GILUPi
MEDICINE. PERSONALIZED.

INDIVIDUELLE DIAGNOSTIK FÜR INNOVATIVE BEHANDLUNG VON TUMORERKRANKUNGEN

ANREICHERUNG VON ZIRKULIERENDEN TUMORZELLEN AUS DEM BLUTKREISLAUF

FLÜSSIGBIOPSIE DURCH ANALYSE ZIRKULIERENDER ZELLEN

Während konventionelle Biopsien aus festem Gewebe gewonnen werden, bezeichnet man die Probenahme von zirkulierenden Zellen aus dem Blut (z.B. Tumorzellen) als „Flüssigbiopsie“. Im Gegensatz zu der herkömmlichen und doch sehr begrenzten Entnahme von Gewebebiopsien zeigen CTCs (engl. circulating tumor cells - zirkulierende Tumorzellen) die Vielfältigkeit aller Krebsherde innerhalb des Körpers auf.

Die Anreicherung von CTCs aus dem Blut ist ein minimal-invasiver, also mit wenigen Risiken verbundener Eingriff und kann wiederholt durchgeführt werden. Somit kann die Untersuchung von CTCs in Kombination mit anderen diagnostischen Methoden als Echtzeitmarker sowohl für die Überwachung des Krankheitsverlaufes als auch für die Ermittlung der Therapiewirksamkeit verwendet werden.

CTCs – die Verbindung zwischen Primärtumor und Metastasen

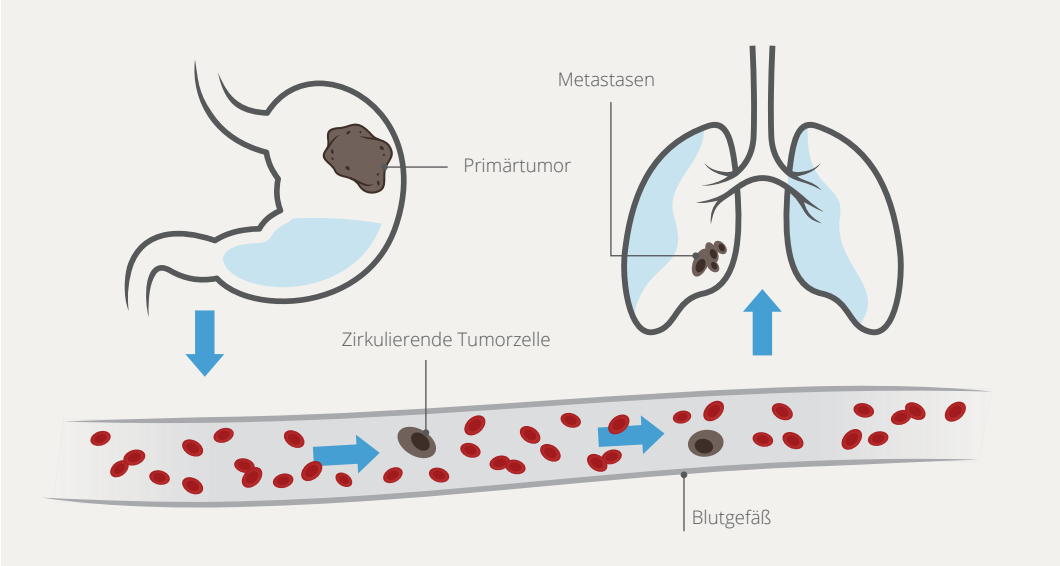


Abbildung 1: *Entwicklung von Fernmetastasen von einer ursprünglichen Tumorstelle durch Verbreitung von CTCs.*

Die Ausbreitung aggressiver Tumorzellen des ursprünglichen Tumors werden durch einzelne Tumorzellen oder Zellverbänden verursacht, die sich vom ursprünglichen Tumor lösen. Sie zirkulieren im Blut- und im Lymphsystem, um es schließlich an anderen Stellen im Körper wieder zu verlassen. Diese Zellen haben das Potenzial Metastasenwachstum einzuleiten. Dabei entstehen sogenannte Fernmetastasen.

GILUPI CellCollector® TECHNOLOGIE

Der Nachweis von CTCs im Blut ist aufgrund ihrer extrem geringen Häufigkeit im Hintergrund von Millionen von Leukozyten und Milliarden roter Blutkörperchen eine Herausforderung. Die GILUPI CellCollector® - Technologie ermöglicht die Anreicherung dieser sehr seltenen Tumorzellen direkt aus dem Blutkreislauf des Patienten für die anschließende Analyse. Die CellCollector® Technologie beruht auf einem medizinischen Edelstahldraht mit einer besonderen Beschichtung. Die 2 cm lange Spitze des medizinischen Edelstahldrahtes ist mit einer dünnen Goldschicht überzogen und trägt weitere, hauchdünne Schichten, die es ermöglichen, zirkulierende Tumorzellen direkt während der Anwendung aus dem Blutkreislauf zu „fangen". Dies geschieht über die feste Bindung der Tumorzellen an einen Antikörper, der auf der Spitze des Drahtes fixiert ist.

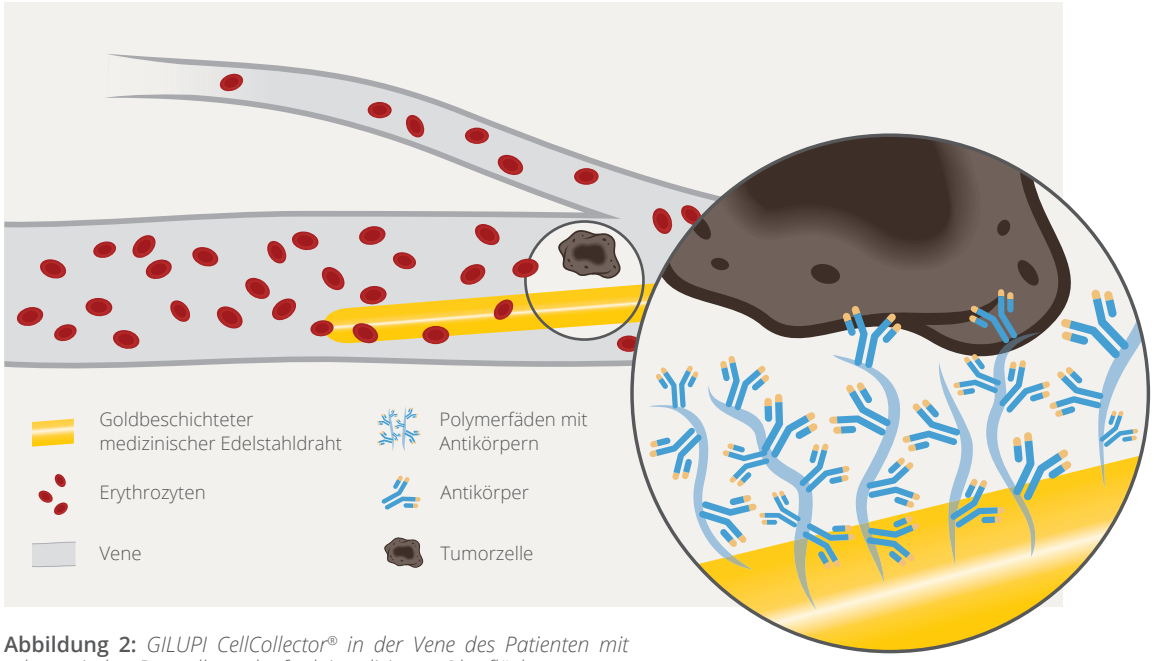


Abbildung 2: *GILUPI CellCollector® in der Vene des Patienten mit schematischer Darstellung der funktionalisierten Oberfläche.*

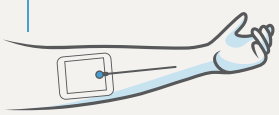
Der GILUPI CellCollector® ist ein CE gekennzeichnetes Medizinprodukt und ist damit für die Anwendung auf dem Europäischen Markt zugelassen. In über 10.000 klinischen Anwendungen wurde die Wirksamkeit des Produktes erfolgreich getestet. Neben der Zulassung als Medizinprodukt auf dem Europäischen Markt, ist der GILUPI CellCollector® auch durch die Food and Drug Administration (CFDA) für Anwendungen in China zugelassen.

ABLAUF DER ANREICHERUNG VON CTCs

Die Anwendung des GILUPI CellCollector® ist vergleichbar mit einer Blutentnahme. Zunächst wird ein Zugang in die Armvene der Ellbogenbeuge über eine 20G – Venenverweilkanüle (Standartkanülen für Infusionen bei Kindern) gelegt. Durch diese Verweilkanüle wird der GILUPI CellCollector® in den Blutkreislauf eingeführt. Dort verbleibt die Spitze des Drahtes für 30 Minuten. Nach der Behandlung wird der GILUPI CellCollector® aus der Armvene entfernt und die am Draht gebundenen Zellen können untersucht werden. Welche diagnostischen Verfahren dabei zum Einsatz kommen, entscheidet der anwendende Arzt. In Frage kommen bspw. Zellfärbungen (z.B. Immunfluoreszenzfärbung) oder molekulare Analysen (z.B. PCR, in situ Padlock-Sondentechnologie, Sequenzierung oder Genexpressionsanalyse). Da es sich bei den angereicherten Zellen um lebende Zellen handelt, können diese auch kultiviert werden (Vervielfältigung im Zellkulturlabor).

Workflow

1



Anwendung

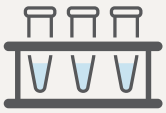
Der Zugang in die Armvene der Ellenbogenbeuge erfolgt über eine 20G Venenverweilkanüle.

2

CTC Anreicherung

Der GILUPI CellCollector® verbleibt für 30 Min in der Armvene des Ellbogens.

3



Nachbehandlung

Je nach gewünschter Folgediagnostik ist eine spezifische Nachbehandlung des Produktes erforderlich.

4

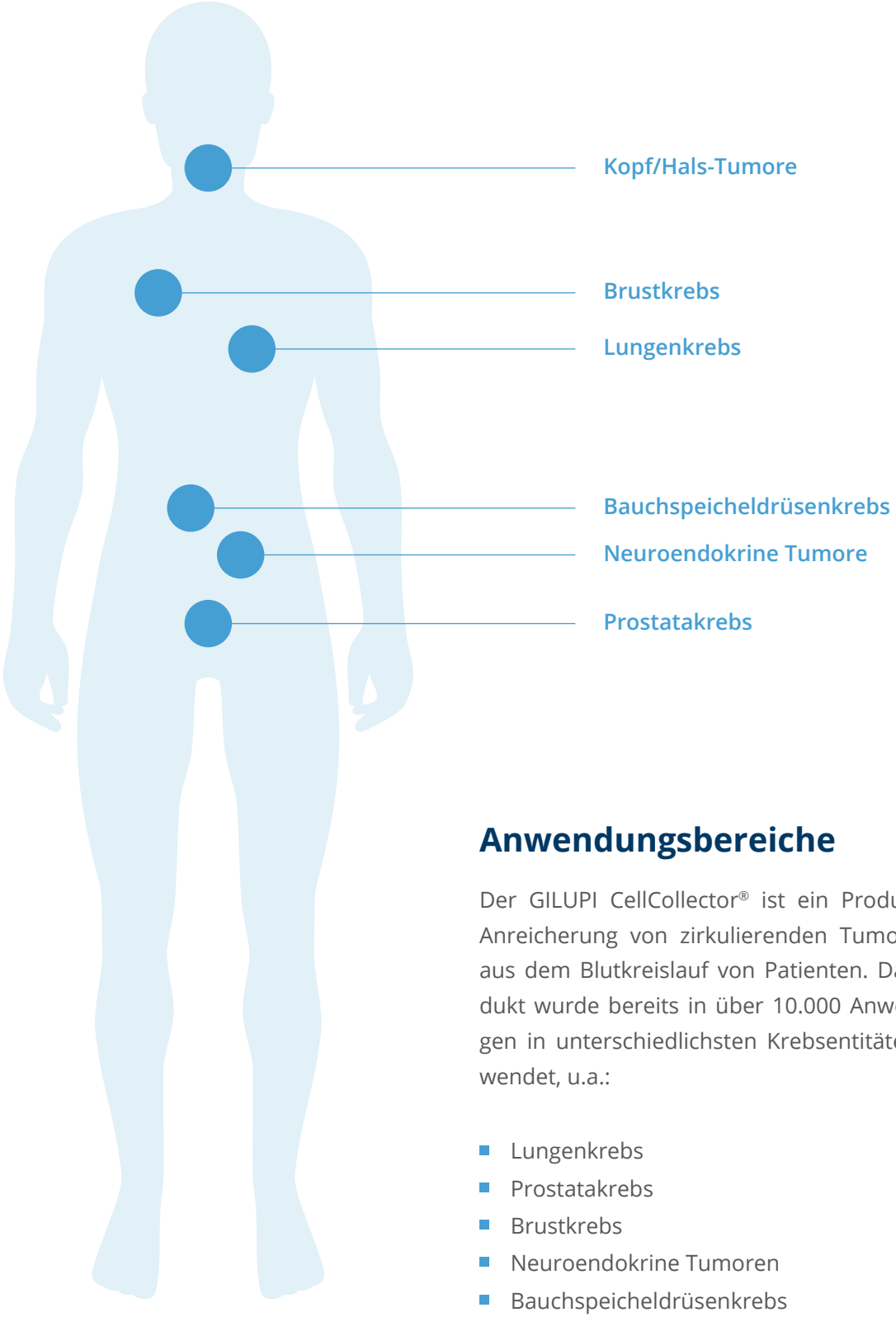
Analyse

Die am GILUPI CellCollector® gebundenen Zellen stehen für verschiedene diagnostische Verfahren zur Verfügung.

5

Ergebnisse

Je nach Analysemethode und Wunsch des Arztes werden die Daten in einem Bericht zusammengefasst.



Anwendungsbereiche

Der GILUPI CellCollector® ist ein Produkt zur Anreicherung von zirkulierenden Tumorzellen aus dem Blutkreislauf von Patienten. Das Produkt wurde bereits in über 10.000 Anwendungen in unterschiedlichsten Krebsentitäten verwendet, u.a.:

- Lungenkrebs
- Prostatakrebs
- Brustkrebs
- Neuroendokrine Tumoren
- Bauchspeicheldrüsenkrebs
- Kopf-Hals-Tumore

METHODEN ZUR AUSWERTUNG FÜR ANGEREICHERTE CTCs

Identifizierung & Zählung von CTCs durch Immunfluoreszenz

Die Immunfluoreszenzmikroskopie ist ein leistungsstarkes Verfahren zur Bestimmung besonderer Eigenschaften sowie der Lage von Strukturen in einer Zelle. Für diesen Zweck werden mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierte Antikörper verwendet, die an bestimmte Zellbestandteile binden und diese Strukturen unter dem Mikroskop durch eine spezielle Anregung mit Licht sichtbar machen.

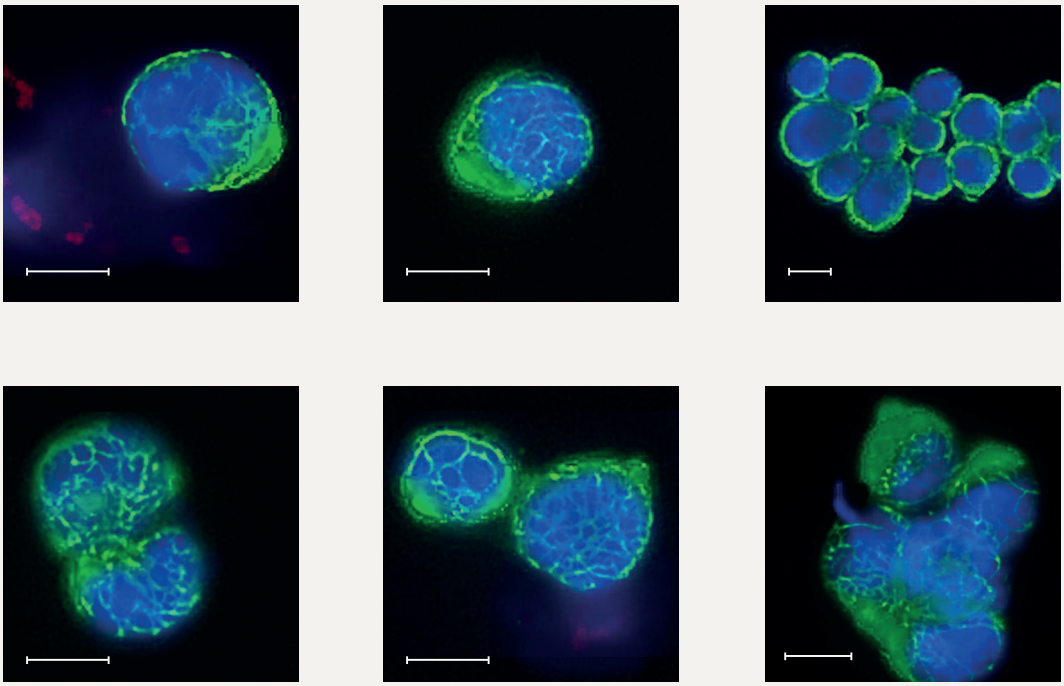


Abbildung 3: *Ausgewählte CTCs eines Patienten mit Bauchspeicheldrüsenkrebs. Färbung mit fluoreszierenden Antikörpern gegen auf der Zelloberfläche sitzende EpCAM/Keratine (grün), CD45 (rot) ist ein typischer Marker für Blutzellen, kommt in Tumorzellen jedoch nicht vor. Zellen mit Zellkern erscheinen blau. Epitheliale Tumorzellen sind positiv für EpCAM und/oder Keratine und negativ für CD45. So können die CTCs von Blutzellen unterschieden werden. Der Maßstabsbalken entspricht einer Länge von 10 µm.*

Nachweis von Gen Elementen in CTCs durch NuPLex® – Technologie

Nach der Anreicherung der CTCs mit dem GILUPI CellCollector® können diese mit einer innovativen Methode auf genetischer Ebene untersucht werden. Die NuPLex® Technologie ermöglicht den Nachweis von Ribonukleinsäuren (kurz RNA) in den Tumorzellen mit höchster Genauigkeit. RNA spielt z.B. eine maßgebliche Rolle bei der Bildung der für CTCs typischen Oberflächenmarker, die durch den Nachweis erkannt werden.
Bei der von GILUPI verwendeten NuPLex®-Methode werden die Zellen direkt in ihrem Inneren auf Tumor-spezifische Zielsequenzen (z.B. AR-V7 - Spleißvariante 7 des Androgenrezeptors) analysiert. Dabei findet eine Vervielfältigung dieser Zielsequenz über eine Polymerasekettenreaktion (kurz PCR) direkt in den Zellen statt. In einem weiteren Schritt werden die Zellen und auch die Zielstrukturen auf genetischer Ebene durch fluoreszierende Sonden und ein spezielles Mikroskop sichtbar gemacht. Das Vorhandensein von Varianten des Androgenrezeptors kann z.B. auf eine beginnende Resistenz gegen Therapien, die den Androgenregelkreis beeinflussen, hindeuten.

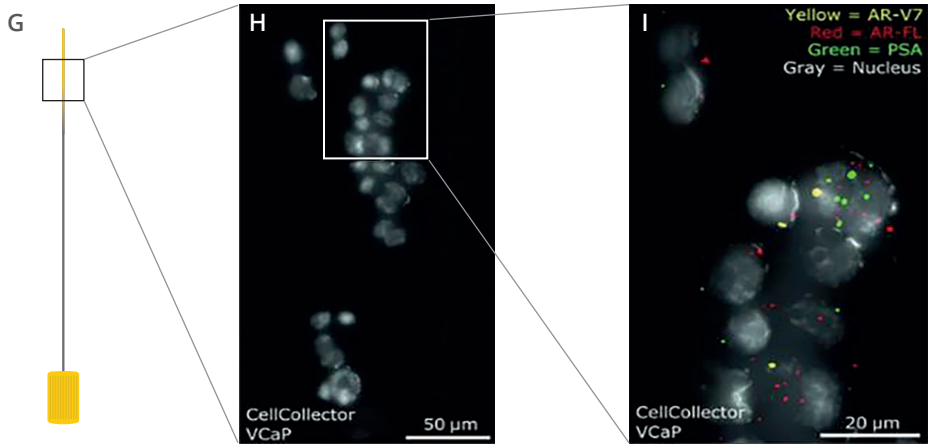


Abbildung 4: *In situ Nachweis krebsrelevanter Transkripte in Prostatakrebszellen auf dem GILUPI CellCollector®.*

Nachweis von Mutationen in CTCs

Neben zahlreichen weiteren Anwendungen der angereicherten CTCs, kann die Identifizierung von Mutationen Informationen über das Ansprechen eines Patienten auf zielgerichtete Therapien geben. Routinemäßige Analysen von CTCs auf Resistenzmutationen während der Behandlung, zum Beispiel in den Genen EGFR oder KRAS, bieten zusätzliche Informationen über die Wirksamkeit der angewandten Therapie. Mit dem GILUPI CellCollector® angereicherte CTCs können auf molekularer Ebene mit diagnostischen Kits zum Nachweis von Mutationen charakterisiert werden.

GILUPi
MEDICINE. PERSONALIZED.

GILUPI GmbH
Am Mühlenberg10
14476 Potsdam / Germany

Tel. +49 331-5818478-2
Fax +49 331-5818478-0
info@gilupi.com
www.gilupi.com

VERFÜGBAR FÜR DEN VERTRIEB UND VERKAUF IN LÄNDERN, DIE DAS CE-ZEICHEN AKZEPTIEREN.