

ISET – Isolation by Size of Epithelial Tumor/Trophoblastic cells
Изоляция эпителиальных опухолевых/трофобластных клеток, основанная на разнице в размере.

Инновационный и высокочувствительный метод, позволяющий:

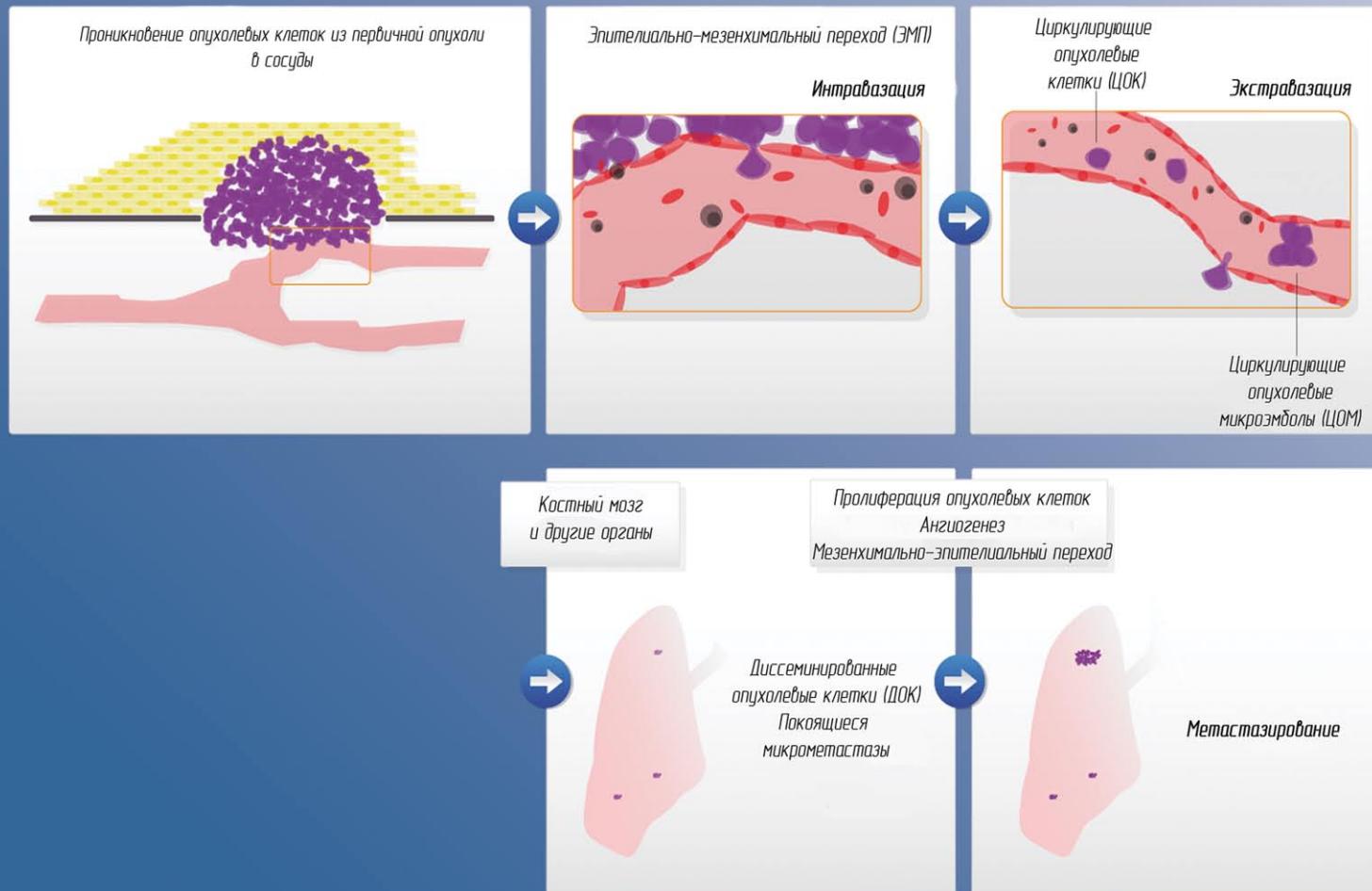
- изоляцию циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) и циркулирующих опухолевых микроэмбол (ЦОМ) из крови;
- их диагностическую идентификацию и подсчет
- в процессе цитопатологического анализа
- имmunологические и молекулярные исследования выделенных клеток.

Информация для пациентов:



Было показано, что ЦОК циркулируют в кровеносном русле за месяцы и годы до появления метастазов, таким образом, метод, позволяющий проводить их специфическую и высокочувствительную детекцию, позволяет начать раннее лечение, чтобы избежать повторного проявления болезни и возникновения метастазов.

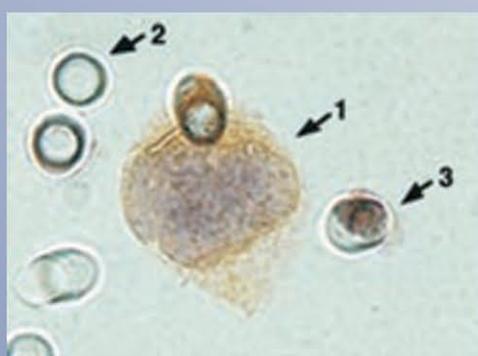
Общая схема инвазии



Изоляция циркулирующих опухолевых клеток при помощи методики ISET: легкость, быстрота, эффективность.



Методика ISET позволяет осуществлять изоляцию интактных ЦОК и ЦОМ клеток без предварительной селекции при помощи методик, основанных на специфическом связывании антителами. Метод работает для всех типов рака, за исключением хронического лимфолейкоза.



1 – циркулирующая опухолевая клетка
2 – пора
3 – лейкоцит, застрявший в полости поры

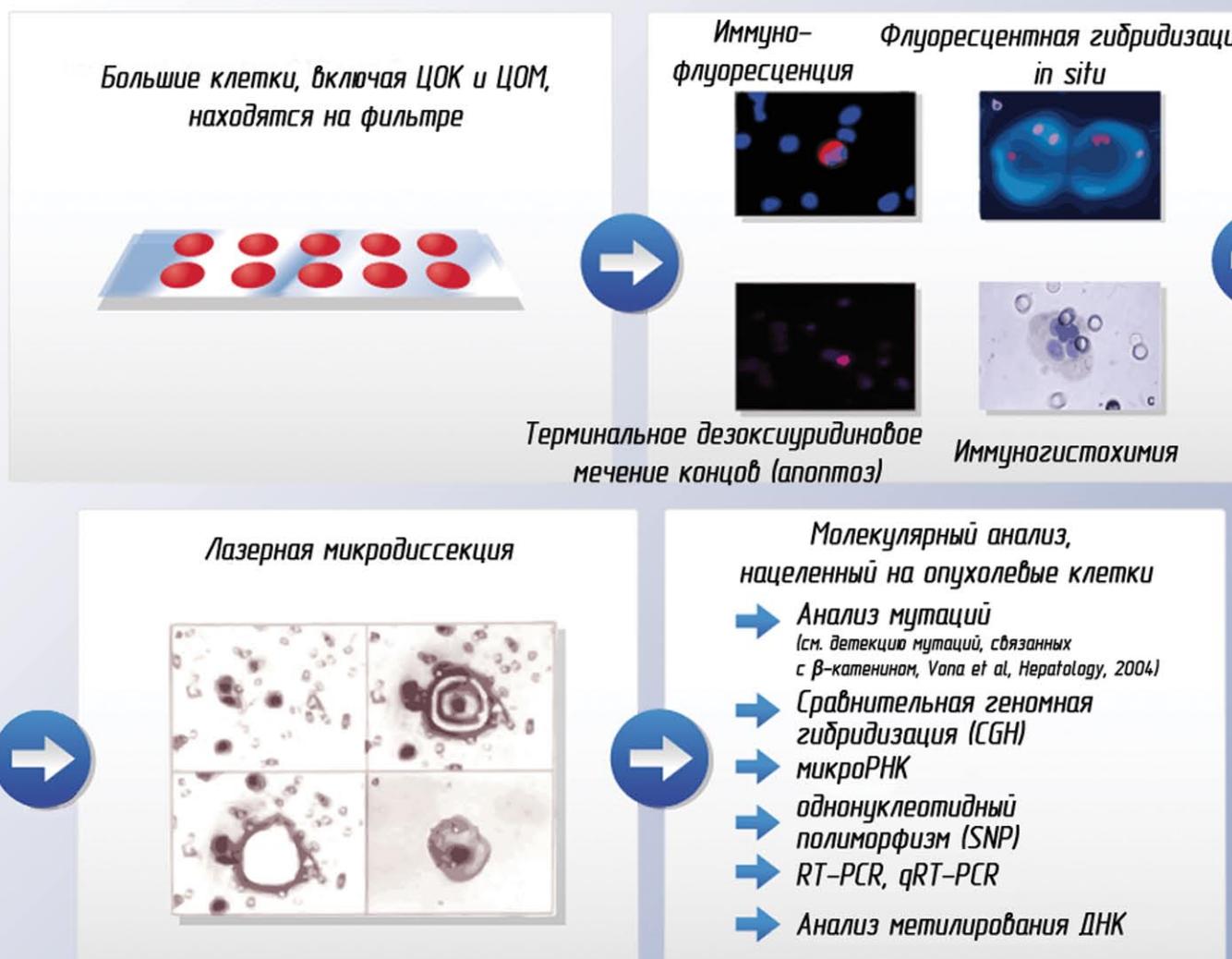
Лимфоциты – одни из мельчайших клеток человеческого тела, их размер составляет около 8 микрон, они обладают компактным ядром и минимальным количеством цитоплазмы. Большое количество лимфоцитов и нейтрофилов, таким образом, удаляются при помощи фильтрации. Клетки более крупного размера обогащаются при помощи методики ISET и могут быть проанализированы и охарактеризованы при помощи методов цитоморфологии и иммуно-молекулярных методов. Точки на фильтре представляют собой большие клетки, изолированные из 1 мл цельной крови (простота подсчета).



1 – циркулирующая опухолевая клетка (ЦОК).

Высокая чувствительность метода ISET связана с его эффективностью – 10 мл крови разводятся буфером Rarecells® Buffer solution, переносятся в фильтрационный блок Rarecells® Block, происходит фильтрация. Сбор ЦОК и ЦОМ клеток на фильтре занимает 3 минуты. После изоляции ЦОК и ЦОМ клеток их можно подвергнуть окрашиванию и дальнейшему анализу. Порог чувствительности метода ISET – одна ЦОК клетка в 10 мл крови. Для реализации столь высокой чувствительности метода кровь необходимо подвергнуть обработке не позднее, чем через 4 часа после забора крови.

Характеристика и анализ ЦОК

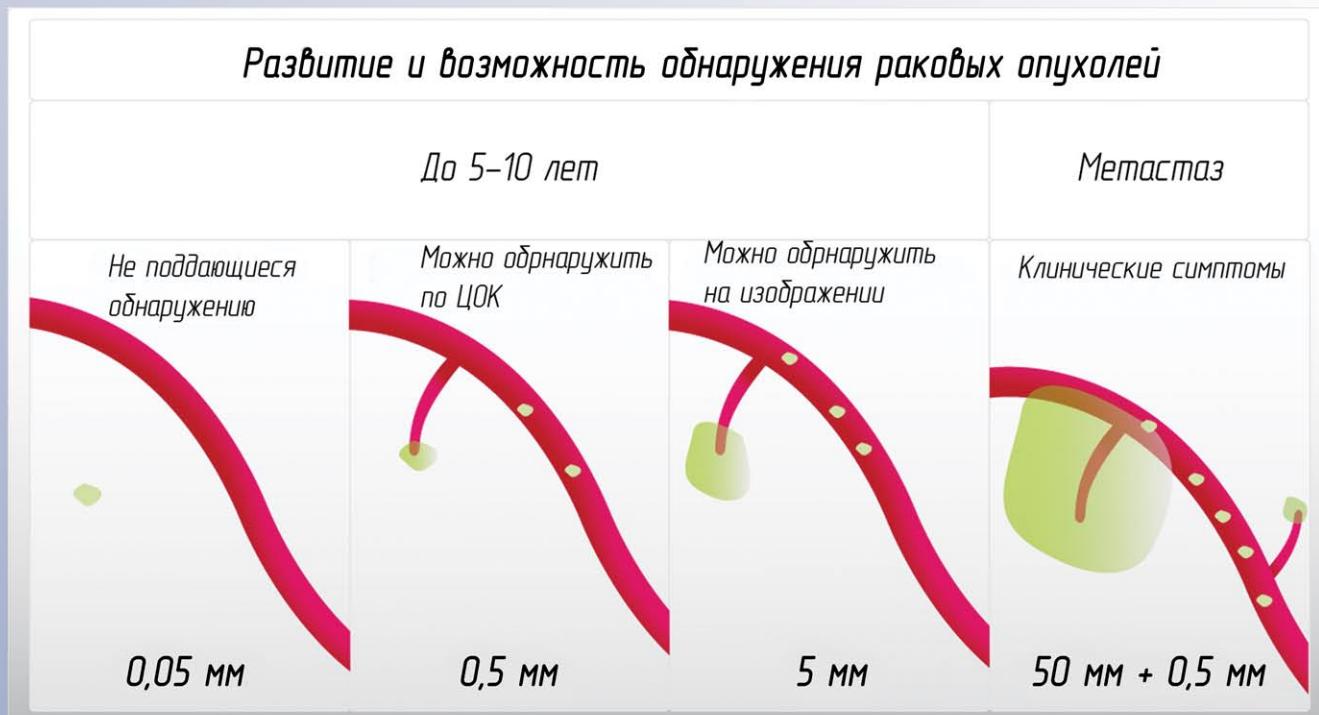


ЦОК и ЦОМ можно изолировать в фиксированном или свежем виде. Они могут быть охарактеризованы при помощи иммунного мечения (имmunогистохимия, иммунофлуоресценция), флуоресцентной гибридизации *in situ*, TUNEL (терминальное дезоксиуридиновое мечение концов), а также при помощи молекулярного анализа ДНК и РНК: анализ экспрессии генов, мутации ДНК, сравнительной геномной гибридизации и однонуклеотидного полиморфизма. Свежие ЦОК могут быть культивированы для дальнейшего анализа или проведения теста на чувствительность лекарственных препаратов.

Преимущества метода и применение в клинической практике

Очень высокая чувствительность и специфичность метода ISET позволяет использовать его для ранней диагностики инвазивных форм рака и в качестве альтернативы биопсии. Цитопатологический анализ позволяет отличить циркулирующие неопухолевые эпителиальные клетки от циркулирующих опухолевых клеток, таким образом, при помощи ISET можно распознать ЦОК и ЦОМ после хирургического вмешательства и инвазивного лечения, когда высокое число циркулирующих неопухолевых эпителиальных клеток попадает в кровеносное русло. Метод ISET позволяет найти генетические мутации в ЦОК и ЦОМ, определяемые при помощи цитопатологического анализа (например, K-ras, HER2 и т.д.), для тераностики.

Циркулирующие опухолевые клетки
могут быть обнаружены до появления
метастазов



Пример тераностики



Устройство Rarecells® Device



Фильтрационный блок Rarecells® Block



Научные публикации - предиктивная онкология

G. VONA, M. LOUHA, V. SITRUK, K. SCHÜTZE, F. CAPRON, D. FRANCO, B. LACOUR, M. PAZZAGLI, C. BRÉCHOT, AND P. PATERLINI-BRÉCHOT. ISET, Isolation by Size of Epithelial Tumor cells: a new method for isolation, immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *Am J Pathol*, 156 : 1-7, 2000.

G. VONA, L. ESTEPA, C. BÉROUD, D. DAMOTTE, F. CAPRON, A. MINEUR, D. FRANCO, B. LACOUR, S. POL, C. BRÉCHOT, PATRIZIA PATERLINI-BRÉCHOT. Impact of cytomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells in patients with Primary Liver Cancer. *Hepatology*, 39 :792-797, 2004.

L. LELIEVRE, P.PATERLINI-BRECHOT, S.CAMATTE, E.TARTOUR, M.AGGERBECK, F.VILDE & F.LECURU. Effect of laparoscopy versus laparotomy on circulating tumor cells using isolation by size of epithelial tumor cells, *Int J Gynecol Cancer*, 14: 229-233, 2004.

P. PINZANI, B. SALVADORI, L. SIMI, S. BIANCHI, V. DISTANTE, L. CATALIOTTI, M. PAZZAGLI, C. ORLANDO. Isolation by size of epithelial tumor cells in peripheral blood of patients with breast cancer: correlation with real time reverse transcriptase-polymerase chain reaction results and feasibility of molecular analysis by laser microdissection. *Hum Pathol.*,37:711-8, 2006.

P.PATERLINI-BRECHOT & N.BENALI. Circulating tumor cells (CTC) detection: Clinical impact and future directions. *Cancer Letters*, 253, 180-204, 2007.

V. DE GIORGI, P. PINZANI, F. SALVIANT, M. GRAZZINI, C. ORLANDO, T. LOTTI, M. PAZZAGLI, D. MASSI. Circulating benign nevus cells detected by ISET technique: warning for melanoma molecular diagnosis. *Arch Dermatol*, 146:1120-4, 2010.

V. DESCAMPS, N. BASSET-SEGUIN, N. SOUFIR.. ISET device: a useful tool to answer some questions about the biologic behavior of melanocytic nevus cells. *Arch Dermatol.*, 146(10):1156-7, 2010.

V. DE GIORGI, P. PINZANI, F. SALVIANTI, J. PANELOS, M. PAGLIERANI, A. JANOWSKA, M. GRAZZINI, J. WECHSLER, C. ORLANDO, M. SANTUCCI, T. LOTTI, M. PAZZAGLI, D. MASSI. Application of a filtration- and isolation-by-size technique for the detection of criculuting tumor cells in cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol.*, 130(10):2440-7, 2010.

P. PINZANI, C. MAZZINI, F. SALVIANTI, D. MASSI, R. GRIFONI, C. PAOLETTI, F. UCCI, E. MOLINARA, C. ORLANDO, M. PAZZAGLI, B. NERI. Tyrosinase mRNA levels in the blood of uveal melanoma patients: correlation with the number of circulating tumor cells and tumor progression. *Melanoma Res.*, 20(4):303-10, 2010.

V. HOFMAN, C. BONNETAUD, M.I. ILIE, P. VIELH, J.M. VIGNAUD, J.F. FLEJOU, S. LANTUEJOUL, E. PIATON, N. MOURAD, C. BUTORI, E. SELVA, M. POUDENX, S. SIBON, S. KELHEF, N. VENISSAC, J.P. JAIS, J. MOUROUX, T.J. MOLINA, P. HOFMAN. Preoperative circulating tumor cell detection using the isolation by size of epithelial tumor cell method for patients with lung cancer is a new prognostic biomarker. *Clin Cancer Res.*, 17:827-835 2010.

V. HOFMAN, M.I. ILIE, E. LONG, E. SELVA, C. BONNETAUD, T. MOLINA, N. VENISSAC, J. MOUROUX, P. VIELH, P. HOFMAN. Detection of circulating tumor cells as a prognostic factor in patients undergoing radical surgery for non-small cell lung carcinoma: Comparison of the efficacy of the CellSearch AssayTM and the isolation by size of epithelial tumor cell method. *Int J Cancer*, 129: 1651-60, 2011.

V. HOFMAN, E. LONG, M. ILIE, C. BONNETAUD, J.M. VIGNAUD, J.F. FLÉJOU, S. LANTUEJOUL, E. PIATON, N. MOURAD, C. BUTORI, E. SELVA, C.H. MARQUETTE, M. POUDENX, S. SIBON, S. KELHEF, N. VÉNISSAC, J.P. JAIS, J. MOUROUX, T.J. MOLINA, P. VIELH, P. HOFMAN.

Morphological analysis of circulating tumor cells in patients undergoing surgery for non-small cell lung carcinoma using the isolation by size of epithelial tumor cell (ISET) method.

Cytopathology. 2011 Jan 6. doi: 10.1111/j.1365-2303.2010.00835.x. [Epub ahead of print]

V. J. HOFMAN, M. I. ILIE, C. BONNETAUD, E. SELVA, E. LONG, T. MOLINA, J. M. VIGNAUD, J. F. FLEJOU, S. LANTUEJOUL, E. PIATON, C. BUTORI, N. MOURAD, M. POUDENX, P. BAHADORAN, S. SIBON, N. GUEVARA, J. SANTINI, N. VENISSAC, J. MOUROUX, P. VIELH, P. M. HOFMAN. Cytopathologic Detection of Circulating Tumor Cells Using the Isolation by Size of Epithelial Tumor Cell Method. Am J Clin Pathol , 135:146-156, 2011.

J.-M. HOU, M. KREBS, T. WARD, R. SLOANE, L. PRIEST, A. HUGHES, G. CLACK, M. RANSON, F. BLACKHALL, C. DIVE. Circulating Tumor Cells as a Window on Metastasis, Biology in Lung Cancer, Am J Pathol, 178 : 989-996, 2011.

P.PATERLINI-BRECHOT. Organ-specific markers in circulating tumor cell screening: an early indicator of metastasis-capable malignancy. Future Oncology, 7(5): 849-871, 2011.

A. LECHARPENTIER, P. VIELH, D. PLANCHARD, J.-C. SORIA, F. FARACE. Detection of circulating tumor cells with an hybrid (i.e. epithelial/mesenchymal) phenotype in patients with metastatic non-small cell lung cancer, Br J of Cancer 2011 Oct. 4, doi:10.1038/bjc.2011.405 [Epub ahead of print].

F. FARACE, C. MASSARD, N. VIMOND, F. DRUSCH, N. JACQUES, F. BILLIOT, A. LAPLANCHE, A. CHAUCHEREAU, L. LACROIX, D. PLANCHARD, S. LE MOULEC, F. ANDRÉ, K. FIZAZI, J.C. SORIA, P. VIELH. A Direct Comparison of CellSearch™ and ISET™ for Circulating Tumour-Cell Detection in Patients with Metastatic Carcinomas, Br J Cancer 105: 847-853, 2011.

M. KREBS, J. HOU, R. SLOANE, L. LANCASHIRE, L. PRIEST, D. NONAKA, T. H. WARD, A. BACKEN, G. CLACK, A. HUGHES, M. RANSON, F. H. BLACKHALL, and C. DIVE, Analysis of Circulating Tumor Cells in Patients with Non-small Cell Lung Cancer Using Epithelial Marker-Dependent and -Independent Approaches, J of Thoracic Oncology, 2011 Dec. 14, doi: 10.1097/JTO.0b013e31823c5c16 [Epub ahead of print].

L. KHOJA, A. BACKEN, R. SLOANE, L. MENASCE, D. RYDER, M. KREBS, R. BOARD, G. CLACK, A. HUGHES, F. BLACKHALL, J.W. VALLE and C. DIVE, A pilot study to explore circulating tumour cells in pancreatic cancer as a novel biomarker, Br J Cancer, 2011 Dec. 20, doi:10.1038/bjc.2011.545 [Epub ahead of print].

M. ILIE, E. LONG, C. BUTORI, V. HOFMAN, C. COELLE, V. MAURO, K. ZAHAF, C.H. MARQUETTE, J. MOUROUX, P. PATERLINI-BRECHOT, P. HOFMAN, ALK-gene rearrangement comparative analysis in circulating tumour cells and in tumour tissue of lung adenocarcinoma patients, Annals of Oncology, 2012 June 26, doi: 10.1093/annonc/mds137.

V. HOFMAN, M. ILIE, E. LONG-MIRA, D. GIACCHERO, C. BUTORI, B. DADONE, E. SELVA, V. TANGA, T. PASSERON, G. POISSONNET, J.-F. EMILE, J.-P. LACOUR, P. BAHADORAN and P. HOFMAN, Usefulness of Immunocytochemistry for detection of the BRAF V600E mutation in circulating tumor cells from metastatic melanoma patients, Journal of Investigative Dermatology, January 2013, doi:10.1038/jid.2012.485 [Epub ahead of print].

E. PAILLER, J.ADAM, A. BARTHELEMY, M. OULHEN, N. AUGER, A. VALENT, I. BORGET, D. PLANCHARD, M. TAYLOR, F. ANDRE, J.Ch. SORIA, Ph. VIELH, B. BESSE and F. FARACE, Detection of circulating tumor cells harboring a unique ALK rearrangement in ALK-positive non-small-cell lung cancer, J of Clinical Oncology, May 2013 doi:10.1200/JCO.2012.44.5932 [Epub ahead of print].

D. COSTA Identification of somatic genomic alterations in circulating tumors cells: another step forward in non-small-cell lung cancer? Journal of Clin Oncol, May 2013, doi: 10.1200/JCO.2012.44.5932 Epub ahead of print].

Y.C . MA, L. WANG, Y. FENG-LEI Recent Advances and Prospects in the Isolation by Size of Epithelial Tumor Cells (ISET) Methodology, Technology in Cancer Research and Treatment, February 2013, doi: 10.7785/tcr.2012.500328 [Epub ahead of print].

V. MARCHESI, ALK status of NSCLC reflected in CTCs, Nature reviews: Clinical Oncology, May 2013, doi: 10.1038/nrclinonc.2013.89[Epub ahead of print].

Неинвазивная пренатальная диагностика

G. VONA, C. BÉROUD, A. BENACHI, A. QUENETTE, J.P. BONNEFONT, Y. DUMEZ, B. LACOUR, P. PATERLINI-BRÉCHOT. Enrichment and genetic analyses of fetal cells circulating in the maternal blood by the ISET technique and single cell microdissection : a non-invasive tool for early prenatal diagnosis. Am J Pathol, 160 : 51-58, 2002.

C. BÉROUD, M. KARLIOVA, J. P. BONNEFONT, A. BENACHI, A. MUNNICH, Y. DUMEZ, B. LACOUR, P. PATERLINI-BRÉCHOT. Prenatal diagnosis of Spinal Muscular Atrophy (SMA) by genetic analysis of circulating fetal cells. The Lancet, 361 :1013-4, 2003.

A. SAKER, A. BENACHI, J.P. BONNEFONT, A. MUNNICH, Y. DUMEZ, B. LACOUR, P. PATERLINI-BRÉCHOT. Genetic characterization of circulating fetal cells allows non invasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis. Prenat Diagn, 26 : 906-16, 2006.

H. MOUAWIA, A.SAKER, JP. JAIS, A. BENACHI, L. BUSSIÈRES, B. LACOUR, JP. BONNEFONT, R. FRYDMAN, JL. SIMPSON, P. PATERLINI-BRECHOT. Circulating trophoblastic cells provide genetic diagnosis in 63 fetuses at risk for cystic fibrosis or spinal muscular atrophy, Reproductive BioMedicine Online, 25: 508-520, 2012.

Продукция компании
Rarecells в России:



ООО "Биокоммерц"
Россия, 123529, Москва
ул. Кулакова, 20, стр. 1А, офис 621
www.biocommerce.ru
Тел.: +7 (495) 781-17-87
+7 (926) 522-65-43
Факс: +7 (495) 781-17-87
e-mail: info@biocommerce.ru