

REF 7900001
Kit für 16 Tests



**Circulating Tumor Cell Kit
(Epithelial)**

IVD



e631600006_DE
LBL-0018

ZWECKBESTIMMUNG

In-vitro-Diagnostikum.

Das CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit ist zur Zählung von zirkulierenden Tumorzellen (CTC) epithelialen Ursprungs (CD45-, EpCAM+ und Zytokeratine 8, 18+ und/oder 19+) in Vollblut bestimmt.

Die durch das CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit nachgewiesenen CTC im peripheren Blut stehen im Zusammenhang mit einem verringerten progressionsfreien Überleben und einem verringerten Gesamtüberleben bei Patienten, die wegen metastatischem Brustkrebs, kolorektalem Krebs oder Prostatakrebs* in Behandlung sind. Der Test dient als Hilfsmittel bei der Überwachung von Patienten mit metastatischem Brustkrebs, kolorektalem Krebs oder Prostatakrebs. Serientests auf CTC dürfen nur in Verbindung mit anderen klinischen Methoden zur Überwachung von metastatischem Brustkrebs, kolorektalem Krebs oder Prostatakrebs durchgeführt werden. Eine Einschätzung des CTC-Werts während des Krankheitsverlaufs lässt eine Abschätzung der Patientenprognose zu und gibt eine Prognose für das progressionsfreie und das Gesamtüberleben.

**Patienten mit metastatischem Prostatakrebs wurden bei dieser Studie als zwei aufeinanderfolgende Anstiege des Serummarkers PSA über den Referenzspiegel definiert, trotz Standard-Hormonmanagement. Diese Patienten werden im Allgemeinen als Patienten beschrieben, die unter einem androgenunabhängigen, hormonresistenten oder kastrationsresistenten Prostatakrebs leiden.*

ZUSAMMENFASSENDE ERLÄUTERUNG

Krebsmetastasen entstehen, wenn sich Zellen von einem primären oder metastatischen Tumor ablösen, in den Blutkreislauf eintreten und an anderen Stellen im Körper zu wachsen beginnen. Karzinome stammen von Epithelzellen ab, die normalerweise nicht im Blutkreislauf vorkommen.¹ Das CELLTRACKS® AUTOPREP® System wurde zur Standardisierung und Automatisierung des Vorbereitungsverfahrens für die Proben entwickelt, die mit dem CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit (CELLSEARCH® CTC Kit) verwendet werden. Die Analyse und Zählung der CTCs wird mithilfe des CELLTRACKS ANALYZER II®, einem halbautomatischen Fluoreszenzmikroskop, durchgeführt. Der Test zählt nur Zellen, die das Epithelzellen-Adhäsionsmolekül (Epithelial Cell Adhesion Molecule – EpCAM) und die Zytokeratine (CK) 8, 18 und/oder 19 exprimieren.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Das CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit enthält ein Capture-Reagenz auf Ferrofluidbasis und Immunofluoreszenz-Reagenzien. Das Ferrofluidreagenz besteht aus Partikeln mit einem magnetischen Kern, der von einer polymeren Schicht von Antikörpern mit Bindungsspezifität für das EpCAM-Antigen umgeben ist für die Bindung der CTC. Zur Bestimmung und Zählung der CTC werden nach der Immunomagnet-Bindung und Anreicherung fluoreszente Reagenzien zugegeben. Folgende Fluoreszenzreagenzien werden verwendet: Anti-CK-Phykoerythrin (PE) spezifisch für das intrazelluläre Protein Zytokeratin (charakteristisch für Epithelzellen), DAPI, das den Zellkern färbt und Anti-CD45-Allophycocyanin (APC), spezifisch für Leukozyten.

Die Mischung aus Reagenz und Probe wird mit dem CELLTRACKS® AUTOPREP® System in eine Kartusche dispensiert, die dann in eine MAGNEST Kartuschenhalterung eingesetzt wird. Das starke magnetische Feld der MAGNEST Kartuschenhalterung zieht die magnetisch markierten Epithelzellen an die Oberfläche der Kartusche. Der CELLTRACKS ANALYZER II® scannt die gesamte Oberfläche der Kartusche automatisch, erstellt Bildaufnahmen und zeigt dem Benutzer jede Zelle mit CK-PE- und DAPI-Fluoreszenz an. Bilder werden dem Benutzer zur endgültigen Klassifizierung in einer Galerie angezeigt. Eine Zelle wird als Tumorzelle klassifiziert, wenn die morphologischen Merkmale mit denen einer Tumorzelle übereinstimmen und der Phänotyp EpCAM+, CK+, DAPI+ und CD45- vorliegt.

PACKUNGSGEHALT

- Gebrauchsanweisung
- **3,0 mL Anti-EpCAM Ferrofluid:** Enthält eine Suspension von 0,022% magnetischen Partikeln, konjugiert an einen monoklonalen Maus-Antikörper spezifisch für den Zelloberflächenmarker EpCAM, exprimiert auf Epithelzellen, in einem Puffer mit 0,03% Rinderserumalbumin (BSA) und 0,05% ProClin® 300 als Konservierungsmittel. (Braune Verschlusskappe)
- **3,0 mL Farbreagenz:** Enthält 0,0006% monoklonale Maus-Antikörper spezifisch für Zytokeratine, konjugiert mit Phykoerythrin (PE); 0,0012% monoklonalen Maus-Anti-CD45 Antikörper konjugiert mit Allophycocyanin (APC) in Puffer mit 0,5% BSA und 0,1% Natriumazid. (Weiße Verschlusskappe)
- **3,0 mL Nukleinsäure-Färbung:** Enthält 0,005% 4', 6-Diamidino-2-phenylindol-dihydrochlorid (DAPI) und 0,05% ProClin® 300. (Blaue Verschlusskappe)
- **3,0 mL Capture-Enhancement-Reagenz:** Enthält 0,02% eigenentwickeltes Reagenz für kontrollierte Ferrofluid-Aggregation, 0,5% BSA, und 0,1% Natriumazid in Puffer. (Durchsichtige Verschlusskappe)
- **3,0 mL Permeabilisierungsreagenz:** Enthält 0,011% eigenentwickeltes Permeabilisierungsreagenz und 0,1% Natriumazid in Puffer. (Grüne Verschlusskappe)
- **3,0 mL Zellfixiermittel:** Enthält 25% eigenentwickelte Fixiermittelkomponenten, 0,1% BSA und 0,1% Natriumazid in Puffer. (Rote Verschlusskappe)
- **2 x 110 mL Flasche Verdünnungspuffer:** Enthält Puffer mit 0,1% Natriumazid.

- **16 CELLSEARCH® konische Zentrifugenröhrchen (15 mL) und Kappen für konische Röhrchen**
- **16 Kartuschen und Anschlüsse**

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

- CellSave Preservative Tubes (7900005)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® System (9541)
- CELLTRACKS ANALYZER II® (9555)
- CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (7900003)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® Instrument Buffer (7901003)
- Zentrifuge mit horizontal ausschwenkendem Rotor (z. B. Schwenkbecherzentrifuge) mit einer Drehzahl von 800 x g
- Teströhrchenständer
- Kalibrierte Mikropipetten und Pipettenspitzen
- Vortexschüttler

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. *In-vitro*-Diagnostikum.
2. Bitte vor der ersten Anwendung mit Proben alle Gebrauchsanweisungen vollständig lesen.
3. Vorsicht: Blut nur in ein CellSave Preservative Tube aufnehmen. Enthaltene Konservierungsmittel sind zur genauen Analyse der empfindlichen CTC notwendig.
4. Vorsicht: Das gesamte Laborpersonal sollte die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen beachten und Labor-Schutzausrüstung tragen (z.B. Schutzbrille, Kittel und Handschuhe).
5. Vorsicht: Mikrobielle Kontamination von Reagenzien kann verfälschte Ergebnisse verursachen und sollte daher vermieden werden.
6. Vorsicht: Einige der Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Bei Verschlucken sofort ärztlichen Rat aufsuchen. Von Kindern fernhalten. Von Nahrung und Getränken fernhalten. Geeignete Schutzkleidung tragen. Bei dem Kontakt mit Säuren wird ein sehr toxisches Gas freigesetzt. Azidhaltige Bestandteile sollten während der Entsorgung mit großen Mengen Wasser nachgespült werden, um Ablagerung in Blei- oder Kupferrohren und die damit verbundene Explosionsgefahr zu vermeiden.
7. **Warnhinweis:** Alle biologischen Proben, Kartuschen und andere Materialien im Kontakt mit Proben sollten als biogefährlich betrachtet werden. Handhaben, als könnten infektiöse Erreger übertragen werden. Abfall mit entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen und gemäß lokalen, staatlichen und bundesstaatlichen Vorschriften handhaben und entsorgen. Nie mit dem Mund pipettieren.
8. **Warnhinweis:** Manche der Reagenzien enthalten ProClin® 300 als Konservierungsmittel.
9. Zur Durchführung der Testverfahren ist eine Schulung des Personals erforderlich.

Im folgenden sind die gefahren- und sicherheitshinweise angeführt:

H317 kann eine allergische Hautreaktion hervorrufen.

Prävention:

P261 Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dämpfen/Spray vermeiden.

P272 kontaminierte Arbeitskleidung darf nicht außerhalb des Arbeitsplatzes getragen werden.

P280 Geeignete Schutzhandschuhe tragen.

Reaktion:

P333 + P313 Wenn Hautreizung oder Hautausschlag auftritt: ärztlichen Rat einholen/Arzt aufsuchen.

P362 + P364 Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

Entsorgung

P501 Inhalt/Behälter in einer zugelassenen Entsorgungsanlage entsorgen.

Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt auf www.cellsearchctc.com

LAGERUNG UND HANDHABUNG DER REAGENZIEN

- Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert. Ungeöffnet bei 2–8 °C lagern.
- Nach dem Öffnen sollten die Reagenzien im Reagenzpack höchstens 30 Tage lang bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Geöffnete Reagenzien **müssen** zur Lagerung mit den eindeutig farblich gekennzeichneten Deckeln wiederverschlossen werden. Dabei dienen die Farben auf den Reagenztray-Etiketten als Orientierungshilfe. Auf diese Weise wird eine Kreuzkontamination der Reagenzien verhindert.
- **HINWEIS:** Nach ihrer Öffnung sollte die Verdünnungspufferflasche, die nicht zum Reagenz-Kit gehört, bei Raumtemperatur nicht länger als 30 Tage aufbewahrt werden.
- Die Reagenzien unbedingt vor hohen Temperaturen von mehr als 35 °C schützen. Nicht einfrieren.
- Vor dem Gebrauch Raumtemperatur (15–30 °C) annehmen lassen.

- Überprüfen Sie visuell die ordnungsgemäße Anordnung der Reagenzien. Stellen Sie sicher, dass sich jedes Reagenz an der richtigen Stelle befindet, indem Sie die eindeutig farblich gekennzeichneten Deckel mit der auf dem Etikett gezeigten Farbe vergleichen. Die korrekte Anordnung sehen Sie auf dem Foto. Sollten Sie feststellen, dass Reagenzien sich nicht am richtigen Ort befinden oder Flaschen doppelt vorhanden sind, verwenden Sie das Reagenzpack nicht und wenden Sie sich an den Technischen Kundendienst, um eine Ersatzlieferung zu vereinbaren.
- Reagenzien vor Sonneneinstrahlung schützen.
- Bei sachgerechter Lagerung sind die Reagenzien bis zu dem auf dem Reagenzbehälter oder der Kit-Verpackung aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Reagenzien nicht nach Ablauf ihres Verfallsdatums benutzen.
- Die Kitkomponenten werden als Bestandteile eines Standard-Loses hergestellt und getestet. Reagenzien aus verschiedenen Kits dürfen **nicht** gemischt werden.



VERFAHRENSWEISE

Probenentnahme und -vorbereitung

Abnahme von Vollblut in CellSave Preservative Tubes

1. Die erste Probe vor Beginn einer Behandlung entnehmen. Zur Überwachung der CTC-Spiegel während der Behandlung können zusätzliche Proben nach Beginn der Behandlung entnommen werden, gewöhnlich in Abständen von 3 bis 4 Wochen. Falls sich der Patient in einer Doxorubicintherapie befindet, sollte eine Blutabnahme frühestens 7 Tage nach der Verabreichung einer Doxorubicindosis erfolgen.
2. Vollblut durch Venenpunktion oder einen Venenport aseptisch in ein CellSave Preservative Tube abnehmen.
3. Das Röhrchen befüllen, bis der Blutfluss versiegt, um das richtige Verhältnis zwischen Probe und Antikoagulanzen und Konservierungsmittel zu erzielen. Den Inhalt des Röhrchens unmittelbar nach Blutabnahme durch achtmaliges Umdrehen mischen. Umdrehen des Röhrchens verhindert die Blutgerinnung. Unzulängliches oder verzögertes Mischen kann zu ungenauen Testergebnissen führen.
4. Blutproben können in einem CellSave Preservative Tube aufbewahrt oder transportiert werden. Die Anweisungen zu Verarbeitung, Aufbewahrung und Handhabung sind in der Gebrauchsanweisung des CellSave Preservative Tube enthalten. Proben nicht gekühlt aufbewahren.

VORSICHT: Alle Proben vor der Verarbeitung mit dem CELLTRACKS® AUTOPREP® System visuell auf Gerinnung untersuchen. Geronnene Proben sollten verworfen werden.

Verarbeitung mit dem CELLTRACKS® AUTOPREP® System

1. Mischen Sie das Blut in dem CellSave Preservative Tube, indem Sie dieses manuell fünf Mal umwenden. Entfernen Sie dann den Gummistopfen.
2. Übertragen Sie mithilfe einer neuen Pipette 7,5 mL Blut vom CellSave Preservative Tube (Konservierungsröhrchen) in ein entsprechend beschriftetes konisches 15-mL-CELLSEARCH®-Zentrifugenröhrchen, das im CELLSEARCH® CTC-Kit enthalten ist.
3. Geben Sie mithilfe einer neuen Pipette 6,5 mL Verdünnungspuffer dazu.
4. Verschließen Sie das konische CELLSEARCH®-Zentrifugenröhrchen und mischen Sie den Inhalt durch fünfmaliges Umdrehen.
5. Zentrifugieren Sie die Probe mithilfe einer Schwenkbecherzentrifuge bei $800 \times g$ komplette 10 Minuten lang bei abgeschalteter Bremse. In den 10 Minuten Zentrifugationszeit ist nicht die Zeit bis zum Erreichen der $800 \times g$ inbegriffen. Stellen Sie die Zentrifugenbremse auf „aus“, oder stellen Sie die Bremse auf die niedrigste Bremseneinstellung, wenn Ihre Zentrifuge mit einer variablen Bremsfunktion ausgestattet ist. Zentrifugieren Sie bei Raumtemperatur mithilfe einer für Raumtemperatur ausgelegten Zentrifuge. Untersuchen Sie im Anschluss an die Probenzentrifugierung jedes Probenröhrchen visuell auf die Trennung von Plasma und roten Blutkörperchen.
6. Verarbeiten Sie die Probe nach ihrer Vorbereitung **innerhalb einer Stunde** mit dem CELLTRACKS® AUTOPREP® System. Eine vollständige Gebrauchsanweisung ist im Anwenderhandbuch des CELLTRACKS® AUTOPREP® Systems enthalten.

Analyse mit dem CELLTRACKS ANALYZER II®

Das CELLTRACKS® AUTOPREP®-System gibt die verarbeitete Probe in eine Kartusche ab, die für die Analyse mithilfe des CELLTRACKS ANALYZER II® bereit ist. Die gefüllte Kartusche in der MAGNEST Kartuschenhalterung sollte mindestens 20 Minuten im Dunkeln inkubiert und innerhalb von 24 Stunden analysiert werden. Anleitungen zur Probenanalyse und Datenüberprüfung siehe Benutzerhandbuch zum CELLTRACKS ANALYZER II®.

QUALITÄTSKONTROLLE

Das CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (Katalog-Nr. 7900003) prüft die allgemeine Funktionstüchtigkeit des Systems, einschließlich des Gerätes, der Reagenzien und der Technik des Bedieners. Wenn Patientenproben getestet werden oder wenn eine neue Charge des CELLSEARCH® CTC-Kit angebrochen wird, sollte jeden Tag eine CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control mitgeführt werden. Die Gebrauchsanweisung und erwartete Werte sind im Benutzerhandbuch des CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit enthalten.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Ergebnisse werden als Anzahl CTC pro 7,5 mL Blut angegeben.

Metastatischer Brustkrebs (MBC)

Ein CTC-Wert von **5** oder höher pro 7,5 mL Blut zu einem beliebigen Zeitpunkt des Krankheitsverlaufs ist mit einer schlechten Prognose verbunden und lässt eine Prognose auf ein verkürztes progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben zu.

Metastatischer Kolorektalkrebs (MCRC)

Ein CTC-Wert von **3** oder höher pro 7,5 mL Blut zu einem beliebigen Zeitpunkt des Krankheitsverlaufs ist mit einer schlechten Prognose verbunden und lässt eine Prognose auf ein verkürztes progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben zu.

Metastatischer Prostatakrebs (MPC)

Ein CTC-Wert von **5** oder höher pro 7,5 mL Blut zu einem beliebigen Zeitpunkt des Krankheitsverlaufs ist mit einer schlechten Prognose verbunden und lässt eine Prognose auf ein verkürztes progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben zu.

Vorsicht

Die Verschleppung von einer Probe mit einer CTC-Zahl von **5000 oder darüber** pro 7,5 mL Blut kann Proben beeinträchtigen, die im Anschluss an diese Probe im CELLTRACKS® AUTOPREP® System verarbeitet werden, einschließlich des nachfolgenden Probendurchlaufs. Wenn Zellen in nachfolgende Proben verschleppt werden, kann die CTC-Zahl dieser Proben möglicherweise falsch höher sein als die tatsächliche CTC-Zahl der/s betreffenden Patientin/en. **Weitere Informationen finden Sie im Anwenderhandbuch des CELLTRACKS® AUTOPREP® Systems.**

BEGRENZUNGEN DES VERFAHRENS

- Achtung: Laut US-Bundesgesetz darf dieses Gerät nur vom einem Arzt oder auf dessen Anweisung verkauft werden.
- CELLSEARCH® Ergebnisse sollten im Zusammenhang mit allen klinischen Informationen von anderen diagnostischen Tests (z.B. Bildaufnahmen, Labortests), körperlichen Untersuchungen und der vollständigen Krankengeschichte in Übereinstimmung mit entsprechenden Behandlungsverfahren für Patienten benutzt werden.
- In dieser *prognostischen* Studie wird nicht nachgewiesen, dass *irgendeine* momentane Therapie wirksamer oder weniger wirksam als eine andere bzw. keine Therapie ist.
- CELLSEARCH® Ergebnisse sind bei der Einschätzung, ob der Krankheitszustand eines Patienten vom nicht-progressiven in den progressiven Zustand übergeht, nicht mit Ergebnissen aus Bildaufnahmen gleichwertig.
- Falls sich der Patient in einer Doxorubicintherapie befindet, sollte eine Blutabnahme frühestens 7 Tage nach der Verabreichung einer Therapie erfolgen. Die Ergebnisse eines CELLSEARCH® Tests sollten bei Probenentnahmen innerhalb von 7 Tagen nach Verabreichung einer Doxorubicintherapie mit Vorsicht interpretiert werden.
- CTC ohne EpCAM-Expression werden vom CELLSEARCH® Test nicht erfasst.
- CTC mit EpCAM-Expression, jedoch ohne Expression der Zytokeratine 8, 18 und 19, werden vom CELLSEARCH® Test nicht erfasst.
- Störsubstanzen:
Mit SK-BR-3-Zellen angereicherte Blutproben wurden potentiellen Störsubstanzen ausgesetzt und mit unbehandelten Proben verglichen. Es wurden toxische Konzentrationen (das 5-fache der therapeutischen Indikation) folgender Krebsmedikamente, allgemein erhältlicher Medikamente und anderer exogener Substanzen getestet: Cyclophosphamid, Mitomycin C®, Procrit®, Biotin, 5-Fluorouracil, Methotrexat, Tamoxifen-Zitrat, Paclitaxel, Arimidex®, Acetaminophen, Acetylsalicylsäure, Koffein, Dextromethorphan, Aredia®, Mensch-Anti-Maus-Antikörper (HAMA) Typ 1, HAMA Typ 2, Herceptin® und Ibuprofen. Es wurden keine signifikanten Unterschiede von SK-BR-3-Zellzahlen beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass diese Substanzen nicht als Störsubstanzen für das CELLSEARCH® CTC-Kit anzusehen sind.

Proben, die mit toxischen Mengen von Doxorubicin angereichert wurden, zeigten abweichende Färbungen der Leukozyten, die positiv für Zytokeratin und CD45 sind, da Doxorubicin eine Fluoreszenzverbindung ist, die in kernhaltige Zellen eingelagert wird. Falls vorhanden, ist das Färbemuster aller Zellen, die als CD45- und Zytokeratin-positiv sind, eindeutig und für den Anwender leicht als eine bekannte Störung erkennbar. Wenn Blut nach der empfohlenen 7-tägigen Auswaschphase abgenommen wird, ist eine solche Störung sehr unwahrscheinlich unter der Voraussetzung der kontrollierten therapeutischen Medikamentenmenge und der schnellen Medikamenten-Clearance.

Lipämische Störungen wurden durch Zugabe von Intralipid in einer Konzentration von 2,6% getestet (entspricht einer Konzentration von mehr als 1.000 mg/dL Triglycerid). Zur Simulation einer totalen Hämolyse wurden die Proben lysiert. Es wurde Bilirubin mit 7,4 mg/dL, HAMA 1/HAMA 2 und ein Hämatokrit von 18–60% getestet. Lipämie, Hämolyse, Ikterus und ein breiter Bereich von Hämatokritwerten bewirken keine Störung des CELLSEARCH® Tests. Auch HAMA 1 und HAMA 2 bewirken keine Störung, was darauf hindeutet, dass Patienten, die Maus-Ig auf parenteralem Weg erhalten, erfolgreich mit dem CELLSEARCH® Test getestet werden können.

ERWARTETE WERTE

Gesunde Freiwillige, nicht-maligne Brusterkrankungen, nicht maligne andere Erkrankungen

Es wurden Einzel-CTC-Analysen an Kontrollgruppen von 145 gesunden Freiwilligen, 101 Frauen mit nicht-malignen Brusterkrankungen und 99 Frauen mit anderen nicht-malignen Erkrankungen durchgeführt. Im peripheren Blut gesunder Personen werden keine Epithelzellen erwartet. Von den insgesamt 345 Proben von gesunden Freiwilligen und Frauen mit nicht-malignen Erkrankungen wies nur eine Probe mehr als 5 CTC pro 7,5 mL auf. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 1** dargestellt.

Tabelle 1: Kontrollpersonen

Kategorie	N	Mittlere Anz. CTC	SA	Anz. Patienten mit ≥ 5 CTC	Min.*	Max.*
Gesund	145	0,1	0,2	0	0	1
Nicht-maligne Brusterkrankung	101	0,2	1,2	1	0	12
Nicht-maligne andere Erkrankung	99	0,1	0,4	0	0	3

* NCCLS Richtlinie C28-A2³

Gesunde Freiwillige, nicht-maligne kolorektale Erkrankung

Blut wurde von gesunden Männern und Frauen gewonnen, die 35 Jahre alt waren oder älter. Diese gesunden Freiwilligen wurden in den drei US-Zentren eingeschrieben. Zum Zwecke dieser Studie wurden zwei Röhrchen Blut von jedem Freiwilligen abgenommen, und beide wurden auf CTC-Spiegel untersucht. Insgesamt wurden 150 auswertbare Freiwillige mit entweder ein oder zwei separaten Aliquots zu je 7,5 mL Blut für CTC vorbereitet. Nicht bei allen auswertbaren Freiwilligen waren die CTC-Ergebnisse von beiden Röhrchen vorhanden. Der Mittelwert von zirkulierenden Tumorzellen war 0,0 für beide Gruppen an Freiwilligen, mit Standardabweichungen von 0,1 bis 0,2. Von den insgesamt 284 Proben von gesunden Freiwilligen (Männer und Frauen) wies keine Probe mehr als 3 CTC pro 7,5 mL auf. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 2** dargestellt.

Tabelle 2: Ergebnisse des CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Tests in Kontrollpersonen

Gesunde Kontrollen	Alle Kontrollen			Nur Männer			Nur Frauen		
	Röhrchen 1	Röhrchen 2	Insgesamt	Röhrchen 1	Röhrchen 2	Insgesamt	Röhrchen 1	Röhrchen 2	Insgesamt
N	149	135	284	68	64	132	81	71	152
CTC-Bereich	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
CTC-Mittelwert	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CTC SA	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
N (%) ≥ 1 CTC	2 (1%)	4 (3%)	6 (2%)	1 (1%)	1 (2%)	2 (2%)	1 (1%)	3 (4%)	4 (3%)
N (%) ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

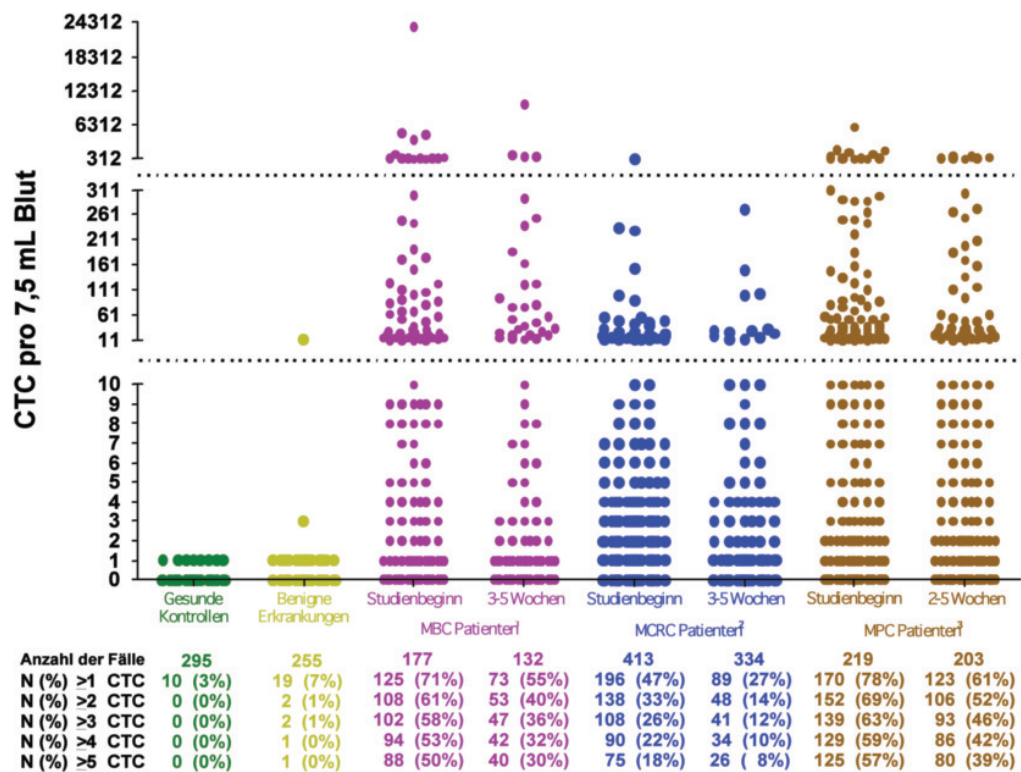
Ungefähr 30 mL Blut (um die Wahrscheinlichkeit, dass Zellen erkannt werden, zu steigern) wurden in vier separaten CellSave Tubes (Minimum 7,5 mL pro Röhrchen) von Patienten, die einer Koloskopie oder Operation wegen einer benignen Erkrankung unterzogen wurden, genommen. Bis zu vier 7,5 mL-Blutproben wurden vor dem Eingriff bei jedem Patienten untersucht. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 3** dargestellt. Nicht bei allen auswertbaren Freiwilligen waren die CTC-Ergebnisse von allen vier Röhrchen vorhanden. Bei keinem der Patienten mit einer benignen kolorektalen Erkrankung konnte mehr als eine zirkulierende Tumorzelle pro 7,5 mL Blut aufgewiesen werden.

Tabelle 3: Ergebnisse des CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Tests in Personen mit Benigner Kolorektaler Erkrankung

Benigne Erkrankung	Blut Vor dem Eingriff Abgenommen				
	Röhrchen 1	Röhrchen 2	Röhrchen 3	Röhrchen 4	Insgesamt
N	55	55	53	47	210
Bereich	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Mittelwert	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
SA	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2
% ≥ 1 CTC	3 (5%)	1 (2%)	2 (4%)	4 (9%)	10 (5%)
% ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Abbildung 1 zeigt die Häufigkeit von CTC bei den gesunden Personen und den Patienten mit benigner Erkrankung kombiniert (Kontrollen) und bei den MBC-, MCRC- und MPC-Patienten vor Behandlungsbeginn und ungefähr 1 Monat nach Behandlungsbeginn.

Abbildung 1: Häufigkeit von CTC bei Kontrollen (Personen ohne Krebs) und Patienten mit metastatischem Brustkrebs¹ (MBC), metastatischem kolorektalem Krebs² (MCRC) oder metastatischem Prostatakrebs³ (MPC) vor Beginn einer Behandlung mit einer neuen Therapielinie (Ausgangswert) und ~2-5 Wochen nach Behandlungsbeginn.



¹ Informationen zur MBC-Referenzpopulation – Tabelle 1 der klinischen Gebrauchsanweisung.

² Informationen zur MCRC-Referenzpopulation – Tabelle 12 der klinischen Gebrauchsanweisung.

³ Informationen zur MPC-Referenzpopulation – Tabelle 22 der klinischen Gebrauchsanweisung.

LEISTUNGSMERKMALE DER ANALYSE

Wiederfindung

Blutproben eines einzigen gesunden Spenders wurden gepoolt, und fünf von sechs Aliquots zu je 7,5 mL wurden mit etwa 1300, 325, 81, 20 bzw. 5 Zellen aus Brustkrebskulturen (SK-BR-3) angereichert. Das sechste Prüfröhrchen enthielt nicht angereichertes Blut und diente als Nullwert-Probe. Diese Proben wurden auf dem CELLTRACKS® AUTOPREP® System mit dem CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit analysiert und die CTC-Werte wurden mit dem CELLTRACKS ANALYZER II® bestimmt. Das Experiment wurde mit Proben von vier weiteren Spendern wiederholt. Die beobachteten Zellzahlen wurden gegen die Ergebnisse für die erwarteten Zellzahlen aufgetragen. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 4** dargestellt.

Tabelle 4. Prozentuale Auswertung der nachgewiesenen Zellen.

Erwartete Tumorzellzahl	Beobachteter Mittelwert Tumorzellzahl	Prozentualer Bereich der Wiederfindung
1300	1215	91 bis 95%
325	308	82 bis 101%
81	85	80 bis 136%
20	22	95 bis 140%
5	7	120 bis 200%

Zur Bestimmung der generellen Wiederfindung der nachgewiesenen und erwarteten Zellzahlen wurde eine lineare Regressionsanalyse von allen ermittelten Daten durchgeführt. Die Regressionsgleichung für diese 30 Proben lautete $Y = 0,93x + 3,87$, wobei $R^2 = 0,999$ ($R = 0,999$) betrug. Die Ergebnisse dieser Studie deuten gemäß linearer Regressionsanalyse auf eine mittlere Wiederfindungsrate der getesteten CTC von 93% hin.

Aufgrund der Linearität der Tumorzellzahlen würde man eine Steigung des beobachteten gegenüber dem erwarteten Diagramm von 1,0 erwarten. Die Steigung lag jedoch bei 0,93. Der Grund dafür liegt im CELLTRACKS® AUTOPREP® System mit dem CELLSEARCH® CTC Kit, das auf Bindung und Fluoreszenz-Markierung von Zellen sowie Nachweis und Zählung mit dem CELLTRACKS ANALYZER II® beruht. Der Zellverlust könnte deshalb einer der folgenden Möglichkeiten zugeschrieben werden: 1) der Wiederfindungsrate von nur 93% der in 7,5 mL Blut angereicherten Tumorzellen mit dem CELLTRACKS® AUTOPREP® System; 2) dem Nachweis von nur 93% der in der Probenkammer vorliegenden Tumorzellen durch den CELLTRACKS ANALYZER II® oder 3) einer Kombination dieser beiden Fehlerquellen.

Linearität/Messbereich

Zur Bewertung der Linearität können die obigen Daten auch als Verdünnungsserie analysiert werden. Zur Bestimmung der Erwartungswerte für jede Patientenprobe in der Verdünnungsserie wurde die störende Variable der prozentualen Wiederfindung ausgeschlossen und stattdessen der beobachtete Wert der ursprünglichen Probe (d.h., im ersten Teströhrchen), dividiert durch die Verdünnungsfaktoren, verwendet. Die Regression aller dieser beobachteten Tumorzellzahlen gegenüber den erwarteten Tumorzellzahlen ergab eine Steigung von 1,007, einen Achsenabschnitt von 3,0, sowie $R^2 = 0,990$ ($R = 0,995$). Diese Analyse der Daten zeigte nach dem Herausrechnen der prozentualen Wiederfindung (Zellverlust) aus den CTC-Werten der ursprünglichen Proben einen linearen CTC-Nachweis innerhalb des Messbereichs von 0 bis 1238 Tumorzellen.

Nachweisgrenze

Der CELLTRACKS ANALYZER II® kann eine CTC pro 7,5 mL nachweisen, was zu einer Nachweisgrenze von einer CTC in einer Kartusche führt. Anhand der linearen Regression wird eine durchschnittliche Wiederfindung von 93% der in der 7,5 mL Blutprobe vorliegenden CTC mit dem CELLTRACKS® AUTOPREP® System gezeigt (siehe Abschnitt **Wiederfindung**). Der Verlust von etwa 7% der CTC in einer Probe ist nicht ausreichend zur Verminderung der Nachweisgrenze von einer CTC.

Reproduzierbarkeit:

a. System-Reproduzierbarkeit mit CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control

Über einen Zeitraum von mehr als 30 Tagen wurden drei getrennte CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Proben gemäß der Langzeitmethode der NCCLS Richtlinie EP5-A² täglich vorbereitet und verarbeitet. Jede Einweg-Probenflasche enthält eine niedrige und eine hohe Konzentration von Zellen einer fixierten Zelllinie, die mit zwei verschiedenen Fluorochromen vorgefärbt wurden. Zusammenfassende Statistiken für die hoch- und niedrig-konzentrierten Kontrollzellen sind unten aufgeführt.

Tabelle 5: Zusammenfassung der Präzisionsanalyse

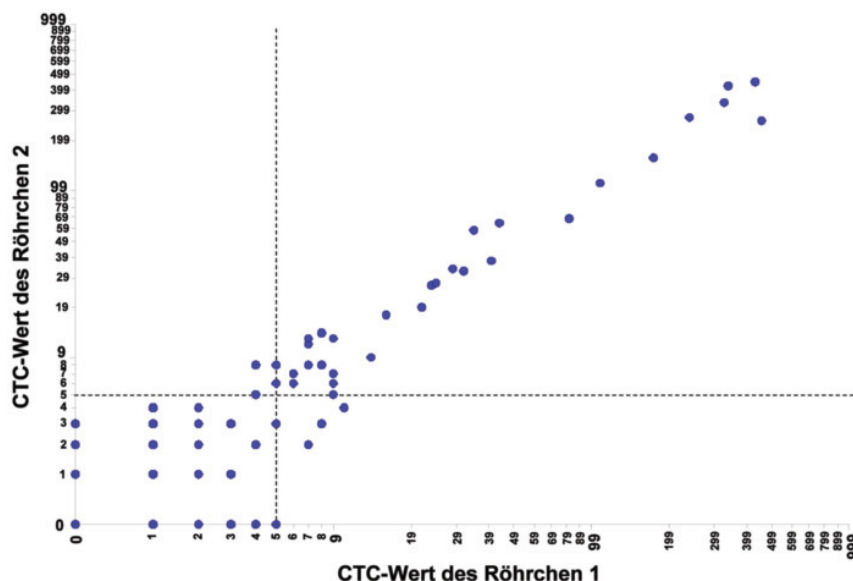
	Niedrig	Hoch
N	99	99
Mittlere Zellzahl	48	969
% VK des Gesamtwertes der Präzisions-Standardabweichung (S_T)	18%	5%

b. Systemreproduzierbarkeit mit Patientenproben

Metastatischer Brustkrebs (MBC)

Im Verlauf der klinischen Studie wurden insgesamt 163 Blutproben im Doppelansatz von 47 metastatischen Brustkrebspatienten entnommen. Zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der CTC-Messungen wurden diese Proben an mehreren Standorten getestet. Die Regressionsgleichung für den Vergleich dieser 163 Proben im Doppelansatz betrug $Y = 0,98x + 0,67$, $R^2 = 0,99$. **Abbildung 2** zeigt ein Abweichungsdiagramm der CTC-Ergebnisse der Doppelansätze von den MBC-Patientenblutproben in einer logarithmischen Skala aufgetragen, mit einem Schwellenwert von 5 CTC, der mittels gestrichelten Linien angezeigt wird.

Abbildung 2. Reproduzierbarkeit der CTC-Zahlen in MBC-Doppelansätzen (n=163) mit Mittelwerten von <5 oder ≥5 CTC pro 7,5 mL Blut.



*Abbildung 2 Hinweis:
Es könnte mehr als ein Punkt über einem anderen liegen. Bei diesem Diagramm gibt es beispielsweise eine Anzahl von 50 Fälle (31%), bei denen beide Röhrchen 0 CTC aufwiesen, 18 Fälle (11%), bei denen die Röhrchen 1 und 2 jeweils 0 CTC und 1 CTC aufwiesen und 18 Fälle (11%), bei denen die Röhrchen 1 und 2 jeweils 1 CTC und 0 CTC aufwiesen.*

Metastasierendes kolorektales Karzinom (MCRC)

Im Verlauf der klinischen Studie wurden insgesamt 1627 Proben im Doppelansatz von 430 MCRC-Patienten entnommen. Zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der CTC-Messungen wurden diese Proben an mehreren Standorten getestet. Die Regressionsgleichung für den Vergleich dieser 1627 Proben im Doppelansatz betrug $Y = 0,98x + 0,18$, $R^2 = 0,96$.

Abbildung 3 zeigt ein Abweichungsdiagramm der CTC-Ergebnisse der Doppelansätze von den MCRC-Patientenblutproben in einer logarithmischen Skala aufgetragen, mit einem Schwellenwert von 3 CTC, der mittels gestrichelter Linien angezeigt wird.

Abbildung 3: Reproduzierbarkeit der CTC-Zahlen in MCRC-Doppelansätzen (n=1627) mit Mittelwerten von <3 oder ≥3 CTC pro 7,5 mL Blut.

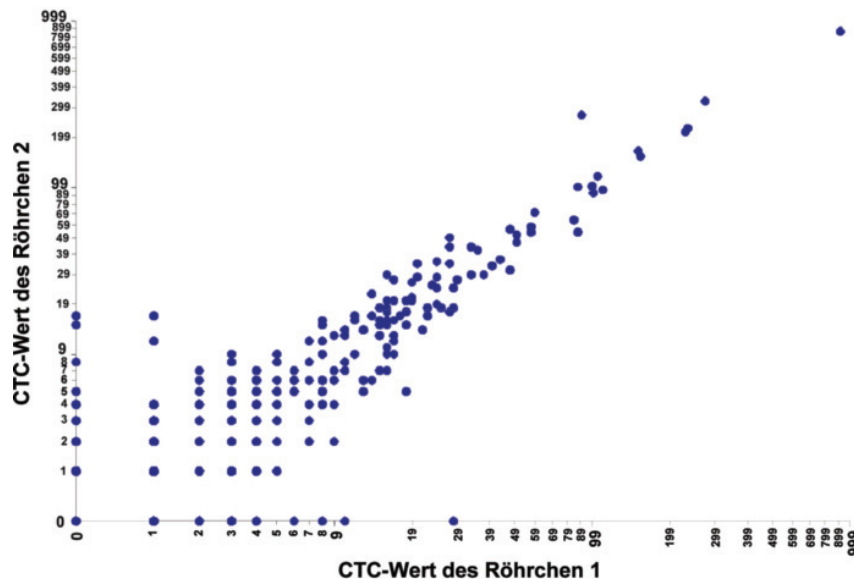


Abbildung 3 Hinweis:
Es könnte mehr als ein Punkt über einem anderen liegen. Bei diesem Diagramm gibt es beispielsweise eine Anzahl von 975 Fälle (60%), bei denen beide Röhrchen 0 CTC aufwiesen, 116 Fälle (7%), bei denen die Röhrchen 1 und 2 jeweils 0 CTC und 1 CTC aufwiesen und 109 Fälle (7%), bei denen die Röhrchen 1 und 2 jeweils 1 CTC und 0 CTC aufwiesen.

Die Abweichungen von Röhrchen zu Röhrchen der CTC-Werte bei Blutproben von Patienten mit metastasierender Brustkrebs und kolorektalem Krebs werden in **Abbildung 2 & Abbildung 3** dargestellt. Die Verteilung der sporadischen Zellen (sowie Tumorzellen) innerhalb eines bestimmten Volumens ist zufällig und hängt nicht vom Zelltyp oder Art der Erkrankung ab. Dies wird am besten mittels einer Poisson-Verteilung beschrieben – einer mathematischen Methode mit der Systeme modelliert werden, bei denen die Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses sehr niedrig aber die Anzahl an Gelegenheiten, dass dieses Ereignis auftritt, hoch ist⁵. Für Röhrchen mit sehr wenigen prostaticischen CTC ist es plausibel, eine Abweichung der Ergebnisse zu erwarten, die sich ungefähr denen in **Abbildung 2 & Abbildung 3** geschilderten ähnelt. Da die zwei vorherigen Studien mit MBC- und MCRC-Patienten fast identische Ergebnisse aufwiesen, wurde während der klinischen CELLSEARCH® CTC-Prostatastudie kein Röhrchen-zu-Röhrchen-Vergleich der CTC-Werte bei den Blutproben von Patienten mit metastatischem Prostatakrebs durchgeführt. Dennoch wiesen Ergebnisse einer unabhängigen Studie mit der CELLSEARCH® Technologie, die im Memorial Sloan-Kettering Cancer Center durchgeführt wurde, keine systematische Abweichung zwischen Kliniken oder Röhrchen bezüglich der CTC-Werte bei einem Bereich von 0 bis 1192 CTC pro Röhrchen von Patienten mit metastatischem Prostatakrebs auf⁴.

LITERATUR

1. Cancer Biology, 3rd edition, Ray Ruddon 1995
2. NCCLS Approved Guideline EP5-A, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices".
3. NCCLS Approved Guideline C28-A2, "How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory".
4. Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, Anand A, Smith K, Maslak, P, Doyle GV, Terstappen LWMM, Lilja H, Heller G, Fleisher M and Scher HI. "Circulating Tumor Cell Analysis in Patients with Progressive Castration-Resistant Prostate Cancer", Clinical Cancer Research, Vol 13 No.7: 2023-2029, (2007).
5. Tibbe A.G.J, Miller C.M and Terstappen LWMM "Statistical Considerations for Enumeration of Circulating Tumor Cells", Cytometry Part A 71a:154-162 (2007).

REF 7900001
Kit für 16 Tests



**Circulating Tumor Cell Kit
(Epithelial)**

ERGEBNISSE KLINISCHER STUDIEN

Inhaltsverzeichnis

1 Metastatische Brustkrebspatienten (MBC)	6
1.1 Häufigkeit von CTC	6
1.2 Analyse des Progressionsfreien Überlebens (PFS) von MBC-Patienten	7
1.2.1 PFS unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse	7
1.2.2 PFS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests	7
1.2.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes PFS hin	8
1.3 Analyse des Gesamtüberlebens (OS) bei MBC-Patienten	9
1.3.1 OS-Analyse unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse	9
1.3.2 OS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests	10
1.3.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes OS hin	10
1.3.4 Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MBC-Patienten	11
1.3.5 Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MBC-Patienten	12
1.4 Verwendung der CTC-Werte zur Überwachung des klinischen Status bei metastatischem Brustkrebs	13
1.4.1 Zusammenhang zwischen Überleben, CTC und Krankheitseinschätzung durch Bildaufnahmen	13
1.4.2 CTC	13
1.4.3 Bildaufnahmen	14
1.4.4 Zusammenhang zwischen Überleben, Bildaufnahmen und CTC	14
1.4.5 Übereinstimmungen zwischen CTC und radiologischer Überwachung	16
1.4.6 CTC als eine Ergänzung zu Bildaufnahmen	18
1.5 Veränderlichkeit von CTC und Radiologischen Bewertungen	18
1.5.1 CTC	18
1.5.2 Bildaufnahmen	18
2 Patienten mit Metastatischem Kolorektalem Krebs (MCRC)	19
2.1 Häufigkeit von CTC	20
2.2 Analyse des Progressionsfreien Überlebens (PFS) bei MCRC-Patienten	21
2.2.1 PFS unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse	21
2.2.2 PFS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests	21
2.2.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes PFS hin	22
2.3 Analyse des Gesamtüberlebens (OS) bei MCRC-Patienten	23
2.3.1 OS-Analyse unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse	23
2.3.2 OS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests	24
2.3.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes OS hin	25
2.3.4 Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten	26
2.3.5 Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten	26
2.4 Verwendung der CTC-Werte zur Überwachung des Klinischen Status bei Metastatischem Kolorektalem Krebs	27
2.4.1 Zusammenhang zwischen Überleben, CTC und Krankheitseinschätzung durch Bildaufnahmen	27
2.4.2 CTC	27
2.4.3 Bildaufnahmen	28
2.4.4 Zusammenhang zwischen Überleben, Bildaufnahmen und CTC	28
2.4.5 Übereinstimmungen zwischen CTC und radiologischer Überwachung bei MCRC-Patienten	30
2.4.6 CTC als eine Ergänzung zu Bildaufnahmen	32

3 Patienten mit Metastatischem Prostatakrebs (MPC)	32
3.1 Häufigkeit von CTC	33
3.2 Analyse des Progressionsfreien Überlebens (PFS) bei MPC-Patienten	34
3.2.1 PFS unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse	34
3.2.2 PFS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests	35
3.2.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes PFS hin	36
3.3 Analyse des Gesamtüberlebens (OS) bei MPC-Patienten	37
3.3.1 OS-Analyse unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse	37
3.3.2 OS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests	37
3.3.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes OS hin	38
3.3.4 Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten	39
3.3.5 Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten	40
3.4 Verwendung der CTC-Werte zur Überwachung des Klinischen Status bei Patienten mit Metastatischem Prostatakrebs	42
3.4.1 Zusammenhang zwischen Überleben, CTC und Krankheitseinschätzung durch PSA	42
3.4.2 Übereinstimmungen zwischen CTC und PSA-Änderungen bei MPC-Patienten	43
3.4.3 CTC-Werte und PSA-Reduzierung kombiniert, um das OS bei MPC-Patienten vorherzusagen	45

Liste der Tabellen

Tabelle 1: Demographien der MBC-Patienten	6
Tabelle 2: Progressionsfreies Überleben (PFS) von MBC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 CTC zu verschiedenen Zeitpunkten	8
Tabelle 3: Gesamtüberleben (OS) von MBC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 zu verschiedenen Zeitpunkten	10
Tabelle 4: Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MBC-Patienten	12
Tabelle 5: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox des progressionsfreien Überlebens bei MBC-Patienten	12
Tabelle 6: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox des Gesamtüberlebens bei MBC-Patienten	13
Tabelle 7: OS der getesteten MBC-Patienten mit CTC-Bewertung nach ca. einem Monat nach Therapiebeginn und innerhalb eines Monats nach radiologischer Bewertung	15
Tabelle 8: Pro-MBC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen	17
Tabelle 9: Pro-MBC-Untersuchungs-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen	17
Tabelle 10: Pro-MBC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen	17
Tabelle 11: Veränderlichkeit von Radiologischen und CTC-Bewertungen bei MBC-Patienten	19
Tabelle 12: Demographische Informationen der MCRC-Patienten	20
Tabelle 13: Ausschlüsse in der Analyse der progressionsfreien und des Gesamtüberlebens bei MCRC-Patienten	20
Tabelle 14: Progressionsfreies Überleben (PFS) von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von 35 <3 oder ≥3 zu verschiedenen Zeitpunkten	22
Tabelle 15: Gesamtüberleben (OS) von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von <3 oder ≥3 zu verschiedenen Zeitpunkten	25
Tabelle 16: Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten	26
Tabelle 17: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten	27
Tabelle 18: OS der MCRC-Patienten mit CTC-Bewertungen nach ca. einem Monat nach Therapiebeginn und innerhalb eines Monats nach der radiologischen Bewertung	29
Tabelle 19: Pro-MCRC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen	30
Tabelle 20: Pro-MCRC-Untersuchungs-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen	31
Tabelle 21: Pro-MCRC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen	31
Tabelle 22: Demographien der MPC-Patienten	33

Tabelle 23: Ausschlüsse von PFS- und OS-Analysen bei MPC-Patienten.....	34
Tabelle 24: Progressionsfreies Überleben (PFS) von MPC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 zu verschiedenen Zeitpunkten	36
Tabelle 25: Gesamtüberleben (OS) von MPC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 zu verschiedenen Zeitpunkten	38
Tabelle 26: Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten	40
Tabelle 27: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten	41
Tabelle 28: Vergleich des durchschnittlichen OS zwischen vorteilhaften und unvorteilhaften CTC- und PSA-Reduzierungsgruppen.....	43
Tabelle 29: Pro-MPC-Patient-Vergleich zwischen CTC und 30% PSA-Reduzierung nach 2-5 Wochen.....	44
Tabelle 30: Pro-MPC-Patient-Vergleich zwischen CTC und 30% PSA-Reduzierung nach 13-20 Wochen.....	44
Tabelle 31: MPC-Pro-Behandlungs-Vergleich der CTC und der 30%-PSA-Reduzierung.....	44

Liste der Abbildungen

Abbildung 1: PFS von MBC-Patienten mit <5 oder ≥5 CTC als Ausgangswerte (N=177).....	7
Abbildung 2: PFS von MBC-Patienten mit Werten von <5 oder ≥5 CTC bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen.....	8
Abbildung 3: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 5 nach Therapiebeginn deutet auf ein längeres PFS bei MBC-Patienten hin.....	9
Abbildung 4: OS von MBC-Patienten mit <5 oder ≥5 CTC als Ausgangswert (N=177).....	9
Abbildung 5: OS der MBC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 CTC bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen.....	10
Abbildung 6: Ein Absinken der CTC-Werte unter 5 nach Behandlungsbeginn weist auf ein längeres OS hin, wohingegen ein Anstieg auf Werte von 5 oder höher auf ein kürzeres OS bei MBC-Patienten hinweist.....	11
Abbildung 7: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit dem OS: OS der getesteten MBC-Patienten mit NPD oder PD zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme (N = 138)	15
Abbildung 8: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit der OS: OS der getesteten MBC-Patienten mit CTC-Werten <5 oder ≥5 zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn (N = 138)	16
Abbildung 9: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit der OS: OS der getesteten MBC-Patienten mit CTC-Werten <5 oder ≥5 innerhalb ± eines Monats nach der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme (N = 134)	16
Abbildung 10: OS der MBC-Patienten in Gruppe 1, 2, 3 und 4 unter Verwendung der CTC-Ergebnisse aus der 1. Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn (n = 138) und des bei der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme festgestellten Krankheitsstatus	18
Abbildung 11: PFS von MCRC-Patienten mit CTC-Ausgangswerten von <3 oder ≥3 (N=413).....	21
Abbildung 12: PFS von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von <3 oder ≥3 bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen	22
Abbildung 13: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 3 nach Therapiebeginn deutet auf ein längeres PFS bei MCRC-Patienten hin.....	23
Abbildung 14: OS von MCRC-Patienten mit CTC-Ausgangswerten von <3 oder ≥3 (N=413).....	24
Abbildung 15: OS von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von <3 oder ≥3 bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen.....	24
Abbildung 16: Ein Absinken der CTC-Werte unter 3 nach Behandlungsbeginn weist auf ein längeres OS hin, wohingegen ein Anstieg auf Werte von 3 oder höher auf ein kürzeres OS bei MCRC-Patienten hinweist.....	25
Abbildung 17: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit OS: OS der getesteten MCRC-Patienten mit NPD oder PD zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme (N = 402)	29

Abbildung 18: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit OS: OS der getesteten MCRC-Patienten mit CTC-Werten <3 oder ≥ 3 zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn (N = 320)	29
Abbildung 19: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit OS: OS der getesteten MCRC-Patienten mit CTC-Werten <3 oder ≥ 3 innerhalb ± 1 Monat nach der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme oder Tod (N=364).....	30
Abbildung 20: OS der MCRC-Patienten in Gruppe 1, 2, 3 und 4 unter Verwendung der CTC 3-5 Wochen nach Therapiebeginn (n = 320) und des bei der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme festgestellten Krankheitsstatus	32
Abbildung 21: PFS von MPC-Patienten mit <5 oder ≥ 5 CTC als Ausgangswert (N = 219).	35
Abbildung 22: PFS von MPC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥ 5 bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen	35
Abbildung 23: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 5 nach Therapiebeginn deutet auf ein längeres PFS bei MPC-Patienten hin	36
Abbildung 24: OS von MPC-Patienten mit <5 oder ≥ 5 CTC als Ausgangswerte (N = 219).	37
Abbildung 25: OS von MPC-Patienten mit Werten von <5 oder ≥ 5 CTC bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen.	38
Abbildung 26: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 5 nach Behandlungsbeginn weist auf ein längeres OS hin, wohingegen eine Zunahme auf Werte von 5 oder höher auf ein kürzeres OS bei MPC-Patienten hinweist.	39
Abbildung 27: OS von MPC-Patienten 2-5 Wochen nach Behandlungsbeginn	42
Abbildung 28: OS von MPC-Patienten 6-8 Wochen nach Behandlungsbeginn	42
Abbildung 29: OS von MPC-Patienten 9-12 Wochen nach Behandlungsbeginn	42
Abbildung 30: OS von MPC-Patienten 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn	43
Abbildung 31: CTC-Werte und PSA-Änderungen Kombiniert, um das OS 2-5 Wochen (Panel A), 6-8 Wochen (Panel B), 9-12 Wochen (Panel C) und 13-20 Wochen (Panel D) Nach Behandlungsbeginn vorherzusagen	45

1 Metastatische Brustkrebspatienten (MBC)

An mehreren Standorten wurde eine klinische Prospektivstudie durchgeführt, um festzustellen, ob die CTC-Zahl über den Krankheitsverlauf und die Überlebensrate entschied. Für die Studie wurden metastatische Brustkrebspatienten mit messbarer Erkrankung (N = 177), die eine neue Therapielinie begannen, eingetragen. Die klinischen Daten wurden auf der Basis der Behandlungsabsicht ausgewertet. Die demographischen Informationen der Patienten sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Demographien der MBC-Patienten

Kategorie		N = 177 Patienten
Alter bei Studienbeginn	Mittelwert ± Std.- Abweichung Mittelwert	58±13 58
	Beschreibung der Kategorien	Anzahl der Patienten (% der gesamten Anzahl)
Erkrankungsgrad	1	26 (15%)
	2	92 (52%)
	3	26 (15%)
	4	20 (11%)
	Unbekannt	13 (7%)
Rasse	Weiß	153 (86%)
	Farbig	14 (8%)
	Latino	7 (4%)
	Unbekannt	3 (2%)
ECOG-Ergebnis bei Studienbeginn	0	82 (46%)
	1	72 (41%)
	2	18 (10%)
	Unbekannt	5 (3%)
Krankheitsherd	Viszeral	152 (86%)
	Knochen	153 (86%)
ER/PR	+	121 (68%)
	-	54 (31%)
	Unbekannt	2 (1%)
HER2	0	91 (51%)
	1+	12 (7%)
	2+	18 (10%)
	3+	27 (15%)
	Unbekannt	29 (17%)
Therapie-Linie	1. Linie	82 (46%)
	2. Linie	26 (15%)
	≥3. Linie	67 (38%)
	Unbekannt	2 (1%)
Art der Therapie	Chemo (Ch)	74 (42%)
	Endokrin (En)	45 (25%)
	Gezielt (Ge)	9 (5%)
	Ch/En	10 (6%)
	Ch/Ge	23 (13%)
	En/Ge	7 (4%)
	Ch/En/Ge	2 (1%)
	Sonstiges	2 (1%)
	Unbekannt	5 (3%)

Der Ausgangswert für die CTC-Anzahl wurde vor Beginn einer neuen Therapielinie ermittelt. Nachfolgende CTC-Werte wurden nach Behandlungsbeginn in Abständen von etwa 3 bis 4 Wochen bestimmt. Für die Ausgangsanalysen wurde das progressionsfreie Überleben (Progression Free Survival – PFS) ab dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme bis zur Diagnose des Krankheitsfortschritts durch CT-Scans und/oder klinische Anhaltspunkte und Symptome gemessen, sowie das Gesamtüberleben (Overall Survival, OS) ab dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme bis zum Tod des Patienten. Für die Nachfolgeanalysen wurde das PFS ab dem Zeitpunkt der ersten Nachfolge-Blutabnahme bis zur Diagnose des Krankheitsfortschritts bzw. bis zum Tod, und das OS ab dem Zeitpunkt der ersten Nachfolge-Blutabnahme bis zum Tod gemessen.

1.1 Häufigkeit von CTC

Die CTC-Ergebnisse der Nachfolge-Blutabnahmen von 3-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn wurden als vorteilhaft (<5 CTC) oder unvorteilhaft (≥5 CTC) eingeteilt. Falls bei den bestimmten Nachfolge-Zeitpunkten mehr als ein CTC-Wert ermittelt wurde, kam das CTC-Ergebnis der Blutabnahme zur Anwendung, das am meisten von der ersten Blutabnahme entfernt lag.

Von den insgesamt 177 MBC-Patienten waren 23 bei der ersten Nachfolgeuntersuchung nicht auswertbar. Von diesen 23 Patienten starben zehn Patienten, bevor eine Nachfolge-Blutabnahme erfolgen konnte, neun Patienten zeigten vor der ersten Nachfolge-Blutabnahme einen Krankheitsfortschritt, und vier Patienten waren für weitere Untersuchungen nicht mehr verfügbar. Es war bemerkenswert, dass alle zehn verstorbenen Patienten bereits bei

Studienbeginn CTC-Ausgangswerte ≥ 5 bis hin zu extrem hohen Werten (CTC-Werte 9, 11, 15, 24, 111, 126, 301, 1143, 4648 und 23.618) aufwiesen. Bei 132, 99, 129 und 85 der 154 Patienten, die für eine Nachfolgeuntersuchung zur Verfügung standen, erfolgten die Blutabnahmen jeweils 3–5, 6–8, 9–14 bzw. 15–20 Wochen nach Behandlungsbeginn.

In **Tabelle 3** sind Gesamtanzahl und Prozentsatz der Patienten mit unvorteilhaftem CTC-Wert in dieser klinischen Studie zum Gesamtüberleben angegeben, die sich hinsichtlich Anzahl und Prozentsatz von Patienten für progressionsfreies Überleben unterscheiden, die in **Tabelle 2** erfasst sind. Der Unterschied in der Anzahl der Patienten zu jedem Zeitpunkt *zwischen* den beiden Tabellen ist durch die Progression bei manchen Patienten vor der Blutabnahme bedingt. Der Unterschied in der Anzahl der Patienten *innerhalb* der Tabellen ist zu jedem Zeitpunkt durch die Anzahl der Patienten mit Blutabnahmen und auswertbaren CTC-Ergebnissen bedingt.

1.2 Analyse des Progressionsfreien Überlebens (PFS) von MBC-Patienten

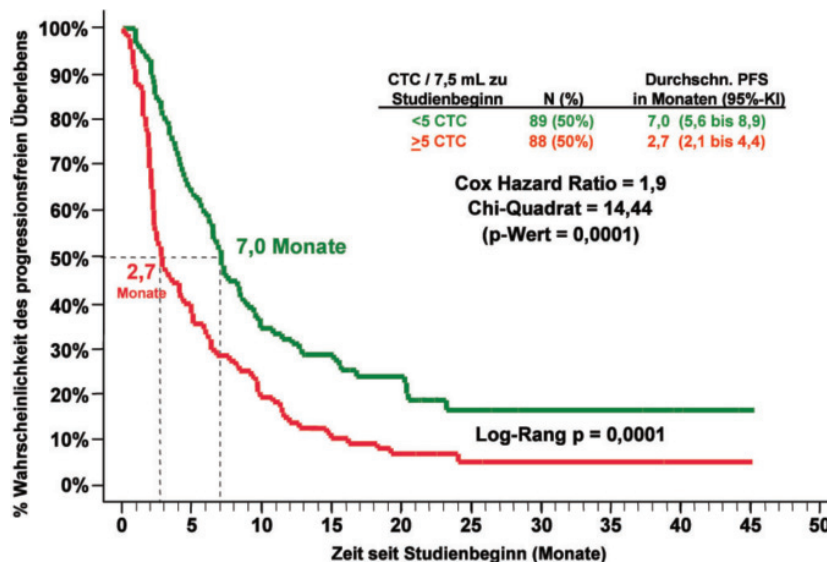
1.2.1 PFS unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse

Alle 177 MBC-Patienten wurden einem Ausgangs-CTC-Test unterzogen. Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Ausgangswerten in zwei Gruppen aufgeteilt:

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten (N = 89), dargestellt in **grün**, bestand aus Patienten mit CTC-Werten von <5 .
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten (N = 88), dargestellt in **rot**, bestand aus Patienten mit CTC-Werten von ≥ 5 .

Das durchschnittliche PFS war bedeutend länger für die Gruppe mit vorteilhaften Werten im Vergleich zu der Gruppe mit unvorteilhaften Werten (7,0 gegenüber 2,7 Monate). Diese Ergebnisse sind in **Abbildung 1** dargestellt.

Abbildung 1: PFS von MBC-Patienten mit <5 oder ≥ 5 CTC als Ausgangswerte (N=177).

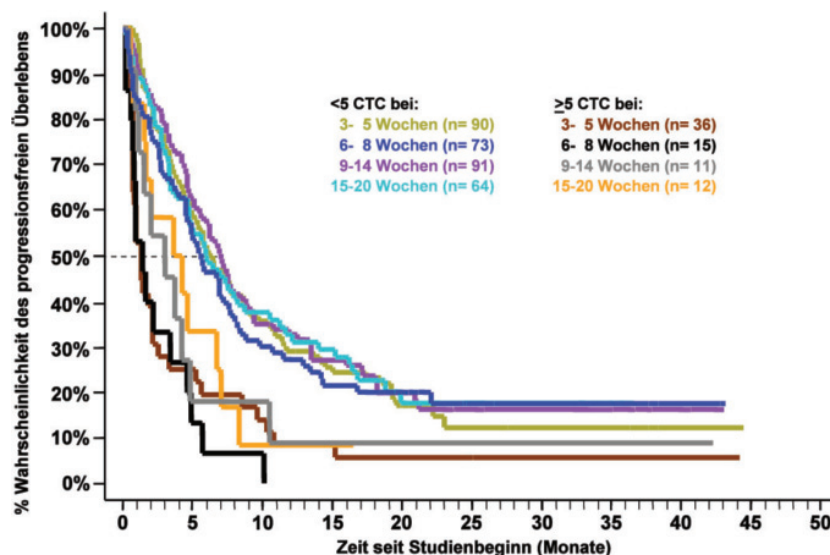


1.2.2 PFS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die MBC-Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei den jeweiligen Nachfolge-Blutabnahmen in zwei Gruppen eingeteilt. Beide Patientengruppen bei jeder der verschiedenen Nachfolge-Blutabnahmen nach Behandlungsbeginn für das PFS sind in **Abbildung 2** dargestellt. Die PFS-Zeiten wurden berechnet ab dem Zeitpunkt jeder Blutabnahme, wobei jeder Patient, der vor einer bestimmten Blutabnahme Anzeichen eines Fortschreitens der Erkrankung zeigte, von dieser und allen folgenden Blutabnahmen ausgeschlossen wurde. **Abbildung 2** zeigt, dass die CTC für 177 Patienten mit metastatischem Brustkrebs bei Patienten mit <5 bzw. ≥ 5 CTC 3-5, 6-8, 9-14 und 15-20 Wochen nach Behandlungsbeginn eine Vorhersage des Zeitraums bis zum Eintreten des Todes gestatten.

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten, dargestellt in **olivgrün, blau, violett** und **türkis**, umfasste Patienten mit CTC-Werten von <5 .
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten, dargestellt in **braun, schwarz, grau** und **orange**, umfasste Patienten mit CTC-Werten von ≥ 5 .

Abbildung 2: PFS von MBC-Patienten mit Werten von <5 oder ≥5 CTC bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen



In **Tabelle 2** sind die Ergebnisse der PFS-Analyse unter Verwendung der CTC-Spiegel und eines Schwellenwerts von ≥5 CTC/7,5 mL bei jeder der verschiedenen Blutabnahmen zusammengefasst.

Tabelle 2: Progressionsfreies Überleben (PFS) von MBC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 CTC zu verschiedenen Zeitpunkten

1	2	3	4	5	6
Probenentnahmezeit Nach Beh.-Beginn	N	≥5 CTC	Durchschn. PFS in Monaten (95%-KI)		Log-Rang p-Wert
			<5 CTC	≥5 CTC	
Studienbeginn	177	88 (50%)	7,0 (5,6 bis 8,9)	2,7 (2,1 bis 4,4)	0,0001
3-5 Wochen	126	36 (29%)	6,1 (4,7 bis 8,6)	1,3 (0,7 bis 2,1)	<0,0001
6-8 Wochen	88	15 (17%)	5,6 (4,5 bis 7,6)	1,4 (0,6 bis 3,4)	0,0001
9-14 Wochen	102	11 (11%)	7,0 (5,1 bis 8,8)	3,0 (0,9 bis 4,8)	0,0251
15-20 Wochen	76	12 (16%)	5,9 (3,8 bis 8,7)	3,6 (0,7 bis 7,0)	0,0610

Wie in **Abbildung 2** und **Tabelle 2** dargestellt, bestand bei Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt erhöhte CTC-Werte aufwiesen (≥5 CTC/7,5 mL Vollblut), eine wesentlich höhere Wahrscheinlichkeit einer Progression als bei denjenigen mit CTC-Werten von <5. **Tabelle 2** Spalte 4 zeigt, dass die durchschnittlichen Zeiten des PFS für Patienten mit <5 CTC zwischen 5,6 und 7,0 Monaten lagen und damit deutlich länger waren als die durchschnittlichen Zeiten des PFS für Patienten mit ≥5 CTC die zwischen 1,3 und 3,6 Monaten lagen (Spalte 5).

1.2.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes PFS hin

Die vergangene PFS-Zeit wurde ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Für die Kaplan-Meier-Analyse (**Abbildung 3**) wurden die MBC-Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei der Ausgangsanalyse oder 3-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-13 Wochen und 15-20 Wochen nach Behandlungsbeginn in vier Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 83 (47%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei allen Blutabnahmen. Fünf (6%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und zwei (2%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von ≥5 CTC;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 38 (21%) Patienten mit Werten von ≥5 CTC vor Behandlungsbeginn, die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf CTC-Werte von <5 CTC gesunken waren;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 17 (10%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei einer frühen Blutabnahme (Ausgangsanalyse, 3-5 Wochen, und/oder 6-8 Wochen), die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von ≥5 CTC gestiegen waren;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 39 (22%) Patienten mit Werten von ≥5 CTC bei allen Blutabnahmen. Zehn (26%) dieser Patienten hatten nur eine erste Blutabnahme.

Abbildung 3: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 5 nach Therapiebeginn deutet auf ein längeres PFS bei MBC-Patienten hin

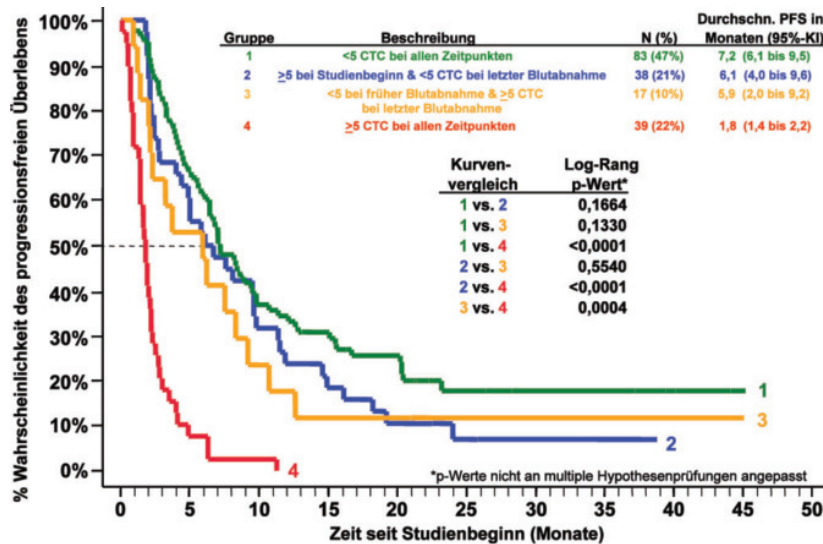


Abbildung 3 zeigt, dass das durchschnittliche PFS bei Patienten mit CTC-Werten ≥ 5 bei allen Zeitpunkten (**Gruppe 4**) am kürzesten war - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen PFS in **Gruppe 3**, **Gruppe 2** und **Gruppe 1**. Die Unterschiede zwischen den Kurven der anderen Gruppen in dieser Abbildung waren nicht signifikant.

1.3 Analyse des Gesamtüberlebens (OS) bei MBC-Patienten

1.3.1 OS-Analyse unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse

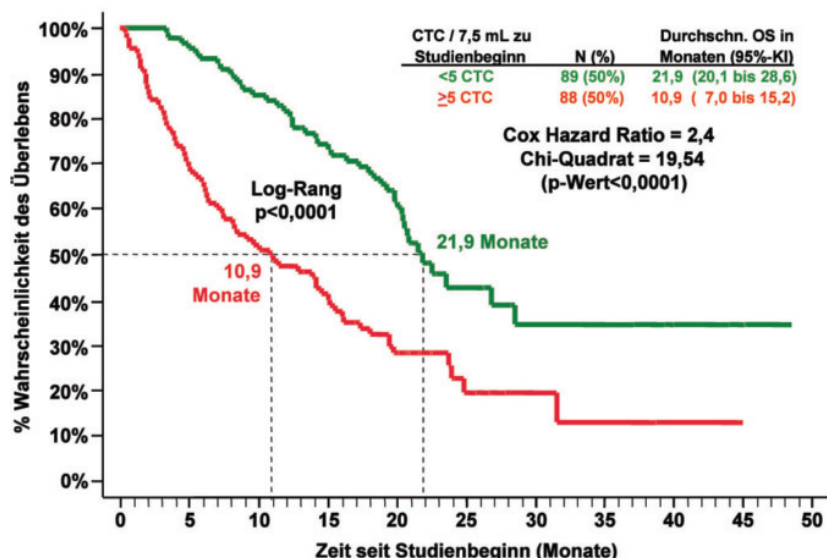
Es starben 109 (62%) der 177 MBC-Patienten. Die mittlere Nachfolgezeit der 68 (38%) noch lebenden Patienten betrug $22,7 \pm 9,4$ Monate (Mittelwert = 21,1, Bereich = 4,4 - 48,6). Zum Zeitpunkt dieser Analysen waren aus der Gruppe der 89 Patienten mit vorteilhaften Werten (CTC-Ausgangswert < 5) 44 (49%) verstorben, im Vergleich dazu starben aus der Gruppe der 88 Patienten mit unvorteilhaften Werten (CTC-Ausgangswert ≥ 5) 65 (74%).

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Ausgangswerten in zwei Gruppen aufgeteilt:

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten (N = 89), dargestellt in **grün**, bestand aus Patienten mit CTC-Werten von < 5 .
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten (N = 88), dargestellt in **rot**, bestand aus Patienten mit CTC-Werten von ≥ 5 .

Das durchschnittliche OS war bedeutend länger für die Gruppe mit vorteilhaften Werten im Vergleich zu der Gruppe mit unvorteilhaften Werten (21,9 gegenüber 10,9 Monate). Die Ergebnisse sind in **Abbildung 4** dargestellt.

Abbildung 4: OS von MBC-Patienten mit < 5 oder ≥ 5 CTC als Ausgangswert (N=177).

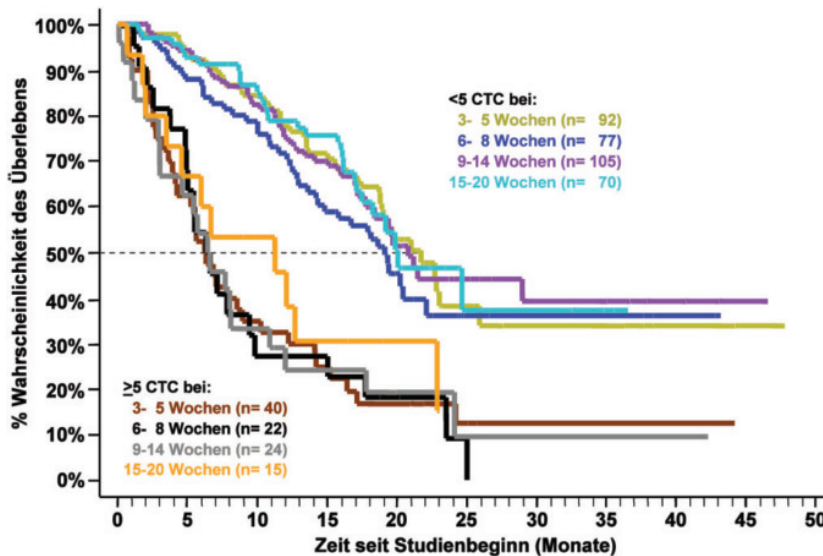


1.3.2 OS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests

Die Kaplan-Meier-Analysen beider MBC-Patientengruppen bei jeder der verschiedenen Nachfolge-Blutabnahmen nach Behandlungsbeginn sind in **Abbildung 5** dargestellt. Diese Abbildung gibt wieder, wie die CTC bei MBC-Patienten mit <5 bzw. ≥5 CTC 3-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-14 Wochen und 15-20 Wochen nach Behandlungsbeginn eine Vorhersage des Zeitraums bis zum Eintreten des Todes bei 177 Patienten mit metastatischem Brustkrebs gestatten. Die Dauer des OS wurde ab dem Zeitpunkt jeder Blutabnahme berechnet.

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten, dargestellt in **olivgrün, blau, violett** und **türkis**, umfasste Patienten mit CTC-Werten von <5.
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten, dargestellt in **braun, schwarz, grau** und **orange**, umfasste Patienten mit CTC-Werten von ≥5.

Abbildung 5: OS der MBC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 CTC bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen.



In **Tabelle 3** sind die Ergebnisse der OS-Analyse unter Verwendung der CTC-Spiegel und eines Schwellenwerts von ≥5 CTC/7,5 mL bei jeder der verschiedenen Blutabnahmen zusammengefasst.

Tabelle 3: Gesamtüberleben (OS) von MBC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 zu verschiedenen Zeitpunkten

1	2	3	4	5	6
Probenentnahmezeit Nach Beh.-Beginn	N	≥5 CTC	Durchschn. OS in Monaten (95%-KI)		Log-Rang p-Wert
			<5 CTC	≥5 CTC	
Studienbeginn	177	88 (50%)	21,9 (20,1 bis 28,6)	10,9 (7,0 bis 15,2)	<0,0001
3-5 Wochen	132	40 (30%)	21,7 (18,8 bis 25,9)	6,2 (4,1 bis 8,9)	<0,0001
6-8 Wochen	99	22 (22%)	19,1 (14,2 bis 22,1)	6,3 (4,8 bis 9,8)	0,0001
9-14 Wochen	129	24 (19%)	20,8 (17,8 bis ≥45)	6,4 (3,0 bis 10,9)	<0,0001
15-20 Wochen	85	15 (18%)	20,1 (17,1 bis ≥35)	11,3 (2,0 bis 22,9)	0,0021

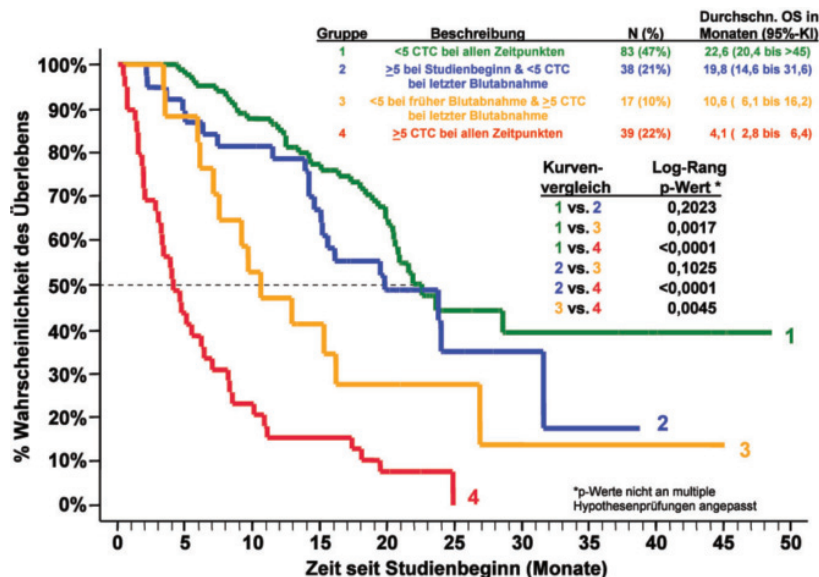
1.3.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes OS hin

Die vergangene OS-Zeit wurde ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Für die Kaplan-Meier-Analyse (**Abbildung 6**) wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei der Ausgangsanalyse oder 3-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-13 Wochen und 15-20 Wochen nach Behandlungsbeginn in vier Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 83 (47%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei allen Blutabnahmen. Fünf (6%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und zwei (2%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von ≥5 CTC;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 38 (21%) Patienten mit Werten von ≥5 CTC vor Behandlungsbeginn, die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf CTC-Werte von <5 CTC gesunken waren;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 17 (10%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei einer frühen Blutabnahme (Ausgangsanalyse, 3-5 Wochen, und/oder 6-8 Wochen), die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von ≥5 CTC gestiegen waren;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 39 (22%) Patienten mit Werten von ≥5 CTC bei allen Blutabnahmen. Zehn (26%) dieser Patienten hatten nur eine erste Blutabnahme.

Abbildung 6 zeigt, dass für MBC-Patienten, bei denen der Schwellenwert zu irgendeinem Zeitpunkt nach Behandlungsbeginn über 5 CTC lag, ein signifikant höheres Risiko eines niedrigeren Gesamtüberlebens besteht. Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC bei allen Zeitpunkten (**Gruppe 4**) hatten die kürzeste durchschnittliche OS - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen OS in **Gruppe 3**, **Gruppe 2** und **Gruppe 1**. Der Unterschied in der mittleren Lebenserwartung zwischen **Gruppe 3** und **Gruppe 1** war auch signifikant. Obwohl **Gruppe 3** im Vergleich zu **Gruppe 2** ein kürzeres durchschnittliches OS aufwies, war der Unterschied statistisch nicht signifikant. **Abbildung 6** zeigt ferner, dass Patienten, deren CTC-Wert zwar bei Studienbeginn ≥ 5 betrug, nach Behandlungsbeginn aber auf < 5 CTC absank, ungefähr dasselbe Todesrisiko haben wie die Patienten, deren Werte die Schwelle von 5 CTC niemals überstiegen.

Abbildung 6: Ein Absinken der CTC-Werte unter 5 nach Behandlungsbeginn weist auf ein längeres OS hin, wohingegen ein Anstieg auf Werte von 5 oder höher auf ein kürzeres OS bei MBC-Patienten hinweist.



Wie in **Abbildung 6** und **Tabelle 3** in den Spalten 4 und 5 dargestellt, bestand für MBC-Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt CTC-Werte von ≥ 5 aufwiesen, eine wesentlich höhere Wahrscheinlichkeit, früher zu sterben, als für diejenigen mit CTC-Werten von < 5 . Die durchschnittlichen Zeiten des OS für Patienten mit < 5 CTC lagen zwischen 19,1 und 21,9 Monaten und waren damit deutlich länger als die durchschnittlichen Zeiten des OS für Patienten mit ≥ 5 CTC, die zwischen 6,2 und 11,3 Monaten lagen.

1.3.4 Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MBC-Patienten

Zur Auswertung des Zusammenhangs zwischen PFS und OS wurden folgende Parameter einer univariaten Regressionsanalyse nach Cox unterzogen: Patientenalter (kontinuierlich), Grad der Erkrankung zum Zeitpunkt der Diagnose (1-4), Zeitraum bis zur Metastasierung (kontinuierlich), ECOG-Status vor Beginn einer neuen Therapielinie (0-2), ER/PR Status (+/-), HER2/neu Status (0-3+), Therapielinie (≥ 2 . oder 1.), Art der Therapie (nur Chemo oder Hormon-/Kombinationstherapie), CTC-Ausgangswert (≥ 5 oder < 5 CTC/7,5 mL) und CTC-Wert bei den Nachfolgeuntersuchungen nach 3-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-14 Wochen und 15-20 Wochen nach Therapiebeginn (≥ 5 oder < 5 CTC/7,5 mL). **Tabelle 4** zeigt die Ergebnisse dieser Analyse und stellt das Hazard Ratio (HR) nach Cox und den dazugehörigen p-Wert (Wald-Test der Z-Statistik) sowie die Anzahl der Patienten in jeder Bewertung dar.

Tabelle 4: Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MBC-Patienten

Parameter	Kategorien		Anzahl der getesteten MBC-Patienten	PFS-Risiko ab Studienbeginn		OS-Risiko ab Studienbeginn	
	Positiv	Negativ		HR	p-Wert	HR	p-Wert
Alter bei erster Blutabnahme zum Studienbeginn	Alter in Jahren		175	0,99	0,173	0,99	0,375
Stadium bei Erstdiagnose	4 vs 3 vs 2 vs.1		164	0,97	0,723	1,00	0,969
ER/PR	Positiv	Negativ	175	0,84	0,327	0,53	0,002
Her-2/neu	3+ vs 2+ vs 1+ vs 0		148	0,91	0,207	0,93	0,422
ECOG-Status bei Studienbeginn	2 vs 1 vs 0		172	1,14	0,307	1,64	0,001
Zeitraum bis Metastasierung	Zeit in Jahren		175	0,97	0,048	0,95	0,018
Therapie-Linie	≥ Zweite	Erste	175	1,55	0,007	1,91	0,001
Art der Therapie	Nur	H / C	172	1,97	<0,001	2,22	<0,001
Anzahl CTC bei Studienbeginn	≥5	<5	177	1,85	<0,001	2,36	<0,001
Anzahl CTC nach 3 - 5 Wochen	≥5	<5	132	2,52	<0,001	3,30	<0,001
Anzahl CTC nach 6 - 8 Wochen	≥5	<5	99	3,57	<0,001	2,87	<0,001
Anzahl CTC nach 9 - 14 Wochen	≥5	<5	129	2,89	<0,001	3,64	<0,001
Anzahl CTC nach 15 - 20 Wochen	≥5	<5	85	1,86	0,041	2,85	0,004

H / C / und/oder I – nur Hormon- oder Immuntherapie oder Kombination von Hormon- und/oder Chemo- und/oder Immuntherapie

1.3.5 Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MBC-Patienten

Mit multivariaten Regressionsanalysen nach Cox wurde bei MBC-Patienten die unabhängige Aussagekraft der CTC-Anzahl zur Prognose bewertet. Hierzu wurde der Einfluss der bekannten entscheidenden klinischen Faktoren, die in univariaten Analysen statistisch signifikant waren, angepasst. Es wurde festgestellt, dass CTC bei der Prognose des PFS (**Tabelle 5**) und OS (**Tabelle 6**) sehr aussagekräftig sind.

Tabelle 5: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox des progressionsfreien Überlebens bei MBC-Patienten

Variable	N	Hazard Ratio	p-Wert
CTC bei Studienbeginn (<5 vs. ≥5)	172	1,69	0,001
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,98	0,154
Therapie-Linie (Erste vs. ≥ Zweite)		1,52	0,013
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,74	0,001
Nachuntersuchungs-CTC nach 3-5 Wochen (<5 vs. ≥5)	132	2,32	<0,001
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,97	0,166
Therapie-Linie (Erste vs. ≥ Zweite)		1,68	0,008
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,50	0,060
Nachuntersuchungs-CTC nach 6-8 Wochen (<5 vs. ≥5)	99	2,92	<0,001
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,93	0,023
Therapie-Linie (Erste vs. ≥ Zweite)		1,36	0,175
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,90	0,005
Nachuntersuchungs-CTC nach 9-14 Wochen (<5 vs. ≥5)	129	2,23	0,002
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,97	0,170
Therapie-Linie (Erste vs. ≥ Zweite)		1,48	0,061
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,73	0,007
Nachuntersuchungs-CTC nach 15-20 Wochen (<5 vs. ≥5)	85	1,58	0,140
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,96	0,064
Therapie-Linie (Erste vs. ≥ Zweite)		1,80	0,018
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,66	0,049

Tabelle 6: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox des Gesamtüberlebens bei MBC-Patienten

Variable	N	Hazard Ratio	p-Wert
CTC bei Studienbeginn (<5 vs. ≥5)	170	2,62	<0,001
ER/PR (Negativ vs. Positiv)		0,57	0,016
ECOG-Status bei Studienbeginn (2 vs. 1 vs. 0)		1,58	0,001
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,97	0,078
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite)		2,33	<0,001
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,78	0,006
Nachuntersuchungs-CTC nach 3-5 Wochen (<5 vs. ≥5)	130	3,78	<0,001
ER/PR (Negativ vs. Positiv)		0,51	0,020
ECOG-Status bei Studienbeginn (2 vs. 1 vs. 0)		1,69	0,001
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,96	0,142
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite)		2,30	0,001
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,72	0,026
Nachuntersuchungs-CTC nach 6-8 Wochen (<5 vs. ≥5)	99	2,88	0,001
ER/PR (Negativ vs. Positiv)		0,58	0,062
ECOG-Status bei Studienbeginn (2 vs. 1 vs. 0)		1,32	0,173
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,94	0,135
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite)		2,51	0,001
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		2,33	0,003
Nachuntersuchungs-CTC nach 6-8 Wochen (<5 vs. ≥5)	129	4,14	<0,001
ER/PR (Negativ vs. Positiv)		0,39	0,002
ECOG-Status bei Studienbeginn (2 vs. 1 vs. 0)		1,57	0,016
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,98	0,388
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite)		2,21	0,003
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		2,28	0,003
Nachuntersuchungs-CTC nach 6-8 Wochen (<5 vs. ≥5)	85	3,44	0,006
ER/PR (Negativ vs. Positiv)		0,38	0,024
ECOG-Status bei Studienbeginn (2 vs. 1 vs. 0)		1,33	0,321
Zeitraum bis Metastasierung (Jahre)		0,94	0,150
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite)		3,43	0,001
Art der Therapie (Hormon/Sonstige vs. nur Chemo)		1,67	0,166

1.4 Verwendung der CTC-Werte zur Überwachung des klinischen Status bei metastatischem Brustkrebs

1.4.1 Zusammenhang zwischen Überleben, CTC und Krankheitseinschätzung durch Bildaufnahmen

Röntgenaufnahmen stellen eines der wichtigsten Mittel zur Bestimmung des Krankheitsstatus und des Behandlungserfolgs bei metastatischen Brustkrebspatienten dar. Der Zusammenhang des klinischen Status (durch Bildaufnahmen ermittelt) und dem CTC wurde festgestellt, indem die CTC-Werte (zu zwei verschiedenen Zeitpunkten gemessen) und die Bildaufnahmen 1) mit dem tatsächlichen klinischen Endpunkt des Gesamtüberlebens und 2) miteinander verglichen wurden.

1.4.2 CTC

Durch vorhandene Daten konnte gezeigt werden, dass bei MBC-Patienten, deren CTC-Werte bei jeder weiteren Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn bei CTC-Werten von ≥ 5 / 7,5 mL Blut lagen, im Vergleich zu Patienten mit CTC-Werten von < 5 / 7,5 mL Blut das Risiko eines progressiven Krankheitsverlaufs und verringerten Gesamtüberlebens höher lag. Die bei der ersten Nachfolgeuntersuchung nach Behandlungsbeginn ermittelten CTC-Ergebnisse sowie die innerhalb von $\pm$ einem Monat der Bildaufnahme ermittelten CTC-Ergebnisse wurden als < 5 CTC bzw. ≥ 5 CTC eingeteilt. Falls innerhalb von einem Monat der Bildaufnahme mehr als ein CTC-Wert ermittelt wurde, kam das CTC-Ergebnis zur Anwendung, das der Bildaufnahme zeitlich am nächsten lag.

1.4.3 Bildaufnahmen

Alle Bildaufnahme-Einrichtungen erfüllten die DICOM-Standards (Digital Imaging and Communications in Medicine). Zwei erfahrene Radiologen mussten einzeln und ohne Kenntnisse der klinischen Patientendaten anhand von insgesamt 231 standardisierten digitalen Bildaufnahmen von 138 Patienten mit messbarer Erkrankung deren Krankheitsbewertungen aus den Nachfolgeuntersuchungen gemäß den zweidimensionalen Kriterien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) in folgende Kategorien einteilen: Unbestimmt (Indeterminate; I), Stabile Erkrankung (Stable; S), Teilreaktion (Partial Response; PR) oder progressive Erkrankung (Progressive Disease; PD). Eine messbare Erkrankung wurde definiert als das Vorhandensein einer in ihrer größten Ausdehnung mindestens ≥ 2 cm großen Schädigung. Die Radiologen ermittelten die größte waagerechte und senkrechte Ausdehnung und erkannten so pro Patient und Zeitpunkt bis zu acht Schädigungen. Die Ergebnisse dieser zwei Dimensionen wurden miteinander multipliziert und daraus das „Vektorprodukt“ gebildet. Die Messergebnisse der Vektorprodukte wurden summiert und die prozentuale Änderung zu einem früheren Zeitpunkt wurde berechnet. Obwohl bei allen Patienten eine messbare Erkrankung vorlag, wurden zur Feststellung des Krankheitsstatus laut WHO-Richtlinien auch nicht messbare Schädigungen (die nur durch radiologische Methoden festgestellt werden konnten) mit aufgenommen. Eine Krankheitsprogression wurde als ein $>25\%$ iger Anstieg in der Summe aller Schädigungen definiert bzw. als das Auftreten einer neuen mess- oder nicht-messbaren Schädigung. Partial Response wurde als eine Verringerung der Summe aller Schädigungen um $\geq 50\%$ definiert, wenn keine neuen Schädigungen auftraten.

Die Auswertungen der beiden Radiologen wurden folgendermaßen unterteilt:

- S und PR wurden als nicht-progressive Erkrankung betrachtet (NPD).
- PD wurde als progressive Erkrankung betrachtet.
- In den Fällen, in denen einer der Radiologen den Krankheitszustand als Unbestimmt (I) und der andere diesen als S, PR oder PD klassifizierte, wurde zum Vergleich des CTC das Urteil des zweiten (letzteren) Radiologen verwendet (n = 11).
- Wenn beide Radiologen den Krankheitszustand als Unbestimmt (I) klassifizierten, wurden die Daten nicht zum Vergleich des CTC (n = 3) herangezogen.
- Zum Ausräumen von Unstimmigkeiten hinsichtlich PD und NPD zwischen den beiden Radiologen wurde ein unabhängiger dritter Radiologe hinzugezogen (n = 27).
- In den Fällen, in denen der unabhängige dritte Radiologe den Krankheitszustand als Unbestimmt (I) klassifizierte, wurden die Daten nicht zum Vergleich des CTC (n = 2) herangezogen.
- Bei Studien mit seriellen Bildaufnahmen wurden radiologische Ergebnisse, die weniger als einen Monat nach einer vorherigen tabellarisch erfassten Beobachtung gewonnen wurden, nicht berücksichtigt (n = 1).

1.4.4 Zusammenhang zwischen Überleben, Bildaufnahmen und CTC

Zum Vergleich des Gesamtüberlebens der MBC-Patienten zwischen der Gruppe mit den vorteilhaften Werten (<5 CTC) und der Gruppe mit den unvorteilhaften Werten (≥ 5 CTC) wurden Kaplan-Meier-Analysen mit den zu zwei verschiedenen Zeitpunkten gewonnenen CTC-Ergebnissen und der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen durchgeführt. Laut den Ergebnissen aus der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen nach $10,1 \pm 5,1$ Wochen (Mittelwert = 9,0 Wochen) nach Therapiebeginn (d. h. dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme) lag der Mittelwert des Gesamtüberlebens der 96 (70%) Patienten, bei denen durch Bildaufnahmen NPD festgestellt wurde, bei 23,8 Monaten (95%-KI: 20,4 bis 28,6) (**Abbildung 7, Tabelle 7**). Bei den 42 (30%) Patienten, bei denen durch Bildaufnahmen PD festgestellt wurde, lag das durchschnittliche Überleben bei 12,9 Monaten (95%-KI: 7,1 bis 19,3).

Für CTC zum Zeitpunkt der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Blutabnahme $4,3 \pm 2,5$ Wochen (Mittelwert = 4,0 Wochen) nach Therapiebeginn lag das durchschnittliche Überleben der 104 (75%) Patienten mit vorteilhaften CTC-Werten (<5 CTC) bei 21,9 Monaten (95%-KI: 20,4 bis 26,9) (**Abbildung 8, Tabelle 7**). Die 34 Patienten (25%) mit unvorteilhaften CTC-Werten (≥ 5 CTC) hatten ein durchschnittliches Überleben von 8,3 Monaten (95%-KI: 5,9 bis 15,1).

Um festzustellen, ob die zeitlich näher an den Ergebnissen der Bildaufnahmen liegenden CTC-Werte zu ähnlichen Lebenserwartungen führten, wie die ca. 4 Wochen nach Therapiebeginn ermittelten CTC-Werte, wurden nur die Patienten analysiert, deren CTC-Werte innerhalb von $\pm$ einem Monat der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme ermittelt wurden ($9,9 \pm 5,1$ Wochen; Mittelwert = 8,8 Wochen nach Therapiebeginn) (**Abbildung 9, Tabelle 7**). Die CTC-Werte von 134 der 138 Patienten (97%) wurden innerhalb eines Monats nach der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme ermittelt. Das durchschnittliche Überleben lag bei den 105 (78%) Patienten mit vorteilhaften CTC-Ergebnissen bei 21,9 Monaten (95%-KI: 19,9 bis 31,6). Bei den 29 (22%) Patienten mit unvorteilhaften CTC-Ergebnissen lag das durchschnittliche Überleben bei 8,5 Monaten (95%-KI: 5,5 bis 15,1). Diese Daten zeigen, dass CTC-Bewertungen zu beiden Zeitpunkten ähnliche Ergebnisse lieferten, wie die ca. 9 Wochen nach Therapiebeginn durchgeführten Bildaufnahmen (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006).

Tabelle 7: OS der getesteten MBC-Patienten mit CTC-Bewertung nach ca. einem Monat nach Therapiebeginn und innerhalb eines Monats nach radiologischer Bewertung

	N	Durchschn. Überleben in Monaten (95%-KI)
Bildaufnahmen	138	
vorteilhafte Werte (NPD)	96 (70%)	23,8 (20,4 - 28,6)
unvorteilhafte Werte (PD)	42 (30%)	12,9 (7,1 - 19,3)
1.CTC-Nachfolgetest	138	
vorteilhafte Werte (<5)	104 (75%)	21,9 (20,4 - 26,9)
unvorteilhafte Werte (≥5)	34 (25%)	8,3 (5,9 - 15,1)
CTC (±1 Monat nach Bildaufnahme)	134*	
vorteilhafte Werte (<5)	105 (78%)	21,9 (19,9 - 31,6)
unvorteilhafte Werte (≥5)	29 (22%)	8,5 (5,5 - 15,1)

*Bei 134 von 138 Patienten wurden die CTC-Bewertungen innerhalb von einem Monat der Bildaufnahme durchgeführt.

Abbildung 7: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit dem OS: OS der getesteten MBC-Patienten mit NPD oder PD zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme (N = 138)

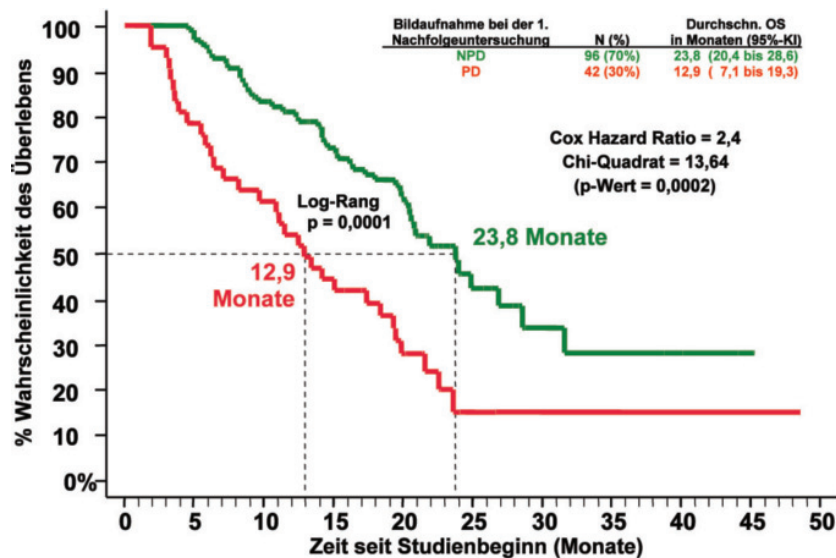


Abbildung 8: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit der OS: OS der getesteten MBC-Patienten mit CTC-Werten <5 oder ≥ 5 zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn (N = 138).

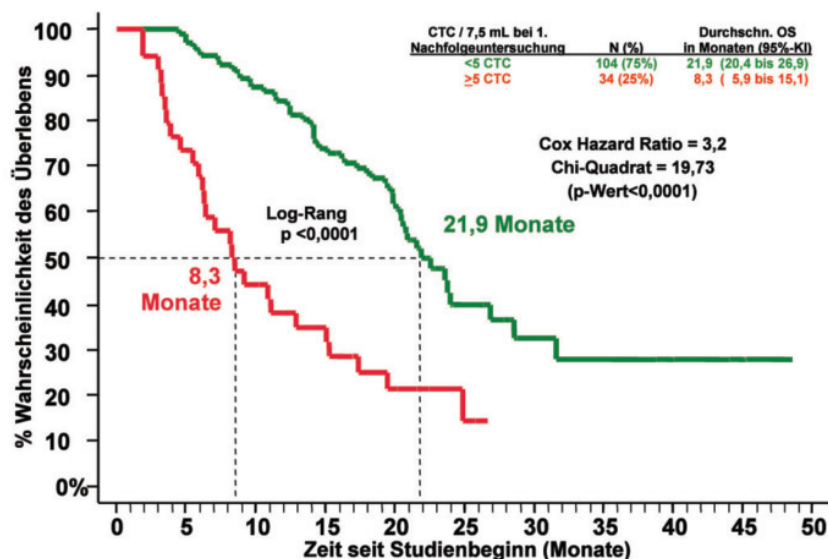
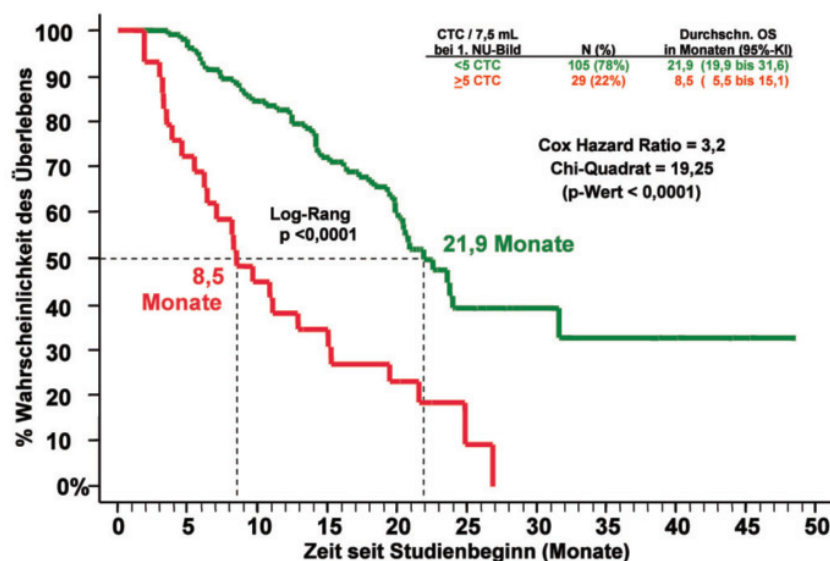


Abbildung 9: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit der OS: OS der getesteten MBC-Patienten mit CTC-Werten <5 oder ≥ 5 innerhalb $\pm$ eines Monats nach der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme (N = 134)



1.4.5 Übereinstimmungen zwischen CTC und radiologischer Überwachung

Wie bereits erwähnt, sind Auswertungen von Bildaufnahmen derzeit ein wichtiger Bestandteil der üblichen Untersuchungsmethoden zur Feststellung der Krankheitsprogression und des Ansprechens auf Behandlung bei metastatischem Brustkrebs. Um die Aussagekraft der CTC bei diesen klinischen Bewertungen weiter zu verbessern (Clin. Cancer Res. Vol 12: 6403-6409, November 2006), wurden anhand der zuvor erwähnten Kriterien die zwischen CTC und radiologischen Bewertungen übereinstimmenden und nicht übereinstimmenden Ergebnisse in 2x2-Tabellen zusammengefasst.

Die radiologischen Ergebnisse nur der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme wurden mit den innerhalb von $\pm$ einem Monat dieser Untersuchung gewonnenen CTC-Ergebnissen verglichen. Insgesamt hatten 134 der 138 MBC-Patienten (97%) CTC-Ergebnisse, die diese Kriterien erfüllten. Das Ergebnis dieses Pro-Patient-Vergleichs zwischen CTC und Bildaufnahmen ist in **Tabelle 8** dargestellt.

Tabelle 8: Pro-MBC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen

Ergebnisse aus der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen	CTC innerhalb von $\pm$ einem Monat der Bildaufnahme		Insgesamt
	<5 CTC / 7,5 mL	$\geq$ 5 CTC / 7,5 mL	
Nicht-Progressive Erkrankung	85	9	94
Progressive Erkrankung	20	20	40
Insgesamt	105	29	134

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	50%	34%	66%
Negative Übereinstimmung (%)	90%	83%	96%
Positiver Vorhersagewert	69%	49%	85%
Negativer Vorhersagewert	81%	72%	88%
Gesamtübereinstimmung	78%	70%	85%
Odds Ratio	9,4	3,4	26,8

Die Ergebnisse aller Nachfolgeuntersuchungen der 138 MBC-Patienten nach Therapiebeginn, die verwertbare radiologische Ergebnisse (n=225) erbrachten, wurden mit den CTC-Ergebnissen, die innerhalb $\pm$ eines Monats der Bildaufnahme entstanden sind, verglichen. Insgesamt 219 der 225 (97%) Untersuchungen mit Bildaufnahmen hatten CTC-Ergebnisse, die dieses Kriterium erfüllten. Das Ergebnis dieses Pro-Untersuchungs-Vergleichs zwischen CTC und Bildaufnahmen ist in **Tabelle 9** dargestellt.

Tabelle 9: Pro-MBC-Untersuchungs-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen

Ergebnisse aus allen Nachfolgeuntersuchungen mit Bildaufnahmen	CTC innerhalb von $\pm$ einem Monat der Bildaufnahme		Insgesamt
	<5 CTC / 7,5 mL	$\geq$ 5 CTC / 7,5 mL	
Nicht-Progressive Erkrankung	151	16	167
Progressive Erkrankung	30	22	52
Insgesamt	181	38	219

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	42%	29%	57%
Negative Übereinstimmung (%)	90%	85%	94%
Positiver Vorhersagewert	58%	41%	74%
Negativer Vorhersagewert	83%	77%	89%
Gesamtübereinstimmung	79%	73%	84%
Odds Ratio	6,9	3,0	15,8

In Reihenuntersuchungen stimmten nur wenige der Ergebnisse aus Bildaufnahmen eines Übergangs zwischen einer nicht-progressiven Erkrankung und einer progressiven Erkrankung mit einem entsprechenden Übergang der CTC-Zahlen zwischen <5 und $\geq$ 5 CTC / 7,5 mL überein.

Da der prognostische Wert der CTC-Ergebnisse zu einem früheren Zeitpunkt mit dem CTC-Ergebnis zum Zeitpunkt der Bildaufnahme übereinstimmte (**Abbildung 8** und **Abbildung 9**), wurde ein Pro-Patient-Vergleich der Bild-Ergebnisse aus der nur 1. Nachfolgeuntersuchung, die ca. 9 Wochen nach Therapiebeginn durchgeführt wurde, mit den CTC-Ergebnissen aus der 1. Nachfolgeuntersuchung, die ca. 4 Wochen nach Therapiebeginn durchgeführt wurde, konstruiert. Alle 138 MBC-Patienten hatten CTC-Ergebnisse, die dieses Kriterium erfüllten. Das Ergebnis dieses Pro-Patient-Vergleichs zwischen CTC zu einem früheren Zeitpunkt und Bildaufnahmen ist in **Tabelle 10** dargestellt.

Tabelle 10: Pro-MBC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen

Ergebnisse aus der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen	CTC beim 1. Nachfolgetest		Insgesamt
	<5 CTC / 7,5 mL	$\geq$ 5 CTC / 7,5 mL	
Nicht-Progressive Erkrankung	84	12	96
Progressive Erkrankung	20	22	42
Insgesamt	104	34	138

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-K
Positive Übereinstimmung (%)	52%	36%	68%
Negative Übereinstimmung (%)	88%	79%	93%
Positiver Vorhersagewert	65%	46%	80%
Negativer Vorhersagewert	81%	72%	88%
Gesamtübereinstimmung	77%	69%	84%
Odds Ratio	7,7	3,0	19,9

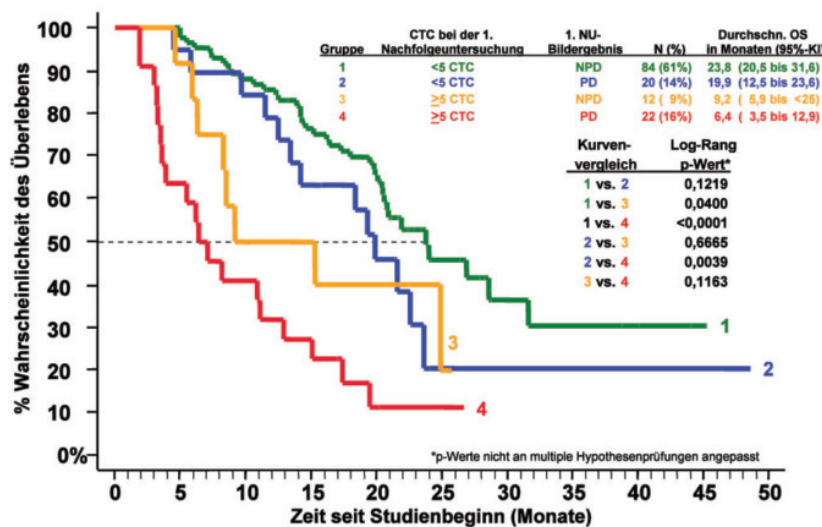
1.4.6 CTC als eine Ergänzung zu Bildaufnahmen

Trotz der guten Gesamtübereinstimmung zwischen CTC und Bildaufnahmen (rund 78%) gab es bei etwa 22% der MBC-Patienten keine Übereinstimmung. Da die Informationen von CTC-Bewertungen gemeinsam mit anderen diagnostischen Verfahren für Behandlungsentscheidungen herangezogen werden sollen, wurden die CTC-Bewertung bei der 1. Nachfolgeuntersuchung (rund 4 Wochen nach Therapiebeginn) und die Bildaufnahmen in den folgenden Gruppen mit dem OS verglichen, um festzustellen, welche der nicht übereinstimmenden Ergebnisse besser die Prognose des Patienten widerspiegeln (**Abbildung 10**):

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 84 (61%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei der 1. Nachfolgeuntersuchung und NPD;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 20 (14%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei der 1. Nachfolgeuntersuchung und PD;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 12 (9%) Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC bei der 1. Nachfolgeuntersuchung und NPD;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 22 (16%) Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC bei der 1. Nachfolgeuntersuchung und PD.

In dieser Studie ist die CTC-Bestimmung ein guter und unabhängiger Indikator für das Gesamtüberleben. Die Studienergebnisse deuteten darauf hin, dass eine Kombination aus CTC und radiologischer Bewertung die zutreffendsten Einschätzungen des OS ergeben.

Abbildung 10: OS der MBC-Patienten in Gruppe 1, 2, 3 und 4 unter Verwendung der CTC-Ergebnisse aus der 1. Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn (n = 138) und des bei der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme festgestellten Krankheitsstatus



1.5 Veränderlichkeit von CTC und Radiologischen Bewertungen

1.5.1 CTC

Die Veränderlichkeit der von verschiedenen Personen bei der Blutabnahme der ersten Nachfolgeuntersuchung gezählten Anzahl CTC wurde festgestellt, indem die Anzahl der Fälle notiert wurde, in denen der Bediener des Testzentrums bei der Einstufung der Proben als ≥ 5 CTC vs. <5 CTC nicht mit dem Zentrallabor übereinstimmte. Einer Untergruppe aus 71 Patienten wurden jeweils zwei Röhrchen Blut entnommen und getestet. Anschließend wurde die Klassifikation ≥ 5 CTC vs. <5 CTC in jedem der beiden Röhrchen durch das Testzentrum und die Klassifikation durch das Zentrallabor verglichen.

1.5.2 Bildaufnahmen

Die Veränderlichkeit der von verschiedenen Radiologen getroffenen Einschätzungen wurde durch Vergleichen derer Einstufungen als NPD bzw. PD ermittelt. Anschließend wurde die Varianz durch Vergleichen der radiologischen Beurteilungen der beiden Radiologen bei einer Untergruppe der Patienten ermittelt, wobei jeder Radiologe die Reaktion bei drei separaten, mindestens eine Woche auseinander liegenden, Sitzungen beurteilen musste. Zusätzlich wurden die Bildaufnahmen späterer Untersuchungen dieser 138 MBC-Patienten sowie CTC-Bewertungen vor Therapiebeginn und bei späteren Nachfolgeuntersuchungen ausgewertet.

Tabelle 11: Veränderlichkeit von Radiologischen und CTC-Bewertungen bei MBC-Patienten

	n	Radiologie NPD vs PD Nichtübereinstimmung	n	CTC / 7,5 mL <5 vs ≥5 Nichtübereinstimmung
<i>Zwischen Radiologen und CTC</i>				
1. Nachfolgetest	132	11,4%	138	0,7%
Jede Nachfolgeuntersuchung	217	13,4%	695	1,0%
<i>Zwischen beiden Radiologen</i>				
1. Nachfolgetest				
Radiologe 1 (Radiologie)	24	25,0%	—	—
Radiologe 2 (Radiologie)	22	9,1%	—	—
Jede Nachfolgeuntersuchung				
Bearbeiter 1 (Radiologie)	30	20,0%	—	—
Bearbeiter 2 (Radiologie)	28	10,7%	—	—
<i>CTC zwischen beiden Röhrrchen</i>				
1. Nachfolgetest	—	—	71	5,6%
Jede Nachuntersuchung	—	—	403	5,5%

Tabelle 11 zeigt, dass die Veränderlichkeit zwischen den Radiologen der radiologischen Bestimmungen bei den ersten Nachfolgeuntersuchungen und auch allen nachfolgenden Nachfolgeuntersuchungen erheblich höher war als die Veränderlichkeit zwischen den Radiologen der CTC-Zählungen in denselben Gruppen (Fishers $P < 0,001$).

In den Fällen, in denen CTC und radiologische Bewertungen voneinander abwichen, ermöglichte die CTC die zutreffendsten Einschätzungen der Prognose.

2 Patienten mit Metastatischem Kolorektalem Krebs (MCRC)

An mehreren Standorten wurde eine klinische Prospektivstudie durchgeführt, um festzustellen, ob die CTC-Zahl über den Krankheitsverlauf und die Überlebensrate entschied. Für die Studie wurden metastatische Kolorektalkrebs-patienten mit messbarer Erkrankung (N = 430), die eine neue Therapielinie begannen, eingetragen. Die klinischen Daten wurden auf der Basis der Behandlungsabsicht ausgewertet. Die demographischen Informationen der Patienten sind in

Tabelle 12 dargestellt.

Der Ausgangswert für die CTC-Anzahl wurde vor Beginn einer neuen Therapielinie ermittelt. Nachfolgende CTC-Werte wurden nach Behandlungsbeginn in Abständen von etwa 3 bis 4 Wochen bestimmt. Für die Ausgangsanalysen wurde das progressionsfreie Überleben (Progression Free Survival – PFS) ab dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme bis zur Diagnose des Krankheitsfortschritts durch CT-Scans und/oder klinische Anhaltspunkte und Symptome gemessen, sowie das Gesamtüberleben (Overall Survival, OS) ab dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme bis zum Tod des Patienten. Für die Nachfolgeanalysen wurde das PFS ab dem Zeitpunkt der ersten Nachfolge-Blutabnahme bis zur Diagnose des Krankheitsfortschritts bzw. bis zum Tod, und das OS ab dem Zeitpunkt der ersten Nachfolge-Blutabnahme bis zum Tod gemessen.

Tabelle 12: Demographische Informationen der MCRC-Patienten

Kategorie		N=430 Patienten
Alter bei Studienbeginn (in Jahren)	Mittelwert $\pm$ Std. Abweichung (Mittelwert)	63,0 $\pm$ 12,6 (64)
Jahre bis Metastasierung	Mittelwert $\pm$ Std. Abweichung (Mittelwert)	0,9 $\pm$ 1,4 (0,1)
	Beschreibung der Kategorien	Anzahl der Patienten (% der gesamten Anzahl)
Geschlecht	Weiblich	192 (45%)
	Männlich	238 (55%)
Rasse	Weiß	305 (71%)
	Farbig	44 (10%)
	Sonstiges	12 (3%)
	Unbekannt	69 (16%)
ECOG-Ergebnis bei Studienbeginn	0	196 (46%)
	1	187 (43%)
	2	31 (7%)
	Unbekannt	16 (4%)
Tumortyp bei der Erstdiagnose	Kolonisch	292 (68%)
	Rektal	71 (17%)
	Kolorektal	66 (15%)
	Unbekannt	1 (0%)
Erkrankungsgrad bei der Erstdiagnose	1	12 (3%)
	2	45 (11%)
	3	118 (27%)
	4	232 (54%)
	Unbekannt	23 (5%)
Lebermetastase	Nein	117 (27%)
	Ja	313 (73%)
Therapie-Linie	1. Linie	309 (72%)
	2. Linie	95 (22%)
	3. Linie	26 (6%)
Art der Therapie	Bevacizumab	243 (56%)
	Irinotecan	103 (24%)
	Oxaliplatin	253 (59%)
	Unbekannt	25 (6%)

2.1 Häufigkeit von CTC

Von den insgesamt 430 MCRC-Patienten hatten 9 eine Ausgangs-Blutabnahme und keine Nachfolge-Blutabnahmen. Von diesen 9 Patienten starben vier bevor eine Nachfolge-Blutabnahme erfolgen konnte, bei zwei wurde die Behandlung wegen der mit der Behandlung in Beziehung stehenden Toxizität abgebrochen, bei einem Patient wurde eine Operation vorgenommen, um dessen messbare Erkrankung zu entfernen, ein Patient lehnte eine weitere Behandlung ab und ein Patient lehnte jegliche weiteren Blutabnahmen ab. Bei den verbleibenden Patienten erfolgten 362, 342, 321 und 211 Nachfolge-Blutabnahmen jeweils 1-2 Wochen, 3-5 Wochen, 6-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn. Der Unterschied in der Anzahl der für PFS und OS auswertbaren Patienten zu jedem Zeitpunkt ist durch die Progression bei manchen Patienten vor der Blutabnahme bedingt, während der Unterschied der Patientenanzahl zu jedem Zeitpunkt durch die Patientenanzahl mit Blutabnahmen und auswertbaren CTC-Ergebnissen bedingt ist.

Tabelle 13 zeigt zu jedem Zeitpunkt die Anzahl an Patienten, die von den PFS-, OS- oder PFS & OS-Analysen ausgeschlossen wurden, und die Ursachen dieser Ausschließung an.

Tabelle 13: Ausschließungen in der Analyse der progressionsfreien und des Gesamtüberlebens bei MCRC-Patienten

Zeitpunkt der Blutabnahme	Ursachen der Ausschließung von MCRC-Patienten aus den Analysen:						Gesamte Anzahl an auswertbaren MCRC-Patienten:	
	PFS & OS				Nur PFS	Nur OS	PFS	OS
	Blut Nicht Abgenommen	Blut 1-7 Tage nach Verabreichung einer Therapie abgenommen	Keine Nachfolgeuntersuchung nach Datum der Blutabnahme	Nichtauswertbare CTC-Ergebnisse	Blutabnahme nach Datum der Krankheitsprogression	Keine Nachfolgeuntersuchung nach Datum der Blutabnahme		
Studienbeginn	1	11	0	5	0	0	413	413
1-2 Wochen	68	0	0	5	1	0	356	357
3-5 Wochen	88	0	1	8	4	0	329	333
6-12 Wochen	109	0	4	7	26	0	284	310
13-20 Wochen	219	0	9	8	14	1	180	193

Die CTC-Ergebnisse der Nachfolge-Blutabnahmen 1-2 Wochen, 3-5 Wochen, 6-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn wurden als vorteilhaft (<3 CTC) oder unvorteilhaft (≥ 3 CTC) eingeteilt. Falls bei den bestimmten Nachfolge-Zeitpunkten mehr als ein CTC-Wert ermittelt wurde, kam das CTC-Ergebnis der Blutabnahme zur Anwendung, das am weitesten von der ersten Blutabnahme entfernt lag.

In **Tabelle 15** sind Gesamtanzahl an MCRC-Patienten und Prozentsatz der Patienten mit unvorteilhaften CTC-Ergebnissen in dieser klinischen Studie angegeben, die sich hinsichtlich Anzahl und Prozentsatz von Patienten für progressionsfreies Überleben unterscheiden, die in **Tabelle 14** erfasst sind.

2.2 Analyse des Progressionsfreien Überlebens (PFS) bei MCRC-Patienten

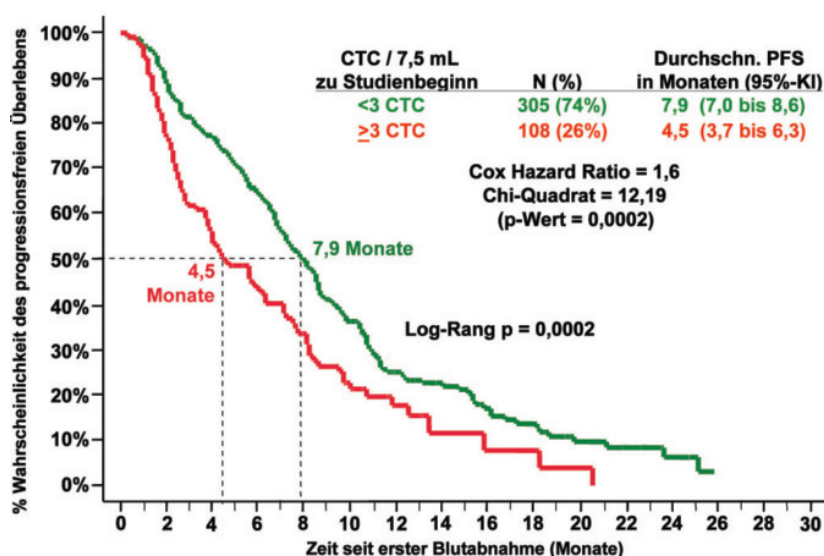
2.2.1 PFS unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse

Bei vierhundertdreizehn (413) der 430 MCRC-Patienten war ein CTC-Ausgangswert vorhanden. Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Ausgangswerten in zwei Gruppen aufgeteilt:

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten (N = 305), dargestellt in **grün**, bestand aus Patienten mit Werten von <3 CTC.
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten (N = 108), dargestellt in **rot**, bestand aus Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC.

Das durchschnittliche PFS war bedeutend länger für die Gruppe mit vorteilhaften Werten im Vergleich zu der Gruppe mit unvorteilhaften Werten (7,9 gegenüber 4,5 Monate). Diese Ergebnisse sind in **Abbildung 11** und **Tabelle 14** dargestellt.

Abbildung 11: PFS von MCRC-Patienten mit CTC-Ausgangswerten von <3 oder ≥ 3 (N=413).

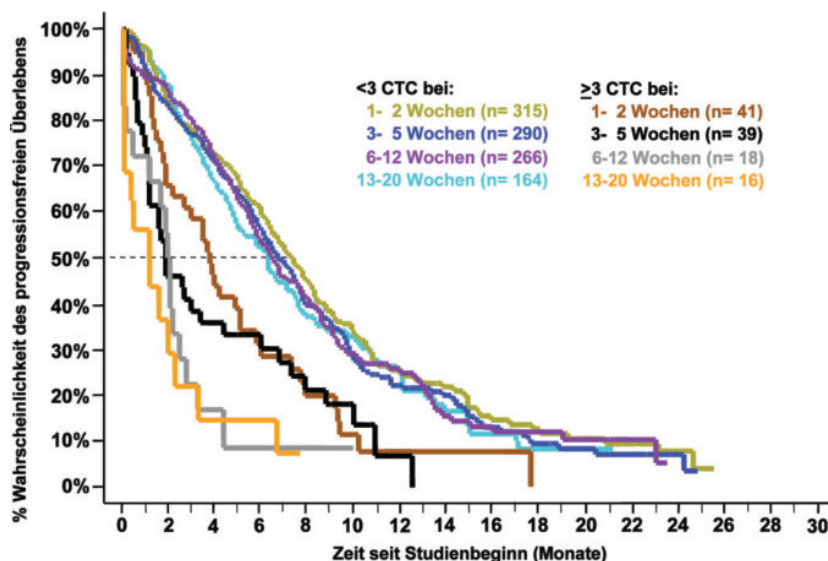


2.2.2 PFS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die MCRC-Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei den jeweiligen Nachfolge-Blutabnahmen in zwei Gruppen eingeteilt. Beide Patientengruppen bei jeder der verschiedenen Nachfolge-Blutabnahmen nach Behandlungsbeginn für PFS sind in **Abbildung 12** dargestellt. Die PFS-Zeiten wurden berechnet ab dem Zeitpunkt jeder Blutabnahme, wobei jeder Patient, der vor einer bestimmten Blutabnahme Anzeichen eines Fortschreitens der Erkrankung zeigte, von dieser und allen folgenden Blutabnahmen ausgeschlossen wurde. **Abbildung 12** zeigt, dass die CTC bei MCRC-Patienten mit <3 bzw. ≥ 3 CTC 1-2 Wochen, 3-5 Wochen, 6-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn eine Vorhersage des PFS gestatten.

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten, dargestellt in **olivgrün, blau, violett** und **türkis**, umfasste Patienten mit Werten von <3 CTC,
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten, dargestellt in **braun, schwarz, grau** und **orange**, umfasste Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC.

Abbildung 12: PFS von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von <3 oder ≥3 bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen



In **Tabelle 14** sind die Ergebnisse der PFS-Analyse unter Verwendung der CTC-Spiegel und eines Schwellenwerts von ≥3 CTC/7,5 mL bei jeder der verschiedenen Blutabnahmen zusammengefasst.

Tabelle 14: Progressionsfreies Überleben (PFS) von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von <3 oder ≥3 zu verschiedenen Zeitpunkten

1	2	3	4	5	6
Probenentnahmezeit Nach Beh.-Beginn	N	≥3CTC	Durchschn. PFS in Monaten (95%-KI)		Log-Rang p-Wert
			<3 CTC	≥3 CTC	
Studienbeginn	413	108 (26%)	7,9 (7,0 - 8,6)	4,5 (3,7 - 6,3)	0,0002
1-2 Wochen	356	41 (12%)	7,3 (6,5 - 8,1)	3,8 (1,9 - 5,1)	<0,0001
3-5 Wochen	329	39 (12%)	6,8 (6,1 - 7,6)	1,9 (1,2 - 4,4)	<0,0001
6-12 Wochen	284	18 (6%)	6,5 (5,8 - 7,7)	2,0 (0,5 - 2,5)	<0,0001
13-20 Wochen	180	16 (9%)	6,3 (4,9 - 7,4)	1,2 (0,1 - 2,3)	<0,0001

Wie in **Abbildung 12** und **Tabelle 14** dargestellt, bestand bei MCRC-Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt erhöhte CTC-Werte aufwiesen (≥3 CTC/7,5 mL Vollblut), eine wesentlich höhere Wahrscheinlichkeit einer schnellen Progression als bei denjenigen mit CTC-Werten von <3. **Tabelle 14** Spalte 4 zeigt, dass die durchschnittlichen Zeiten des PFS für Patienten mit <3 CTC zwischen 6,3 und 7,9 Monaten lagen und damit deutlich länger waren als die durchschnittlichen Zeiten des PFS für Patienten mit ≥3 CTC, die zwischen 1,2 und 4,5 Monaten lagen (Spalte 5).

2.2.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes PFS hin

Die vergangene PFS-Zeit wurde ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Für die Kaplan-Meier-Analyse (**Abbildung 13**) wurden die MCRC-Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei der Ausgangsanalyse oder 1-2 Wochen, 3-5 Wochen, 6-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn in vier Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 303 (70%) Patienten mit Werten von <3 CTC bei allen Blutabnahmen. Sieben (2%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und acht (3%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von ≥3 CTC;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 74 (17%) Patienten mit Werten von ≥3 CTC vor Behandlungsbeginn, die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von <3 CTC gesunken waren;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 29 (7%) Patienten mit Werten von <3 CTC bei einer frühen Blutabnahme (Ausgangsanalyse, 1-2 Wochen, und/oder 3-5 Wochen), die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von ≥3 CTC gestiegen waren;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 24 (6%) Patienten mit Werten von ≥3 CTC bei allen Blutabnahmen. Drei (13%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und einer (4%) eine einzige 3-5 Wochen-Blutabnahme und einer (4%) hatte eine einzige zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von <3 CTC;

Abbildung 13: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 3 nach Therapiebeginn deutet auf ein längeres PFS bei MCRC-Patienten hin

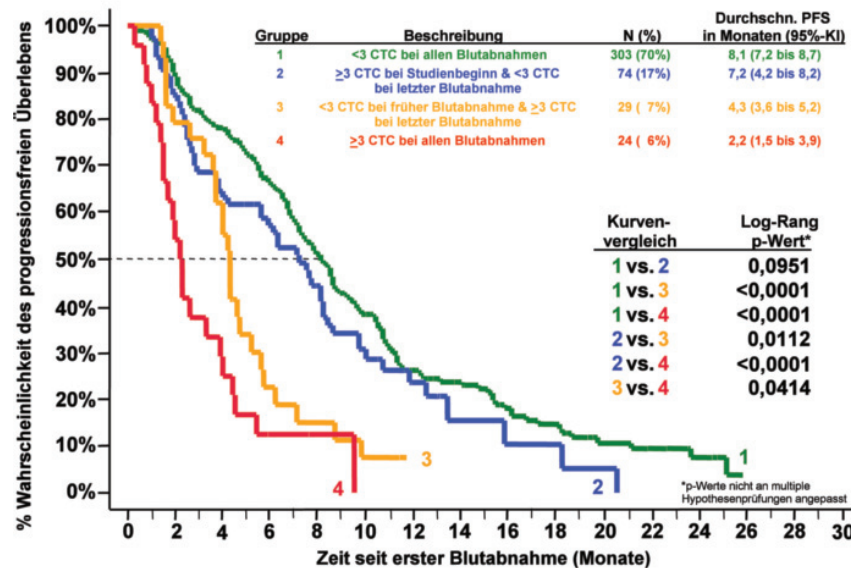


Abbildung 13 zeigt, dass das durchschnittliche PFS bei MCRC-Patienten mit CTC-Werten ≥ 3 zu allen Zeitpunkten (**Gruppe 4**) am kürzesten war - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen PFS in **Gruppe 3**, **Gruppe 2** und **Gruppe 1**. Der Unterschied im mittleren PFS zwischen den Patienten, bei denen nach Behandlungsbeginn eine CTC-Reduzierung nachgewiesen wurde (**Gruppe 2**) war bedeutend länger im Gegensatz zu den Patienten, bei denen ein CTC-Anstieg nachgewiesen wurde (**Gruppe 3**).

2.3 Analyse des Gesamtüberlebens (OS) bei MCRC-Patienten

2.3.1 OS-Analyse unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse

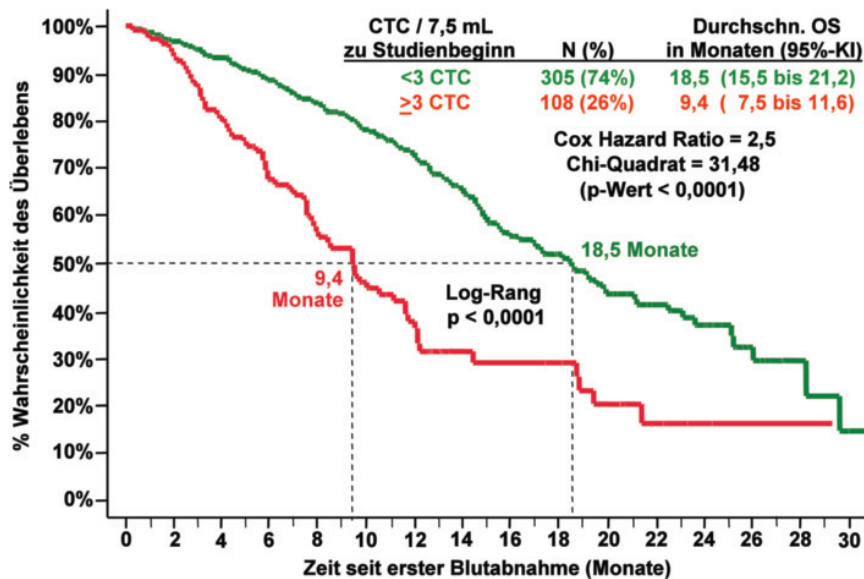
Es starben 202 (47%) der 430 MCRC-Patienten. Die mittlere Nachfolgezeit der 228 (53%) noch lebenden Patienten betrug $12,6 \pm 6,5$ Monate (Mittelwert = 11,0, Bereich = 0,8 - 30,0). Zum Zeitpunkt dieser Analysen waren aus der Gruppe der 305 Patienten mit vorteilhaften Werten (CTC-Ausgangswert < 3) 124 (41%) verstorben, im Vergleich dazu starben aus der Gruppe der 108 Patienten mit unvorteilhaften Werten (CTC-Ausgangswerte ≥ 3) 68 (63%).

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Ausgangswerten in zwei Gruppen aufgeteilt:

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten (N = 305), dargestellt in **grün**, bestand aus Patienten mit Werten von < 3 CTC.
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten (N = 108), dargestellt in **rot**, bestand aus Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC.

Das durchschnittliche OS war bedeutend länger für die Gruppe mit vorteilhaften Werten im Vergleich zu der Gruppe mit unvorteilhaften Werten (18,5 gegenüber 9,4 Monate). Die Ergebnisse sind in **Abbildung 14** dargestellt.

Abbildung 14: OS von MCRC-Patienten mit CTC-Ausgangswerten von <3 oder ≥3 (N=413).

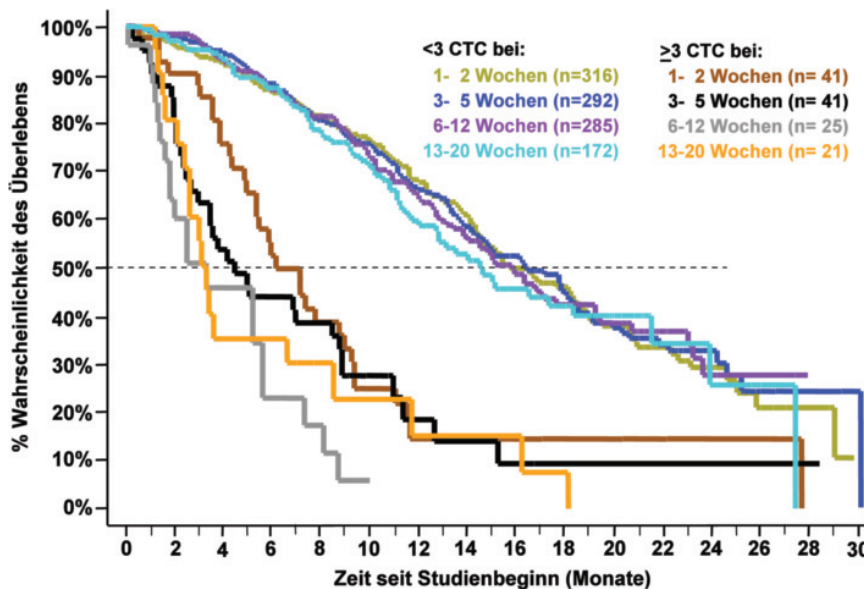


2.3.2 OS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests

Die Kaplan-Meier-Analysen beider MCRC-Patientengruppen bei jeder der verschiedenen Nachfolge-Blutabnahmen nach Behandlungsbeginn sind in **Abbildung 15** dargestellt. Diese Abbildung gibt wieder, wie die CTC bei MCRC-Patienten mit <3 bzw. ≥3 CTC 1-2 Wochen, 3-5 Wochen, 6-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn eine Vorhersage des Zeitraums bis zum Eintreten des Todes bei 421 Patienten mit metastatischem Kolorektalkrebs gestatten. Die Dauer des OS wurde ab dem Zeitpunkt jeder Blutabnahme berechnet.

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten, dargestellt in **olivgrün, blau, violett** und **türkis**, umfasste Patienten mit Werten von <3 CTC,
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten, dargestellt in **braun, schwarz, grau** und **orange**, umfasste Patienten mit Werten von ≥3 CTC.

Abbildung 15: OS von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von <3 oder ≥3 bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen.



In **Tabelle 15** sind die Ergebnisse der OS-Analyse unter Verwendung der CTC-Spiegel und eines Schwellenwerts von ≥ 3 CTC/7,5 mL bei jeder der verschiedenen Blutabnahmen zusammengefasst.

Tabelle 15: Gesamtüberleben (OS) von MCRC-Patienten mit CTC-Werten von <3 oder ≥ 3 zu verschiedenen Zeitpunkten

1	2	3	4	5	6
Probenentnahmezeit Nach Beh.-Beginn	N	≥ 3 CTC	Durchschn. OS in Monaten (95%-KI)		Log-Rang p-Wert
			< 3 CTC	≥ 3 CTC	
Studienbeginn	413	108 (26%)	18,5 (15,5 - 21,2)	9,4 (7,5 - 11,6)	$<0,0001$
1-2 Wochen	357	41 (11%)	15,7 (14,3 - 18,4)	6,1 (4,9 - 8,9)	$<0,0001$
3-5 Wochen	333	41 (12%)	16,4 (14,1 - 18,3)	4,4 (2,6 - 8,7)	$<0,0001$
6-12 Wochen	310	25 (8%)	15,8 (13,8 - 19,2)	3,3 (1,8 - 5,6)	$<0,0001$
13-20 Wochen	193	21 (11%)	14,6 (12,0 - 21,5)	3,3 (2,4 - 8,5)	$<0,0001$

Wie in **Abbildung 15** und **Tabelle 15** in den Spalten 4 und 5 dargestellt, bestand für MCRC-Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt CTC-Werte von ≥ 3 aufwiesen, eine wesentlich höhere Wahrscheinlichkeit, früher zu sterben, als für diejenigen mit CTC-Werten von <3 . Die durchschnittlichen Zeiten des OS für Patienten mit <3 CTC lagen zwischen 14,6 und 18,5 Monaten und waren damit deutlich länger als die durchschnittlichen Zeiten des OS für Patienten mit ≥ 3 CTC, die zwischen 3,3 und 9,4 Monaten lagen.

2.3.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes OS hin

Die vergangene OS-Zeit wurde ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Für die Kaplan-Meier-Analyse (**Abbildung 16**) wurden die MCRC-Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei der Ausgangsanalyse oder 1-2 Wochen, 3-5 Wochen, 6-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn in vier Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 303 (70%) Patienten mit Werten von <3 CTC bei allen Blutabnahmen. Sieben (2%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und acht (3%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von ≥ 3 CTC;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 74 (17%) Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC vor Behandlungsbeginn, die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von <3 CTC gesunken waren;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 29 (7%) Patienten mit Werten von <3 CTC bei einer frühen Blutabnahme (Ausgangsanalyse, 1-2 Wochen, und/oder 3-5 Wochen), die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von ≥ 3 CTC gestiegen waren;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 24 (6%) Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC bei allen Blutabnahmen. Drei (13%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und einer (4%) eine einzige 3-5 Wochen-Blutabnahme und einer (4%) hatte eine einzige zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von <3 CTC;

Abbildung 16: Ein Absinken der CTC-Werte unter 3 nach Behandlungsbeginn weist auf ein längeres OS hin, wohingegen ein Anstieg auf Werte von 3 oder höher auf ein kürzeres OS bei MCRC-Patienten hinweist.

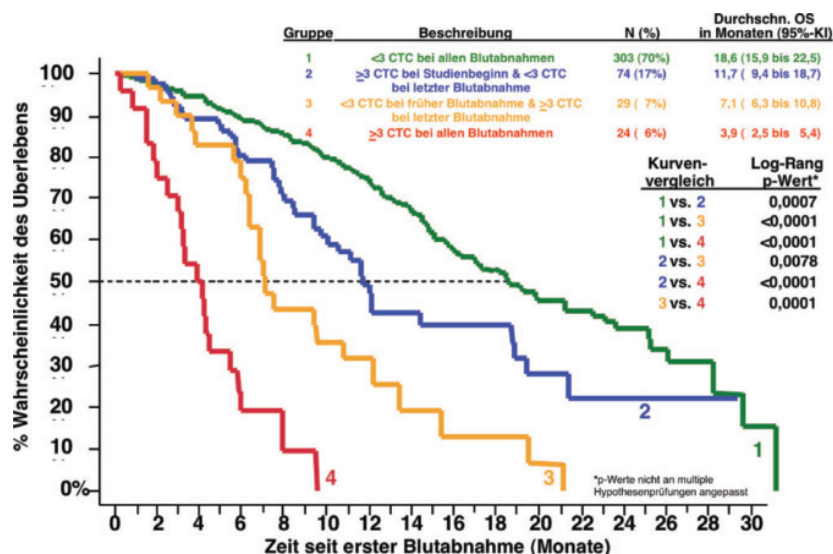


Abbildung 16 zeigt, dass für MCRC-Patienten, bei denen der Schwellenwert zu irgendeinem Zeitpunkt nach Behandlungsbeginn über 3 CTC lag, ein signifikant höheres Risiko eines niedrigeren Gesamtüberlebens besteht. Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC bei allen Zeitpunkten (**Gruppe 4**) hatten das kürzeste durchschnittliche OS - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen OS in **Gruppe 3**, **Gruppe 2** und **Gruppe 1**. Patienten mit Werten von < 3 CTC bei allen Zeitpunkten (**Gruppe 1**) hatten das längste durchschnittliche OS - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen OS in **Gruppe 4**, **Gruppe 3** und **Gruppe 2**. **Abbildung 16** zeigt auch, dass Patienten, bei denen eine Verringerung des CTC aufgewiesen wurde (**Gruppe 2**) ein bedeutend niedrigeres Todesrisiko hatten, als die Patienten mit einem Anstieg des CTC (**Gruppe 3**).

2.3.4 Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten

Zur Auswertung des Zusammenhangs zwischen PFS und OS wurden folgende Parameter einer univariaten Regressionsanalyse nach Cox unterzogen: Geschlecht, Grad der Erkrankung zum Zeitpunkt der Diagnose (1-4), Zeitraum bis zur Metastasierung (kontinuierlich), Patientenalter (≥ 65 oder < 65), Krankheitsherd der primären Erkrankung (kolorektal, rektal oder kolonisch), ECOG-Status vor Beginn einer neuen Therapielinie (0-2), Therapielinie (1., 2. oder 3.), Existenz einer Leber-Metastase (ja oder nein), Art der Therapie (Bevacizumab, Irinotecan und/oder Oxaliplatin einbezogen oder nicht), CTC-Ausgangswert (≥ 3 oder < 3 CTC/7,5 mL) und CTC-Wert bei den Nachfolgeuntersuchungen 1-2 Wochen, 3-5 Wochen, 6-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn (≥ 3 oder < 3 CTC/7,5 mL). **Tabelle 16** zeigt die Ergebnisse dieser Analyse und stellt das Hazard Ratio (HR) nach Cox und den dazugehörigen p-Wert (Wald-Test der Z-Statistik) sowie die Anzahl der Patienten in jeder Bewertung dar.

Tabelle 16: Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten

Parameter	Kategorien		Anzahl der getesteten MCRC-Patienten	PFS-Risiko ab Studienbeginn		OS-Risiko ab Studienbeginn	
	Positiv	Negativ		HR	p-Wert	HR	p-Wert
Geschlecht	Männlich (1)	Weiblich (0)	430	1,01	0,944	1,23	0,156
Stadium bei Erstdiagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		407	0,98	0,734	1,09	0,330
Zeitraum bis Metastasierung	Zeit in Jahren		428	1,00	0,901	0,92	0,121
Alter bei erster Blutabnahme zum Studienbeginn	≥ 65 Jahre	< 65 Jahre	430	1,65	$< 0,001$	1,82	$< 0,001$
Krankheitsherd der primären Erkrankung	Kolorektal (2) vs. Rektal (1) vs. Kolon (0)		429	1,03	0,733	1,02	0,866
ECOG-Status bei Studienbeginn	2 vs. 1 vs. 0		414	1,32	0,002	1,65	$< 0,001$
Therapie-Linie	3 vs. 2 vs. 1		430	2,04	$< 0,001$	1,63	$< 0,001$
Lebermetastase	Ja	Nein	430	0,86	0,225	1,23	0,198
Bevacizumab	Ja	Nein	405	0,54	$< 0,001$	0,62	0,001
Irinotecan	Ja	Nein	405	1,51	0,001	1,39	0,029
Oxaliplatin	Ja	Nein	405	0,53	$< 0,001$	0,69	0,008
Anzahl CTC bei Studienbeginn	≥ 3	< 3	413	1,59	$< 0,001$	2,48	$< 0,001$
Anzahl CTC nach 1 - 2 Wochen	≥ 3	< 3	357	2,02	$< 0,001$	3,23	$< 0,001$
Anzahl CTC nach 3 - 5 Wochen	≥ 3	< 3	334	2,19	$< 0,001$	4,23	$< 0,001$
Anzahl CTC nach 6 - 12 Wochen	≥ 3	< 3	314	4,59	$< 0,001$	10,88	$< 0,001$
Anzahl CTC nach 13 - 20 Wochen	≥ 3	< 3	203	5,07	$< 0,001$	4,88	$< 0,001$

2.3.5 Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten

Mit multivariaten Regressionsanalysen nach Cox wurde die unabhängige Aussagekraft der CTC-Anzahl zur Prognose bewertet. Hierzu wurde der Einfluss der bekannten entscheidenden klinischen Faktoren, die in univariaten Analysen statistisch signifikant waren, angepasst. Es wurde festgestellt, dass CTC bei der Prognose des PFS und OS sehr aussagekräftig ist (**Tabelle 17**).

Tabelle 17: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MCRC-Patienten

Variable	N	PFS-Risiko ab Studienbeginn		OS-Risiko ab Studienbeginn	
		Hazard Ratio	p-Wert	Hazard Ratio	p-Wert
CTC bei Studienbeginn (<3 vs. ≥3)	373	1,76	<0,001	2,46	<0,001
Alter bei Studienbeginn (<65 vs. ≥65)		1,47	0,002	1,84	<0,001
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs 1 vs. 2)		1,16	0,107	1,48	0,001
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite vs. Dritte)		1,59	<0,001	1,41	0,009
Bevacizumab (Nein vs. Ja)		0,65	0,001	0,68	0,021
Irinotecan (Nein vs. Ja)		0,76	0,156	1,25	0,363
Oxaliplatin (Nein vs. Ja)		0,57	0,002	1,00	0,984
CTC nach 1 - 2 Wochen (<3 vs. ≥3)	321	1,76	0,003	2,77	<0,001
Alter bei Studienbeginn (<65 vs. ≥65)		1,53	0,001	1,85	<0,001
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs 1 vs. 2)		1,26	0,025	1,54	0,001
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite vs. Dritte)		1,76	<0,001	1,62	0,001
Bevacizumab (Nein vs. Ja)		0,66	0,003	0,77	0,156
Irinotecan (Nein vs. Ja)		0,67	0,066	1,25	0,402
Oxaliplatin (Nein vs. Ja)		0,53	0,002	0,97	0,904
CTC nach 3 - 5 Wochen (<3 vs. ≥3)	302	2,35	<0,001	4,54	<0,001
Alter bei Studienbeginn (<65 vs. ≥65)		1,58	0,001	2,06	<0,001
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs 1 vs. 2)		1,16	0,149	1,33	0,032
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite vs. Dritte)		1,74	<0,001	1,65	0,001
Bevacizumab (Nein vs. Ja)		0,68	0,007	0,86	0,410
Irinotecan (Nein vs. Ja)		0,58	0,012	0,99	0,966
Oxaliplatin (Nein vs. Ja)		0,47	<0,001	0,88	0,594
CTC nach 6 - 12 Wochen (<3 vs. ≥3)	279	3,04	<0,001	9,43	<0,001
Alter bei Studienbeginn (<65 vs. ≥65)		1,43	0,013	1,73	0,005
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs 1 vs. 2)		1,30	0,027	1,53	0,004
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite vs. Dritte)		1,73	<0,001	1,20	0,282
Bevacizumab (Nein vs. Ja)		0,61	0,001	0,82	0,337
Irinotecan (Nein vs. Ja)		0,78	0,258	1,47	0,181
Oxaliplatin (Nein vs. Ja)		0,62	0,020	1,35	0,278
CTC nach 13 - 20 Wochen (<3 vs. ≥3)	186	4,50	<0,001	4,97	<0,001
Alter bei Studienbeginn (<65 vs. ≥65)		1,26	0,218	1,55	0,061
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs 1 vs. 2)		1,13	0,417	1,13	0,526
Therapie-Linie (Erste vs. Zweite vs. Dritte)		1,68	0,004	1,12	0,628
Bevacizumab (Nein vs. Ja)		0,68	0,058	0,89	0,655
Irinotecan (Nein vs. Ja)		0,73	0,311	1,20	0,636
Oxaliplatin (Nein vs. Ja)		0,65	0,135	1,31	0,477

2.4 Verwendung der CTC-Werte zur Überwachung des Klinischen Status bei Metastatischem Kolorektalkrebs

2.4.1 Zusammenhang zwischen Überleben, CTC und Krankheitseinschätzung durch Bildaufnahmen

Röntgenaufnahmen stellen eines der wichtigsten Mittel zur Bestimmung des Krankheitsstatus und des Behandlungserfolgs bei metastatischen Kolorektalkrebspatienten dar. Der Zusammenhang des klinischen Status (durch Bildaufnahmen ermittelt) und dem CTC wurde festgestellt, indem die CTC-Werte (zu zwei verschiedenen Zeitpunkten gemessen) und die Bildaufnahmen 1) mit dem tatsächlichen klinischen Endpunkt des Gesamtüberlebens und 2) miteinander verglichen wurden.

2.4.2 CTC

Durch vorhandene Daten konnte gezeigt werden, dass bei MCRC-Patienten, deren CTC-Werte bei jeder weiteren Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn bei CTC-Werten von ≥ 3 / 7,5 mL Blut lagen, im Vergleich zu Patienten mit CTC-Werten von < 3 / 7,5 mL Blut das Risiko eines progressiven Krankheitsverlaufs und verringerten Gesamtüberlebens höher lag. Die bei 3-5 Wochen nach Behandlungsbeginn ermittelten CTC-Ergebnisse sowie die innerhalb von

± einem Monat der Bildaufnahme ermittelten CTC-Ergebnisse wurden als vorteilhaft (<3 CTC) und unvorteilhaft (≥3 CTC) eingeteilt. Falls innerhalb von einem Monat der Bildaufnahme mehr als ein CTC-Wert ermittelt wurde, kam das CTC-Ergebnis zur Anwendung, das der Bildaufnahme zeitlich am nächsten lag

2.4.3 Bildaufnahmen

Jeder MCRC-Patient musste eine messbare Erkrankung aufweisen, d.h. mindestens eine 2 cm-Läsion und bis zu höchstens 10 solcher Läsionen. Die Bildaufnahme-Methode wurde für jeden Patienten vom behandelnden Onkologen entsprechend der derzeitigen Behandlungsstandards bestimmt. Entweder CT oder MRI des Brustkorbs, Abdomens und Beckens wurden durchgeführt, mit der Bedingung, dass alle Ausgangsläsionen mittels der selben Methode für alle nachfolgenden Untersuchungen mit Bildaufnahme nachverfolgt werden. Die Bildauswertung erfolgte durch einen zertifizierten Radiologen an der teilnehmenden Klinik, wobei eindimensionale RECIST-Kriterien angewendet wurden, um jegliche Nachfolgeuntersuchungen als Complete Response (CR), Partial Response (PR), Stabile Erkrankung (SD) oder progressive Erkrankung (PD) einzuteilen.

Jeder Patient wurde mindestens zu zwei Zeitpunkten und bis zu 8 verschiedenen Zeitpunkten mittels Bildaufnahme untersucht. Zu diesen Studien gehört eine Ausgangsbildaufnahme, Bildaufnahmen nach darauffolgenden Zeitspannen von 2-3 Monaten (6-12 Wochen) und eine abschließende Aufnahme, sobald der Patient die Studie beendet. Kopien aller Untersuchungen mit Bildaufnahmen wurden bei jeder Klinik an den Studien-Koordinator weitergereicht, um diese mit den klinischen Daten des Patienten abzulegen.

Von den insgesamt 430 auswertbaren MCRC-Patienten, die für die Studie herangezogen wurden, wurden bei 28 (7%) keine Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme unternommen, 18 (4%) starben bevor eine Nachfolgeuntersuchung erfolgen konnte und bei 384 (89%) wurden eine oder mehr Nachfolgeuntersuchungen durchgeführt, die mittels RECIST-Kriterien ausgewertet wurden. Zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung konnte unter den 384 Patienten mit Bildaufnahme bei 4 (1%) eine Complete Response, bei 117 (31%) eine Partial Response, bei 186 (48%) eine Stabile Erkrankung und bei 77 (20%) eine progressive Erkrankung erwiesen werden. Zum Zwecke dieser Analysen wurden Patienten, die vor der Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme starben, als Patienten mit progressiver Erkrankung bezeichnet.

Als Behandlungserfolg für die erste Nachfolgeuntersuchung wurde die vorteilhafte Gruppe als Personen mit einer stabilen Erkrankung (S), Partial Response (PR) oder Complete Response (CR) nach RECIST-Kriterien eingeteilt (nicht-progressive Erkrankung, NPD) und die unvorteilhafte Gruppe als Personen mit einer progressiven Erkrankung oder Tod (PD).

2.4.4 Zusammenhang zwischen Überleben, Bildaufnahmen und CTC

Zum Vergleich des Gesamtüberlebens der MCRC-Patienten zwischen der Gruppe mit den vorteilhaften Werten (<3 CTC) und der Gruppe mit den unvorteilhaften Werten (≥3 CTC) wurden Kaplan-Meier-Analysen mit den zu zwei verschiedenen Zeitpunkten gewonnenen CTC-Ergebnissen und der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen durchgeführt. Laut den Ergebnissen aus der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen nach 9,1±2,9 Wochen (Mittelwert = 8,6 Wochen) nach Therapiebeginn (d. h. dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme), lag der Mittelwert des Gesamtüberlebens der 307 (76%) Patienten, bei denen durch Bildaufnahmen NPD festgestellt wurde, bei 19,1 Monaten (95%-KI: 17,0 bis 23,1) (**Abbildung 17, Tabelle 18**). Bei den 95 (24%) Patienten, bei denen durch Bildaufnahmen PD festgestellt wurde, lag das durchschnittliche Überleben bei 5,8 Monaten (95%-KI= 4,4 bis 7,7).

Insgesamt wurden bei 320 MCRC-Patienten Bildaufnahmen vor und nach Behandlungsbeginn gemacht oder diese starben bevor eine Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme erfolgen konnte, und diese wurden 3-5 Wochen nach Behandlungsbeginn mittels CTC untersucht (Durchschnitt = 3,8±0,7 Wochen nach der ersten Blutabnahme, Mittelwert 4,0 Wochen). Das durchschnittliche Überleben lag bei den 282 (88%) Patienten mit vorteilhaften CTC-Ergebnissen (<3 CTC) bei 17,3 Monaten (95%-KI = 15,0 bis 19,5 Monate) (**Abbildung 18, Tabelle 18**). Die 38 Patienten (12%) mit unvorteilhaften CTC-Werten (≥3 CTC) hatten ein durchschnittliches Überleben von 5,4 Monaten (95%-KI = 3,6 bis 9,4 Monate).

Um festzustellen, ob die zeitlich näher an den Bildaufnahmen liegenden CTC-Werte zu ähnlichen Lebenserwartungen führten, wie die ca. 4 Wochen nach Therapiebeginn ermittelten CTC-Werte, wurden nur die Patienten analysiert, deren CTC-Werte innerhalb von ± einem Monat der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme ermittelt wurden (**Abbildung 19, Tabelle 18**). Die CTC-Werte von 364 der 402 Patienten (91%) wurden innerhalb eines Monats nach der ersten Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme ermittelt, was 9,0±2,9 Wochen (Mittelwert = 8,5 Wochen) nach Behandlungsbeginn durchgeführt wurde. Das durchschnittliche Überleben lag bei den 335 (92%) Patienten mit vorteilhaften CTC-Ergebnissen bei 17,2 Monaten (95%-KI = 15,0 bis 19,2 Monate). Bei den 29 (8%) Patienten mit unvorteilhaften CTC-Ergebnissen lag das durchschnittliche Überleben bei 5,4 Monaten (95%-KI = 3,2 bis 7,5 Monate). Diese Daten zeigten, dass CTC-Bewertungen zu beiden Zeitpunkten ähnliche Ergebnisse lieferten, wie die ca. 9 Wochen nach Therapiebeginn durchgeführten Bildaufnahmen.

In dieser Studie konnte durch Anwendung einer multivariaten Regressionsanalyse nach Cox ermittelt werden, dass sowohl CTC und Bildaufnahmen nach 6-12 Wochen unabhängig mit dem Gesamtüberleben in Verbindung stehen, aber CTC [angepasste Hazard Ratio: 7,9 (4,6-13,6)] ein stärkerer Indikator sind als Bildaufnahmen [angepasste Hazard Ratio: 3,1 (2,1-4,6)].

Tabelle 18: OS der MCRC-Patienten mit CTC-Bewertungen nach ca. einem Monat nach Therapiebeginn und innerhalb eines Monats nach der radiologischen Bewertung

	N	Durchschn. Überleben & (95%-KI) in Monaten
A. Bildaufnahme	402	
Vorteilhafte Werte (NPD)	307 (76%)	19,1 (17,0 - 23,1)
Unvorteilhafte Werte (PD)	95 (24%)	5,8 (4,4 - 7,7)
B. CTC nach 3-5 Wochen	320	
Vorteilhafte Werte (CTC <3)	282 (88%)	17,3 (15,0 - 19,5)
Unvorteilhafte Werte (CTC ≥3)	38 (12%)	5,4 (3,6 - 9,4)
C. CTC (±1 Monat nach Bildaufnahme)	364	
Vorteilhafte Werte (CTC <3)	335 (92%)	17,2 (15,0 - 19,2)
Unvorteilhafte Werte (CTC ≥3)	29 (8%)	5,4 (3,2 - 7,5)

Abbildung 17: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit OS: OS der getesteten MCRC-Patienten mit NPD oder PD zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme (N = 402)

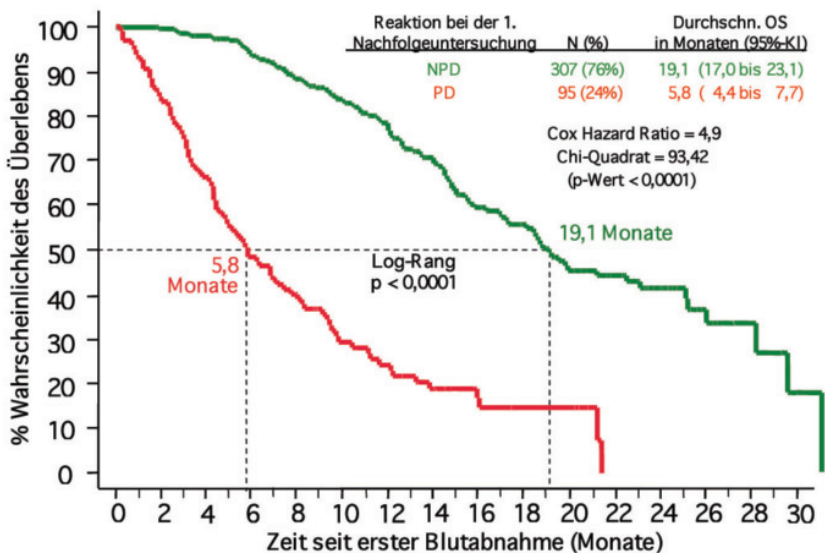


Abbildung 18: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit OS: OS der getesteten MCRC-Patienten mit CTC-Werten <3 oder ≥3 zum Zeitpunkt der 1. Nachfolgeuntersuchung nach Therapiebeginn (N = 320)

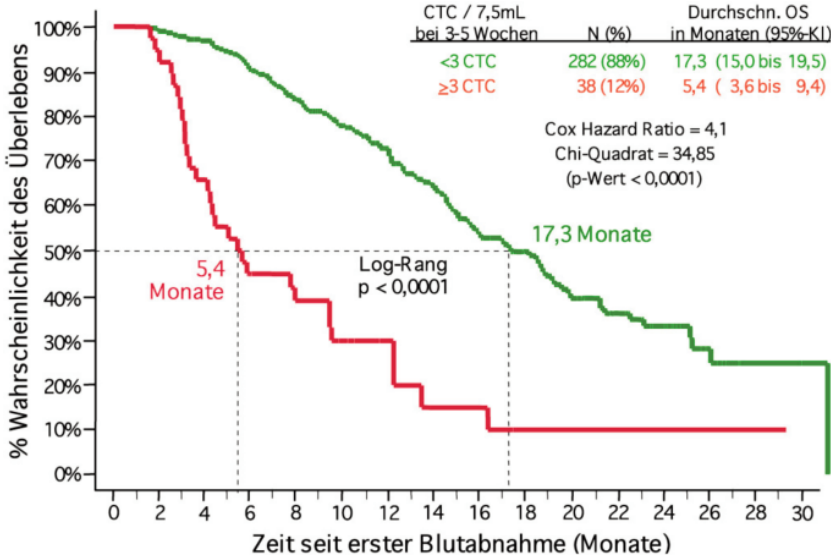
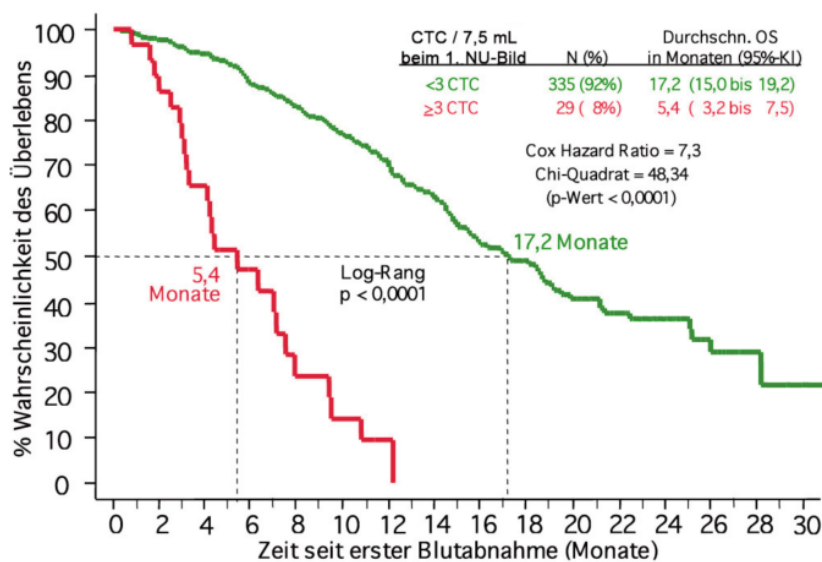


Abbildung 19: Korrelation der radiologischen und der CTC-Bewertung mit OS: OS der getesteten MCRC-Patienten mit CTC-Werten <3 oder ≥ 3 innerhalb ± 1 Monat nach der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme oder Tod (N=364)



2.4.5 Übereinstimmungen zwischen CTC und radiologischer Überwachung bei MCRC-Patienten

Wie bereits erwähnt, sind Auswertungen von Bildaufnahmen derzeit ein wichtiger Bestandteil der üblichen Untersuchungsmethoden zur Feststellung der Krankheitsprogression und des Ansprechens auf Behandlung bei metastatischem Kolorektalkrebs. Um die Aussagekraft des CTC bei diesen klinischen Bewertungen weiter zu verbessern, wurden die zwischen CTC und radiologischen Bewertungen übereinstimmenden und nicht übereinstimmenden Ergebnisse in 2x2-Tabellen zusammengefasst.

Als Behandlungserfolg wurde die vorteilhafte Gruppe als Personen mit einer stabilen Erkrankung (S), Partial Response (PR) oder Complete Response (CR) nach RECIST-Kriterien eingeteilt (nicht-progressive Erkrankung, NPD) und die unvorteilhafte Gruppe als Personen mit einer progressiven Erkrankung (PD). Von den 18 Patienten, die vor der Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme starben, hatten 10 dieser Patienten eine Nachfolge-Blutabnahme innerhalb 30 Tage nach dem Tod und diese 10 Patienten wurden zum Zwecke dieser Vergleiche als mit progressiver Erkrankung eingeteilt (PD).

Die innerhalb von $\pm$ einem Monat der Bildaufnahme ermittelten CTC-Ergebnisse wurden als vorteilhaft (<3 CTC) bzw. unvorteilhaft (≥ 3 CTC) eingeteilt. Falls innerhalb von einem Monat der Bildaufnahme mehr als ein CTC-Wert ermittelt wurde, kam das CTC-Ergebnis zur Anwendung, das der Bildaufnahme zeitlich am nächsten lag. Diese Analyse wendete alle auswertbaren Blutabnahmen der Patienten an, um CTC mit den Bildaufnahmen vergleichen zu können, nicht nur die Abnahmen, die für die bestimmten Zeitpunkte wie bei 2.1 oben beschrieben gewählt wurden.

Insgesamt 366 der MCRC-Patienten hatten CTC-Ergebnisse innerhalb der Untersuchungen mit Bildaufnahmen oder des Todes. Das Ergebnis dieses Pro-Patient-Vergleichs zwischen CTC und Bildaufnahmen (oder Tod) ist in **Tabelle 19** dargestellt.

Tabelle 19: Pro-MCRC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen

Ergebnisse aus der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen	CTC innerhalb von $\pm$ einem Monat der Bildaufnahme oder Tod		Insgesamt
	<3 CTC / 7,5 mL	≥ 3 CTC / 7,5 mL	
Nicht-Progressive Erkrankung	272	13	285
Progressive Erkrankung	65	16	81
Insgesamt	337	29	366

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	20%	12%	30%
Negative Übereinstimmung (%)	95%	92%	98%
Positiver Vorhersagewert	55%	36%	74%
Negativer Vorhersagewert	81%	76%	85%
Gesamtübereinstimmung	79%	74%	83%
Odds Ratio	5,2	2,4	11,2

Von den 384 MCRC-Patienten mit einer oder mehr Nachfolgeuntersuchungen mit Bildaufnahme wurden insgesamt 911 Bildaufnahmen, welche nützliche radiologische Ergebnisse erbrachten, durchgeführt. Insgesamt 805 der 911 (88%) Untersuchungen mit Bildaufnahmen hatten CTC-Ergebnisse, die innerhalb $\pm$ eines Monats der Bildaufnahme ermittelt wurden. Von den 18 Patienten, die vor der Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme starben, hatten 10 dieser Patienten eine Nachfolge-Blutabnahme innerhalb 30 Tage nach dem Tod und diese 10 Patienten wurden zum Zwecke dieser Vergleiche als mit progressiver Erkrankung eingeteilt (PD). Das Ergebnis dieses Pro-Beobachtungs-Vergleichs zwischen CTC und Bildaufnahmen (oder Tod) bei den 815 Beobachtungen ist in **Tabelle 20** dargestellt.

Tabelle 20: Pro-MCRC-Untersuchungs-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen

Ergebnisse aus allen Nachfolgeuntersuchungen mit Bildaufnahmen	CTC innerhalb von $\pm$ einem Monat der Bildaufnahme oder Tod		Insgesamt
	<3 CTC / 7,5 mL	$\geq$ 3 CTC / 7,5 mL	
Nicht-Progressive Erkrankung	597	33	630
Progressive Erkrankung	147	38	185
Insgesamt	744	71	815

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	21%	15%	27%
Negative Übereinstimmung (%)	95%	93%	96%
Positiver Vorhersagewert	54%	41%	65%
Negativer Vorhersagewert	80%	77%	83%
Gesamtübereinstimmung	78%	75%	81%
Odds Ratio	4,7	2,8	7,7

In Reihenuntersuchungen stimmten nur wenige der Ergebnisse aus Bildaufnahmen eines Übergangs zwischen einer nicht-progressiven Erkrankung und einer progressiven Erkrankung mit einem entsprechenden Übergang der CTC-Zahlen zwischen <3 und $\geq$ 3 CTC / 7,5 mL überein.

Da der prognostische Wert der CTC-Ergebnisse zu einem früheren Zeitpunkt mit dem CTC-Ergebnis zum Zeitpunkt der Bildaufnahme übereinstimmte (**Abbildung 18 & Abbildung 19**), wurde ein Pro-Patient-Vergleich der Bild-Ergebnisse aus der 1. Nachfolgeuntersuchung, die ca. 9 Wochen nach Therapiebeginn durchgeführt wurde, und die CTC-Ergebnisse, die ca. 4 Wochen nach Therapiebeginn durchgeführt wurde, konstruiert. Insgesamt hatten 320 (80%) der 402 Patienten 3-5 Wochen nach Behandlungsbeginn CTC-Ergebnisse. Das Ergebnis dieses Pro-Patient-Vergleichs zwischen CTC zu einem früheren Zeitpunkt und Bildaufnahmen (oder Tod) ist in **Tabelle 21** dargestellt.

Tabelle 21: Pro-MCRC-Patient-Vergleich der CTC und Bildaufnahmen

Ergebnisse aus der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahmen	CTC nach 3-5 Wochen Nach Behandlungsbeginn		Insgesamt
	<3 CTC / 7,5 mL	$\geq$ 3 CTC / 7,5 mL	
Nicht-Progressive Erkrankung	228	18	246
Progressive Erkrankung	54	20	74
Insgesamt	282	38	320

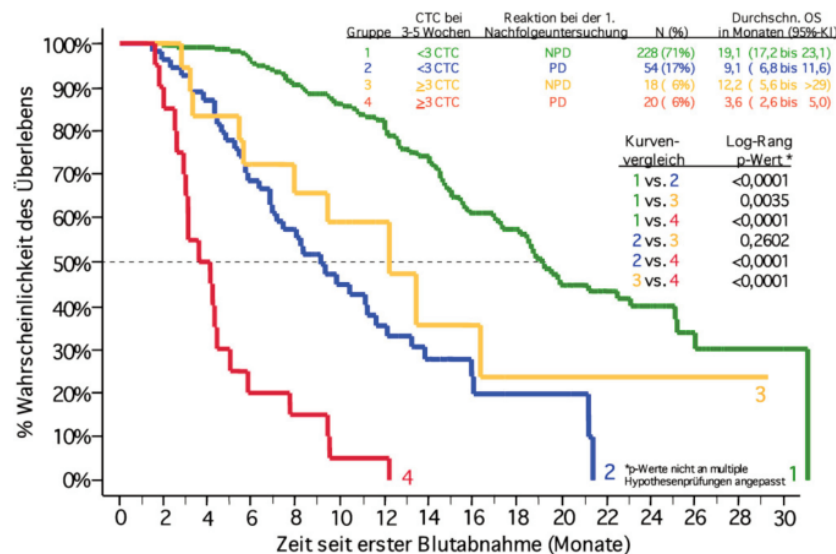
Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	27%	17%	39%
Negative Übereinstimmung (%)	93%	89%	96%
Positiver Vorhersagewert	53%	36%	69%
Negativer Vorhersagewert	81%	76%	85%
Gesamtübereinstimmung	78%	73%	82%
Odds Ratio	4,7	2,3	9,5

2.4.6 CTC als eine Ergänzung zu Bildaufnahmen

Trotz der guten Gesamtübereinstimmung zwischen CTC und Bildaufnahmen (rund 78%), gab es bei etwa 22% der MCRC-Patienten keine Übereinstimmung. Da die Informationen von CTC-Bewertungen gemeinsam mit anderen diagnostischen Verfahren für Behandlungsentscheidungen herangezogen werden sollen, wurden die CTC-Bewertung bei 3-5 Wochen nach Therapiebeginn und die Bildaufnahmen in den folgenden Gruppen mit dem OS verglichen, um festzustellen, welche der nicht übereinstimmenden Ergebnisse besser die Prognosen des Patienten widerspiegeln (**Abbildung 20**):

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 228 (71%) Patienten mit Werten von <3 CTC bei der 3-5 Wochen und NPD;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 54 (17%) Patienten mit Werten von <3 CTC nach 3-5 Wochen und PD;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 18 (6%) Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC nach 3-5 Wochen und NPD;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 20 (6%) Patienten mit Werten von ≥ 3 CTC nach 3-5 Wochen und PD.

Abbildung 20: OS der MCRC-Patienten in Gruppe 1, 2, 3 und 4 unter Verwendung der CTC 3-5 Wochen nach Therapiebeginn (n = 320) und des bei der 1. Nachfolgeuntersuchung mit Bildaufnahme festgestellten Krankheitsstatus



In dieser Studie ist die CTC-Bestimmung ein guter und unabhängiger Indikator für das Gesamtüberleben. Die Studienergebnisse deuteten darauf hin, dass eine Kombination aus CTC und radiologischer Bewertung die zutreffendsten Einschätzungen des OS ermöglichen.

3 Patienten mit Metastatischem Prostatakrebs (MPC)

An mehreren Standorten wurde eine klinische Prospektivstudie durchgeführt, um festzustellen, ob die CTC-Zahl über den Krankheitsverlauf und die Überlebensrate entschied. Patienten mit metastatischem Prostatakrebs wurden bei dieser Studie als zwei aufeinanderfolgende Anstiege des Serummarkers „prostataspezifisches Antigen“ PSA über dem Referenzspiegel definiert, trotz Standard-Hormonmanagement. Diese Patienten werden im Allgemeinen als Patienten beschrieben, die unter einem androgenunabhängigen, hormonresistenten oder kastrationsresistenten Prostatakrebs leiden. Es wurden insgesamt 231 Patienten mit metastatischem Prostatakrebs mit Anzeichen eines PSA-Fortschreitens trotz der Standard-Hormontherapie und durch Beginn einer neuen Linie oder Art von Chemotherapie eingetragen. Die klinischen Daten wurden auf der Basis der Behandlungsabsicht ausgewertet. Die demographischen Informationen der Patienten sind in **Tabelle 22** dargestellt.

Tabelle 22: Demographien der MPC-Patienten

Kategorie	Mittelwert $\pm$ Std. Abweichung (Mittelwert)	Anzahl der Patienten
Alter bei Studienbeginn (in Jahren)	70 $\pm$ 9 (70)	231
Vorherige Therapie:		
PSA (ng/mL)	547 $\pm$ 1616 (144)	231
Hämoglobin (g/dL)	12,3 $\pm$ 1,6 (12,4)	221
Alkalische Phosphatase (AlkPhos) (IU/mL)	235 $\pm$ 271 (144)	223
Lactat-Dehydrogenase(LDH) (IU/mL)	293 $\pm$ 228 (224)	219
Albumin (g/dL)	3,9 $\pm$ 2,6 (3,8)	214
	Beschreibung der Kategorien	Anzahl der Patienten (% der gesamten Anzahl)
Rasse	Weiß Farbig Sonstiges	209 (90%) 17 (7%) 5 (3%)
ECOG-Ergebnis bei Studienbeginn	0 1 2 Unbekannt	101 (44%) 100 (43%) 21 (9%) 9 (4%)
Gleason-Score	$\geq$ 5 6 7 8 $\geq$ 9 Unbekannt	18 (8%) 28 (12%) 63 (27%) 45 (20%) 54 (23%) 23 (10%)
Stadium bei Erstdiagnose	1 2 3 4 Unbekannt	14 (6%) 30 (13%) 58 (25%) 19 (8%) 110 (48%)
Therapie-Linie	Erste Zweite $\geq$ Dritte	154 (67%) 38 (16%) 39 (17%)
Taxotere in der derzeitigen Therapielinie?	Nein Ja Unbekannt	67 (29%) 162 (70%) 2 (1%)
Knochenmetastase	Negativ Positiv Unbekannt	20 (8%) 207 (90%) 4 (2%)
Messbare Erkrankung	Nein Ja Unbekannt	142 (62%) 88 (38%) 1 (0%)
Viszerale Metastase	Nein Ja Unbekannt	141 (61%) 89 (39%) 1 (0%)

Der Ausgangswert für die CTC-Anzahl wurde vor Beginn einer neuen Chemotherapie-Linie ermittelt. Die folgenden Zeiträume wurden für die Untersuchung gewählt: Studienbeginn (vor Behandlungsbeginn), 2-5 Wochen (14-41 Tage nach Studienbeginn), 6-8 Wochen (42-62 Tage nach Studienbeginn), 9-12 Wochen (63-90 Tage nach Studienbeginn) und 13-20 Wochen (91-146 Tage nach Studienbeginn) nach Behandlungsbeginn. Falls mehr als eine Blutabnahme für die bestimmten Zeiträume zutrifft, wird die am weitesten von der ersten Blutabnahme liegenden Blutabnahme als Ergebnis eines jeden Zeitraums angewendet.

3.1 Häufigkeit von CTC

Alle 231 auswertbare MPC-Patienten hatten eine erste Blutabnahme. Die CTC-Werte von 221 dieser MPC-Patienten hatten eine oder mehr Nachfolge-Blutabnahmen nach Behandlungsbeginn. Von den zehn MPC-Patienten mit nur einer ersten Blutabnahme starben drei, bevor eine Nachfolge-Blutabnahme erfolgen konnte, einer zeigte einen Krankheitsfortschritt und wurde ins Hospiz geschickt, bei einem wurde die Chemotherapie wegen eines Hüftenbruchs unterbrochen, ein Patient ist umgezogen, drei lehnten jegliche Blutabnahmen ab und einer hat seine Einverständniserklärung annulliert. Es waren jeweils 214, 171, 158 und 149 MPC-Patienten mit Nachfolge-Blutabnahmen nach 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn vorhanden.

Bei dem metastatischen Prostatakrebs wird die Krankheitsprogression hauptsächlich mit Änderungen des PSA bestimmt. Für diese Studie wurde die Krankheitsprogression von den Kliniken mit der Verfolgung des PSA, mit Bildaufnahmen und/oder klinischen Zeichen und Symptomen bestimmt. Für die Ausgangsanalysen wurde das progressionsfreie Überleben (PFS) ab dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme bis zur Diagnose des Krankheitsfortschritts oder Tods gemessen, sowie das Gesamtüberleben (OS) ab dem Zeitpunkt der ersten Blutabnahme bis zum Tod des Patienten oder Datums des letzten Kontakts mit dem Patienten. Für die

Nachfolgeanalysen wurde das PFS ab dem Zeitpunkt der ersten Nachfolge-Blutabnahme bis zur Diagnose des Krankheitsfortschritts bzw. bis zum Tod, und das OS ab dem Zeitpunkt der ersten Nachfolge-Blutabnahme bis zum Tod oder Datums des letzten Kontakts mit dem Patienten bestimmt. Patienten mit einem Fortschreiten der Erkrankung bevor eine bestimmte Blutabnahme untersucht wurde, wurden von der PFS-Analyse dieses Zeitpunkts und allen folgenden Blutabnahmen ausgeschlossen. Patienten ohne zusätzliche Überlebens-Nachfolgeuntersuchungen nachdem eine bestimmte Blutabnahme untersucht wurde, wurden von den PFS- & OS-Analysen dieses Zeitpunkts ausgeschlossen. **Tabelle 23** zeigt die Anzahl an Patienten, die bei jedem Zeitpunkt von der PFS- oder PFS & OS-Analyse ausgeschlossen wurden und die Ursachen dieser Ausschließung an.

Tabelle 23: Ausschlüsse von PFS- und OS-Analysen bei MPC-Patienten

Zeitpunkt der Blutabnahme	MPC-Patienten Nicht Auswertbar:					Gesamte Anzahl an MPC-Patienten Auswertbar	
	PFS & OS				Nur PFS		
	Blut Nicht Abgenommen	Blut 1-7 Tage nach Verabreichung einer Therapie abgenommen	Keine Nachfolgeuntersuchung nach Datum der Blutabnahme	Nichtauswertbare oder keine CTC-Ergebnisse	Blutabnahme nach Datum der Krankheitsprogression	PFS	OS
Studienbeginn	0	6	0	6	0	219	219
2-5 Wochen	17	0	0	11	4	199	203
6-8 Wochen	60	0	0	8	22	141	163
9-12 Wochen	73	1	0	8	15	134	149
13-20 Wochen	82	0	1	5	27	116	143

Die CTC-Ergebnisse der ersten und Nachfolge-Blutabnahmen 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn wurden als vorteilhaft (<5 CTC) oder unvorteilhaft (≥ 5 CTC) eingeteilt. Die in der Demographien-Tabelle zusammengefassten und in der Analyse angewendeten PSA-, Alkalische Phosphatase- und LDH-Spiegel wurden alle in einem zentralen Labor in Serumproben gemessen, die zusammen mit den Blutproben für die CTC-Untersuchung abgenommen wurden. Bei den Hämoglobin- und Albuminspiegeln, die in den Tabellen zusammengefasst und bei den Analysen angewendet wurden, handelt es sich um von den Kliniken übermittelte und mit den Krankenakten der Patienten verifizierte Werte, die innerhalb ± 30 Tagen nach der CTC-Untersuchung zu Studienbeginn bestimmt wurden.

3.2 Analyse des Progressionsfreien Überlebens (PFS) bei MPC-Patienten

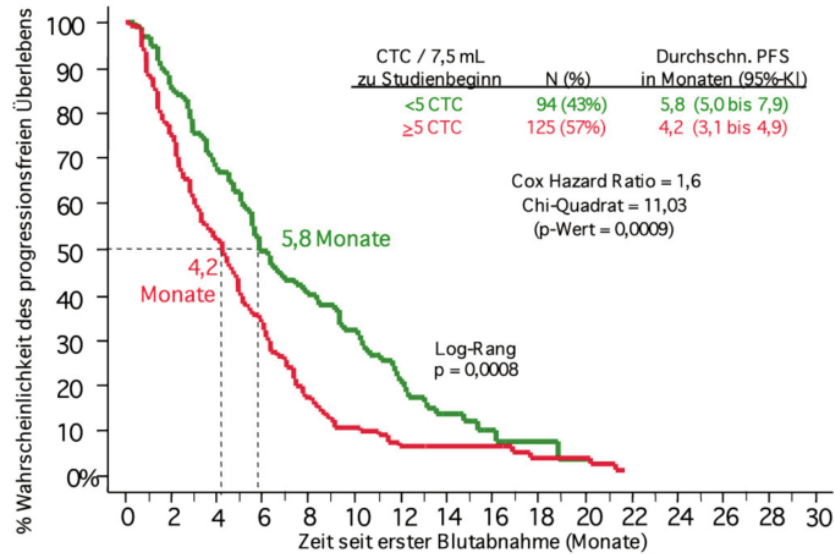
3.2.1 PFS unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse

Bei zweihundertneunzehn (219) der 231 auswertbaren Patienten war ein Ausgangs-CTC-Wert vorhanden. Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Ausgangswerten in zwei Gruppen aufgeteilt:

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten (N = 94), dargestellt in **grün**, bestand aus Patienten mit CTC-Werten von <5 CTC.
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten (N = 125), dargestellt in **rot**, bestand aus Patienten mit CTC-Werten von ≥ 5 .

Das durchschnittliche PFS war länger für die Gruppe mit vorteilhaften Werten im Vergleich zu der Gruppe mit unvorteilhaften Werten (5,8 gegenüber 4,2 Monate). Diese Ergebnisse sind in **Abbildung 21** und **Tabelle 24** dargestellt.

Abbildung 21: PFS von MPC-Patienten mit <5 oder ≥5 CTC als Ausgangswert (N = 219).

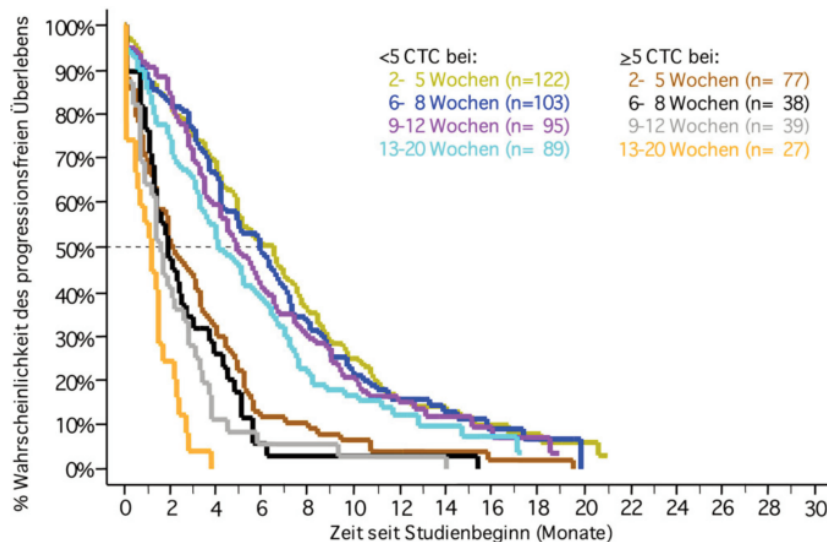


3.2.2 PFS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die MPC-Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei den jeweiligen Nachfolge-Blutabnahmen in zwei Gruppeneingeteilt. Beide Patientengruppen bei jeder der verschiedenen Nachfolge-Blutabnahmen nach Behandlungsbeginn für PFS sind in **Abbildung 22** dargestellt. Diese Abbildung gibt wieder, wie die CTC bei MPC-Patienten mit <5 bzw. ≥5 CTC eine Vorhersage des Zeitraums bis zum Fortschreiten der Erkrankung oder Eintreten des Todes 2-5 Wochen (n=199), 6-8 Wochen (n=141), 9-12 Wochen (n=134) und 13-20 Wochen (n=116) nach Behandlungsbeginn gestatten.

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten, dargestellt in **olivgrün, blau, violett**, und **türkis** umfasste Patienten mit Werten von <5 CTC jeweils 2-5, 6-8, 9-12, und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn.
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten, dargestellt in **braun, schwarz, grau** und **orange** umfasste Patienten mit Werten von ≥5 CTC jeweils 2-5, 6-8, 9-12, und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn.

Abbildung 22: PFS von MPC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen



In **Tabelle 24** sind die Ergebnisse der PFS-Analyse unter Verwendung der CTC-Spiegel und eines Schwellenwerts von ≥ 5 CTC/7,5 mL bei jeder der verschiedenen Blutabnahmen zusammengefasst.

Tabelle 24: Progressionsfreies Überleben (PFS) von MPC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥ 5 zu verschiedenen Zeitpunkten

1	2	3	4	5	6
Probenentnahmezeit Nach Beh.-Beginn	N	≥ 5 CTC	Durchschn. PFS in Monaten (95%-KI)		Log-Rang p-Wert
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
Studienbeginn	219	125 (57%)	5,8 (5,0 - 7,9)	4,2 (3,1 - 4,9)	0,0008
2-5 Wochen	199	77 (39%)	6,5 (4,9 - 7,4)	2,1 (1,4 - 3,3)	$<0,0001$
6-8 Wochen	141	38 (27%)	5,9 (4,2 - 7,0)	1,9 (1,3 - 2,7)	$<0,0001$
9-12 Wochen	134	39 (24%)	4,9 (3,8 - 6,2)	1,6 (0,9 - 2,6)	$<0,0001$
13-20 Wochen	116	27 (23%)	4,1 (3,3 - 5,8)	1,2 (0,5 - 1,5)	$<0,0001$

Wie in **Abbildung 22** und **Tabelle 24** dargestellt, bestand bei MPC-Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt erhöhte CTC-Werte aufwiesen (≥ 5 CTC/7,5 mL Vollblut), eine wesentlich höhere Wahrscheinlichkeit einer schnellen Progression als bei denjenigen mit CTC-Werten von <5 . **Tabelle 24** Spalte 4 zeigt, dass die durchschnittlichen Zeiten des PFS für Patienten mit <5 CTC zwischen 4,1 und 6,5 Monaten lagen und damit deutlich länger waren als die durchschnittlichen Zeiten des PFS für Patienten mit ≥ 5 CTC, die zwischen 1,2 und 4,2 Monaten lagen (Spalte 5).

3.2.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes PFS hin

Die vergangene PFS-Zeit wurde ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Für die Kaplan-Meier-Analyse gezeigt in **Abbildung 23**, wurden die MPC-Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei der Ausgangsanalyse oder 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn in vier Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 88 (38%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei allen Blutabnahmen. Fünf (6%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und zwei (8%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von ≥ 5 CTC;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 45 (20%) Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC vor Behandlungsbeginn, die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von <5 CTC gesunken waren;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 26 (11%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei einer frühen Blutabnahme (Ausgangsanalyse, 2-5 Wochen, und/oder 6-8 Wochen), die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von ≥ 5 CTC gestiegen waren;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 71 (31%) Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC bei allen Blutabnahmen. Fünf (11%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und zwei (3%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von <5 CTC;

Abbildung 23: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 5 nach Therapiebeginn deutet auf ein längeres PFS bei MPC-Patienten hin

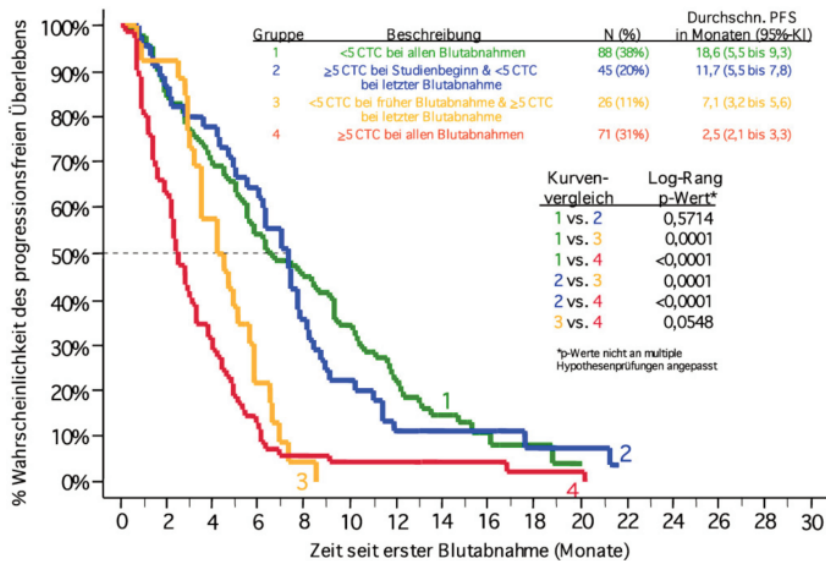


Abbildung 23 zeigt, dass das durchschnittliche PFS bei MPC-Patienten mit CTC-Werten ≥ 5 bei allen Zeitpunkten

(Gruppe 4) am kürzesten war - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen PFS in Gruppe 3, Gruppe 2 und Gruppe 1. Der Unterschied im mittleren PFS zwischen den Patienten, bei denen nach Behandlungsbeginn eine CTC-Reduktion nachgewiesen wurde (Gruppe 2) war bedeutend länger im Gegensatz zu den Patienten, bei denen ein CTC-Anstieg nachgewiesen wurde (Gruppe 3).

3.3 Analyse des Gesamtüberlebens (OS) bei MPC-Patienten

3.3.1 OS-Analyse unter Verwendung der Ausgangs-CTC-Ergebnisse

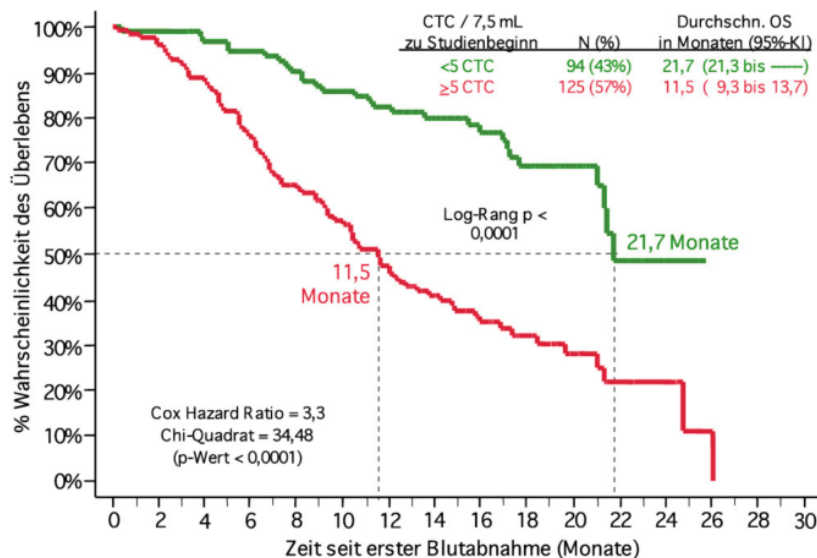
Es starben 119 (52%) der 231 MCRC-Patienten. Die mittlere Nachfolgezeit der 112 (48%) noch lebenden Patienten betrug $16,1 \pm 4,9$ Monate (Mittelwert = 16,5 Monate, Bereich = 1,9 - 25,7 Monate). Zum Zeitpunkt dieser Analysen waren aus der Gruppe der 94 Patienten mit vorteilhaften Werten (CTC-Ausgangswert <5) 28 (30%) verstorben, im Vergleich dazu starben aus der Gruppe der 125 Patienten mit unvorteilhaften Werten (CTC-Ausgangswerte ≥ 5) 83 (66%).

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurden die 219 der 231 auswertbaren Patienten, bei denen ein Ausgangswert vorhanden war, entsprechend ihren CTC-Ausgangswerten in zwei Gruppen aufgeteilt:

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten (N = 94), dargestellt in grün, bestand aus Patienten mit Werten von <5 CTC.
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten (N = 125), dargestellt in rot, bestand aus Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC.

Das durchschnittliche OS war bedeutend länger für die Gruppe mit vorteilhaften Werten im Vergleich zu der Gruppe mit unvorteilhaften Werten (21,7 gegenüber 11,5 Monate). Die Ergebnisse sind in **Abbildung 24** dargestellt.

Abbildung 24: OS von MPC-Patienten mit <5 oder ≥ 5 CTC als Ausgangswerte (N = 219).

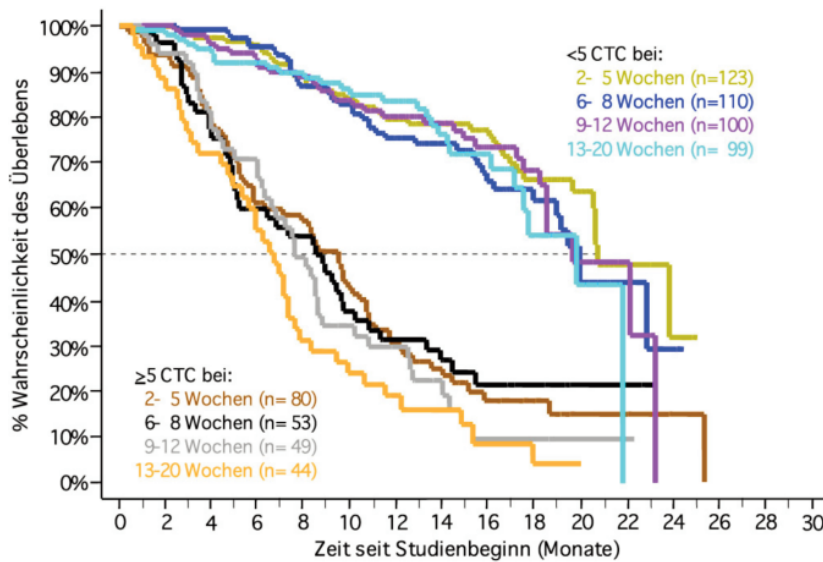


3.3.2 OS unter Verwendung der Ergebnisse der CTC-Nachfolgetests

Die Kaplan-Meier-Analysen beider MPC-Patientengruppen bei jeder der verschiedenen Nachfolge-Blutabnahmen nach Behandlungsbeginn sind in **Abbildung 25** dargestellt. Diese Abbildung gibt wieder, wie die CTC bei MPC-Patienten mit <5 und ≥ 5 CTC eine Vorhersage des Zeitraums bis zum Fortschreiten der Erkrankung oder Eintreten des Todes 2-5 Wochen (n=203), 6-8 Wochen (n=163), 9-12 Wochen (n=149) und 13-20 Wochen (n=143) nach Behandlungsbeginn gestatten. Die Dauer des OS wurde ab dem Zeitpunkt jeder Blutabnahme berechnet.

- Die Gruppe mit vorteilhaften Werten, dargestellt in olivgrün, blau, violett und türkis, umfasste Patienten mit Werten von <5 CTC,
- Die Gruppe mit unvorteilhaften Werten, dargestellt in braun, schwarz, grau und orange, umfasste Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC.

Abbildung 25: OS von MPC-Patienten mit Werten von <5 oder ≥5 CTC bei zeitlich verschiedenen Nachfolgeuntersuchungen.



In **Tabelle 25** sind die Ergebnisse der OS-Analyse unter Verwendung der CTC-Spiegel und eines Schwellenwerts von ≥5 CTC/7,5 mL bei jeder der verschiedenen Blutabnahmen zusammengefasst.

Tabelle 25: Gesamtüberleben (OS) von MPC-Patienten mit CTC-Werten von <5 oder ≥5 zu verschiedenen Zeitpunkten

1	2	3	4	5	6
Probenentnahmezeit Nach Beh.-Beginn	N	≥5 CTC	Durchschn. OS in Monaten (95%-KI)		Log-Rang p-Wert
			<5 CTC	≥5 CTC	
Studienbeginn	219	125 (57%)	21,7 (21,3 - NR)	11,5 (9,3 - 13,7)	<0,0001
2-5 Wochen	203	80 (39%)	20,7 (20,5 - NR)	9,5 (5,8 - 10,7)	<0,0001
6-8 Wochen	163	53 (33%)	19,9 (17,9 - NR)	8,5 (5,0 - 10,2)	<0,0001
9-12 Wochen	149	49 (33%)	19,6 (18,5 - NR)	7,6 (6,2 - 8,6)	<0,0001
13-20 Wochen	143	44 (31%)	19,8 (17,1 - NR)	6,7 (4,9 - 7,6)	<0,0001

Wie in **Abbildung 25** und **Tabelle 25** in den Spalten 4 und 5 dargestellt, bestand für MPC-Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt CTC-Werte von ≥5 aufwiesen, eine wesentlich höhere Wahrscheinlichkeit, früher zu sterben, als für diejenigen mit CTC-Werten von <5. Die durchschnittlichen Zeiten des OS für Patienten mit <5 CTC lagen zwischen 19,6 und 21,7 Monaten und waren damit deutlich länger als die durchschnittlichen Zeiten des OS für Patienten mit ≥5 CTC, die zwischen 6,7 und 11,5 Monaten lagen.

3.3.3 Eine CTC-Reduktion bzw. -Zunahme deutet auf ein erhöhtes oder reduziertes OS hin

Die vergangene OS-Zeit wurde ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Für die Kaplan-Meier-Analyse (**Abbildung 26**) wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Werten bei der Ausgangsanalyse oder 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn in vier Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), 88 (38%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei allen Blutabnahmen. Fünf (6%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und zwei (8%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von ≥5 CTC;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), 45 (20%) Patienten mit Werten von ≥5 CTC vor Behandlungsbeginn, die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von <5 CTC gesunken waren;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), 26 (11%) Patienten mit Werten von <5 CTC bei einer frühen Blutabnahme, die allerdings zum Zeitpunkt der letzten Blutabnahme auf Werte von ≥5 CTC gestiegen waren;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), 71 (31%) Patienten mit Werten von ≥5 CTC bei allen Blutabnahmen. Fünf (11%) dieser Patienten hatten nur die erste Blutabnahme und zwei (3%) eine einzige Blutabnahme zwischen der ersten und letzten Blutabnahme mit Werten von <5 CTC;

Abbildung 26: Eine Reduktion der CTC-Werte unter 5 nach Behandlungsbeginn weist auf ein längeres OS hin, wohingegen eine Zunahme auf Werte von 5 oder höher auf ein kürzeres OS bei MPC-Patienten hinweist.

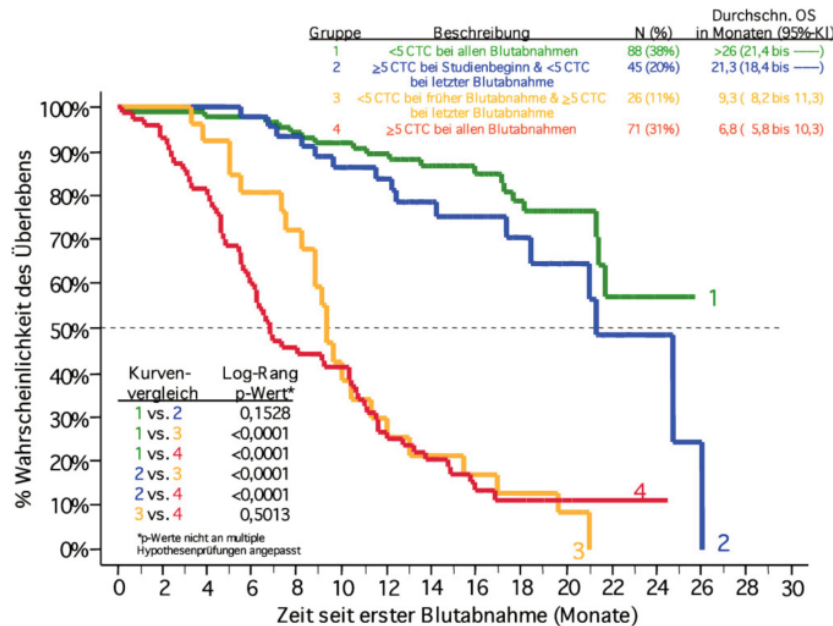


Abbildung 26 zeigt, dass für solche Patienten mit ≥ 5 CTC zu irgendeinem Zeitpunkt nach Behandlungsbeginn ein signifikant höheres Risiko bestand, früher zu sterben. Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC bei allen Zeitpunkten (**Gruppe 4**) hatten das kürzeste durchschnittliche OS - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen OS in **Gruppe 2** und **Gruppe 1**, aber nicht **Gruppe 3**. Patienten mit Werten von < 5 CTC bei allen Zeitpunkten (**Gruppe 1**) hatten das längste durchschnittliche OS - ein signifikanter Unterschied zum durchschnittlichen OS in **Gruppe 4** und **Gruppe 3**, aber nicht **Gruppe 2**. **Abbildung 26** zeigt auch, dass Patienten, bei denen eine Verringerung des CTC aufgewiesen wurde (**Gruppe 2**) ihre Überlebenschance verbessern und ein durchschnittliches OS hatten, das sich dem der Patienten mit vorteilhaften CTC bei allen Abnahmen (**Gruppe 1**) ähnelt. Diese Abbildung zeigt auch, dass unvorteilhafte CTC-Werte nach Behandlungsbeginn das allgemeine Überleben bedeutend verringerten (**Gruppe 3** und **Gruppe 4**).

3.3.4 Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten

Eine Proportional-Hazard-Univariate Regressionsanalyse nach Cox wurde angewendet, um den Zusammenhang der folgenden Vorbehandlungs-Parameter mit dem PFS und OS zu bewerten: Grad der Erkrankung zum Zeitpunkt der Diagnose (1-4), Patientenalter (≥ 70 oder < 70 Jahre), ECOG-Status vor Beginn einer neuen Therapielinie (0-2), Gleason-Score (2-10), Hämoglobinspiegel innerhalb ± 30 Tage nach der ersten Blutabnahme (g/dL, kontinuierlich), Albuminspiegel innerhalb ± 30 Tage nach der ersten Blutabnahme (g/dL, kontinuierlich), Testosteronspiegel bei der ersten Blutabnahme (ng/mL, kontinuierlich), LDH-Spiegel bei der ersten Blutabnahme (IU/mL, kontinuierlich), Alkalische Phosphatase-Spiegel bei der ersten Blutabnahme (IU/mL, kontinuierlich), PSA-Spiegel bei der ersten Blutabnahme (ng/mL, kontinuierlich), Vorbehandlungs-PSA-Verdopplungszeit (Monate, kontinuierlich), Vorbehandlungs-PSA-Geschwindigkeit (ng/mL/Monat, kontinuierlich), Therapielinie (1., 2., 3., 4., 5., oder 6.), Art der Therapie (Taxotere einbezogen oder nicht), Vorhandensein einer messbaren Erkrankung (ja oder nein), Anwesenheit einer Knochenmetastase (ja oder nein), Anwesenheit einer viszeralen Metastase (ja oder nein) und CTC-Werte bei Studienbeginn (≥ 5 CTC/7,5 mL oder < 5 CTC/7,5 mL) und CTC-Werte bei den Nachfolgeuntersuchungen nach 2-5, 6-8, 9-12 und 13-20 Wochen.

Für diese Analysen wurden die vergangenen Zeiten für das PFS und OS ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Die Cox-Regressionsergebnisse (d.h. das Hazard Ratio und das dazugehörige 95% Konfidenzintervall, das Chi-Quadrat-Ergebnis und dazugehörige p-Werte) um anhand von Parametern unabhängig das PFS und OS vorherzusagen, werden in **Tabelle 26** angezeigt, sowie die Anzahl an Patienten bei jeder Untersuchung.

Tabelle 26: Univariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten

Parameter	Kategorien		Anzahl an MCP-Patienten	PFS-Risiko ab Studienbeginn		OS-Risiko ab Studienbeginn	
	Positiv	Negativ		HR	p-Wert ²	HR	p-Wert ²
Stadium bei Erstdiagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		121	0,88	0,206	0,83	0,174
Alter bei erster Blutabnahme zum Studienbeginn	≥70	<70	231	0,96	0,764	1,28	0,178
ECOG-Status beim Studieneintritt	2 vs. 1 vs. 0		222	1,34	0,011	2,36	<0,001
Gleason-Score	10 bis 2		208	1,01	0,919	1,02	0,717
Vorbehandlungs-PSA-Verdopplungszeit (Monate)	Kontinuierlich		230	0,97	0,542	0,97	0,664
Vorbehandlungs-PSA-Geschwindigkeit (ng/mL/Monat)	Kontinuierlich		230	1,00	0,200	1,00	0,544
Hämoglobin bei Studienbeginn (g/dL)	Kontinuierlich		221	0,87	0,002	0,71	<0,001
Albumin bei Studienbeginn (g/dL)	Kontinuierlich		214	0,99	0,748	1,02	0,557
Testosteron bei Studienbeginn (ng/mL) ¹	Kontinuierlich		223	1,07	0,900	2,71	0,060
LDH bei Studienbeginn (IU/mL) ¹	Kontinuierlich		219	1,001	<0,001	1,002	<0,001
Alkalische Phosphatase bei Studienbeginn (IU/mL) ¹	Kontinuierlich		223	1,00	0,158	1,008	0,001
Therapie-Linie	Kontinuierlich (1- 6)		231	1,23	0,003	1,28	0,003
Art der Therapie (Taxotere: Ja/Nein)	Ja	Nein	229	0,57	<0,001	0,59	0,006
Messbare Erkrankung?	Ja	Nein	230	1,00	0,993	1,28	0,181
Knochenmetastase?	Ja	Nein	227	1,02	0,933	2,22	0,057
Viszerale Metastase?	Ja	Nein	230	1,01	0,918	1,26	0,216
PSA bei Studienbeginn (ng/mL) ¹	Kontinuierlich		231	1,00	0,746	1,00	0,907
PSA Woche 2 - 5 (ng/mL) ¹	Kontinuierlich		207	1,00	0,819	1,00	0,794
PSA Woche 6 - 8 (ng/mL) ¹	Kontinuierlich		167	1,00	0,426	1,00	0,654
PSA Woche 9 - 12 (ng/mL) ¹	Kontinuierlich		155	1,00	0,684	1,00	0,324
PSA Woche 13 - 20 (ng/mL) ¹	Kontinuierlich		143	1,00	0,639	1,00	0,205
PSA-Reduzierung seit SB Woche 2 - 5 (%) ¹	<30%	≥ 30%	207	1,56	0,006	1,24	0,318
PSA-Reduzierung seit SB Woche 6 - 8 (%) ¹	<30%	≥ 30%	167	2,21	<0,001	2,27	0,001
PSA-Reduzierung seit SB Woche 9 - 12 (%) ¹	<30%	≥ 30%	155	2,76	<0,001	2,30	<0,001
PSA-Reduzierung seit SB Woche 13 - 20 (%) ¹	<30%	≥ 30%	143	2,69	<0,001	3,19	<0,001
Anzahl CTC bei Studienbeginn	≥5	<5	219	1,62	0,001	3,33	<0,001
Anzahl CTC nach 2 - 5 Wochen	≥5	<5	203	2,34	<0,001	4,46	<0,001
Anzahl CTC nach 6 - 8 Wochen	≥5	<5	163	3,29	<0,001	3,66	<0,001
Anzahl CTC nach 9 - 12 Wochen	≥5	<5	149	3,23	<0,001	5,82	<0,001
Anzahl CTC nach 13 - 20 Wochen	≥5	<5	144	4,82	<0,001	7,18	<0,001

¹ Mittels Serum am selben Datum gemessen, wie die CTC-Blutprobe² p-Wert des Wald-Test der Z-Statistik

3.3.5 Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten

Mit multivariaten Regressionsanalysen nach Cox wurde die unabhängige Aussagekraft der CTC-Anzahl zur Prognose bewertet. Hierzu wurde der Einfluss der bekannten entscheidenden klinischen Faktoren, die in univariaten Analysen statistisch signifikant waren, angepasst. Es wurde festgestellt, dass CTC bei der Prognose des PFS und OS bei den meisten Zeitpunkten am meisten aussagekräftig sind (**Tabelle 27**).

Tabelle 27: Multivariate Regressionsanalyse nach Cox bei MPC-Patienten

Parameter	Anzahl der getesteten Patienten	PFS-Risiko ab Studienbeginn		OS-Risiko ab Studienbeginn	
		HR	p-Wert ²	HR	p-Wert ²
CTC bei Studienbeginn (<5 vs. ≥5)	188	1,14	0,455	1,92	0,009
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs. 1 vs. 2)		1,00	0,982	1,46	0,032
Hämoglobin bei Studienbeginn (g/dL) ³		0,88	0,027	0,81	0,007
LDH bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		1,0007	0,018	1,002	<0,001
Alkalische Phosphatase bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		---	---	1,00	0,410
Therapie-Linie (Erste bis sechste)		1,14	0,145	1,07	0,547
Art der Therapie (Taxotere: Ja/Nein)		0,63	0,009	0,70	0,139
CTC nach 2 - 5 Wochen (<5 vs. ≥5)	173	1,48	0,041	2,91	<0,001
PSA-Reduzierung seit SB Woche 2 - 5 (≥30% vs. <30%) ¹		1,40	0,077	1,13	0,637
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs. 1 vs. 2)		0,97	0,836	1,46	0,054
Hämoglobin bei Studienbeginn (g/dL) ³		0,93	0,246	0,89	0,141
LDH bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		1,002	0,002	1,003	<0,001
LDH bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		---	---	1,00	0,622
Therapie-Linie (Erste bis sechste)		1,11	0,274	1,11	0,399
Art der Therapie (Taxotere: Ja/Nein)		0,75	0,133	0,80	0,397
CTC nach 6 - 8 Wochen (<5 vs. ≥5)	139	2,14	<0,001	2,13	0,009
PSA-Reduzierung seit SB Woche 6 - 8 (≥30% vs. <30%) ¹		1,88	0,002	2,38	0,007
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs. 1 vs. 2)		1,04	0,810	1,52	0,088
Hämoglobin bei Studienbeginn (g/dL) ³		0,97	0,695	0,79	0,013
LDH bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		1,002	0,003	1,004	<0,001
Alkalische Phosphatase bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		---	---	1,00	0,780
Therapie-Linie (Erste bis sechste)		1,37	0,001	1,35	0,035
Art der Therapie (Taxotere: Ja/Nein)		0,80	0,278	1,45	0,276
CTC nach 9 - 12 Wochen (<5 vs. ≥5)	125	1,74	0,015	3,94	<0,001
PSA-Reduzierung seit SB Woche 9 - 12 (≥30% vs. <30%) ¹		2,23	<0,001	1,46	0,221
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs. 1 vs. 2)		1,21	0,307	1,89	0,004
Hämoglobin bei Studienbeginn (g/dL) ³		0,93	0,322	0,97	0,758
LDH bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		1,00	0,190	1,003	<0,001
Alkalische Phosphatase bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		---	---	1,00	0,989
Therapie-Linie (Erste bis sechste)		1,25	0,052	1,11	0,499
Art der Therapie (Taxotere: Ja/Nein)		0,97	0,903	1,26	0,486
CTC nach 13 - 20 Wochen (<5 vs. ≥5)	123	2,95	<0,001	3,75	0,001
PSA-Reduzierung seit SB Woche 13 - 20 (≥30% vs. <30%) ¹		1,97	0,002	1,52	0,275
ECOG-Status bei Studienbeginn (0 vs. 1 vs. 2)		0,98	0,919	1,98	0,002
Hämoglobin bei Studienbeginn (g/dL) ³		1,03	0,723	0,87	0,232
LDH bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		1,00	0,380	1,003	<0,001
Alkalische Phosphatase bei Studienbeginn (IU/mL) ^{1, 3}		---	---	1,00	0,078
Therapie-Linie (Erste bis sechste)		1,25	0,050	1,06	0,751
Art der Therapie (Taxotere: Ja/Nein)		1,04	0,882	0,90	0,770

¹ Mittels Serum am selben Datum gemessen, wie die CTC-Blutprobe

² p-Wert des Wald-Test der Z-Statistik

³ Als kontinuierlicher Parameter bewertet

3.4 Verwendung der CTC-Werte zur Überwachung des Klinischen Status bei Patienten mit Metastatischem Prostatakrebs

3.4.1 Zusammenhang zwischen Überleben, CTC und Krankheitseinschätzung durch PSA

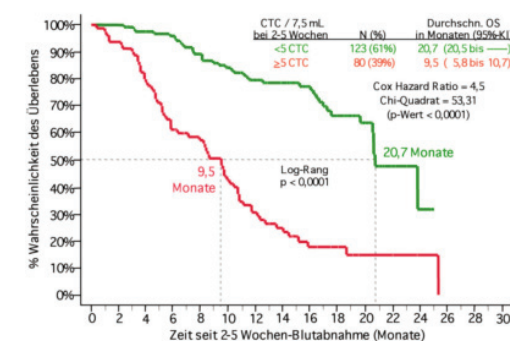
Derzeitig ist eine Reduzierung des PSA eines der wichtigsten Mittel, um den Behandlungserfolg bei MPC-Patienten zu bestimmen. Um den Zusammenhang des durch PSA bestimmten klinischen Status mit dem CTC-Wert zu bestimmen, wurde eine Reduzierung von $\geq 30\%$ oder $\geq 50\%$ PSA und CTC 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn gemessen und mit dem allgemeinen Überleben verglichen.

Für die Kaplan-Meier-Analyse wurde die Dauer des OS ab dem Zeitpunkt jeder Blutabnahme berechnet. Die Patienten wurden in vorteilhafte Gruppen im Falle einer CTC von <5 zur Zeit der Untersuchung und einer Reduzierung von $\geq 30\%$ des PSA vom Ausgangswert bis zur Zeit der Untersuchung aufgeteilt. Die Patienten wurden in unvorteilhafte Gruppen im Falle einer CTC von ≥ 5 und einer Reduzierung von $<30\%$ des PSA vom Ausgangswert bis zur Zeit der Untersuchung aufgeteilt.

Abbildung 27 zeigt die Ergebnisse der Analyse 2-5 Wochen nach Behandlungsbeginn, **Abbildung 28** der Analyse 6-8 Wochen nach Behandlungsbeginn, **Abbildung 29** der Analyse 9-12 Wochen nach Behandlungsbeginn und **Abbildung 30** der Analyse 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn an.

Abbildung 27: OS von MPC-Patienten 2-5 Wochen nach Behandlungsbeginn

A. CTC nach 2-5 Wochen



B. $\geq 30\%$ PSA-Reduzierung nach 2-5 Wochen

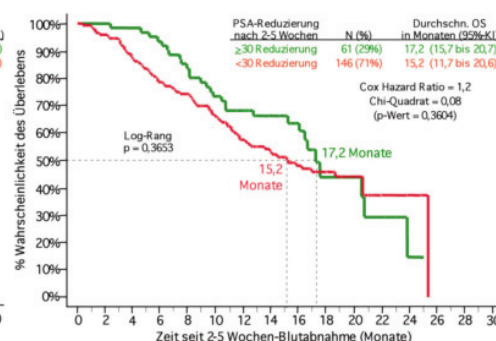
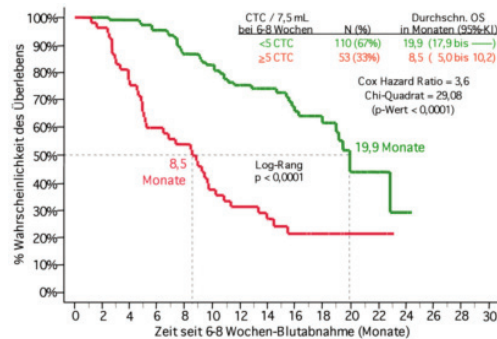


Abbildung 28: OS von MPC-Patienten 6-8 Wochen nach Behandlungsbeginn

A. CTC nach 6-8 Wochen



B. $\geq 30\%$ PSA-Reduzierung nach 6-8 Wochen

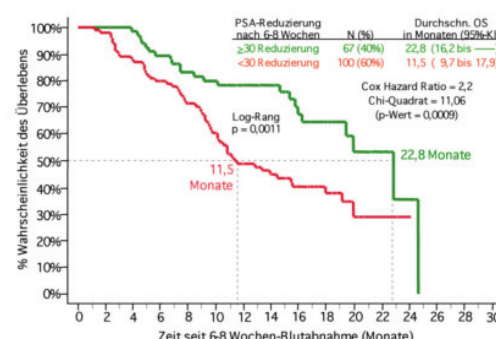
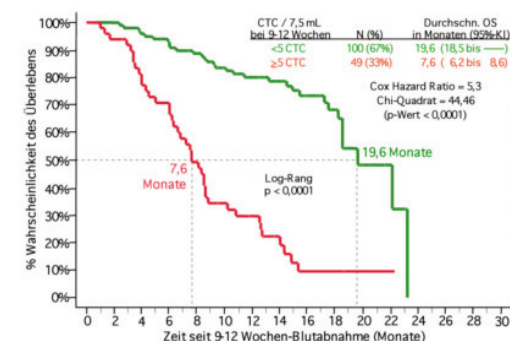


Abbildung 29: OS von MPC-Patienten 9-12 Wochen nach Behandlungsbeginn

A. CTC nach 9-12 Wochen



B. $\geq 30\%$ PSA-Reduzierung nach 9-12 Wochen

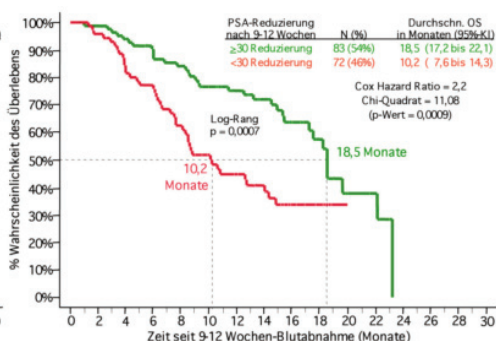
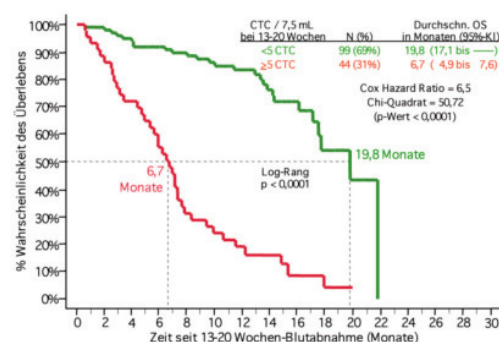


Abbildung 30: OS von MPC-Patienten 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn

A. CTC nach 13-20 Wochen



B. ≥30% PSA-Reduzierung nach 13-20 Wochen

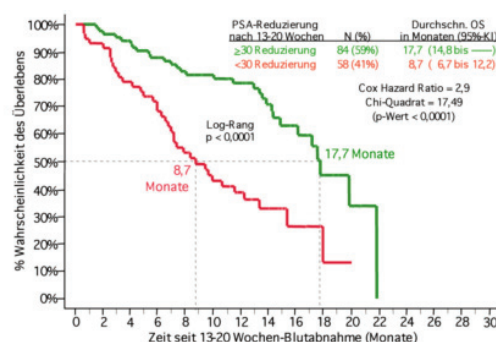


Tabelle 28 zeigt den Vergleich des Mittelwerts des Gesamtüberlebens zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Behandlung mittels CTC-Werten, einer 30%-PSA-Reduzierung und einer 50%-PSA-Reduzierung an.

Tabelle 28: Vergleich des durchschnittlichen OS zwischen vorteilhaften und unvorteilhaften CTC- und PSA-Reduzierungsgruppen.

Zeit Punkt	CTC / 7, 5 mL						30% PSA-Reduzierung ab Studienbeginn						50% PSA-Reduzierung ab Studienbeginn					
	N	≥5 (%)	Durchschn. OS		Log-Rang p-Wert	HR	N	<30 (%)	Durchschn. OS		Log-Rang p-Wert	HR	N	<50 (%)	Durchschn. OS		Log-Rang p-Wert	HR
			≤5	≥5					≥30%	<30%					≥50%	<50%		
2-5 Wochen	203	39%	20,7	9,5	<0,0001	4,5	207	71%	17,2	15,2	0,3653	1,2	207	83%	17,5	16,2	0,5599	1,2
6-8 Wochen	163	33%	19,9	8,5	<0,0001	3,6	167	60%	22,8	11,5	0,0011	2,2	167	75%	22,8	14,4	0,0117	2,1
9-12 Wochen	149	33%	19,6	7,6	<0,0001	5,3	155	46%	18,5	10,2	0,0007	2,2	155	59%	19,6	10,8	0,0006	2,3
13-20 Wochen	143	31%	19,8	6,7	<0,0001	6,5	142	41%	17,7	8,7	<0,0001	2,9	142	46%	17,7	9,9	0,0001	2,6

Die Daten in **Abbildung 27** bis **Abbildung 30** und in **Tabelle 28** zeigen einen sehr bedeutenden Unterschied des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit unvorteilhafter CTC und vorteilhafter CTC bei allen getesteten Zeitpunkten, während sich PSA-Messungen erst nach 6-8 Wochen nach Behandlungsbeginn als signifikant erwiesen. Obwohl die Unterschiede des durchschnittlichen OS zwischen den vorteilhaften (≥30% oder ≥50% PSA-Reduzierung seit Studienbeginn) und unvorteilhaften (<30% oder <50% PSA-Reduzierung seit Studienbeginn) PSA-Reduzierungsgruppen signifikant waren, schien die Unterteilung der vorteilhaften (<5 CTC) und unvorteilhaften (≥5 CTC) CTC-Gruppen bedeutender zu sein und war signifikant bei allen Zeitpunkten nach Behandlungsbeginn.

3.4.2 Übereinstimmungen zwischen CTC und PSA-Änderungen bei MPC-Patienten

Derzeitig wird allgemein eine ≥30% oder ≥50%-Reduzierung des PSA angewendet, um die Krankheitsprogression bei Patienten mit metastatischem Prostatakrebs einzuschätzen. Daher wurden 2x2-Tabellen der übereinstimmenden und nicht übereinstimmenden Ergebnisse zwischen dem CTC-Wert und Änderungen des PSA für jeden Zeitpunkt nach dem Behandlungsbeginn zusammengefasst, um den Zusammenhang zwischen CTC und Änderungen des PSA zu bestimmen. Auch wenn Vergleiche des CTC-Werts und der Änderungen des PSA in beiden Größenordnungen ausgerechnet wurden, wird nur über die Daten des CTC vs. ≥30% PSA-Änderung berichtet. Dieser Entschluss wurde bezüglich einer kürzlich erschienenen Veröffentlichung getroffen (*J Nat Ca Inst* 98 (8):p.516-521, 2006), wobei bewiesen wurde, dass ein 3-Monate-Rückgang des PSA um 30% eher mit einem niedrigeren Todesrisiko in Verbindung stand als ein 50%-Rückgang des PSA. Außerdem konnten keine bedeutenden Unterschiede der Positiven Übereinstimmung, Negativen Übereinstimmung und Gesamtübereinstimmung bei jeglichen der untersuchten Zeitpunkten mittels der Ergebnisse des Pro-Patient-Vergleichs und Pro-Beobachtungs-Vergleichs von den 30% und 50% PSA-Reduzierungen vs. CTC-Analysen bewiesen werden.

Bei insgesamt 197, 159, 146 und 138 Patienten wurden Serum-Proben vom zentralen Labor analysiert, was zu auswertbaren CTC-Ergebnissen jeweils 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn führte. Um den Behandlungserfolg eines Patienten zu bestimmen, wurde die Änderung des Prozentsatzes des PSA vom Ausgangswert für jeden einzelnen der Zeitpunkte nach Behandlungsbeginn ausgerechnet. Bezüglich der PSA-Änderungen zu jedem Zeitpunkt wurde die vorteilhafte Gruppe als Patienten mit einer ≥30%-Reduzierung des PSA und die unvorteilhafte Gruppe als Patienten mit einer <30%-Reduzierung des PSA definiert. Für den CTC-Wert zu jedem Zeitpunkt wurde die vorteilhafte Gruppe als Patienten mit <5 CTC pro 7,5 mL Blut und die unvorteilhafte Gruppe als Patienten mit ≥5 CTC definiert.

Da die CTC vs. PSA-Ergebnisse der Pro-Patient-Vergleiche zwischen CTC und einer ≥30% PSA-Reduzierung 2-5 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn jeweils die bedeutendste Nichtübereinstimmung und Übereinstimmung aufwiesen, werden diese Daten jeweils in **Tabelle 29** und **Tabelle 30** dargestellt.

Tabelle 29: Pro-MPC-Patient-Vergleich zwischen CTC und 30% PSA-Reduzierung nach 2-5 Wochen

% Reduzierung des PSA seit Studienbeginn 2-5 Wochen Nach Behandlungsbeginn	CTC 2-5 Wochen nach Behandlungsbeginn		Insgesamt
	<5 CTC / 7,5 mL	≥5 CTC / 7,5 mL	
≥30% PSA-Reduzierung	50	11	61
<30% PSA-Reduzierung	69	67	136
Insgesamt	119	78	197

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	49%	41%	58%
Negative Übereinstimmung (%)	82%	70%	91%
Positiver Vorhersagewert	86%	76%	93%
Negativer Vorhersagewert	42%	33%	51%
Gesamtübereinstimmung	59%	52%	66%
Odds Ratio	4,4	2,1	9,2

Tabelle 30: Pro-MPC-Patient-Vergleich zwischen CTC und 30% PSA-Reduzierung nach 13-20 Wochen

% Reduzierung des PSA seit Studienbeginn 13-20 Wochen Nach Behandlungsbeginn	CTC 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn		Insgesamt
	<5 CTC	≥5 CTC	
≥30% PSA-Reduzierung	72	9	81
<30% PSA-Reduzierung	23	34	57
Insgesamt	95	43	138

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	60%	46%	72%
Negative Übereinstimmung (%)	89%	80%	95%
Positiver Vorhersagewert	79%	64%	90%
Negativer Vorhersagewert	76%	66%	84%
Gesamtübereinstimmung	77%	69%	84%
Odds Ratio	11,8	4,9	28,3

Die Ergebnisse eines Pro-Beobachtungs-Vergleichs von CTC- und PSA-Änderungen durch Anwendung eines ≥30%-Reduktionsschwellenwerts kombiniert 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 nach Behandlungsbeginn werden in **Tabelle 31** angezeigt.

Tabelle 31: MPC-Pro-Beobachtungs-Vergleich der CTC und der 30%-PSA-Reduzierung.

% Reduzierung des PSA seit Studienbeginn Nach Behandlungsbeginn	CTC nach Behandlungsbeginn		Insgesamt
	<5 CTC	≥5 CTC	
≥30% PSA-Reduzierung	243	41	284
<30% PSA-Reduzierung	175	181	356
Insgesamt	418	222	640

Messung	Schätzung	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
Positive Übereinstimmung (%)	51%	46%	56%
Negative Übereinstimmung (%)	86%	81%	89%
Positiver Vorhersagewert	82%	76%	86%
Negativer Vorhersagewert	58%	53%	63%
Gesamtübereinstimmung	66%	62%	70%
Odds Ratio	6,1	4,1	9,1

Die allgemeine Übereinstimmung zwischen CTC und PSA-Änderungen bei den verschiedenen Zeitpunkten nach dem Behandlungsbeginn lag bei 59% bis 77%, wenn mit einer ≥30% PSA-Reduzierung verglichen, und bei 52% bis 75%, wenn mit einer ≥50% PSA-Reduzierung verglichen, was darauf hinweist, dass eine Nichtübereinstimmung zwischen dem CTC-Wert und der PSA-Änderung bei ~25% bis 40% der Patienten zu finden ist.

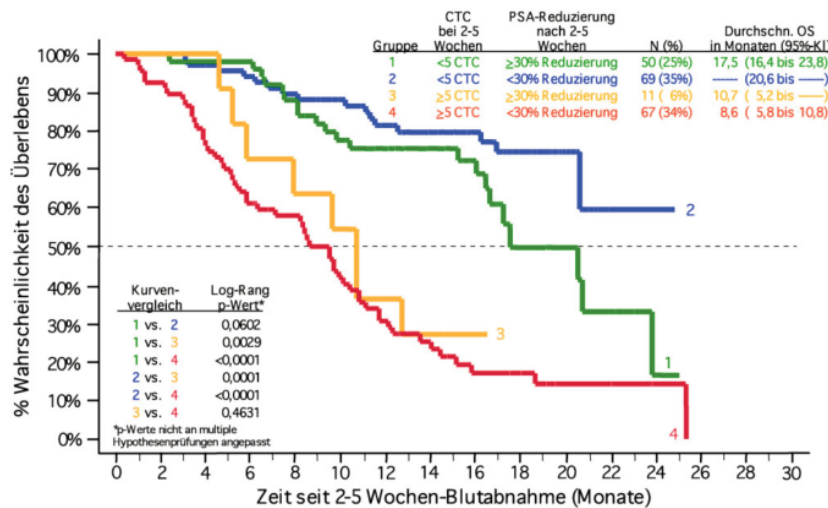
3.4.3 CTC-Werte und PSA-Reduzierung kombiniert, um das OS bei MPC-Patienten vorherzusagen

Um festzustellen, welches der nichtübereinstimmenden Ergebnisse besser die Prognose des Patienten widerspiegelt, wurden CTC-Bewertung und Änderung des PSA 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn mit dem Gesamtüberleben verglichen. Die vergangene OS-Zeit wurde ab dem Zeitpunkt der Ausgangs-Blutabnahme berechnet. Für die Kaplan-Meier-Analyse, gezeigt in **Abbildung 31 (Panel A, B, C und D)** wurden die Patienten entsprechend ihren CTC-Werten und PSA-Reduzierungen 2-5 Wochen, 6-8 Wochen, 9-12 Wochen und 13-20 Wochen nach Behandlungsbeginn in vier Gruppen eingeteilt:

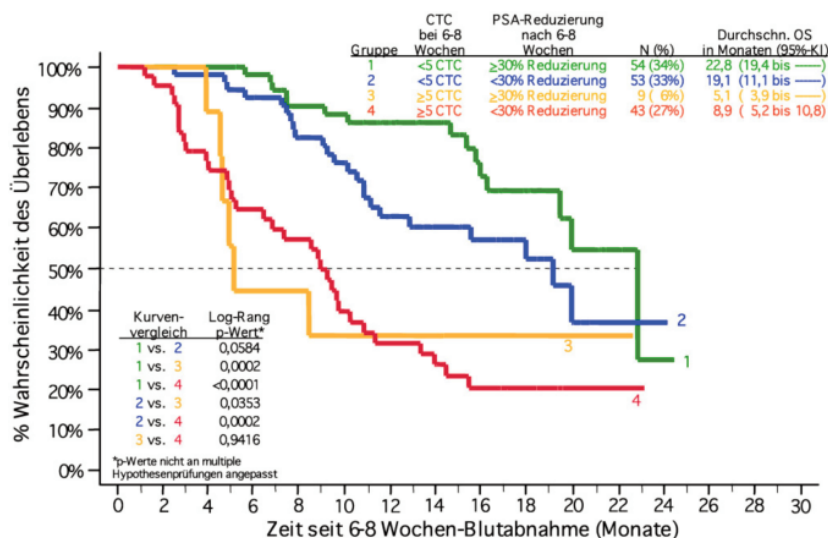
- Gruppe 1 (**grüne** Kurve), Patienten mit <5 CTC während der Untersuchung und $\geq 30\%$ Reduzierung des PSA vom Ausgangswert bis zur Untersuchung;
- Gruppe 2 (**blaue** Kurve), Patienten mit <5 CTC während der Untersuchung und <30% Reduzierung des PSA vom Ausgangswert bis zur Untersuchung;
- Gruppe 3 (**orange** Kurve), Patienten mit ≥ 5 CTC während der Untersuchung und $\geq 30\%$ Reduzierung des PSA vom Ausgangswert bis zur Untersuchung;
- Gruppe 4 (**rote** Kurve), Patienten mit ≥ 5 CTC während der Untersuchung und <30% Reduzierung des PSA vom Ausgangswert bis zur Untersuchung;

Abbildung 31: CTC-Werte und PSA-Änderungen Kombiniert, um das OS 2-5 Wochen (Panel A), 6-8 Wochen (Panel B), 9-12 Wochen (Panel C) und 13-20 Wochen (Panel D) Nach Behandlungsbeginn vorherzusagen

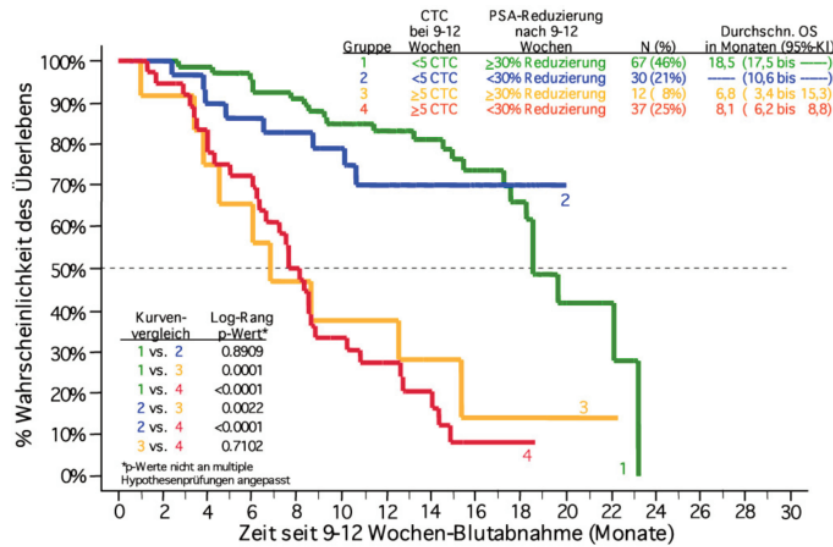
A. 2-5 Wochen



B. 6-8 Wochen



C. 9-12 Wochen



D. 13-20 Wochen

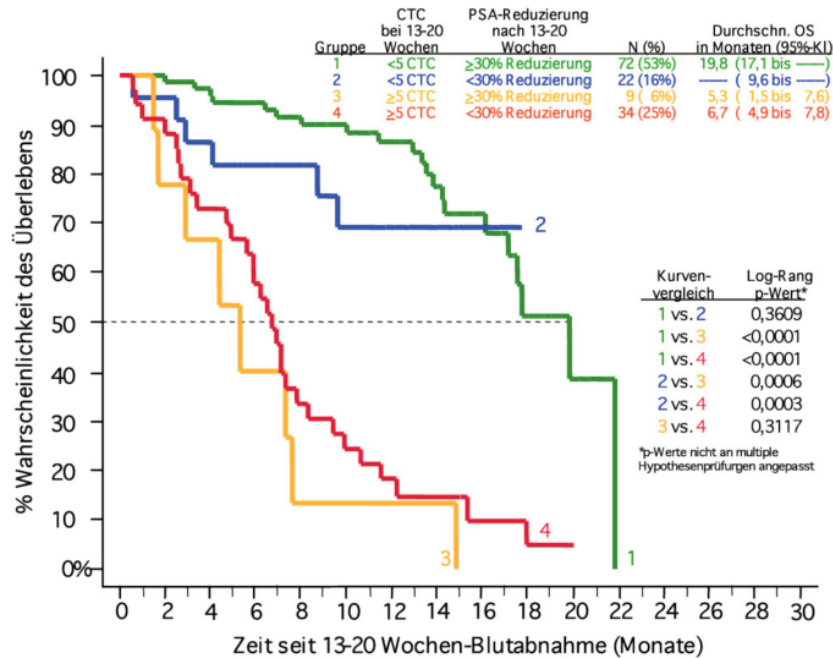


Abbildung 31 zeigt, dass bei Patienten mit ≥ 5 CTC zu irgendeinem Zeitpunkt nach Behandlungsbeginn ein signifikant höheres Risiko bestand, früher zu sterben, ungeachtet der PSA-Werte seit Studienbeginn. Patienten mit Werten von ≥ 5 CTC bei allen Zeitpunkten (**Gruppe 3** und **Gruppe 4**) hatten die kürzesten Durchschnitts-Gesamtüberleben, welche sich nicht bedeutend voneinander unterscheiden. Allerdings war der OS-Mittelwert dieser beiden Gruppen bedeutend anders als der OS-Mittelwert von Patienten mit < 5 CTC zu allen Zeitpunkten (**Gruppe 1** und **Gruppe 2**). Diese beiden Gruppen (**Gruppe 1** und **Gruppe 2**) hatten die längsten Durchschnitts-Gesamtüberleben, welche sich nicht bedeutend voneinander unterscheiden. Die wichtige Feststellung in **Abbildung 31** angezeigt ist, dass eine Reduzierung des PSA bei manchen Punkten nach Behandlungsbeginn für die Überlebensvorhersage wichtig sein könnte, aber eine vorteilhafte CTC war zu jedem Zeitpunkt präziser als die PSA-Bewertung. Die praktische Auswirkung ist die Anwendung der CTC-Analyse für die Einschätzung der Überlebenswahrscheinlichkeit von MPC-Patienten. In den Fällen, in denen CTC und PSA voneinander abwichen, ermöglichte die CTC die zutreffendsten Einschätzungen der Prognose.



Menarini Silicon Biosystems Inc.
3401 Masons Mill Road, Suite 100
Huntingdon Valley, PA 19006
USA
documents.cellsearchctc.com
Telefon: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)

CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II® und AUTOPREP® sind eingetragene Marken von Menarini Silicon Biosystems Inc. Diese Technologie, einschließlich Produkte und/oder hierin beschriebene, damit verbundene Komponenten, Verfahren und Geräte sind geschützt durch US-Patente und entsprechende internationale Patente sowie angemeldete Patente mit einer oder mehreren der folgenden US-Patentnummern: 6,136,182; 6,551,843; 6,623,982; 6,790,366; 7,011,794 und 7,332,288.

SYMBOLLEGENDE

Die folgenden Symbole wurden gegebenenfalls in dieser Gebrauchsanweisung oder zur damit verbundenen Kennzeichnung verwendet.



Verwendbar bis
JJJJ-MM-TT oder JJJJ-MM



Loscode



Seriennummer



Achtung! Beigefügte Dokumente beachten



Herstellungsdatum



Hersteller



Inhalt ausreichend für $n >$ Tests



Warnhinweis



Artikelnummer



Autorisierte Vertretung in der EU



Temperaturbereich



Biologische Gefahren



Gebrauchsanweisung lesen



In-vitro-Diagnostikum

Menarini Silicon Biosystems SpA
Via Giuseppe Di Vittorio 21B/3
40013 Castel Maggiore (Bologna)
Italy



Menarini Silicon Biosystems Inc.
3401 Masons Mill Road, Suite 100
Huntingdon Valley, PA 19006
USA
documents.cellsearchctc.com
Telefon: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)



MENARINI
silicon biosystems

