

À propos des autrices



Nadia Ghazali, M.D.

La D^e Nadia Ghazali est une médecin formée en Australie et elle poursuit un stage postdoctoral clinique au *Princess Margaret Cancer Centre*. Son parcours médical a commencé à Newcastle, en Australie, où elle a terminé sa formation médicale. Aujourd'hui installée à Toronto, au Canada, elle se concentre sur le cancer du poumon et ses intérêts de recherche sont la médecine de précision, la biopsie liquide et à l'oncologie globalement.

Établissement : *Princess Margaret Cancer Centre* de Toronto, Canada.



Natasha B. Leighl, M.D., MMSc, FRCPC, FASCO

La D^e Natasha Leighl dirige le groupe d'oncologie médicale thoracique au *Princess Margaret Cancer Centre*, est professeure au département de médecine et professeure adjointe à l'*Institute of Health Policy, Management and Evaluation* de l'Université de Toronto. Elle est titulaire de la chaire de la Fondation OSI Pharmaceuticals sur le développement de nouveaux médicaments contre le cancer, par l'intermédiaire de la *Princess Margaret Cancer Foundation*. Elle a publié plus de 350 articles évalués par des pairs et a obtenu (en tant qu'investigatrice principale ou co-investigatrice) plus de 800 millions de dollars de subventions évaluées par des pairs. Elle a encadré de nombreux stagiaires qui ont ensuite occupé des postes de chef de file en oncologie dans le monde entier, et a reçu le prix d'excellence en enseignement de l'*American Society of Clinical Oncology* en 2019. La D^e Leighl s'intéresse principalement au développement de nouveaux traitements pour le cancer du poumon et à l'amélioration des diagnostics du cancer du poumon, incluant la biopsie liquide. Elle participe à des études cliniques sur de nouveaux agents pour le traitement des cancers thoraciques, a dirigé plusieurs études internationales et de groupes coopératifs sur le cancer du poumon et a été membre de l'exécutif du groupe de site sur les maladies pulmonaires du Groupe canadien d'essais cliniques sur le cancer (CCTG). Elle a été coprésidente du Comité d'analyse économique du CCTG, coprésidente de la conférence mondiale sur le cancer du poumon (World Lung) de 2018 et siège à de nombreux comités, dont le groupe consultatif sur les lignes directrices thoraciques de l'ASCO. Elle est corédactrice de section de la revue *The Oncologist* et de *Current Oncology*, membre du comité de rédaction du *Journal of Thoracic Oncology* et du *British Journal of Cancer*, membre du Comité qualité et de valeur de l'IASLC, membre du Comité consultatif scientifique de la *Lung Cancer Foundation of America* et a récemment été élue au conseil d'administration de l'*Americas Health Foundation*. Auparavant, elle a été rédactrice Web du *Journal of Thoracic Oncology*, membre du Comité de rédaction du *Journal of Clinical Oncology*, du comité des examens en oncologie médicale du Collège royal des médecins et chirurgiens du Canada, et ancienne présidente de Cancer pulmonaire Canada.

Établissement : *Princess Margaret Cancer Centre* de Toronto, Canada.

Utilisations actuelles et écueils de la biopsie liquide dans le cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC)

Nadia Ghazali, M.D.

Natasha B. Leighl, M.D., MMSc, FRCPC, FASCO

Introduction

La biopsie liquide est devenue un outil important pour le diagnostic et la prise en charge du cancer du poumon et d'autres cancers. Divers analytes et méthodes d'analyse ont été étudiés, y compris des analyses génomiques par séquençage de nouvelle génération (SNG) et des approches sans SNG, y compris celles qui examinent la méthylation ou la taille des fragments d'ADN. La biopsie liquide, en particulier à partir du plasma ou du sang, présente plusieurs avantages par rapport à la biopsie tissulaire percutanée ou endoscopique. Elle est moins invasive, peut être utilisée de façon répétée (en série) pour le suivi et reflète mieux l'hétérogénéité tumorale dans les sites métastatiques que dans une seule zone de la tumeur biopsiée. Nous présentons ici les utilisations actuelles de la biopsie liquide basée sur l'analyse de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) dans la pratique clinique de routine et les écueils potentiels.

La biopsie liquide pour le génotypage initial de la tumeur dans le CPNPC avancé

L'*International Association for the Study of Lung Cancer* (IASLC), le *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), la *European Society for Medical Oncology* (ESMO) et l'*American Society of Clinical Oncology* (ASCO) recommandent d'utiliser des tests d'ADNtc du plasma validés et sensibles dans la pratique clinique de routine pour garantir un génotypage complet et opportun pour les patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) avancé et d'autres types de tumeurs¹⁻⁴. Le génotypage complet de la

tumeur, en plus du sous-type pathologique et de l'analyse de l'expression du PD-L1 (*Programmed Death-Ligand-1*), est essentiel pour une sélection optimale du traitement dans le CPNPC avancé et d'autres cancers avancés. En fonction des résultats du génotypage et de l'immunohistochimie du PD-L1, les options thérapeutiques vont de la thérapie ciblée pour les patients qui présentent des altérations moléculaires pouvant être ciblées à l'immunothérapie ou à l'immunochimiothérapie pour ceux qui ne présentent pas d'altérations ou dont les résultats du génotypage sont incomplets.

Il a été démontré que le SNG d'échantillons d'ADNtc du plasma de biopsie liquide n'est pas inférieur au SNG tissulaire, bien que le SNG tissulaire soit considéré comme la méthode de référence (« gold standard »). La biopsie liquide peut, de plus, améliorer considérablement le taux de génotypage complet, ce qui signifie qu'un pourcentage plus élevé d'altérations génomiques peut être identifié et caractérisé à l'aide de ce type de biopsie. Le SNG du plasma se fait également dans un délai rapide, ce qui permet d'obtenir des résultats plus promptement⁵⁻⁷. Les résultats du SNG du plasma et du tissu sont très concordants et les choix de traitements qui en découlent donnent des résultats similaires; que les altérations soient détectées dans le plasma ou dans les tissus⁶⁻⁹. Les deux types d'évaluations présentent par ailleurs un risque minime de résultats faussement positifs grâce à des tests validés. Par conséquent, si une altération moléculaire d'intérêt est détectée dans le plasma avant que les résultats tissulaires ne soient disponibles, les cliniciens doivent utiliser les résultats sur le plasma pour débiter le traitement¹⁰. Les biopsies liquides ont une sensibilité plus faible que les biopsies tissulaires, en particulier pour la détection des

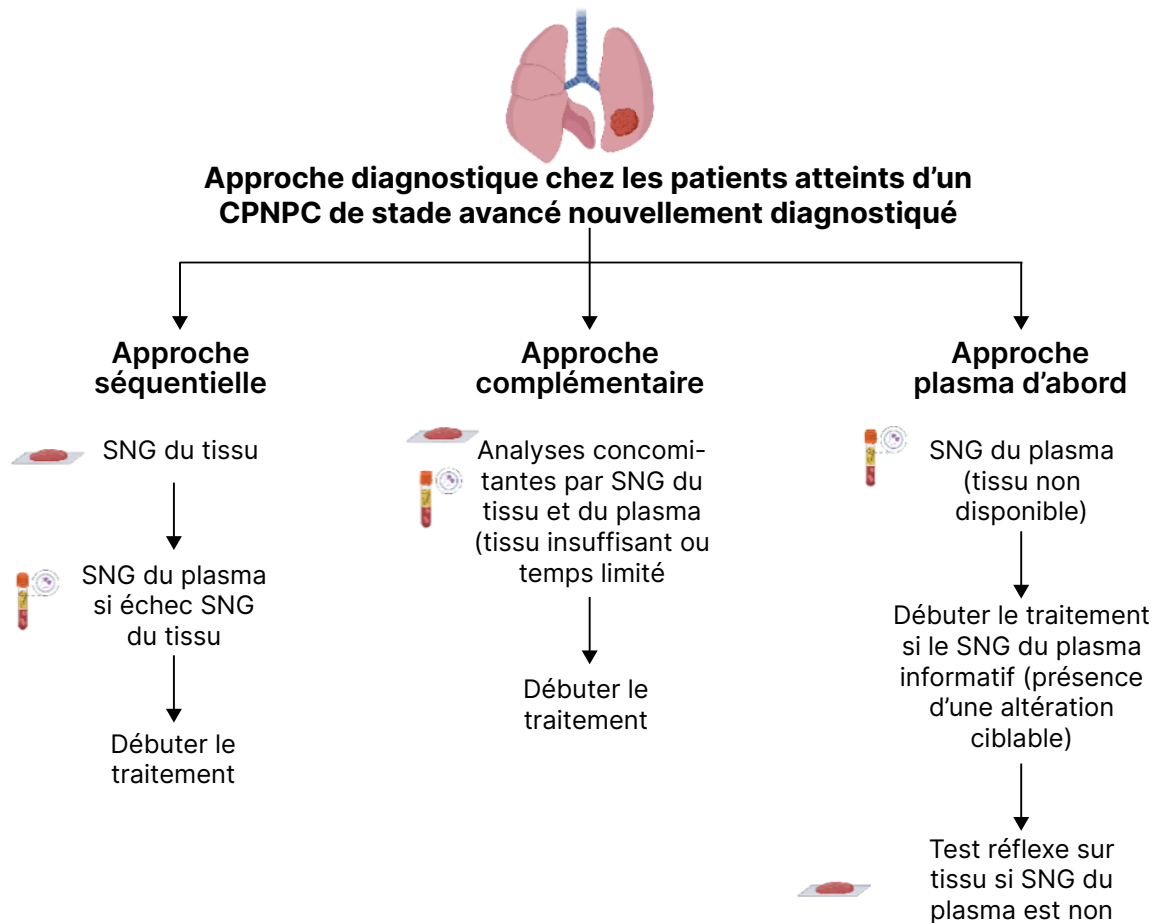


Figure 1 : Les approches possibles de la biopsie liquide chez les patients atteints d'un CPNPC de stade avancé nouvellement diagnostiqué. Créé avec BioRender.com.

Abréviations : SNG : séquençage de nouvelle génération; CPNPC : cancer un poumon non à petites cellules

translocations et du nombre de copies des variants (p. ex., l'amplification). Les cliniciens doivent consulter les résultats de SNG des tissus pour déterminer l'approche thérapeutique, si aucune altération moléculaire d'intérêt n'est identifiée dans le plasma.

Les lignes directrices de l'IASLC, du NCCN et de l'ESMO recommandent plusieurs approches pour l'intégration de la biopsie liquide dans les soins de routine aux patients atteints de CPNPC avancé (**Figure 1**)¹⁻³. D'abord, une approche séquentielle, qui consiste à demander une biopsie liquide après l'échec du génotypage complet par analyse tissulaire, et qui pourra permettre d'éviter une nouvelle biopsie si le tissu est insuffisant pour le génotypage. Ensuite, l'analyse complémentaire ou concomitante de l'ADNtc du plasma, qui améliore le taux de génotypage complet et accélère le délai d'obtention des

résultats^{5-7,9-12}. Par exemple, l'ajout des analyses plasmatiques aux analyses tissulaires de routine a permis de détecter 15 % plus de patients avec des mutations d'intérêt, comparativement au SNG seulement⁷. Le NCCN et l'ESMO recommandent une approche concomitante d'emblée, soit des analyses simultanées du plasma et des tissus, tout particulièrement pour les patients atteints de CPNPC avancé n'ayant jamais été traité^{2,3}. Finalement, l'approche « plasma d'abord », qui est utilisée lorsque les tissus disponibles pour le SNG sont insuffisants ou inexistant. Il a été démontré dans de nombreuses études qu'une biopsie liquide exécutée avant le diagnostic chez les patients soupçonnés d'être atteints d'un cancer du poumon avancé permettait d'accélérer de manière significative le délai avant le traitement d'environ 35 à 45 %⁹⁻¹².

La biopsie liquide pour détecter la résistance moléculaire

La biopsie liquide, plus spécifiquement le SNG sur ADNtc du plasma, peut être utilisée pour détecter les mécanismes de résistance (MR) génomique après la progression d'un cancer du poumon traité par thérapie ciblée. L'évolution des tumeurs peut entraîner l'apparition de nouvelles altérations génétiques et de populations sous-clonales. La biopsie liquide fournit une représentation plus complète de l'hétérogénéité tumorale que la biopsie tissulaire sur un seul site tumoral. Elle peut aussi permettre d'éviter de répéter la biopsie tumorale si le résultat plasmatique est révélateur¹³. Les lignes directrices internationales recommandent le dépistage initial de la mutation T790M du gène *EGFR* (récepteur du facteur de croissance épidermique) par biopsie liquide après un traitement avec un inhibiteur de la tyrosine kinase (ITK) de l'*EGFR* de 1^{re} ou de 2^e génération (p. ex., le géfitinib, l'afatinib) afin d'identifier les patients susceptibles de bénéficier d'un ITK de 3^e génération (p. ex., l'osimertinib)¹⁻⁴. Les études ont montré que jusqu'à 60 % des patients peuvent être épargnés d'une nouvelle biopsie tissulaire de la tumeur en utilisant une approche fondée sur le plasma en premier lieu¹⁴.

Avec le récent changement de pratique vers une utilisation des ITK de troisième génération en 1^{re} ligne de thérapie, la résistance moléculaire au traitement est devenue plus complexe¹⁵. En effet, des voies de contournement moléculaire à la fois sur cible et hors cible (p. ex., les mutations C797S ou G724), l'amplification de *MET* ou des fusions émergentes peuvent contribuer à la résistance. De même, dans les cancers du poumon liés aux réarrangements de *ALK* et *ROS1*, des mutations de résistance spécifiques, telles que *ALK* G1202R ou *ROS1* G2302R, peuvent être détectées dans le plasma et orienter l'utilisation d'inhibiteurs plus spécifiques à ces mutations de résistance (p. ex., l'lorlatinib, le répotrectinib). Les inconvénients de cette approche sont notamment la sensibilité plus faible des tests sur plasma par rapport aux tests tissulaires (p. ex., l'amplification de *MET*) et la nécessité de disposer de tissus pour diagnostiquer une transformation histologique. Chez de nombreux patients, une nouvelle biopsie de la tumeur et un SNG tissulaire réussi après une progression sous osimertinib ne seront pas possibles; soutenant l'approche complémentaire¹⁶.

La biopsie liquide pour résoudre un diagnostic incertain

L'interprétation de l'imagerie diagnostique dans le cadre d'une potentielle récurrence ou d'une progression peut s'avérer difficile. À titre d'exemple, des changements d'un nodule en verre dépoli, un épaississement parenchymateux et des lésions atelectatiques croissantes peuvent être liés à la progression du cancer ou à des complications du traitement, telles que la pneumonite et les modifications postchirurgicales ou postradiques. Bien que l'obtention d'une confirmation pathologique par biopsie ou par d'autres méthodes invasives soit la norme, la biopsie liquide peut aider à résoudre l'incertitude diagnostique. Par exemple, pour les patients dont les tumeurs sont dépendantes d'un oncogène, une biopsie liquide sur l'ADNtc peut détecter le retour de la mutation initiale ou l'apparition d'une mutation de résistance. L'étude TRACERx menée chez des patients atteints d'un cancer du poumon de stade précoce a démontré qu'un test sur l'ADNtc permettait de prédire une rechute dans 79 % des cas équivoques présentant un élargissement des ganglions lymphatiques à l'imagerie¹⁷. Une validation plus poussée de cette approche facilitera son utilisation clinique de routine.

Utilisations émergentes - la biopsie liquide pour le suivi du traitement et la détection de la maladie résiduelle minimale (MRM)

Surveillance de la réponse au traitement dans la maladie avancée

La biopsie liquide à partir du plasma est une méthode idéale pour surveiller la maladie pendant le traitement. La présence d'ADNtc dans le plasma est un marqueur pronostique fort à tous les stades de la maladie, des niveaux plus élevés correspondant à une charge tumorale plus importante, à un potentiel métastatique plus élevé et à un pronostic plus défavorable¹⁸. L'élimination ou la réduction des niveaux d'ADNtc a également une valeur pronostique, car elle est associée à la réponse thérapeutique et à de meilleurs résultats chez les patients atteints d'un cancer du poumon de stade précoce et avancé traité avec tous les types de thérapies disponibles¹⁹⁻²¹.

L'essai APPLE a exploré l'utilité d'une surveillance en série de la mutation T790M sur

L'ADNtc du plasma de patients atteints d'un CPNPC avec *EGFR* muté de stade avancé. La progression moléculaire a été identifiée chez 17 % des patients du groupe avec la surveillance du plasma, avant la progression radiologique, et cette détection précoce de la mutation T790M a permis de passer du géfitinib à l'osimertinib rapidement²². Toutefois, les médianes de survie sans progression et de survie globale n'étaient pas significativement différentes entre les deux bras et l'impact d'un changement précoce sur la qualité de vie ou les symptômes des patients n'a pas été rapporté.

Le seuil idéal de changement dans les taux d'ADNtc pour instaurer une modification de traitement demeure encore à l'étude²³. Des essais, en cours, utilisent des schémas d'intensification du traitement en fonction de la réponse de l'ADNtc après le traitement initial. Yu *et al.* dirigent une étude dans laquelle les patients qui avaient encore de l'ADNtc détectable après un premier traitement par osimertinib sont randomisés pour continuer l'osimertinib seul ou ajouter une chimiothérapie (NCT04410796). Anagnostou *et al.* étudient les patients recevant un premier traitement par pembrolizumab et randomisent ceux qui n'ont pas de réponse moléculaire entre la continuation de l'immunothérapie seule ou l'ajout d'une chimiothérapie (NCT04093167).

Utilisation de la maladie résiduelle minimale (MRM) dans le CPNPC de stade précoce

La détection d'ADNtc dans le plasma, avant ou après une thérapie à visée curative, est un marqueur pronostique important dans le CPNPC au stade précoce. Chaudhuri *et al.* ont démontré que la détection de la MRM par ADNtc précède la détection radiographique de 5,2 mois en moyenne chez 72 % des patients, ce qui a été confirmé par d'autres études¹⁹.

L'utilité clinique de l'utilisation de la MRM pour guider les décisions thérapeutiques reste cependant incertaine. Dans le contexte du traitement adjuvant, la détection de l'ADNtc après l'intervention chirurgicale à l'aide de tests sensibles basés sur la tumeur, a une valeur pronostique, mais ne permet pas d'identifier une population qui ne nécessite pas d'un traitement adjuvant²⁴. Il a été démontré que la disparition de l'ADNtc après une immunochimiothérapie préopératoire est fortement associée à une réponse pathologique complète (RCp) dans plusieurs études, bien qu'elle ne soit pas suffisamment spécifique en tant que variable prédictive unique^{25, 26}. Il n'a pas encore été prouvé que l'arrêt du traitement adjuvant chez les patients

dont l'ADNtc n'est plus détectable était sans danger. Des études en cours examinent l'utilité d'une intensification (escalade) du traitement adjuvant chez les patients ayant subi une résection d'un CPNPC de stade I (NCT04966663) et d'une désescalade du traitement chez ceux ayant un CPNPC de stade II.

Les limites de la biopsie liquide

Bien que la biopsie liquide soit utilisée à de nombreuses fins dans le cancer du poumon, certaines limites doivent encore être surmontées. La sensibilité plus faible du SNG de l'ADNtc par rapport à celui du tissu tumoral est le principal obstacle à l'utilisation clinique actuelle de la biopsie liquide dans le cancer du poumon⁵. Dans les cas où les résultats du SNG de l'ADNtc sont négatifs, il est recommandé de procéder à un SNG tissulaire supplémentaire. Les tests sur le plasma sont également moins sensibles pour l'évaluation de certaines altérations génomiques, telles que les fusions et le gain du nombre de copies (p. ex., l'amplification de *MET*). Il est recommandé d'utiliser des tests basés sur l'ARN et de passer à des tests tissulaires en cas de résultats négatifs.

Des résultats faussement négatifs de la biopsie liquide sont le plus souvent associés à une faible excrétion d'ADN tumoral, à un niveau inférieur à la limite technique de détection d'un test¹. Ceci est important pour les patients dont la charge tumorale est faible (en particulier ceux dont la tumeur solide est < 1 cm³) et ceux dont la tumorale est insuffisamment sécrétrice (p. ex., métastase isolée du système nerveux central [SNC])²⁷. Des précautions supplémentaires doivent être prises lors de la collecte et de la préparation des échantillons afin de s'assurer que l'ADN ou l'ARN n'est pas dégradé de manière significative avant l'analyse¹. Des résultats faux positifs peuvent se produire dans le contexte de l'hétérogénéité génomique de la tumeur. Des mutations somatiques résultant de la prolifération de populations de cellules sanguines clonales peuvent conduire à des résultats faussement positifs, connus sous le nom d'hématopoïèse clonale de signification indéterminé (de l'anglais CHIP). Ces variants peuvent être identifiés à tort comme des mutations associées au cancer et doivent être corrigés en utilisant le séquençage des leucocytes ou des méthodes bioinformatiques. Heureusement, les altérations de CHIP ne recoupent pas les mutations d'intérêt (ciblables) actuelles dans le cancer du poumon, bien qu'elles soient pertinentes

Indications d'utilisation de l'ADNtc	ESMO	NCCN	IASLC	ASCO
Des tests d'ADNtc sensibles et validés peuvent être utilisés pour le génotypage du CPNPC avancé et d'autres cancers avancés	✓	✓	✓	✓
Le génotypage initial par test d'ADNtc devrait être envisagé lorsque du tissu n'est pas disponible et/ou que des résultats rapides sont nécessaires	✓	✓	✓	✓
Des tests d'ADNtc validés peuvent être utilisés lors de résistance aux ITK (CPNPC)	✓	✓	✓	✓
Mises en garde – les tests d'ADNtc sont limités par des résultats faux positifs, une sensibilité plus faible aux fusions, au nombre de copies du variant → en présence de résultats négatifs, faire le test réflexe le tissu	✓	✓	✓	✓
L'utilisation des tests d'ADNtc/CTC pour détecter la maladie résiduelle minimale ou faire le suivi du traitement : non encore recommandé	X	X	X	X

Tableau 1. Lignes directrices actuelles pour la biopsie liquide dans le cancer du poumon¹⁻⁴; avec l'aimable autorisation de Nadia Ghazali, BMed. et Natasha B. Leigh M.D., FRCPC, FASCO

Abréviations : ADN : tumoral circulant; ASCO : American Society of Clinical Oncology; CPNPC : cancer du poumon non à petites cellules; CTC : cellule tumorale circulante; ESMO : European Society for Medical Oncology; IASLC : International Association for the Study of Lung Cancer; ITK : inhibiteur de la tyrosine kinase; NCCN : National Comprehensive Cancer Network

pour le suivi de la réponse au traitement et la détection de la MRM.

Lorsque la biopsie liquide sera utilisée à un stade précoce de la maladie, des tests plus sensibles seront nécessaires, bien que l'amélioration de la sensibilité puisse s'accompagner d'un risque plus élevé de faux positifs. Ce risque peut être surmonté par l'utilisation de tests basés sur les tumeurs²⁸. Le développement de tests basés sur les tumeurs nécessite du tissu, du temps et un coût plus élevé, ce qui peut limiter son utilisation clinique de routine. De nouveaux tests informatifs sur la tumeur et non informatifs (« off-the-shelf/sur l'étagère ») sont en cours de développement, y compris des tests non informatifs pour le dépistage du cancer du poumon²⁹.

Le coût reste un obstacle important au remboursement et à la mise en œuvre généralisée dans de nombreux pays. Les tests portant sur un seul gène et réalisés par réaction en chaîne de

la polymérase numérique à gouttelettes (ddPCR, *droplet digital PCR*) sont moins coûteux et plus rapides à réaliser que les tests avec des panels plus larges. Ils peuvent être très sensibles, mais leur application est limitée³⁰. L'augmentation du coût des tests avec l'utilisation du SNG peut être compensée par les coûts de traitements ultérieurs⁷. De plus, l'expertise requise pour ces technologies peut restreindre davantage l'adoption clinique de routine, avec la nécessité de normaliser les méthodes préanalytiques, analytiques et post-analytiques pour garantir la cohérence.

Résumé

La biopsie liquide est un outil important pour les cliniciens qui traitent les patients atteints de cancer du poumon afin de garantir l'accès à la médecine de précision et d'obtenir des résultats thérapeutiques optimaux. La biopsie liquide

utilisant le dépistage de l'ADNtc du plasma est désormais recommandée par les lignes directrices internationales pour une utilisation de routine dans les CPNPC avancés n'ayant jamais reçu de traitement et comme méthode de triage dans les tumeurs résistantes aux thérapies ciblées (**Tableau 1**). Il a été démontré à plusieurs reprises que la biopsie liquide améliore le taux de génotypage complet, conduit à des résultats génomiques plus rapides et accélère le début du traitement. Ces facteurs, à leur tour, conduisent à de meilleurs résultats pour les patients, à moins de biopsies répétées et à moins d'occasions manquées pour la médecine de précision. À ce jour, les lignes directrices ne recommandent pas l'utilisation de l'ADNtc pour le suivi du traitement, y compris pour détecter la MRM dans les stades précoces de la maladie ni pour adapter le traitement. Des recherches actives sont en cours pour démontrer et guider l'utilité clinique dans ces domaines.

Malgré les avantages de la biopsie liquide, il existe des limites, notamment sa sensibilité plus faible, qui entraîne de faux résultats négatifs et une augmentation des coûts d'analyse par rapport au SNG des tissus. Alors que le domaine de la biopsie liquide dans le cancer du poumon et d'autres cancers continue d'évoluer, les recherches en cours conduiront à des indications élargies pour l'utilisation de la biopsie liquide dans la pratique clinique de routine.

Autrice correspondante :

Natasha Leigh, M.D., MMSc, FRCPC, FASCO
Courriel : Natasha.Leigh@uhn.ca

Divulgations des liens financiers :

N.L. : Soutien à la rédaction du manuscrit en partie par le Princess Margaret Cancer Foundation (OSI Pharmaceutical Foundation).

N.G. : Aucune.

Références :

1. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, Aggarwal C, Arcila ME, Barlesi F, et al. Liquid Biopsy for Advanced NSCLC: A Consensus Statement From the International Association for the Study of Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2021;16(10):1647-62.
2. Network NCC. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) for Non-Small Cell Lung Cancer V.1.2024. 2024.
3. Pascual J, Attard G, Bidard FC, Curigliano G, De Mattos-Arruda L, Diehn M, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*. 2022;33(8):750-68.
4. Chakravarty D, Johnson A, Sklar J, Lindeman NI, Moore K, Ganesan S, et al. Somatic Genomic Testing in Patients With Metastatic or Advanced Cancer: ASCO Provisional Clinical Opinion. *J Clin Oncol*. 2022;40(11):1231-58.
5. Leigh NB, Page RD, Raymond VM, Daniel DB, Divers SG, Reckamp KL, et al. Clinical Utility of Comprehensive Cell-free DNA Analysis to Identify Genomic Biomarkers in Patients with Newly Diagnosed Metastatic Non-small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2019;25(15):4691-700.
6. Aggarwal C, Thompson JC, Black TA, Katz SI, Fan R, Yee SS, et al. Clinical Implications of Plasma-Based Genotyping With the Delivery of Personalized Therapy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2019;5(2):173-80.
7. Ezeife DA, Spackman E, Juergens RA, Laskin JJ, Agulnik JS, Hao D, et al. The economic value of liquid biopsy for genomic profiling in advanced non-small cell lung cancer. *Therapeutic advances in medical oncology*. 2022;14:175883592211126-17588359221112696.
8. Page RD, Drusbosky LM, Dada H, Raymond VM, Daniel DB, Divers SG, et al. Clinical Outcomes for Plasma-Based Comprehensive Genomic Profiling Versus Standard-of-Care Tissue Testing in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical lung cancer*. 2022;23(1):72-81.
9. Thompson JC, Aggarwal C, Wong J, Nimgaonkar V, Hwang W-T, Andronov M, et al. Plasma Genotyping at the Time of Diagnostic Tissue Biopsy Decreases Time-to-Treatment in Patients With Advanced NSCLC—Results From a Prospective Pilot Study. *JTO clinical and research reports*. 2022;3(4):100301-.
10. García-Pardo M, Czarnecka K, Law JH, Salvarrey A, Fernandes R, Fan J, et al. Plasma-first: accelerating lung cancer diagnosis and molecular profiling through liquid biopsy. *Ther Adv Med Oncol*. 2022;14:17588359221126151.
11. García-Pardo M, Czarnecka-Kujawa K, Law JH, Salvarrey AM, Fernandes R, Fan ZJ, et al. Association of Circulating Tumor DNA Testing Before Tissue Diagnosis With Time to Treatment Among Patients With Suspected Advanced Lung Cancer: The ACCELERATE Nonrandomized Clinical Trial. *JAMA network open*. 2023;6(7):e2325332-e.
12. Cui W, Milner-Watts C, McVeigh TP, Minchom A, Bholshe J, Davidson M, et al. A pilot of Blood-First diagnostic cell free DNA (cfDNA) next generation sequencing (NGS) in patients with suspected advanced lung cancer. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*. 2022;165:34-42.
13. Russano M, Napolitano A, Ribelli G, Iuliani M, Simonetti S, Citarella F, et al. Liquid biopsy and tumor heterogeneity in metastatic solid tumors: the potentiality of blood samples. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2020;39(1):95.
14. Leigh NB, Kamel-Reid S, Cheema PK, Laskin J, Karsan A, Zhang T, et al. Multicenter Validation Study to

- Implement Plasma Epidermal Growth Factor Receptor T790M Testing in Clinical Laboratories. *JCO Precision Oncology*. 2020(4):520-33.
15. Schmid S, Li JJN, Leighl NB. Mechanisms of osimertinib resistance and emerging treatment options. *Lung Cancer*. 2020;147:123-9.
 16. Leonetti A, Verzè M, Minari R, Perrone F, Gnetti L, Bordi P, et al. Resistance to osimertinib in advanced EGFR-mutated NSCLC: a prospective study of molecular genotyping on tissue and liquid biopsies. *British journal of cancer*. 2024;130(1):135.
 17. Abbosh C, Frankell AM, Harrison T, Kisistok J, Garnett A, Johnson L, et al. Tracking early lung cancer metastatic dissemination in TRACERx using ctDNA. *Nature*. 2023;616(7957):553-62.
 18. Jee J, Lebow ES, Yeh R, Das JP, Namakydoust A, Paik PK, et al. Overall survival with circulating tumor DNA-guided therapy in advanced non-small-cell lung cancer. *Nature medicine*. 2022;28(11):2353.
 19. Chaudhuri AA, Chabon JJ, Lovejoy AF, Newman AM, Stehr H, Azad TD, et al. Early Detection of Molecular Residual Disease in Localized Lung Cancer by Circulating Tumor DNA Profiling. *Cancer Discov*. 2017;7(12):1394-403.
 20. Anagnostou V, Ho C, Nicholas G, Juergens RA, Sacher A, Fung AS, et al. ctDNA response after pembrolizumab in non-small cell lung cancer: phase 2 adaptive trial results. *Nature medicine*. 2023;29(10):2559.
 21. Gray JE, Ahn M-J, Oxnard GR, Shepherd FA, Imamura F, Cheng Y, et al. Early Clearance of Plasma Epidermal Growth Factor Receptor Mutations as a Predictor of Outcome on Osimertinib in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer; Exploratory Analysis from AURA3 and FLAURA. *Clinical cancer research*. 2023;29(17):3340-51.
 22. Remon J, Besse B, Aix SP, Callejo A, Al-Rabi K, Bernabe R, et al. Osimertinib treatment based on plasma T790M monitoring in patients with EGFR-mutant non-small-cell lung cancer (NSCLC): EORTC Lung Cancer Group 1613 APPLE phase II randomized clinical trial. *Ann Oncol*. 2023;34(5):468-76.
 23. Aggarwal C, Leighl NB. Next-generation ctDNA-driven clinical trials in precision immuno-oncology. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2023;11(1):e006397.
 24. Zhou C, Das Thakur M, Srivastava MK, Zou W, Xu H, Ballinger M, et al. 20 IMPower010: Biomarkers of disease-free survival (DFS) in a phase III study of atezolizumab (atezo) vs best supportive care (BSC) after adjuvant chemotherapy in stage IB-IIIa NSCLC. *Annals of Oncology*. 2021;32:S1374.
 25. Forde PM, Spicer J, Lu S, Provencio M, Mitsudomi T, Awad MM, et al. Neoadjuvant Nivolumab plus Chemotherapy in Resectable Lung Cancer. *The New England journal of medicine*. 2022;386(21):1973-85.
 26. Heymach JV, Harpole D, Mitsudomi T, Taube JM, Galffy G, Hochmair M, et al. Perioperative Durvalumab for Resectable Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England journal of medicine*. 2023;389(18):1672-84.
 27. Sacher AG, Paweletz C, Dahlberg SE, Alden RS, O'Connell A, Feeney N, et al. Prospective Validation of Rapid Plasma Genotyping for the Detection of EGFR and KRAS Mutations in Advanced Lung Cancer. *JAMA oncology*. 2016;2(8):1014-22.
 28. Chabon JJ, Hamilton EG, Kurtz DM, Esfahani MS, Moding EJ, Stehr H, et al. Integrating genomic features for non-invasive early lung cancer detection. *Nature (London)*. 2020;580(7802):245-51.
 29. Mathios D, Johansen JS, Cristiano S, Medina JE, Phallen J, Larsen KR, et al. Detection and characterization of lung cancer using cell-free DNA fragmentomes. *Nature Communications*. 2021;12(1):5060.
 30. Rolfo C, Cardona AF, Cristofanilli M, Paz-Ares L, Diaz Mochon JJ, Duran I, et al. Challenges and opportunities of cfDNA analysis implementation in clinical practice: Perspective of the International Society of Liquid Biopsy (ISLB). *Critical reviews in oncology/hematology*. 2020;151:102978-.