. K. Liquid biopsy—from bench to bedside. ***Neuro-Oncology Advances***, v. 4, n. supplement 2, p. ii66-ii72, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/noajnl/vdac037>. Acesso em: 4 abr. 2026.

ROLFO, C. *et al.* Multi-omics cfDNA strategies. ***Nature Reviews Clinical Oncology***, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00739-0>. Acesso em: 6 abr. 2026.

RONTOGIANNI, S. *et al.* Proteomic profiling of extracellular vesicles allows for human breast cancer subtyping. ***Communications Biology***, v. 2, n. 1, p. 325, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s42003-019-0570-8>. Acesso em: 8 mar. 2026.

RUPAIMOLE, R.; SLACK, F. J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. ***Nature Reviews Drug Discovery***, v. 16, p. 203–222, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.246>. Acesso em: 16 mar. 2026.

SAHA, S.; ARAF, Y.; PROMON, S. K. Circulating tumor DNA in cancer diagnosis, monitoring, and prognosis. ***Journal of the Egyptian National Cancer Institute***, v. 34, n. 1, p. 8, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s43046-022-00109-4>. Acesso em: 10 mar. 2026.

SANTOS, Renato de Lima; ALESSI, Antônio Carlos. ***Patologia veterinária***. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

SCHER, H. I. *et al.* AR-V7 biomarker in prostate cancer. ***JAMA Oncology***, v. 2, p. 1441, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.1828>. Acesso em: 4 abr. 2026.

SHEN, F. *et al.* Liquid biopsy narrative review. ***Future Science OA***, v. 11, n. 1, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/20565623.2025.2527598>. Acesso em: 7 abr. 2026.

SIRAVEGNA, G. *et al.* Integrating liquid biopsies. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 14, n. 9, p. 531, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.14>. Acesso em: 4 abr. 2026.

THÉRY, C. *et al.* Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018). **Journal of Extracellular Vesicles**, v. 7, n. 1, p. 1535750, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>. Acesso em: 16 mar. 2026.

TIAN, F. *et al.* Protein analysis of extracellular vesicles to monitor and predict therapeutic response in metastatic breast cancer. **Nature Communications**, v. 12, p. 2536, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22913-7>. Acesso em: 16 mar. 2026.

VALADI, H. *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. **Nature Cell Biology**, v. 9, p. 654–659, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ncb1596>. Acesso em: 16 mar. 2026.

VERZÈ, M. *et al.* Role of ctDNA for MRD detection. **Translational Lung Cancer Research**, v. 11, n. 12, p. 2588-2600, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.21037/tlcr-22-390>. Acesso em: 6 abr. 2026.

WILSON, I. J. *et al.* Kinetics of plasma cell-free DNA and creatine kinase in a canine model of tissue injury. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 1, p. 157-164, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvim.14901>. Acesso em: 10 mar. 2026.

WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. L. **Small animal clinical oncology**. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2020.

WHITTEMORE, R.; KNAFL K. The integrative review: updated methodology. **Journal of advanced nursing**, v. 52, n. 5, p. 546-553, 2005. Disponível em: <https://10.1111/j.1365-2648.2005.03621.x>. Acesso em: 10 mar. 2026.

ZHU, H. *et al.* Liquid biopsy in early cancer screening. **Biomedicines**, v. 14, n. 1, 2026. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines14010158>. Acesso em: 7 abr. 2026.
