



Wirkstoff-Testung an zirkulierenden Tumorzellen am Beispiel Maintrac- Test und RGCC-Test

Dr. Reinhard Probst
München

www.praxisprobst.de

Response Rate bei metastasierten Tumoren



- Im Schnitt sprechen nur 30% der Tumoren auf das leitliniengerechte Chemotherapie-Schema an

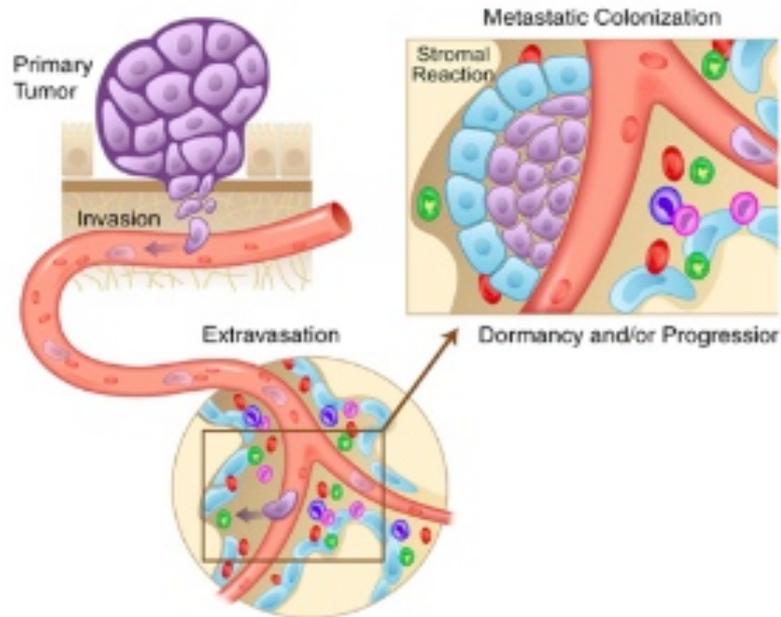
Weissman DE and von Gunten CF. Fast Facts and Concepts #99.
Chemotherapy: response and survival data. October 2003.



Liquid Biopsy

- Die Messung zirkulierender Tumorzellen (CTC's) ist sensitiver und unkomplizierter als bildgebende Verfahren:
 - Rezidiverkennung
 - Tumorreste nach Behandlung
 - Nachweis von Resistenzen während der Behandlung
- Wird überwiegend nicht eingesetzt
- Quelle: Krebsinformationsdienst

Circulating Tumor Cells from solid tumors



- Carcinomas are from **epithelial origin**
- Carcinomas **dissiminate** epithelial cells
- ⇒ **CETCs**
(circulating **epithelial** tumor cells)



Zirkulierende Tumorzellen

- Werden noch Monate oder Jahre nach einer Operation oder Therapie im Blut gefunden



Chemosensitivity Testing of Circulating Epithelial Tumor Cells (CETC) *in Vitro*: Correlation to *in Vivo* Sensitivity and Clinical Outcome

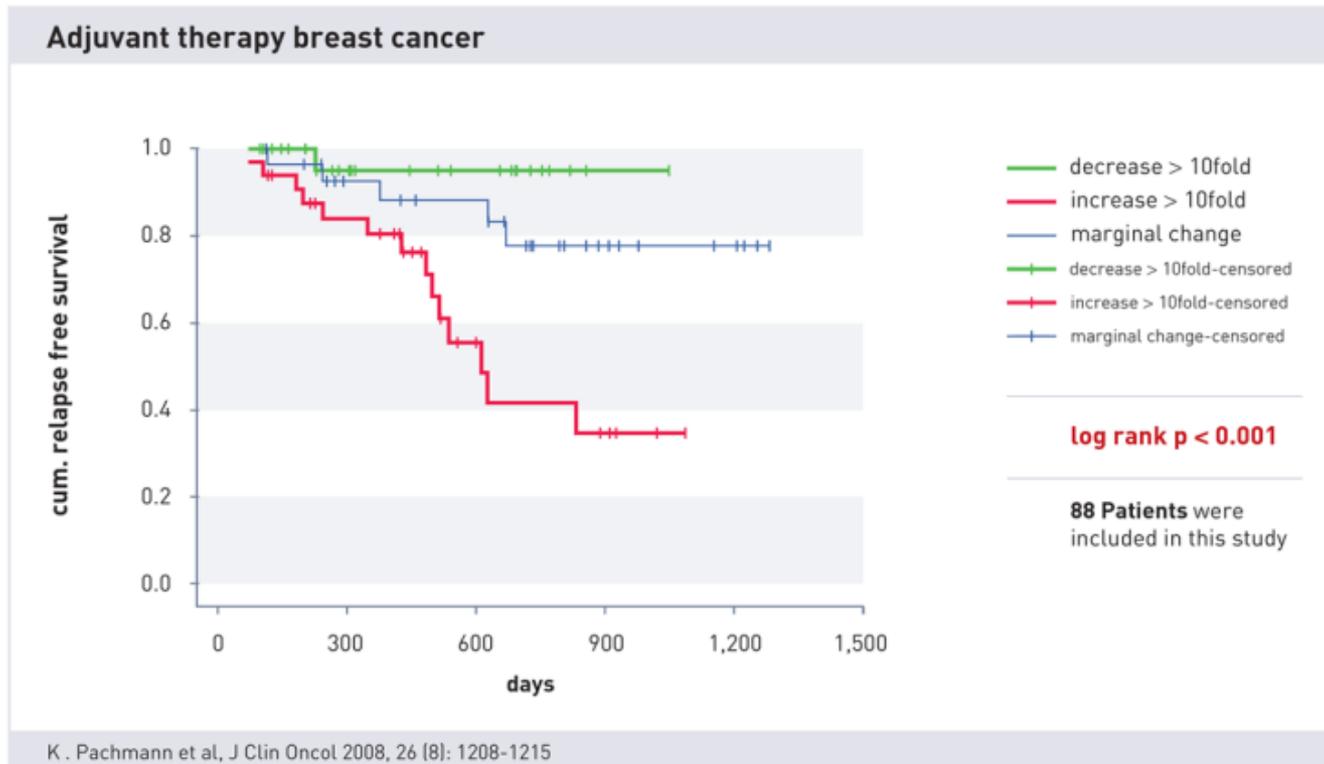
**Nadine Rüdiger¹, Ernst-Ludwig Stein², Erika Schill², Gabriele Spitz², Carola Rabenstein²,
Martina Stauch³, Matthias Rengsberger⁴, Ingo B. Runnebaum⁴, Ulrich Pachmann²,
Katharina Pachmann^{1,2*}**

¹Clinic for Internal Medicine II, University Hospital, Friedrich Schiller University, Jena, Germany; ²Transfusionsmedizinisches Zentrum, Bayreuth, Germany; ³Onkologische Schwerpunktpraxis, Kronach, Germany; ⁴Women's Hospital, University Hospital, Friedrich Schiller University, Jena, Germany.

Email: *kpachmann@laborpachmann.de

Received February 25th, 2013; revised March 26th, 2013; accepted April 2nd, 2013

Ergebnis der adjuvanten Chemotherapie



Steigende
Zellzahlen
korrelieren
hochsignifikant mit einer
ungünstigen
Prognose

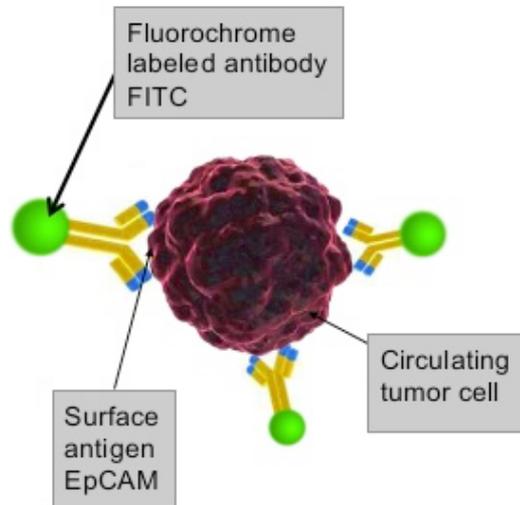


Maintrac-Test – Methode

- Mikroskopische Methode zur Bestimmung von CTC's



Markierung mit Antikörper

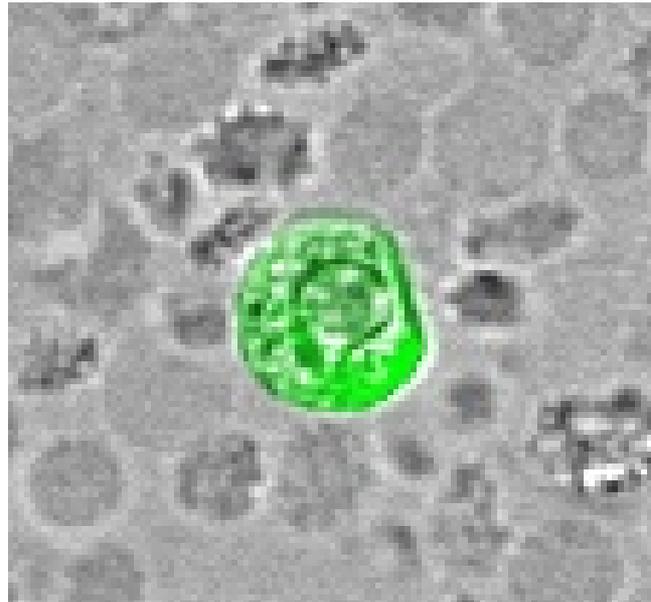


=**NO** cell loss



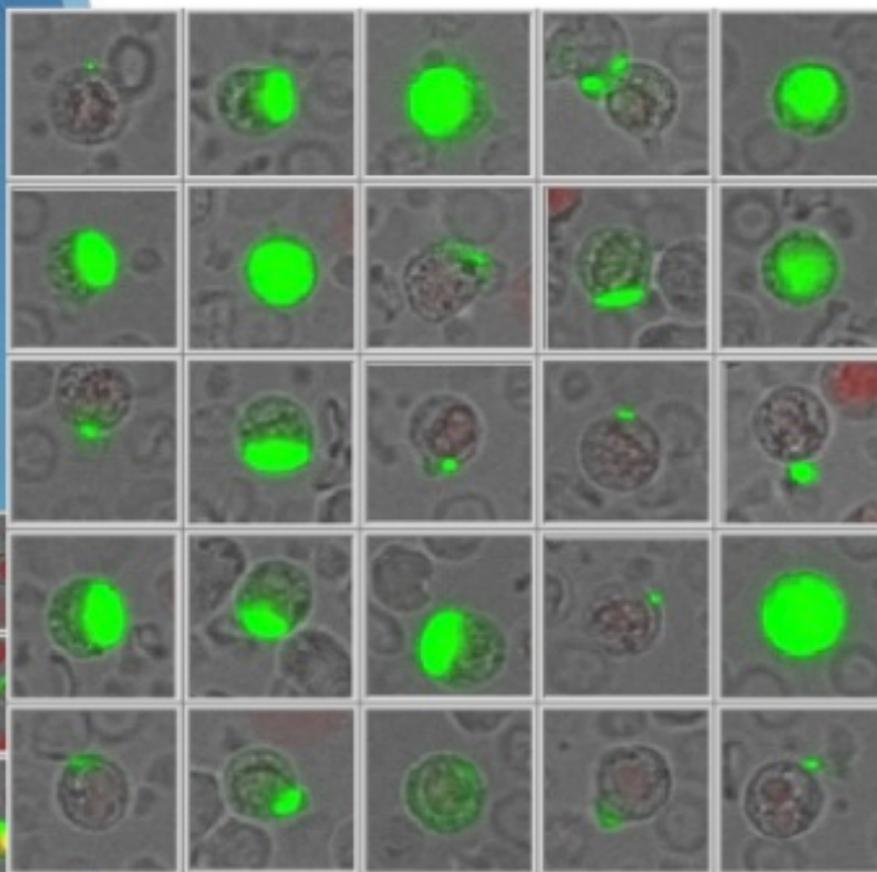
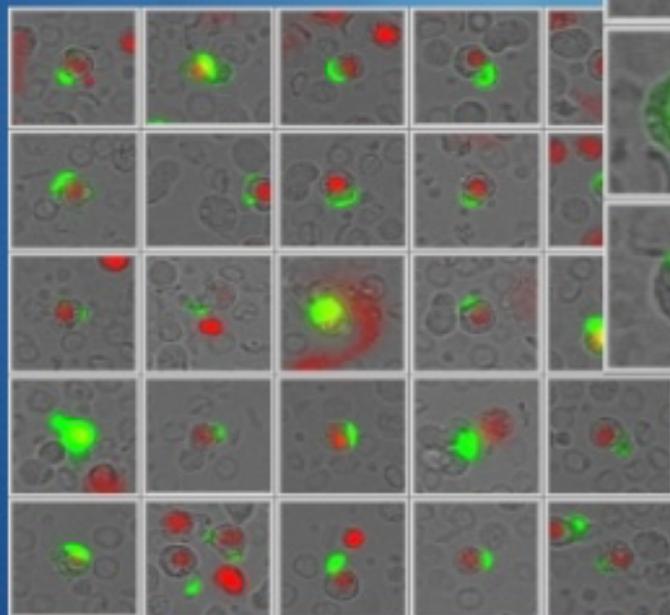


Typische vitale EpCAM-positive Zelle





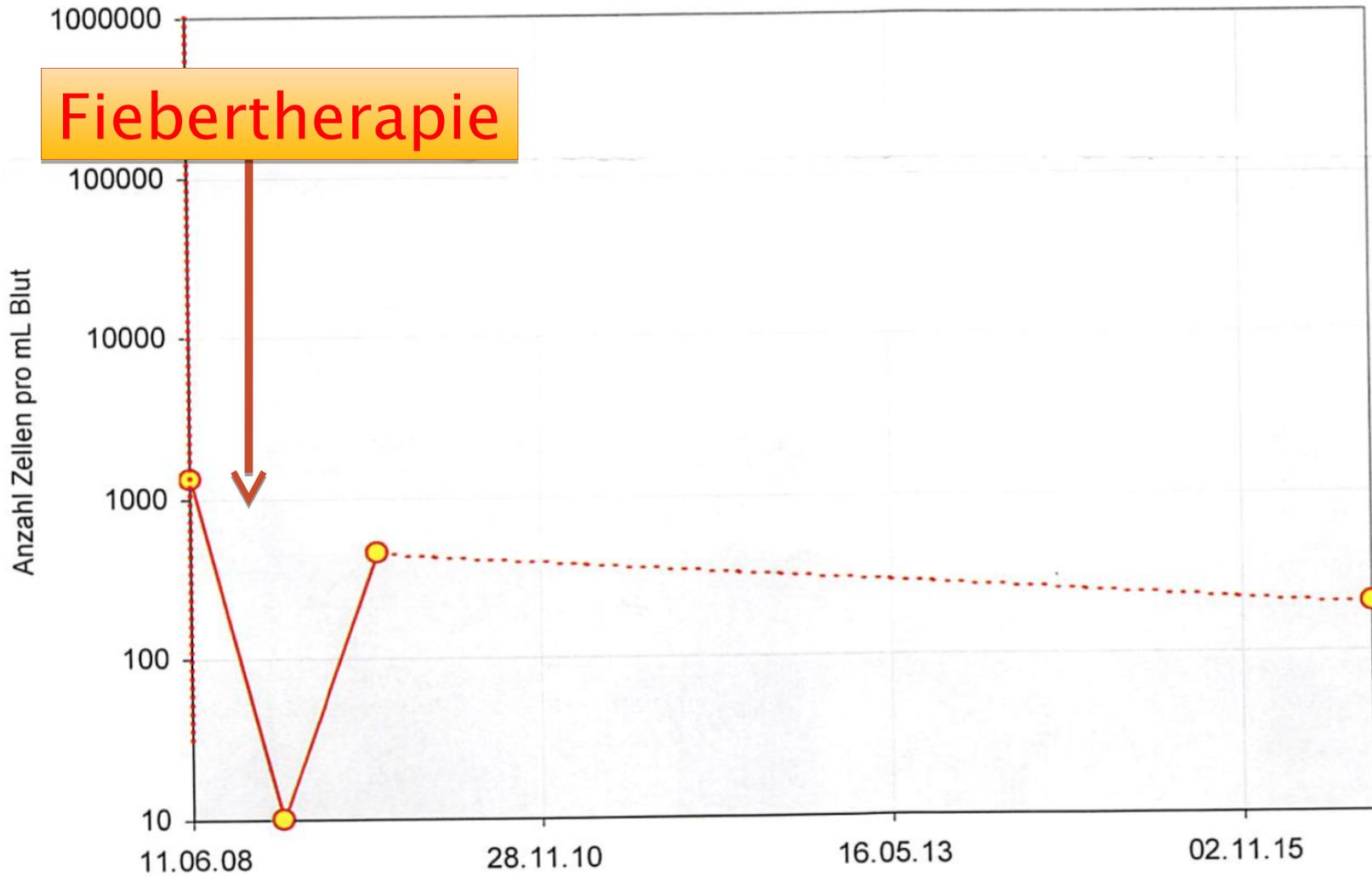
Cell gallery of a patient



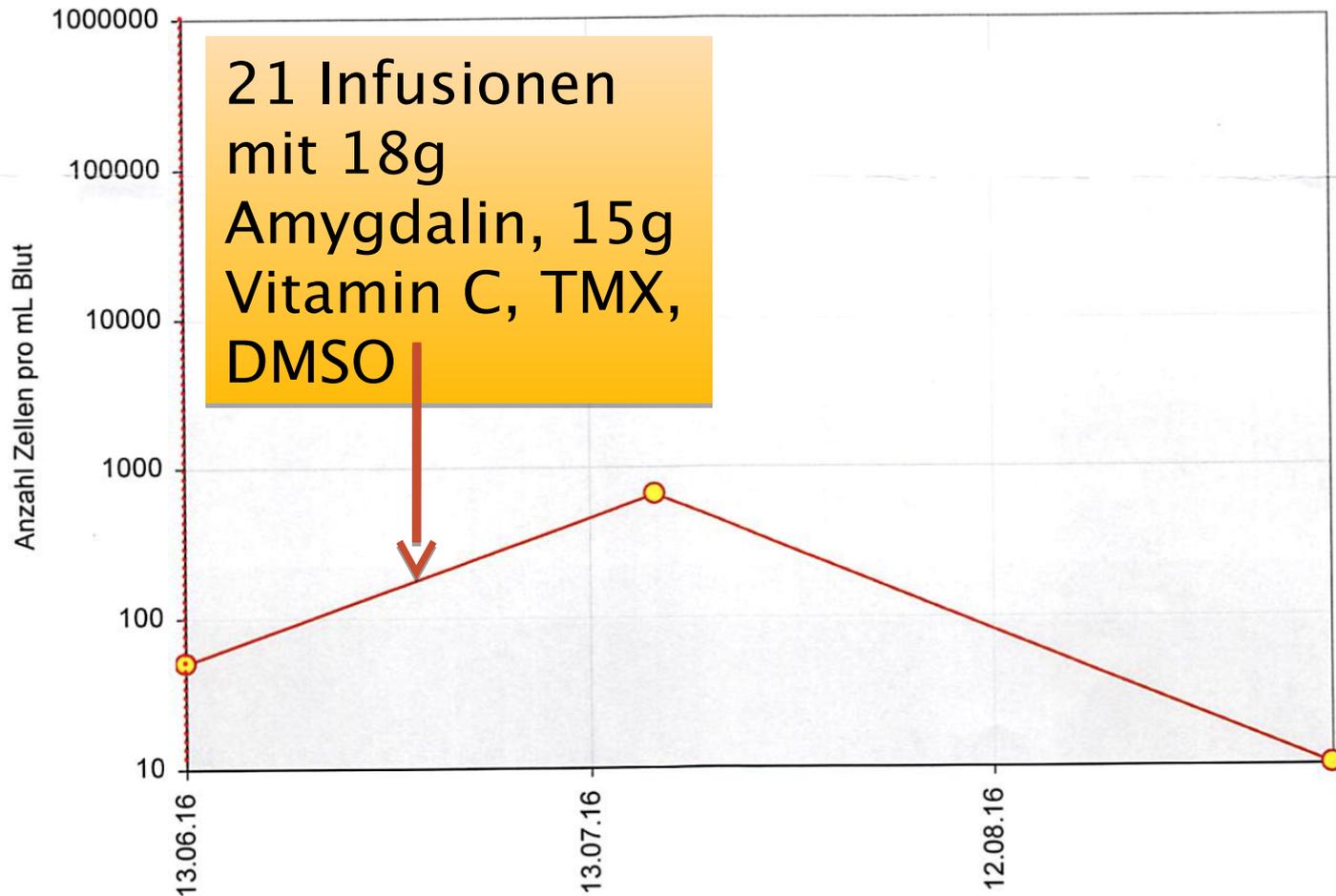
red stained nucleus
= dead cell



Therapiekontrolle

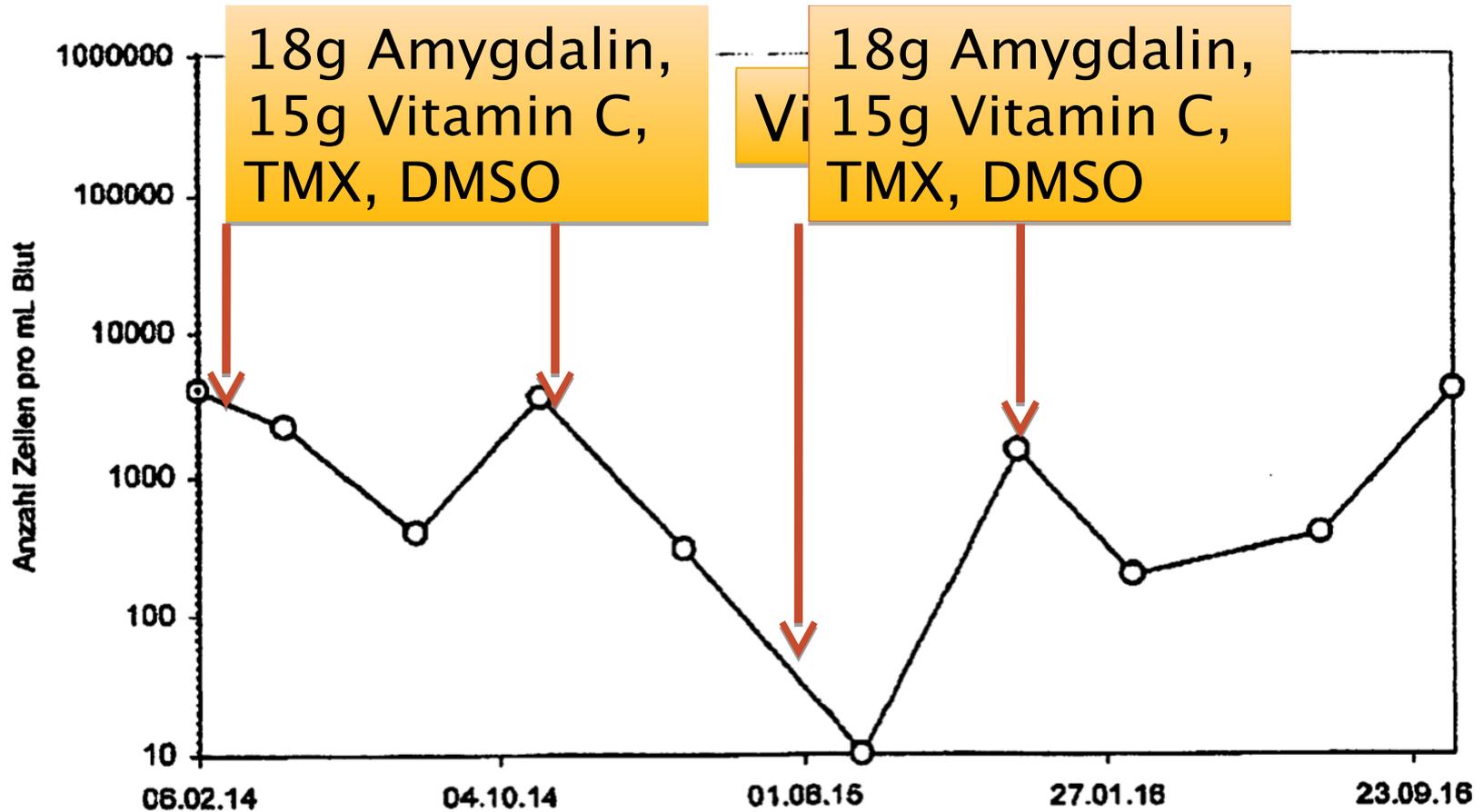


Lokales Mammakarzinom nach OP, øCTx, øRTx, ø Antihormontherapie

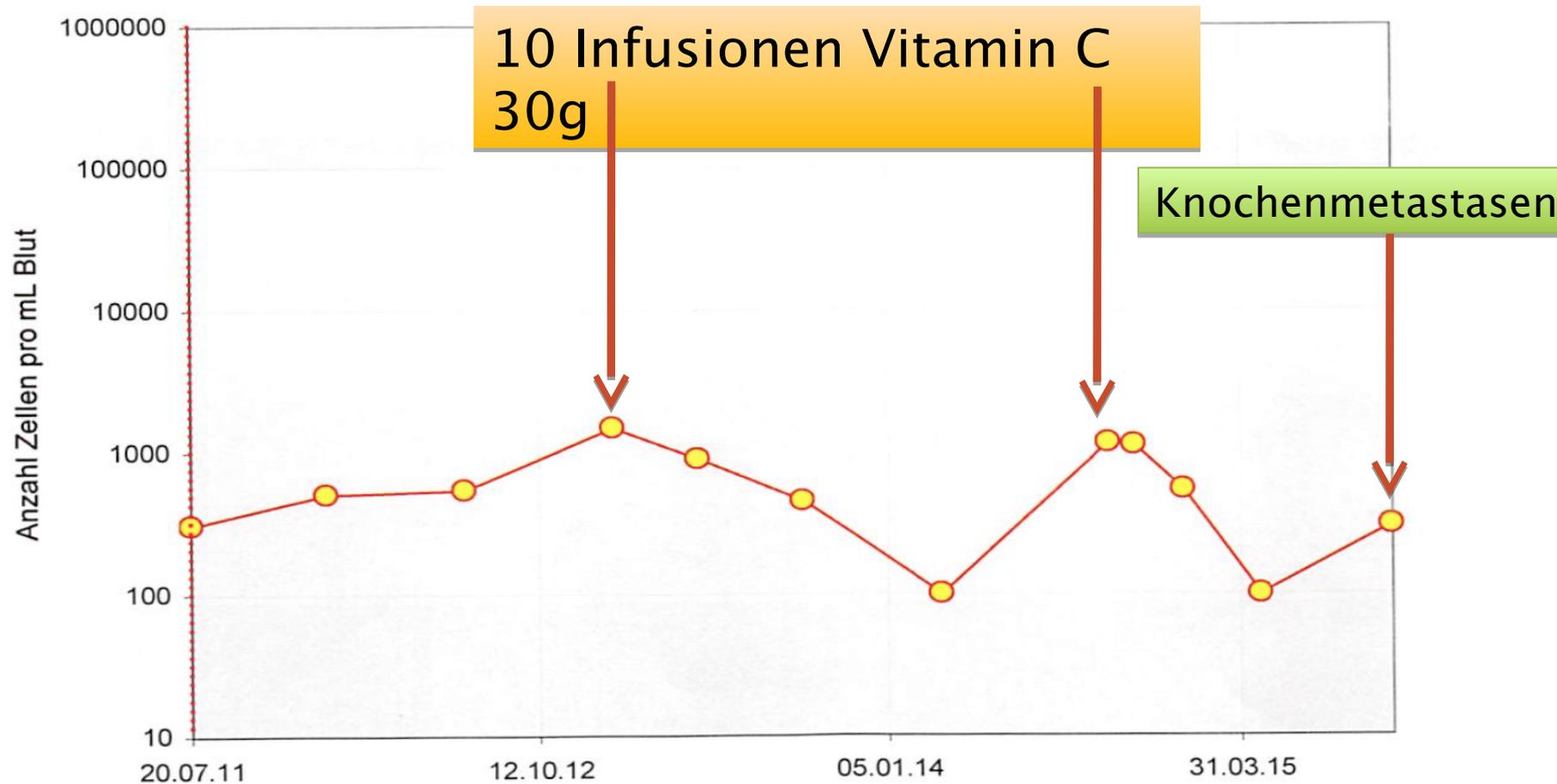




Lokales Mammakarzinom, OP; nur RTx



Lokales Mammakarzinom, OP, nur RTx



Maintrac Test: CTC Bestimmung- Beurteilung



Kosten 208€

Pro

- Zur Überprüfung einer Therapie
- Kontrolle Langzeitverlauf

Contra

- Bei schnell wachsenden Tumoren manchmal CTC Abfall!
- Kann nicht sicher Rezidive entdecken



Maintrac Wirkstofftestung bei MM

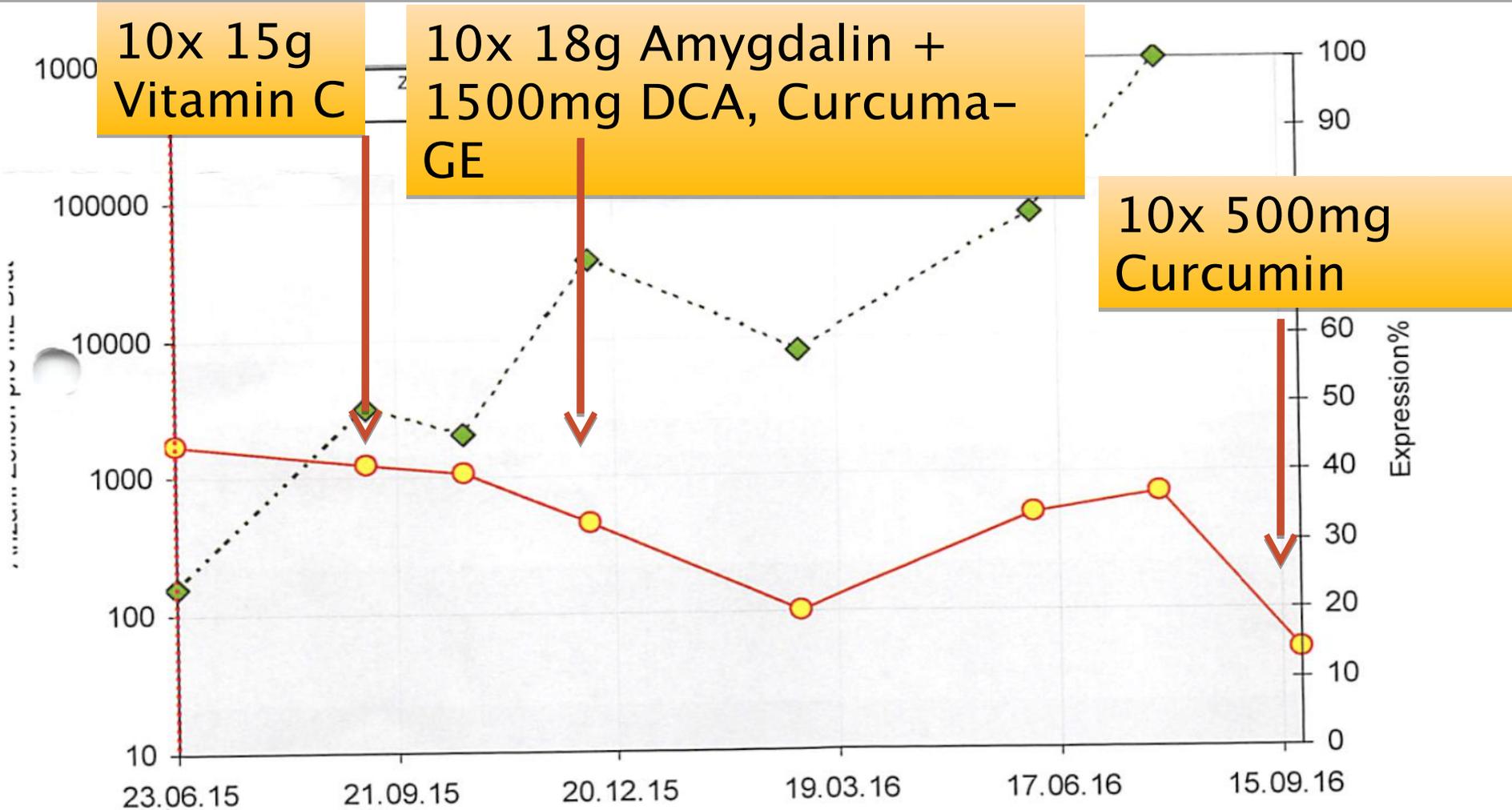
Zusatzuntersuchungen: Melanonzellen (MM) / ...

Untersuchungsparameter	Anzahl Epithelzellantigen(HEA)-positiver Zellen			Zellfragmente
	in der Probe	im Kreislauf(5l) (in Millionen)	Bei Zusatzuntersuchungen: %der HEA-pos. Zellen	
HEA	1 700	8,50		viele
Mel A	405	2,02	23,8%	

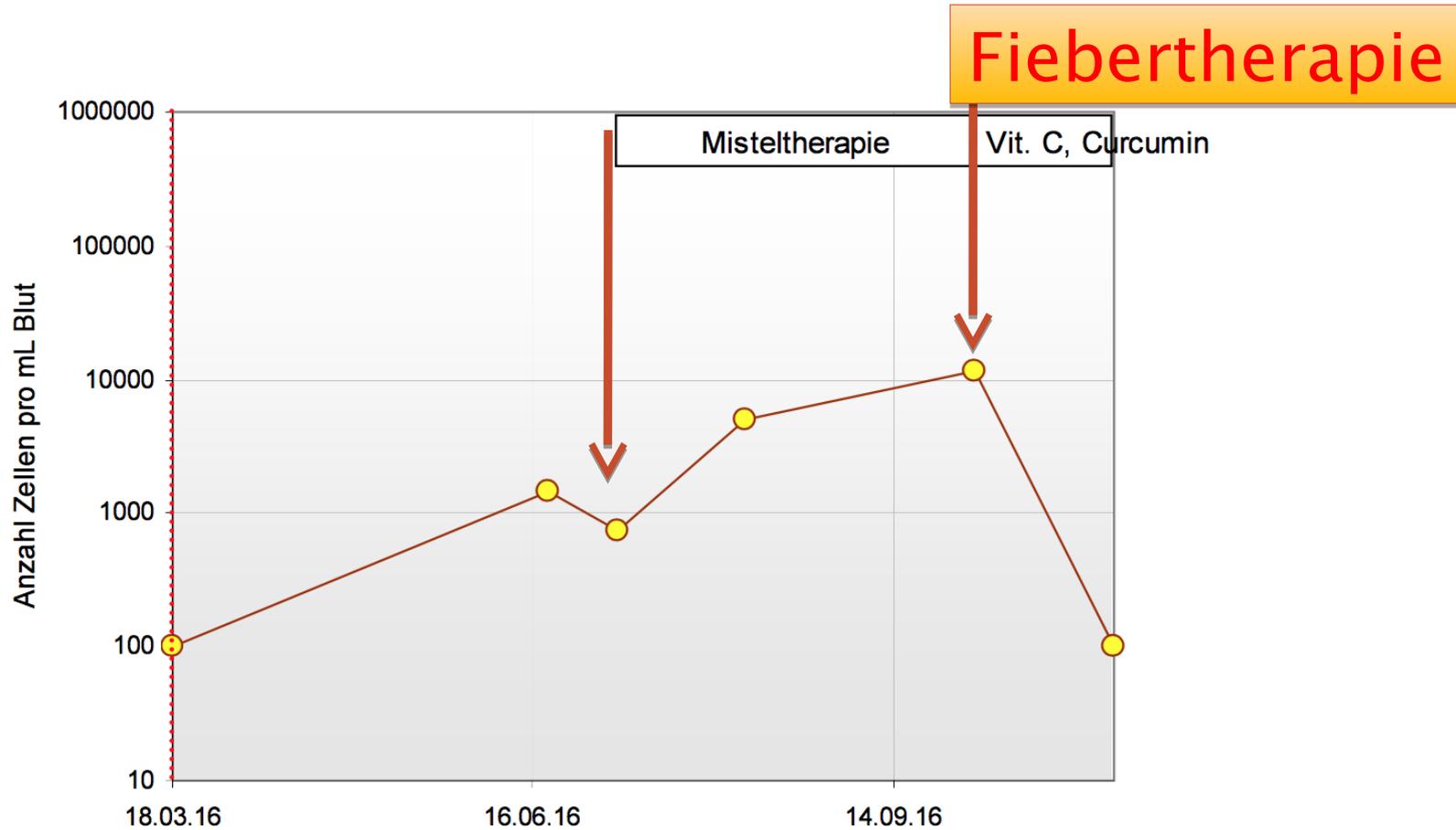
Konzentrations- und Zeit- abhängige spezifische in-vitro-Vitalitätsreduktion (%) in Gegenwart eutherapeutischer Konzentrationen von				
Curcuma	90	Artesunat	95	optimal ist eine Reduktion von 100 % in der Kurzzeit-Zellkultur
Vitamin C	65	Amygdalin+ DCA	95	



Malignes Melanom



Prostatakarzinom: PSA Erhöhung nach OP





Maintrac Test: Wirkstofftestung

Kosten € 300

Pro

- Gezielte Therapie

Contra

- Hohe Kosten (Wirkstoffe, Rezeptoren etc.)
- Begrenzte Untersuchungsmöglichkeit der Zellen



Biologische Wirkstoffe

- Amygdalin
- Curcumin
- Vitamin C
- Dichloroacetate
- Artesunate
- DMSO
- Misteltherapie
- Organische Säuren
- Active Fever Therapy



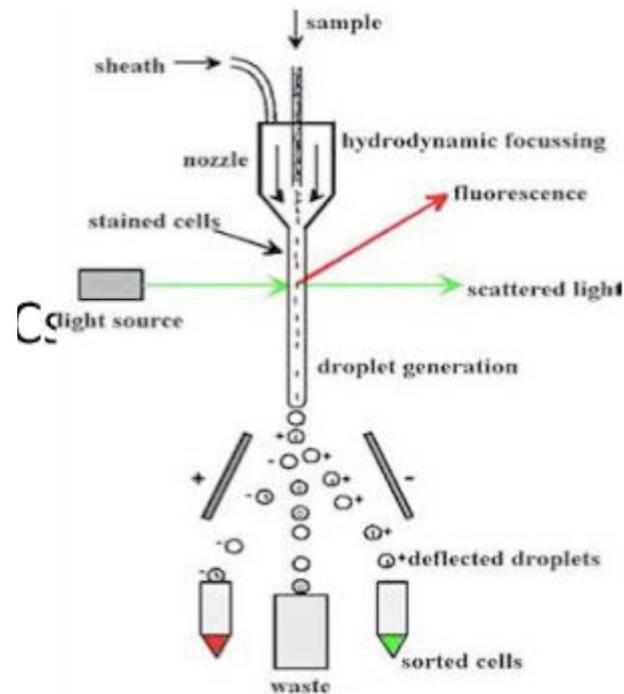
ole

• Metformin usw.



RGCC Test – Methode

- Durchfluss-Zytometrie
- Negativ-Selektion



ONCOCOUNT	CTC NUR ANZAHL	Oncocount	550 €
ONCOTRACE	CTC ANZAHL & IMMUNOPHENOTYPE	Oncotrace	650 €
BRUST ONCOTRAIL	FÜR BRUST CA CTC ANZAHL & IMMUNOPHENOTYPE	Brust	625 €
PROSTATA ONCOTRAIL	FÜR PROSTATA CA CTC ANZAHL & IMMUNOPHENOTYPE	Prostata	625 €
DICKDARM ONCOTRAIL	FÜR COLOREKTALE CA CTC ANZAHL & IMMUNOPHENOTYPE	Dickdarm	625 €
MELANOMA ONCOTRAIL	FÜR MELANOMA CA CTC ANZAHL & IMMUNOPHENOTYPE	Melanom	625 €
LUNGE ONCOTRAIL	FÜR LUNGE (SCLC NSCLC) CTC ANZAHL & IMMUNOPHENOTYPE	Lunge	625 €
SARKOM ONCOTRAIL	FÜR SARKOM CTC ANZAHL & IMMUNOPHENOTYPE	Sarkom	625 €
GI (gastrointestinal) ONCOTRAIL	FÜR GASTROINTESTINAL CARCINOMA	GI	625 €
ONCONOMICS	CHEMOSENSITIVITÄTSTEST FÜR ZYTOTOXISCHE WIRKSTOFFE	Chemo Agents	1600 €
ONCONOMICS PLUS	CHEMOSENSITIVITÄTSTEST FÜR ZYTOTOXISCHE WIRKSTOFFE & NATUR. SUBST.	Chemo agents Natural Substances Thalidomide	1900 €
ONCONOMICS EXTRACTS	SENSITIVITÄTSTEST NUR FÜR NATÜRLICHE SUBSTANZEN	Natural Substances Thalidomide	1400 €
IMMUNE-FRAME	PROFIL DER HUMORALEN UND CELLULAREN IMMUNITÄT UND KACHEXIA	Immunitäts Panel Test	800 €
METASTAT	MARKER FÜR CTCs DIE AUF DAS POTENTIELLE ORGAN FÜR DEN RÜCKFALL VERWEISEN	Metastasen Panel	800 €

Befun



R.G.C.C.-RESEARCH GENETIC CANCER CENTRE LTD



Florina, 23/09/2016

Dear Colleague,

We send you the results from the analysis on a patient Mr. Thomas Putz suffering from melanoma stage N/A. The sample that was sent to us for analysis was a sample of 20ml of whole blood that contained EDTA-Ca as anti-coagulant and packed with an ice pack.

In our laboratory we made the following:

- We isolated the malignant cells using Oncoquick with a membrane that isolates malignant cells from normal cells after centrifugation and positive selection using anti-CD63 as cell marker and negative selection using anti-CD45 particles.
- Then we developed forty six cell cultures in a fetal calf serum media. In each culture of the well plate we added a biological modifier substance [Quercetin, Super Artemisinin, Poly-MVA, C-statin, Ascorbic acid, Ukrain, Bio D Mulsion NuMedica Micellized D3, Aromat8-PN, Metformin, Salicinium, Fucoidan, Synergy K, BetaLoe, Okinawa Extracts, Okinawa Nano, Honopure, Graviola, Agaricus Blazei Murill, Butyric Acid, Berberine, Teavigo, Prostay, Scullcap, Curcumin (turmeric), Vitanox, Mistletoe, Amygdalin-(B17), Thymex, Salvestrol, Virxcan, RadoQOL, Hucoidan, Zyflamend, OPC, Lycopene, Paw-Paw, Indol 3 Carbinol, Melatonin, Naltrexone, Resveratrol, DCA (dichloroacetate), Genistein, Oleander Extract, Artecic, VasuStatin, Nattokinase] that is used in clinical application. Then we developed those cultures and we harvested a sample every 24 hours and made the following assays:
 - In the culture that contains all the substances we measure the apoptotic ability using the oncogen apoptosis kit.
 - In the culture that contains the ukrain we measure the inhibition of tyrosine kinase catalytic ability from the growth factor receptors (EGF-r, IGF-r) and the production of cytokines PMBC
 - In the culture that contains quercetin we measure the inhibition of EGF and IGF.
 - In the culture that contains indol-3-carbinol we measure the inhibition of VEGF and FGF and PDGF.
 - In the culture that contains the mistletoe we measure the inhibition of tyrosine kinase catalytic ability from the growth factor receptors (EGF-r, IGF-r) and the production of cytokines and the increase of PMBC.
 - In the culture that contains the ascorbic acid we measure the catalytic activity of GSH and GSSG (redox reaction) and the induction of cytochrome C (apoptosis).
 - In the culture that contains the PolyMVA we measure the catalytic activity of GSH and GSSG (redox reaction) and the induction of cytochrome C (apoptosis).
 - In the culture that contains the super artemisinin we measure the catalytic activity of GSH and GSSG (redox reaction) for free radical since super artemisinin binds free radicals with the iron molecule), the inhibition of VEGF, FGF and PDGF (since it acts to the angiogenesis cascade reactions) and the induction of cytochrome C (apoptosis).

Biologische Therapie bei fortgeschrittenen Tumoren



- Hohe Behandlungsfrequenz
- Meistens zu langsamer Wirkeintritt
- Häufige Therapieversager



Therapie notwendig

- Die schneller wirkt
- Ohne zu viele Nebenwirkungen
- An die mit biologischen Wirkstoffen kombiniert werden kann

IPT!



IPT

- Tumorzellen enthalten
 - Etwa 6x mehr Insulinrezeptoren an der Oberfläche
 - *Bis zu 20x höhere Nährstoffaufnahme als normale Zellen*
 - Etwa 10x IGF-Rezeptoren
 - *Zellen teilen sich*



Die Idee ist

- Den Tumor mit IPT zu verkleinern
- Und den Erfolg mit Biologischer Therapie halten

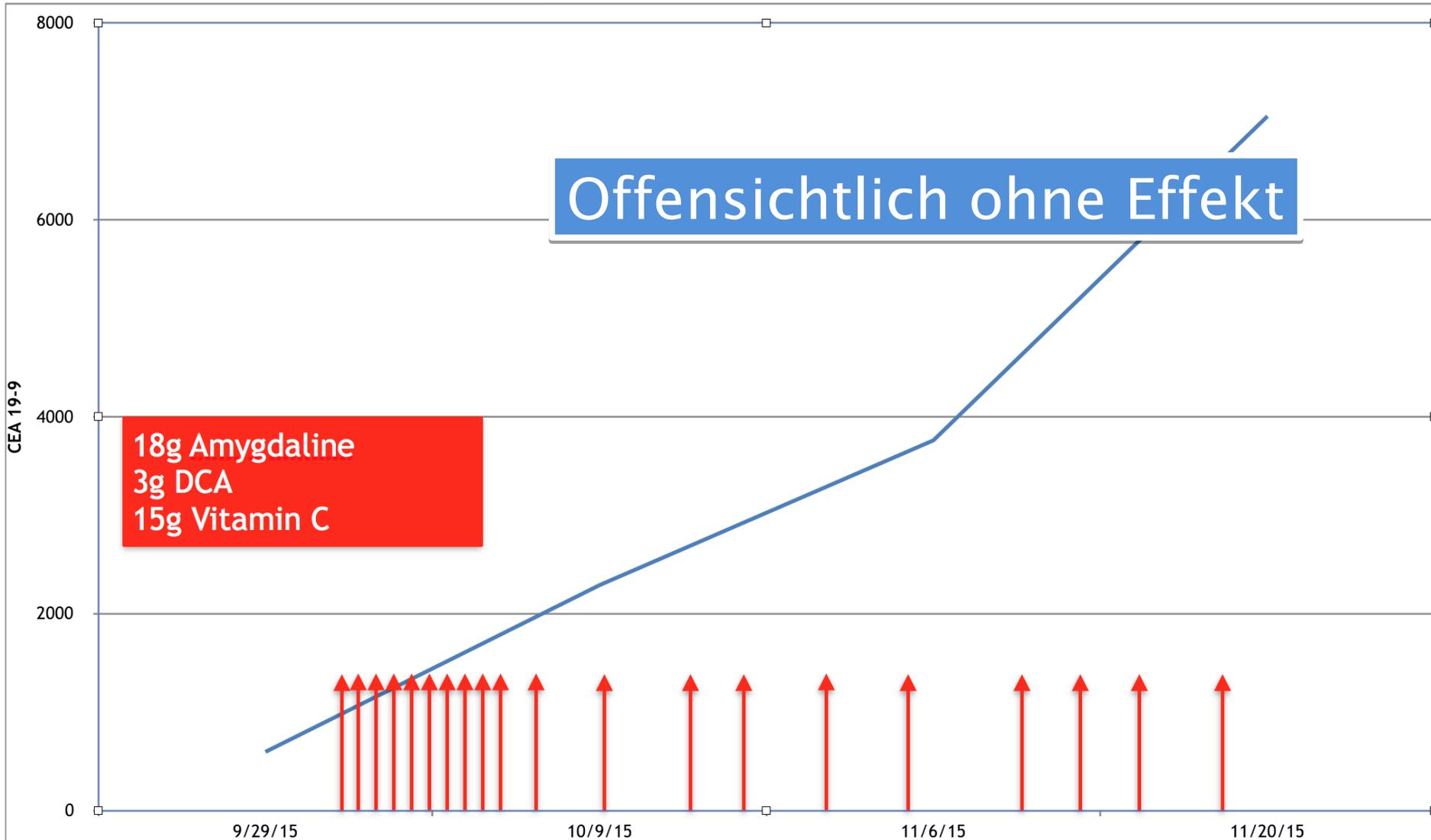


Mrs. Petra T., geb.1958

- **Pankreaskarzinom mit Lebermetastasen** (Mai 2015)
- Lehnt konventionelle Therapie ab
- Ab Sept /15 Behandlung in meiner Praxis



Biologische Therapie

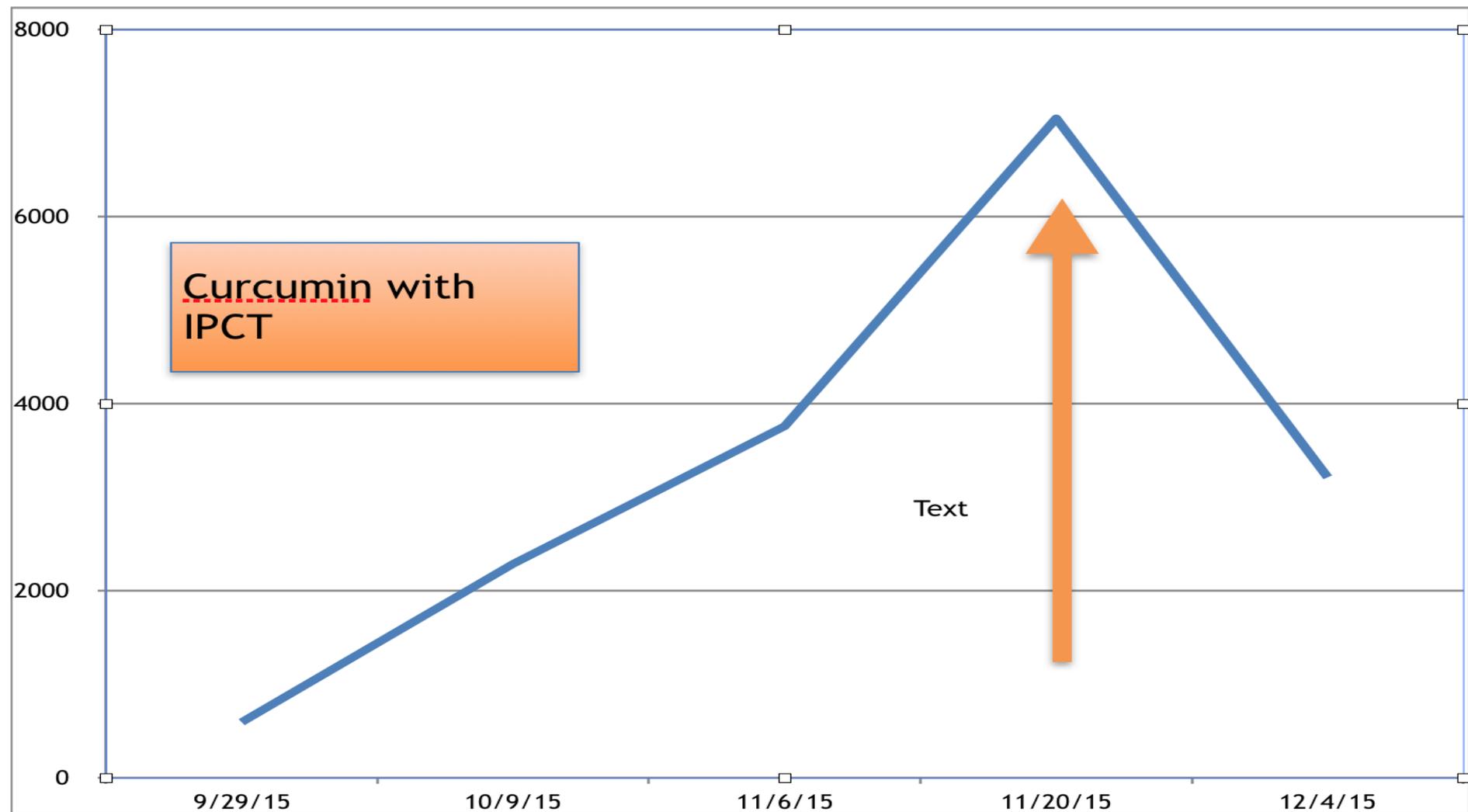




Idee: Curcumin mit IPT zu kombinieren

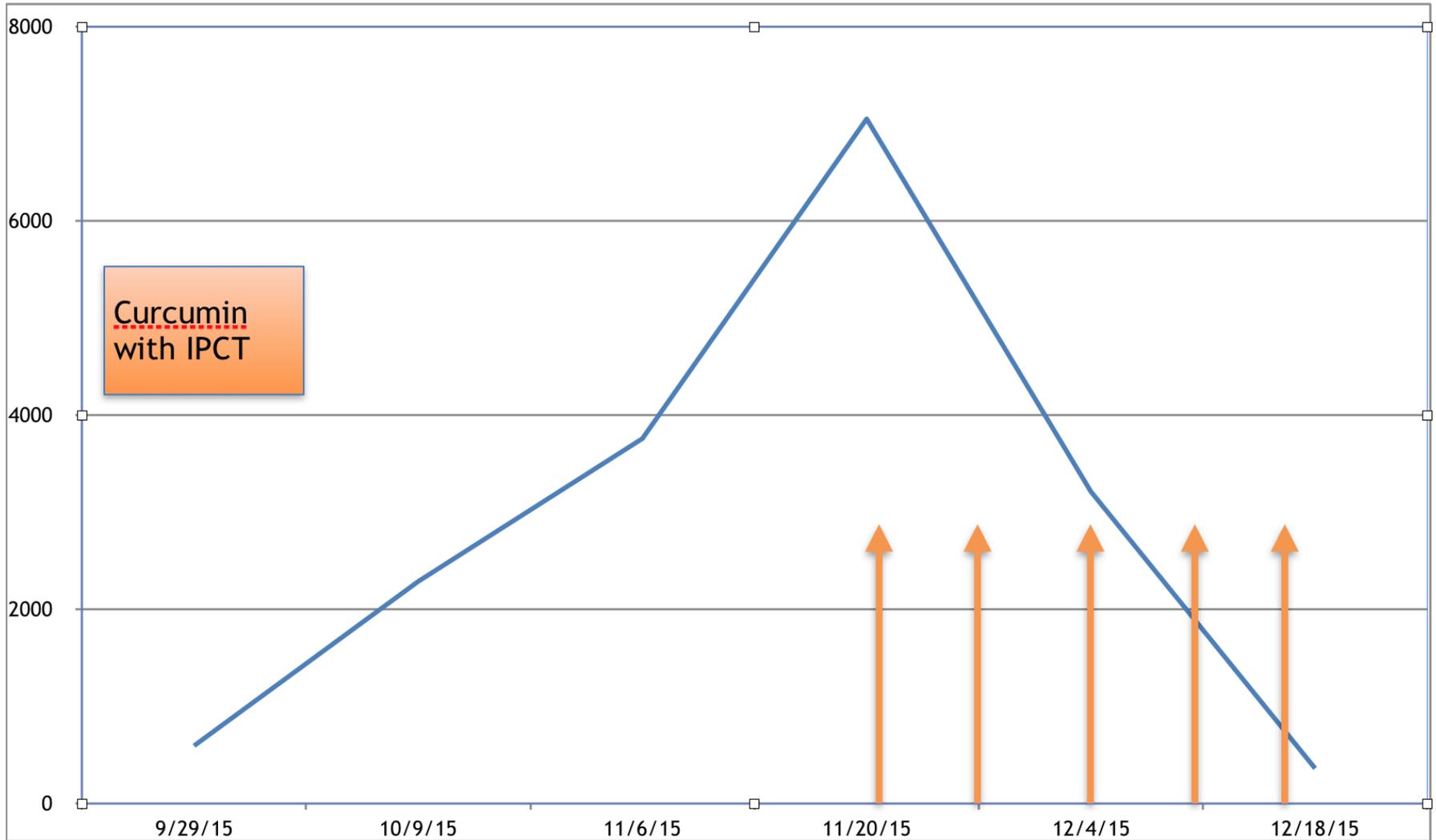
1. 30min 500mg Curcumin
2. BZ messen
3. Insulin
4. 150mg 5-FU, 2,5mg Mitomycin als Bolus
5. Weiter mit Curcumin

Nach 1 IPT 150mg 5-FU, 2,5mg Mitomycin, 500mg Curcumin



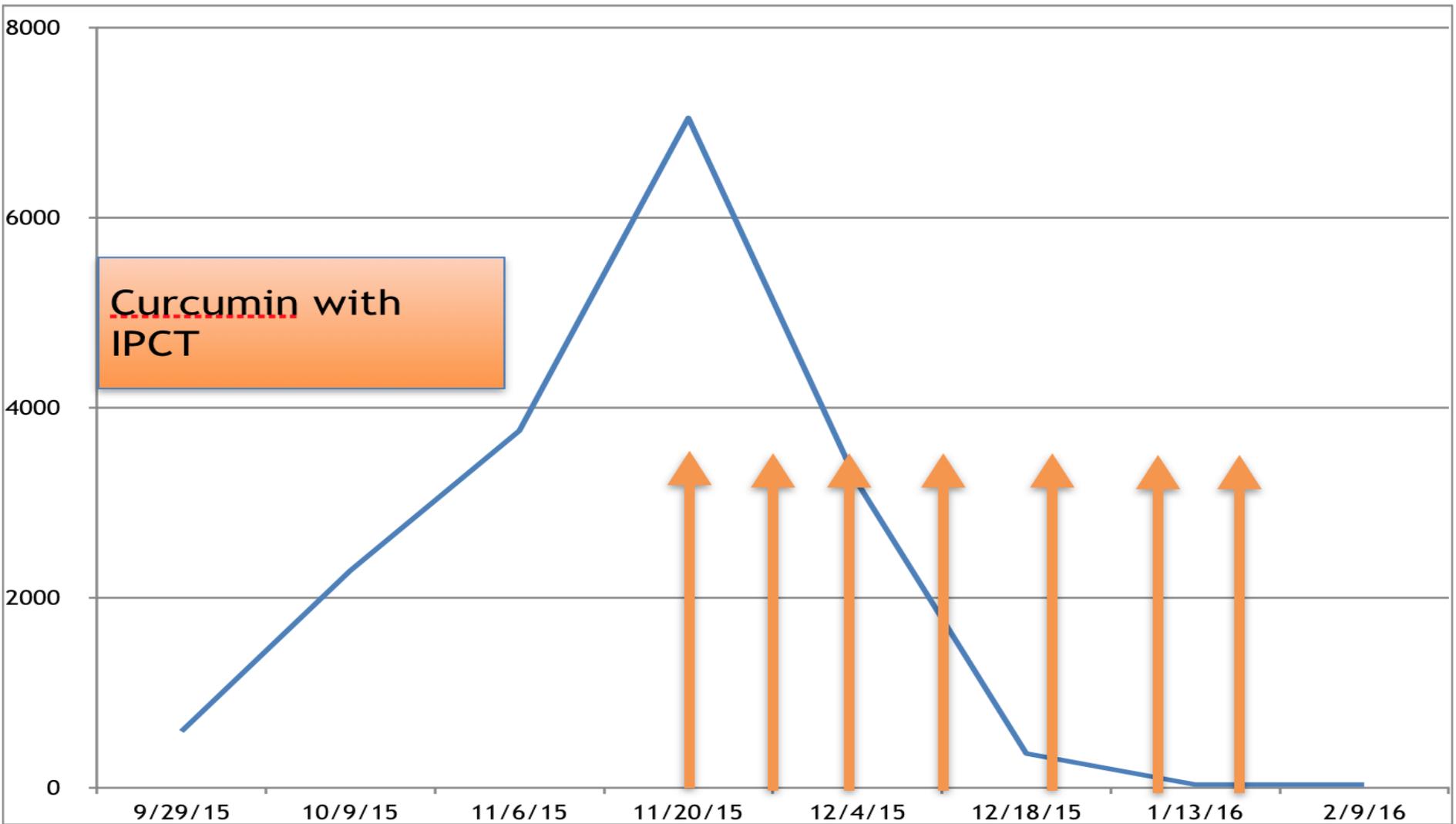


Nach 5 IPTs





Nach 7 IPTs





Radiologische
Abteilung
Alte Saline

Überörtliche Gemeinschaft

Thullen-Lukarsch, Petra, geb.

MRT Oberbauch vom 15.01.2016

Beurteilung:

Im Vergleich mit den externen Voraufnahmen zeigt sich die vorbeschriebene Raumforderung im Pankreaskopf deutlich größenrückläufig, ebenso die vorbeschriebene metastasenverdächtige Herdläsion im Lebersegment VIII. Der vormals aufgestaute Ductus Wirsungianus jetzt wieder deutlich schlanker, die intrahepatischen Gallenwege nicht geweitet. Einlegender Gallengangs-Stent, wohl zum Teil außerhalb des DHC verlaufend.

Mit freundlichen kollegialen Grüßen

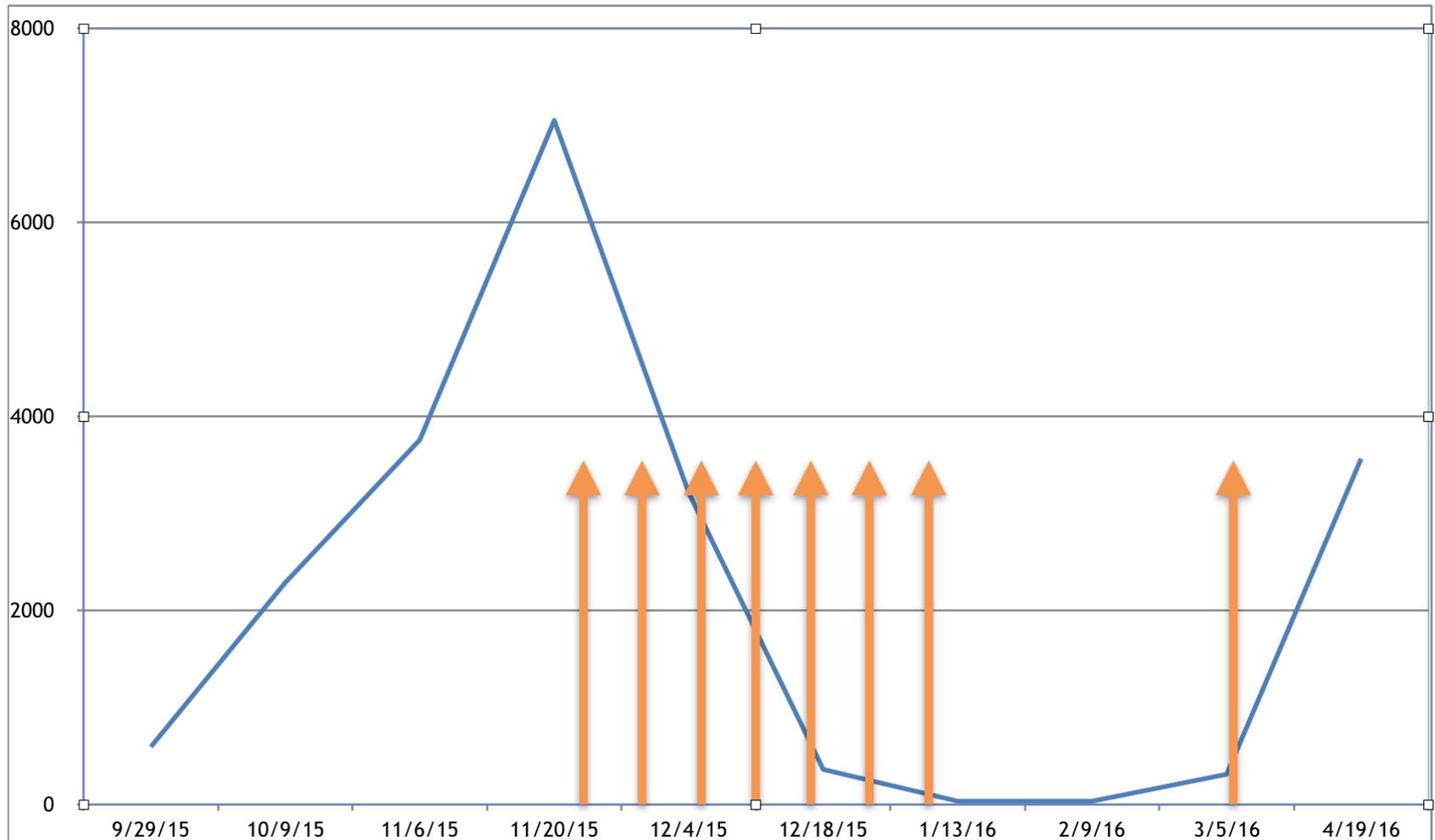
Dr. med. univ. Stephan Ortner

Bericht mittels EDV als Fax zubereitet und deshalb auch ohne Unterschrift gültig.

Sowohl die
Raumforderung im
Pankreas als auch die
Metastasen in der Leber
deutlich
größenrückläufig

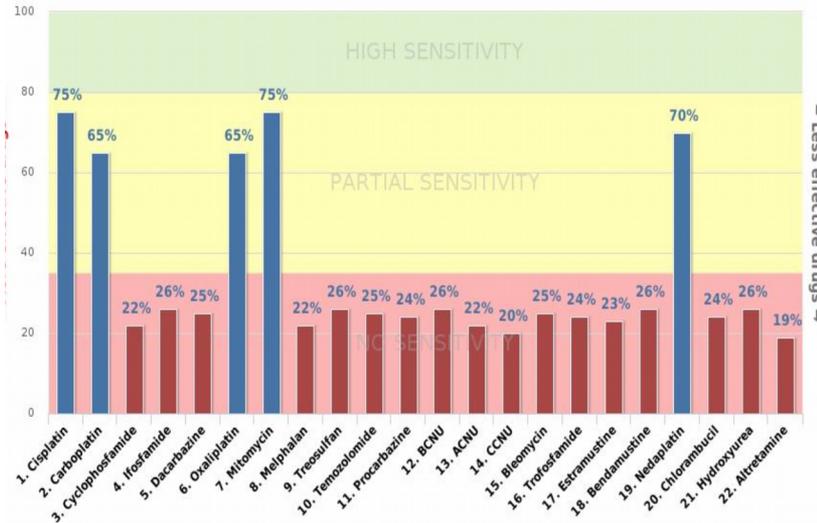


Nach Pause und einer weiteren IPT



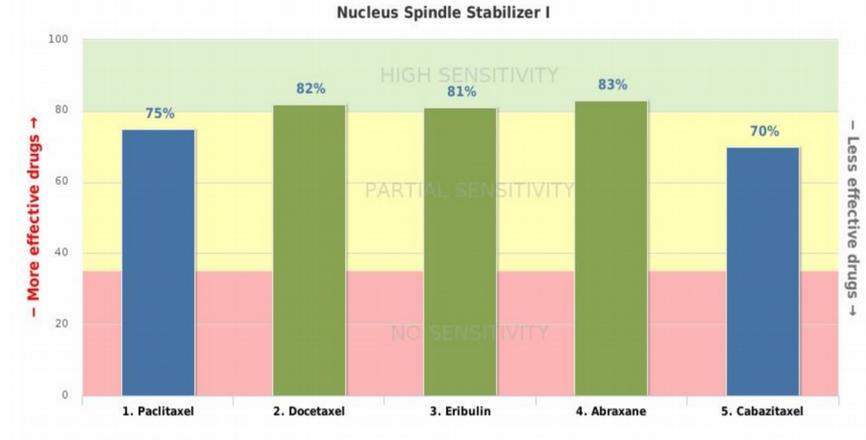


RGCC Test



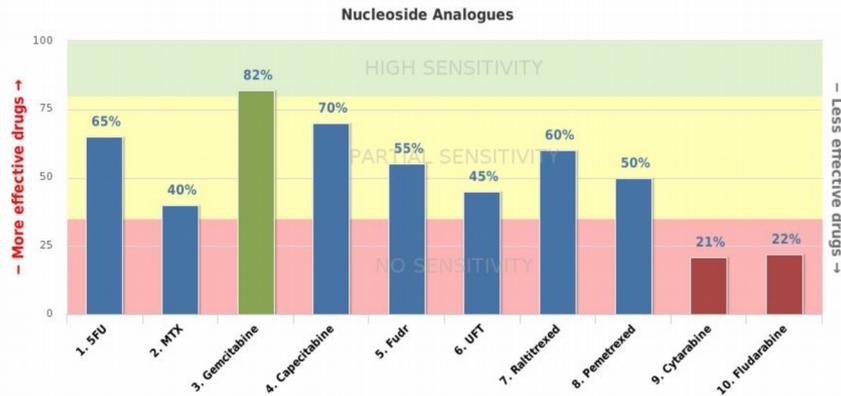
ONCOMICS ®

4 / 12

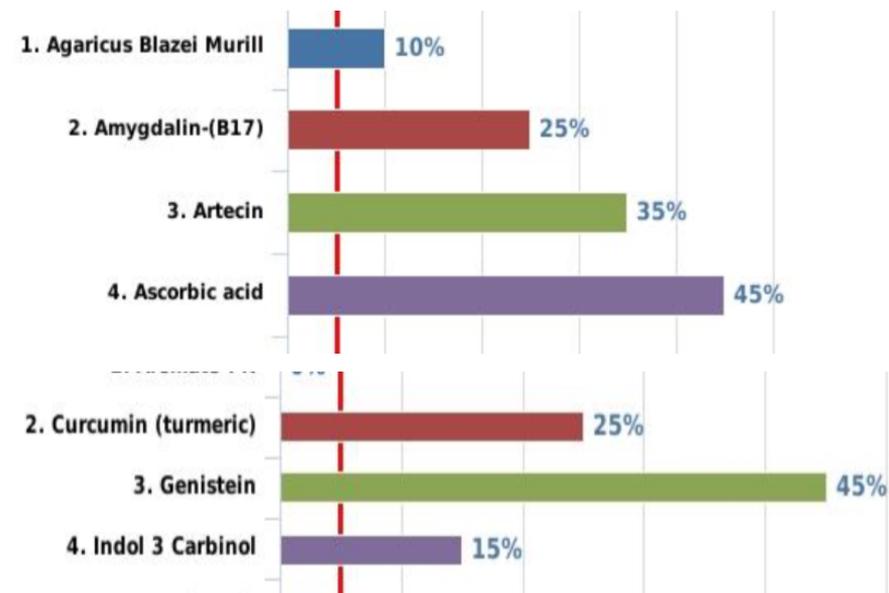


ONCOMICS ®

5 / 12



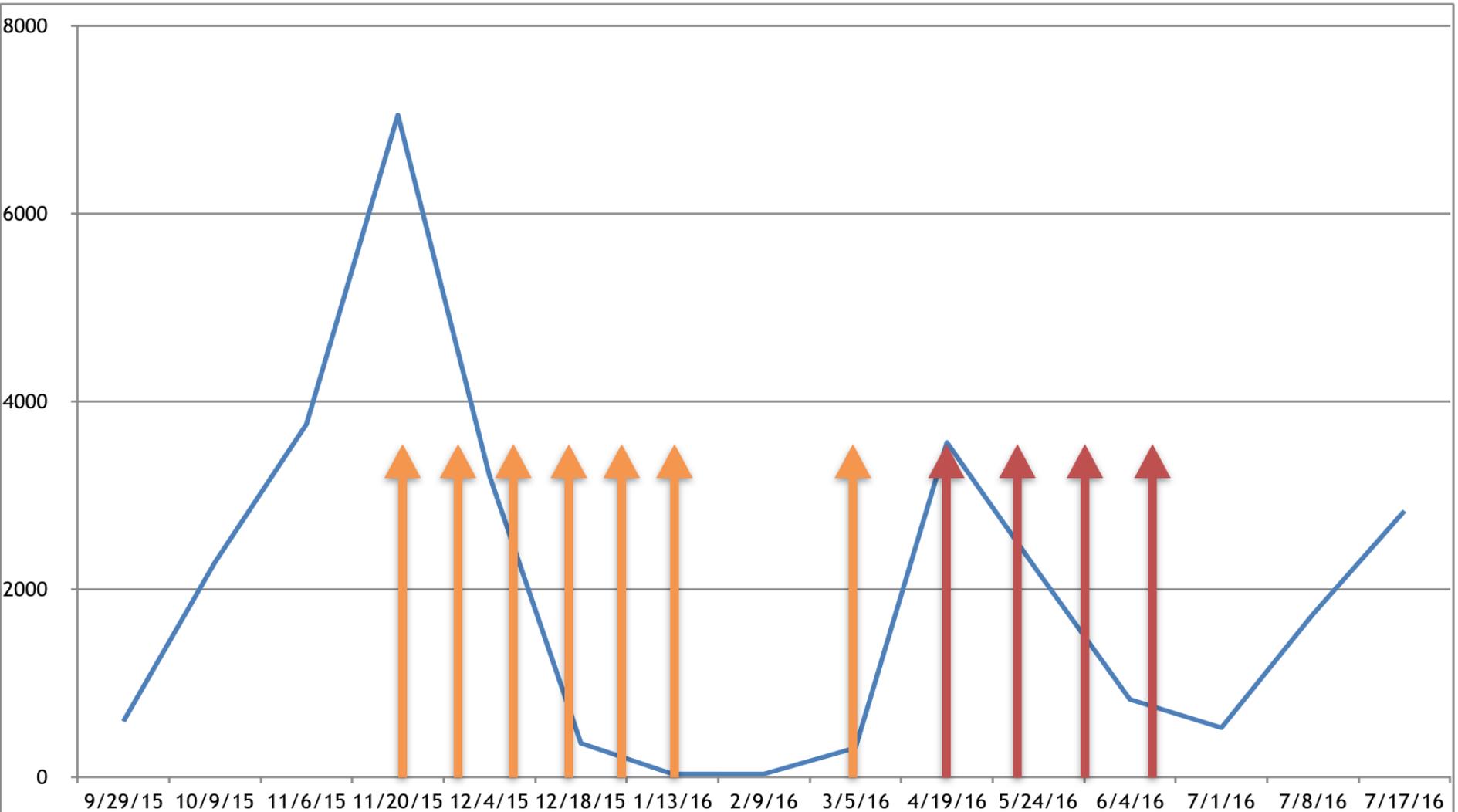
High Sensitivity: Gemcitabine
 Partial Sensitivity: 5FU, MTX, Capecitabine, Fudr, UFT, Raltitrexed, Pemetrexed
 No Sensitivity: Cytarabine, Fludarabine



Nach 4 weiteren IPT's

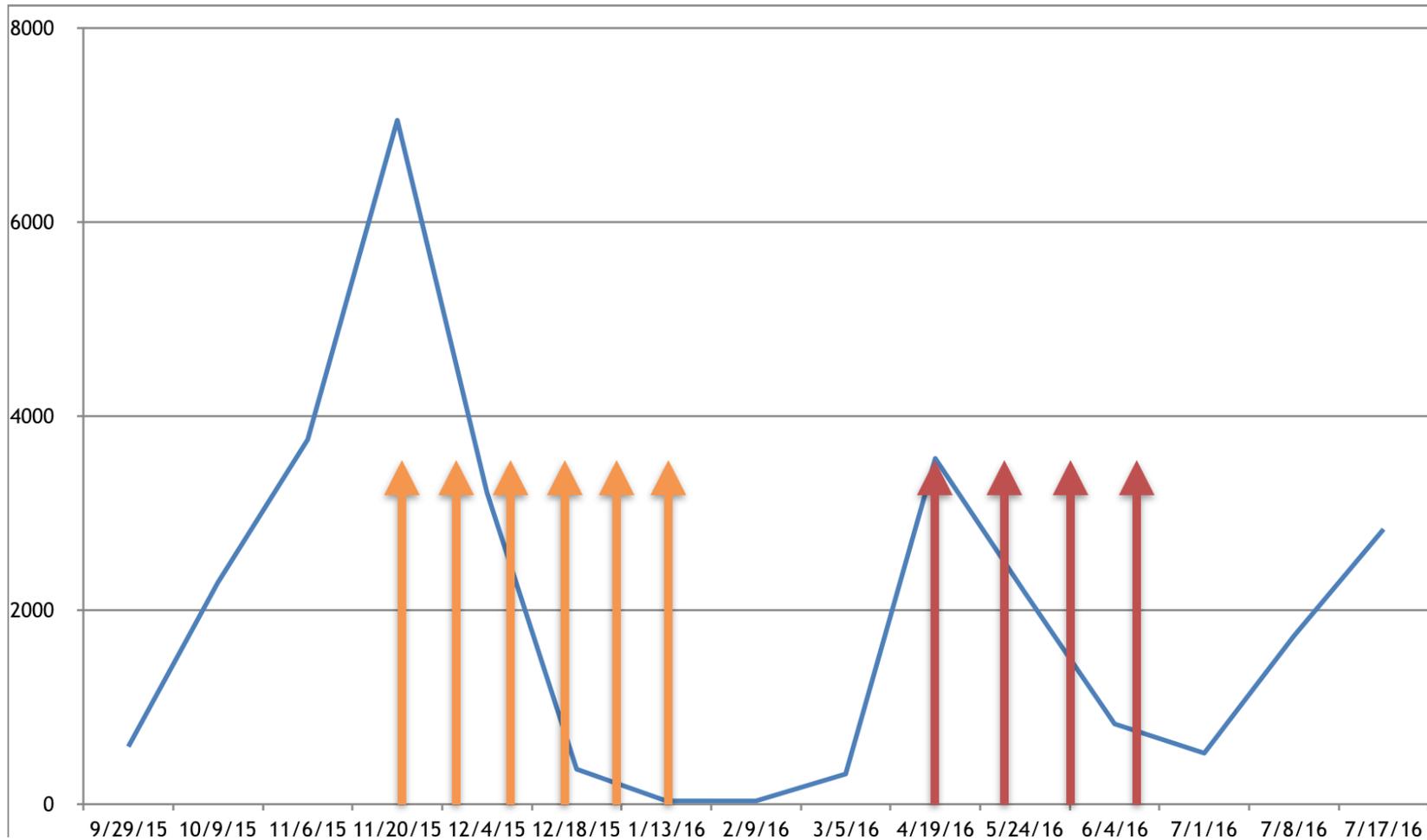


with 200mg Gemcitabine, 2,5mg Mitomycine, 500mg Curcumin



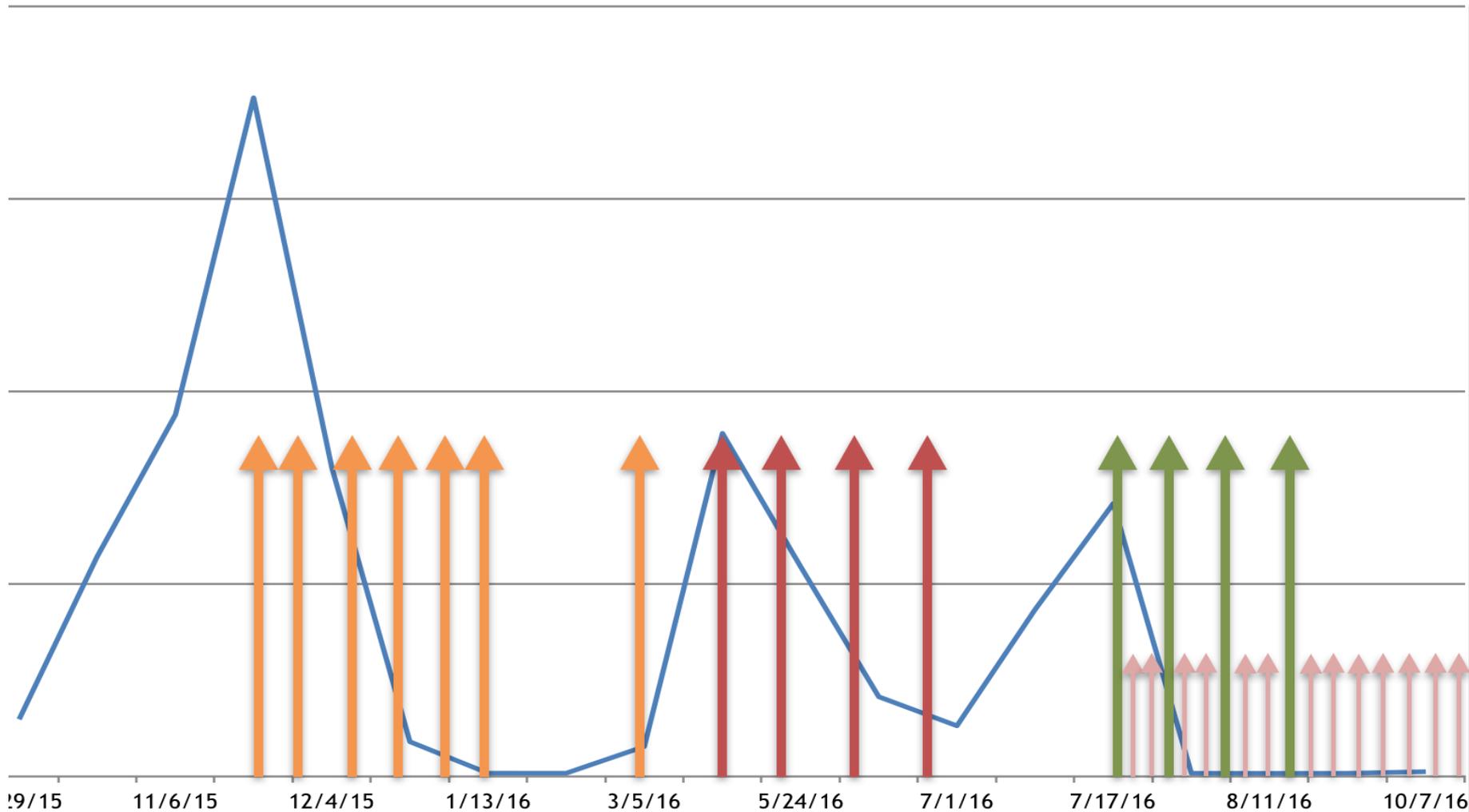


Nach Aussetzen der Therapie

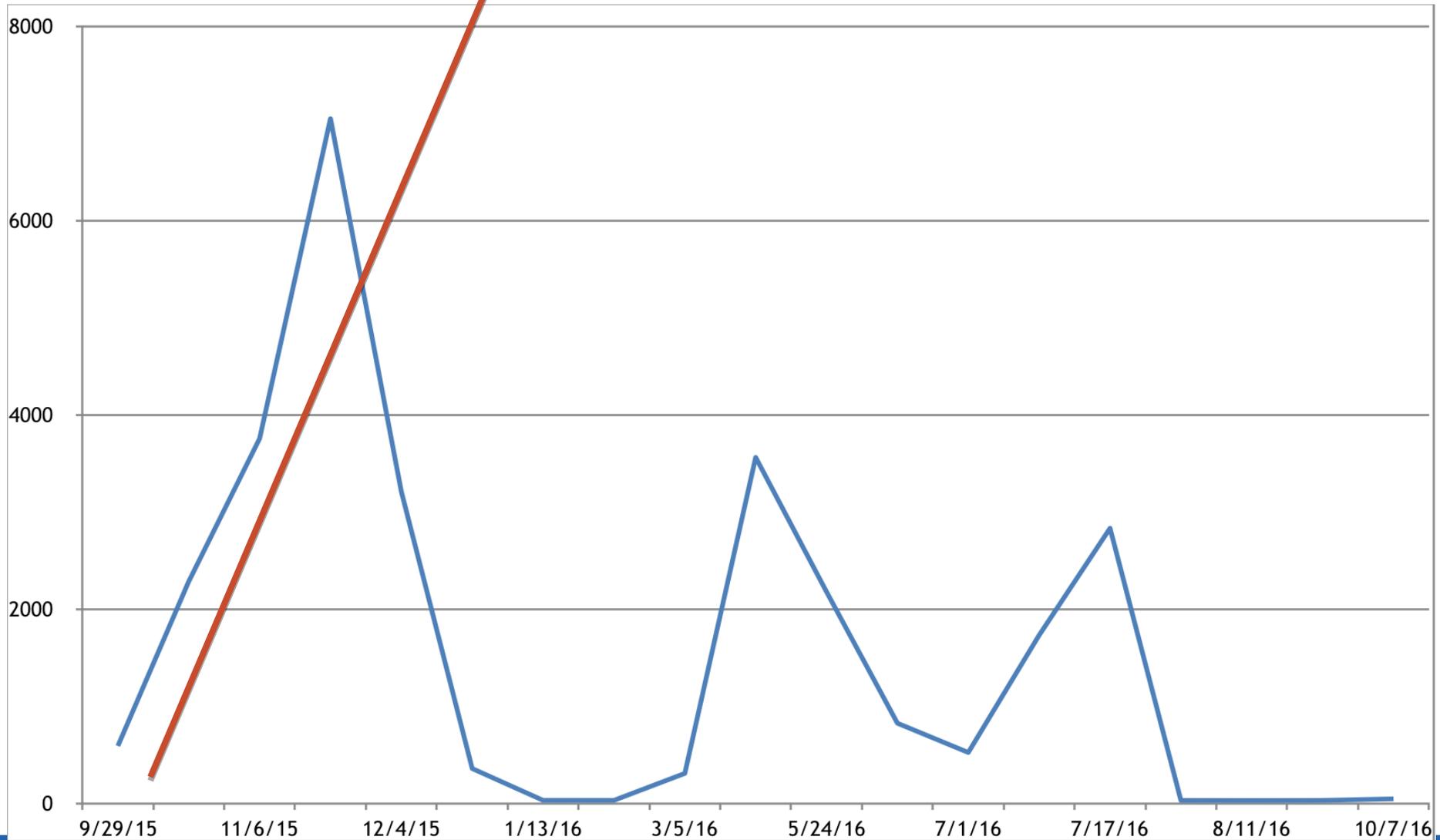


4 weitere IPT's

with Docetaxel 10mg, 2,5mg Mitomycin and Vitamin C 50g



Tumormarkerverlauf





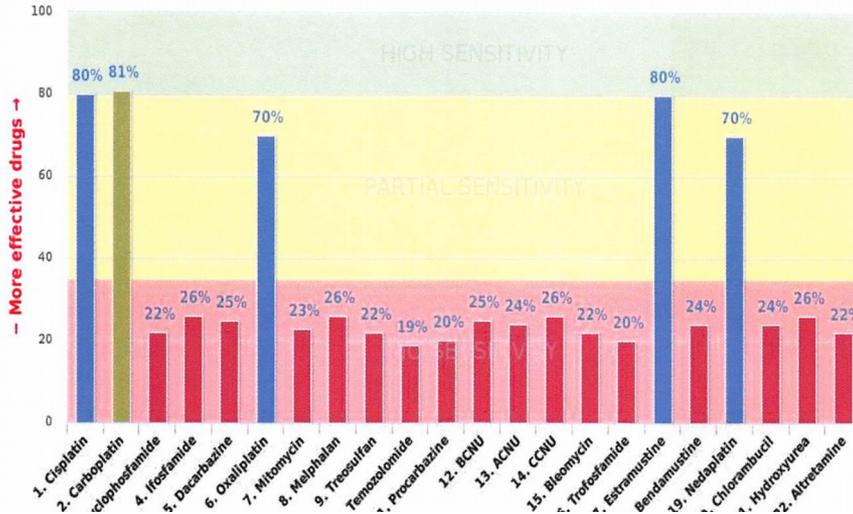
Peter R., geb. 1949

- Ossär metastasiertes Prostatakarzinom
- 2010: Prostataektomie PSA 18=>0
- Dann Anstieg PSA
- 2011: RTx
- Ab 6/2014 wieder PSA Anstieg
- 4/2014 Knochenmetastasen (Rippen, Becken)

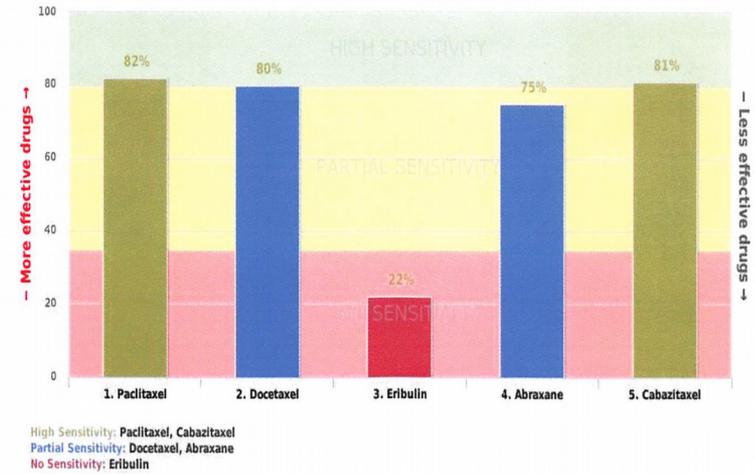


RGCC Test

Alkylating Agents

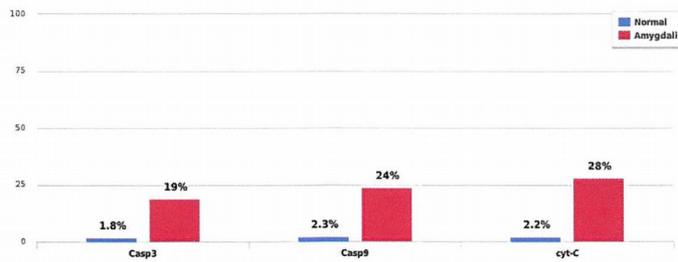


Nucleus Spindle Stabilizer I



The results are presented below:

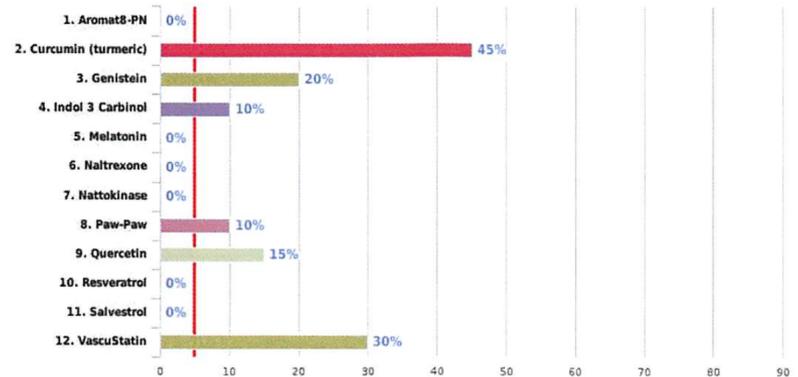
Malignant cell cultures compared analysis



In the culture with Amygdalin - DCA we notice increase of caspase 3 activity and cytochrome c in compare with normal cell culture

Class III (PK inhibitors)

Inhibitors of growth factors receptor inhibitors of EGFR,IGFr,VEGFr,PDGFR, FGFR, signal transduction pathways





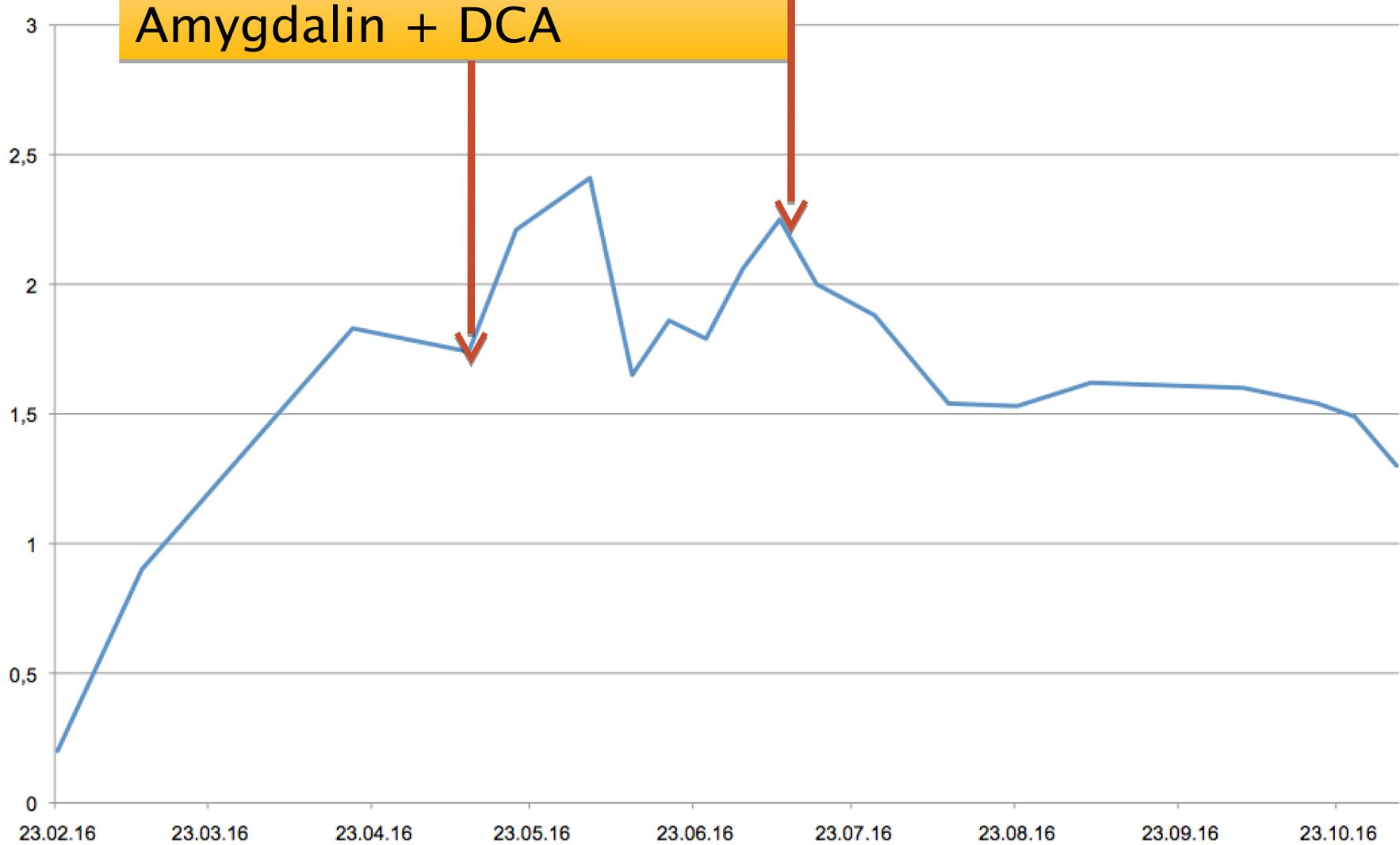
Peter R., geb. 1949 – Behandlung

- 10x IPT mit Curcumin, Paclitaxel, Carboplatin
- 20x 18g Amygdalin + DCA 1500mg
- Oral als Dauertherapie:
- Curcuflex 1-0-1, Quercetin 1-0-1, Indol-3-Carbinole 1-0-0, Genestein: 2-0-0, Tigovit 1-1-0, Celebrex 100mg 1-0-0, Megazyme forte 2x/ Tag, B17 Kapseln 1x3



PSA-Verlauf

Curcumin + IPT
Amygdalin + DCA





RGCC Test: Wirkstofftestung

Kosten € 1500–2000

Pro

- Gezielte Therapie
- Relativ kostengünstig
- Vielfältige Untersuchungsmöglichkeiten

Contra

- Umständliche Aufbereitung der Laborergebnisse
- Z.T. nicht relevante Substanzen
- Noch zu wenig Reaktion auf konkrete Anfragen



FAZIT

Für die gezielte Behandlung von Krebspatienten ist die Messung von zirkulierenden Tumorzellen und die Wirkstofftestung unverzichtbar