

Genetische Tumordiagnostik

*Jede Patientin und jeder Patient verdient
eine personalisierte Behandlung.*

Cancer Precision[®]

CancerPrecision[®] ist die erste Wahl für Tumorerkrankte. Das umfassende Panel liefert Ihnen wesentliche Informationen über die Entwicklung und das Therapieansprechen des Tumors. Durch individuelle Tumorprofile können Therapien personalisiert und zielgerichtet angepasst werden. Dies führt zu einem besseren Therapieergebnis und zu geringeren Nebenwirkungen.

Es gibt in der Tumorbehandlung keinen allgemeingültigen Ansatz, da jeder Tumor einzigartig ist. Dementsprechend ist es für die Therapieplanung entscheidend, die Krankheitsgeschichte und den Tumor bestmöglich zu verstehen. Mit CancerPrecision[®] analysieren wir mehr als 700 tumor-assoziierte Gene und ausgewählte therapierrelevante Fusionen in über 30 Genen. Damit ermöglichen wir eine valide Diagnose, bieten Handlungsempfehlungen zur Bestimmung der bestmöglichen Therapie und erhöhen den Behandlungserfolg. Alle analysierten Daten werden in einem umfassenden Befund, mit grafischer Darstellung der Ergebnisse und detaillierten Informationen über geeignete Medikamente, aufgelistet. Mit CancerPrecision[®] erhalten Sie die beste Unterstützung für eine effektive Behandlung Ihrer Patientinnen und Patienten.

Tumorentwicklung

Tumoren entstehen durch unerwünschte Veränderungen in den Genen. Diese sogenannten Mutationen geschehen meist zufällig und werden typischerweise durch die DNA-Reparatursysteme der Zelle korrigiert. Die Exposition gegenüber Karzinogenen, wie Tabakrauch oder UV-Strahlung, erhöht die Zahl der Mutationen. Diese erworbenen Mutationen werden als somatische Mutationen bezeichnet. Eine nicht korrekt reparierte Mutation kann zu Krebs führen. Krebsfördernde somatische Mutationen verursachen veränderte Proteinfunktionen, die in dysregulierten zellulären Prozessen resultieren. Zunächst fördern diese genetischen Veränderungen den Verlust der Wachstumskontrolle in den betroffenen Zellen während der Zellteilung. Weitere Mutationen führen zur Selektion von Zellklonen, die die Proliferation erfolgreich fortsetzen und ihre Sterblichkeitsrate senken. Im Verlauf der Tumorprogression häufen sich weitere Mutationen an und fördern die Streuung der Tumorzellen auf entfernte Organe (Metastasierung).

Die somatischen Mutationen, die von Tumoren im Verlauf der Erkrankung erworben werden, sind individuell und unterscheiden sich nicht nur zwischen verschiedenen

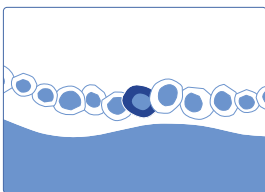
Tumorentitäten, sondern auch zwischen einzelnen Tumorerkrankten. Krebs ist also eine multifaktorielle und heterogene genetische Erkrankung.

NGS-basierte Onkogenetik – eine neue Ära der Tumorcharakterisierung

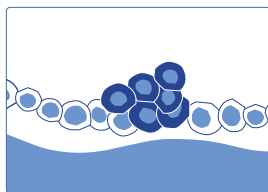
Die individuellen tumorspezifischen Mutationen helfen dem Tumor zu überleben und eine Resistenz gegen therapeutische Wirkstoffe zu entwickeln. Um eine vielversprechende Behandlungsstrategie zu wählen, ist ein tiefer und genauer Einblick in die molekularen Grundlagen der einzelnen Tumoren erforderlich. Der Einsatz der so genannten Next Generation Sequencing (NGS) Technologie hat eine neue Ära in der Krebstherapie eingeleitet und bildet die Basis der personalisierten Präzisionsmedizin. Durch die NGS-Analyse können die onkologischen Behandlungen auf die genetischen Merkmale jeder Patientin und jedes Patienten und auf die Veränderungen des Tumors abgestimmt werden. Hiermit werden die Heilungschancen maximiert und die Schädigung des gesunden Gewebes minimiert (Morganti *et al.*, 2020; Walter *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020).

Tumorentwicklung

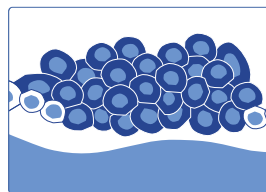
1. Anfängliche Mutation



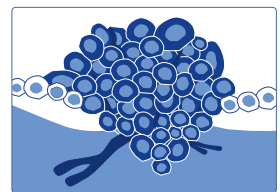
2. Wachstum



3. Weitere Mutationen



4. Metastasen



Genetische Tumordiagnostik

Die Grundlage für die beste Entscheidungsstrategie

Die genetische Analyse des Tumors ist für die Wahl der optimalen Behandlung von entscheidender Bedeutung. Je nach Art der zur Verfügung stehenden Tumorprobe sind unterschiedliche Untersuchungen möglich. Die folgende Tabelle vergleicht verschiedene molekulargenetische Untersuchungen auf Grundlage der jeweiligen Probenart.



CancerPrecision®
Vollständige molekulargenetische Untersuchung



CancerNeo®
Identifikation von Neoantigenen



CancerEssential®
Gezielte Analyse



CancerDetect®
Hotspot-Analyse/
Monitoring

Probenart	Solides Tumorgewebe		Liquid Biopsy	Solides Tumorgewebe	Solides Tumorgewebe	Liquid Biopsy
Leistungsumfang	> 700 Gene und Fusionen in > 30 Genen			Vollständige Exom- und Transkriptom-Sequenzierung; HLA-Typisierung	Krankheitsspezifische Gensätze mit insgesamt 54 Genen und ausgewählte Strukturvarianten in 9 Genen	Hotspot-Regionen in 36 Genen (TP53 gesamte kodierende Region)
Vergleich mit normalem Gewebe	✓			✓	✗	✗
Detaillierte Auflistung von Medikamentenoptionen	✓			✓	✓	✓
Detektionsschwelle (NAF*)	5 %			5 %	5 %	0,25 %
Benötigtes Probenmaterial	50 ng DNA			50 ng DNA	50 ng DNA	20 ng DNA
Minimaler Tumorgehalt	20 %			20 %	20 %	1 %
SNV und INDELS	✓			✓	✓	✓
CNV	✓			✓	✗	✗
TMB	✓			✓	✗	✗
MSI	✓			✓	✓**	✗
HRD	✓			✓	✗	✗
Fusionsgenanalyse/ strukturelle Varianten (DNA-basiert)	✓			✓	✓	✗
Zusatzoption: RNA-basierte Fusionstranskriptanalyse (CancerFusionRx)	✓**		✗	✓**	✓**	✗
HPV/EBV Infektion	✓			✗	✗	✗
Neoantigen	✗			✓	✗	✗
Pharmakogenetische Varianten (Auswahl)	✓			✓	✗	✗
CHIP-Detektion	✓			✓	✗	✗
Darstellung von biologischen Signalwegen und des Coverage-Profiles (Kopienzahlveränderungen)	✓			✓	✗	✗

* Novel allele frequency

** zusätzlicher Auftrag



Die erste Wahl zur Charakterisierung des Tumors

Zielgerichtete Behandlung Ihrer Patientinnen und Patienten

Jeder Tumor ist einzigartig. CancerPrecision® hilft, die klinisch relevanten Veränderungen in Tumoren zu identifizieren und liefert wertvolle Informationen für die Wahl der individuell effektivsten Behandlung für jede Patientin und jeden Patienten.

CancerPrecision® ermöglicht ein optimales molekulargenetisches Tumor-Profilung durch NGS und bildet die Grundlage für eine personalisierte, biomarkerbasierte Krebstherapie.

Unser Ziel ist es, den bestmöglichen therapeutischen Ansatz für jede Patientin und jeden Patienten zu ermitteln. Basierend auf unserer langjährigen Erfahrung in der genetischen Diagnostik haben wir die Tumordiagnostik optimiert. Wir identifizieren somatische Veränderungen, die das Tumorwachstum fördern, für Arzneimittelresistenzen verantwortlich sind und potenzielle therapeutische Ziele darstellen. Mit Hilfe von NGS analysieren wir ein Panel mit **mehr als 700 tumorassoziierten Genen und ausgewählten therapielevanten Fusionen in mehr als 30 Genen**. Die gezielte RNA-basierte Fusionsanalyse als zusätzliche Option ermöglicht den Nachweis von Fusionstranskripten mit *de-novo*- und bekannten Fusionspartnern in mehr als 150 Genen. Varianten in diesen Genen haben einen bedeutenden Einfluss auf die Tumorphathogenese und -progression, sowie auf die Bildung von Metastasen. Im Hinblick auf Immuntherapien bestimmen wir die Tumormutationslast (TMB), die Mikrosatelliteninstabilität (MSI) und das Vorliegen einer Virusinfektion (HPV, EBV). Darüber hinaus bestimmen wir den Status der homologen Rekombinationsdefizienz (HRD), der wichtige Informationen für die Vorhersage des Ansprechens auf PARP-Inhibitoren und eine Platinbasierte Chemotherapie mittels synthetischer Letalität liefert. Innerhalb von 2-3 Wochen werden die Daten in einem umfassenden Befund zusammengefasst, der die behandelnden Ärztinnen und Ärzte dabei unterstützt, eine effiziente Behandlung zu finden.

Fakten zu CancerPrecision®

- ✗ Vollständige Sequenzierung und Analyse von mehr als 700 Genen und Fusionen in über 30 Genen
- ✗ Hohe Sequenzierungsabdeckung zum Nachweis therapierelevanter subklonaler Varianten: 500-1.000x
- ✗ Sensitivität: > 96 %¹; Spezifität: > 99,9 %
- ✗ Analyse der Tumormutationslast (TMB), der Mikrosatelliteninstabilität (MSI) und Virusinfektionen (HPV, EBV) – wichtige Biomarker für Immuntherapien
- ✗ Berechnung des Scores der homologen Rekombinationsdefizienz (HRD) – ein wichtiger Biomarker für PARP-Inhibition
- ✗ Erkennung von Einzelnukleotidvarianten (SNVs), Insertionen und Deletionen (INDELs), Translokationen und Kopienzahl-Varianten (copy number variants, CNVs)
- ✗ Neben therapielevanten somatischen (tumorspezifischen) Mutationen werden auch krankheitsverursachende und therapierelevante Keimbahnvarianten berichtet
- ✗ Bestimmung von ausgewählten pharmakogenetisch relevanten Keimbahnvarianten, die die Verstoffwechselung bestimmter Krebsmedikamente beeinflussen
- ✗ Auflistung aller in Frage kommenden Medikamente mit EMA und/oder FDA-Zulassung, für deren Anwendungsoption entsprechende Biomarker im Tumor nachgewiesen werden konnten
- ✗ Erfassung von Hinweisen auf CHIP (Klonale Hämatopoese mit unbestimmtem Potenzial)

Optional: RNA-basierte Fusionstranskript-Analyse von Tumor-RNA zur Analyse von mehr als 150 Genen (CancerFusionRx)

Das Genverzeichnis finden Sie hier:
www.cegat.de/cancerprecision



¹ Basierend auf einer qualitativ hochwertigen Probe mit 20% Tumorgehalt zum Nachweis einer somatischen heterozygoten Variante.

Medizinischer Befund

Der medizinische Befund enthält die Ergebnisse der genetischen Untersuchung, die von der überweisenden Ärztin oder dem überweisenden Arzt angefordert wurde. Um höchste Qualität zu gewährleisten, wird jeder einzelne medizinische Befund von einem interdisziplinären Team aus Molekularbiologinnen und -biologen, sowie Medizinerinnen und Medizinern erstellt und diskutiert.

1 Patienteninformationen

Name, Geburtsdatum, Geschlecht der Patientin oder des Patienten und externe ID; Verdachtsdiagnose oder Indikation für molekulargenetische Tests.

2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Auf der ersten Seite geben wir einen Überblick über die wichtigsten Merkmale des Tumors, dargestellt in übersichtlichen Kacheln. Die Ergebnisse, welche für die individuelle Therapieentscheidung wichtig sind, werden farblich hervorgehoben. Separate Felder zeigen den TMB, MSI und HRD-Score der analysierten Tumorprobe, geben zusammenfassende Informationen zu Änderungen der Kopienzahl und Details zu den ermittelten Keimbahnvarianten. Darüber hinaus liefern wir Hinweise auf eine mögliche klonale Hämatopoese von unbestimmtem Potential (CHIP) und auf eine HPV- oder EBV-Infektion.

3 Therapierelevante Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden die Details zu Varianten mit therapeutischer Relevanz genannt. Für jedes Gen wird die somatische Veränderung sowie ihre funktionelle Auswirkung auf das betroffene Protein dargestellt. Darüber hinaus werden für jede Variante / jeden Biomarker, die therapeutische(n) Option(en) einschließlich der EMA/FDA-Zulassung aufgeführt.

PGX

Wird eine pharmakogenetisch relevante Variante nachgewiesen, wird das Gen einschließlich der Veränderung und der Auswirkung auf das Protein dargestellt. Ebenso wird die betroffene Therapie einschließlich des daraus resultierenden Phänotyps aufgeführt (in diesem Beispielbefund nicht dargestellt). Zusätzlich kann ein separater, nicht Tumortherapie-spezifischer, PGX-Befund angefordert werden.

CHIP

Bei Hinweisen auf eine mögliche klonale Hämatopoese mit unbestimmtem Potenzial werden das Gen, die Variante und das Transkript, einschließlich der NAF in der Blut- und Tumorprobe, aufgeführt (in diesem Beispielbefund nicht dargestellt).

1 Patient information section with fields for Name, Date of Birth, Sex, and External ID.

2 Summary table with columns: Gen, Veränderung, Kopienzahl, TMB, MSI, HRD, and CHIP. The 'CHIP' cell is highlighted in red.

3 Table of potentially therapy-relevant variants with columns: Gen, Veränderung, Transkript, NAF, Pathogenese, Protein, Funktion, Wirkung, and Empfehlung.

4 Section titled 'ALLE AUTOMATISCH DETEKTIERTEN SOMATISCHEN VARIANTEN' with a table listing detected somatic variants.

5 Section titled 'KOPENZAHLVERÄNDERUNGEN' (Copy Number Changes) with a table showing copy number changes for various genes.

6 Section titled 'EMPFERUNG' (Recommendation) with text regarding the detection of a pathogenic variant in the BRCA2 gene.

4 Vollständige Liste der automatisch erkannten somatischen Varianten und Chromosomen-aberrationen

Die Tabelle enthält alle somatischen Varianten (Einzelnukleotidvarianten und kleine Deletionen/Insertionen (≤ 40 bp)), die automatisch in den sequenzierten Regionen identifiziert wurden. Darüber hinaus werden die ermittelten Kopienzahlveränderungen (Deletionen und/oder Amplifikationen) großer genomischer Abschnitte aufgeführt. Die Tabelle zeigt die veränderte chromosomale Region, die funktionelle Kategorie und die geschätzte Kopienzahl der chromosomalen Region. Falls zutreffend, werden auch die therapeutisch relevanten Gene angezeigt.

5 Empfehlungen

In diesem Abschnitt werden klinische Empfehlungen für die überweisende Ärztin oder den überweisenden Arzt gegeben. Dies sind z. B. Empfehlungen zur genetischen Beratung in Fällen, in denen pathogene Keimbahnvarianten identifiziert wurden.

6 Grafische Darstellung der wichtigen Biomarker (TMB und HRD)

Die Tumormutationslast (TMB) der Patientenprobe wird grafisch dargestellt. Die Grafik zeigt den TMB der Patientin oder des Patienten im Vergleich zur Mutationslast, die für eine Vielzahl verschiedener Tumorentitäten veröffentlicht wurde. Der HRD-Score (Homologe Rekombinationsdefizienz) der Patientin oder des Patienten wird in einer Grafik mit hausinternen Kohorten, die für die Validierung des HRD-Scores verwendet wurden, verglichen.

7 Kopienzahlprofil

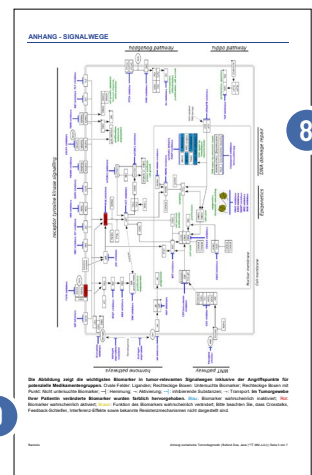
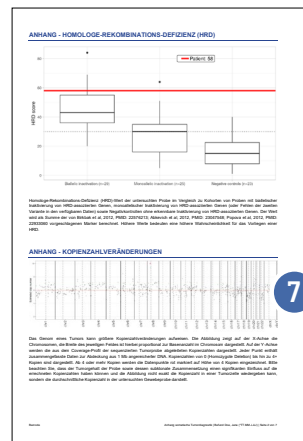
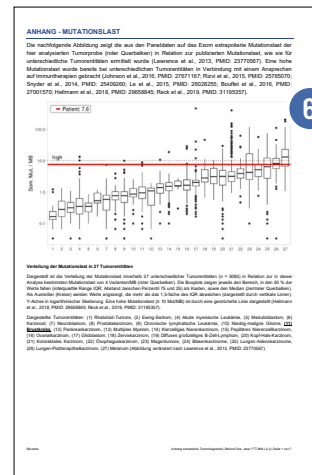
Die Abbildung zeigt das normalisierte Abdeckungsprofil der sequenzierten Tumorsequenz mit einer Auflösung von 1 Mb.

8 Signalwegdarstellung

Grafische Darstellung der tumorrelevanten Signalwege mit Hervorhebung von aktivierenden/inaktivierenden Veränderungen im Tumor. Potenzielle therapeutische Maßnahmen werden zusammen mit ihren Angriffspunkten dargestellt.

9 Therapeutische Strategien (FDA/EMA zugelassen)

Auswahl der in Frage kommenden Medikamente auf Basis der befundeten Varianten. Diese Liste enthält Medikamentenklassen und -namen sowie deren Zulassung (FDA/EMA) und Zulassungsbeschränkungen.



IN FRAGE KOMMENDE MEDIKAMENTE
Die Abbildung zeigt die wichtigsten Signalwege in tumorrelevanten Signalwegen. Die Abbildung zeigt die wichtigsten Signalwege in tumorrelevanten Signalwegen.

Medikament	Indikation	Wirkmechanismus	Zulassung
... (Table content partially obscured)

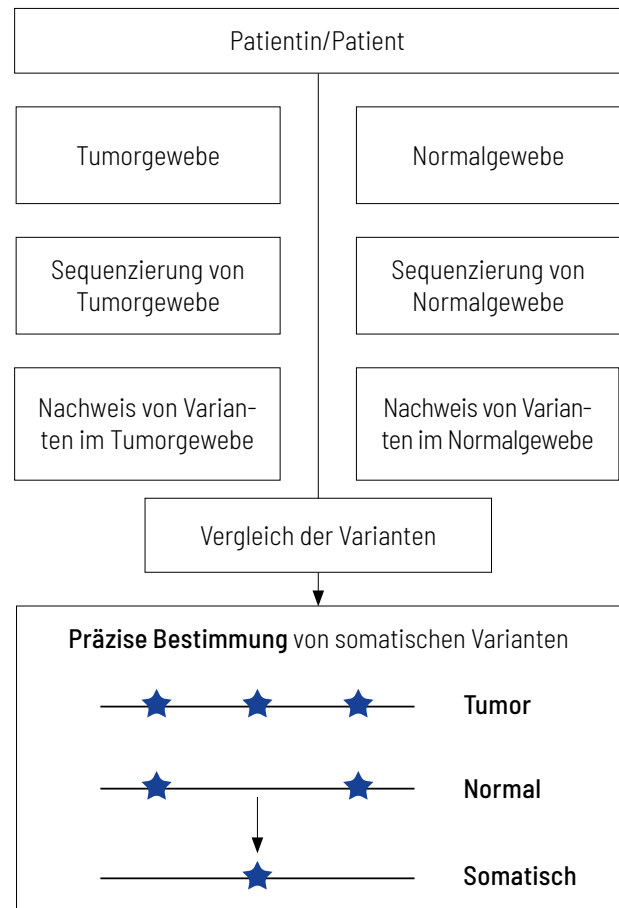
Vergleich von Tumor- und Normalgewebe

Das einzig valide Vorgehen zur korrekten Ermittlung somatischer Varianten

In der Tumordiagnostik müssen Varianten unterschieden und verglichen werden, die auf den Tumor beschränkt sind (somatische Varianten) sowie Varianten, die auch im gesunden Gewebe vorhanden sind (Keimbahnvarianten).

Die einzig valide Methode, Varianten im gesunden Gewebe zu bestimmen, ist die Sequenzierung des passenden Normalgewebes zusammen mit dem Tumorgewebe. Methoden, die versuchen, die Normalgewebesequenzierung durch bioinformatische Ansätze zu ersetzen, können nicht klar zwischen Keimbahn- und somatischen Varianten unterscheiden, insbesondere wenn der Tumorgehalt der Probe hoch ist (Jones *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2018). Ferner können diese Methoden unter anderem zu einer falschen Berechnung des TMBs führen, wodurch Patientinnen und Patienten im schlimmsten Fall nicht optimal behandelt werden (Nassar *et al.*, 2022).

Aus diesem Grund sequenzieren wir immer sowohl DNA aus dem Tumor als auch aus dem Normalgewebe (meist Blut). Die Sequenzierungsdaten beider Gewebe werden verglichen und so die somatischen Varianten korrekt bestimmt.



Um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, ist der Vergleich von Tumoren mit entsprechendem Normalgewebe unerlässlich. Diagnostische Tests, die keine Analyse von Tumoren und dazu passendem Normalgewebe durchführen, liefern in der Regel ungenaue Ergebnisse.

Wir sequenzieren für unsere CancerPrecision®-Diagnostik immer Tumorgewebe und das entsprechende Normalgewebe.

Umfassendes Tumorprofil auf einen Blick

Die Kenntnis über das molekulargenetische Tumorprofil ist für die Personalisierung der Behandlung und die Identifizierung zusätzlicher Behandlungsoptionen von entscheidender Bedeutung. Da die Anzahl der Biomarker, die wir in unserem CancerPrecision®-Befund adressieren, sehr hoch ist, werden die Ergebnisse in Hauptkategorien gruppiert und als Kacheln dargestellt. Behandlungsrelevante Ergebnisse sind farblich hervorgehoben.

Der Befund enthält einzelne Kacheln für Tumorgehalt, TMB, MSI, sowie den HRD-Score der analysierten Probe. Zudem enthält der Befund separate Kacheln für strukturelle Variantenbefunde, Tumortreibermutationen, Hinweise auf Virusinfektionen (HPV/EBV), Keimbahnvarianten (die die Erkrankung der Patientin oder des Patienten erklären bzw. therapie relevant sind), pharmakogenetische Varianten mit Auswirkungen auf die Tumorbehandlung und mögliche klonale Hämatopoese mit unbestimmtem Potenzial (CHIP).

<p>Tumorgewebe & Tumorgehalt</p> <p>Probe des Mammakarzinoms von MM/JJJJ</p> <p>30 % (histologisch) 25 % (bioinformatisch)</p> <p>Mindestens 20%</p>	<p>Mutationslast (TMB)</p> <p>7,6 Var/Mb</p> <p>Hoch ≥ 10</p>	<p>Mikrosatelliten-Instabilität (MSI)</p> <p>Kein Hinweis auf eine MSI</p> <p>Score 0,14</p> <p>Hinweis auf MSI $\geq 0,33$</p>	<p>Homologe Rekombinations-Defizienz (HRD)</p> <p>Hinweis auf eine HRD</p> <p>Score 58,0</p> <p>Hinweis auf HRD ≥ 30</p>	<p>Fusionen, Strukturvarianten</p> <p>Kein Hinweis auf das Vorliegen potenziell therapie relevanter Veränderungen auf DNA- und RNA-Ebene</p>
<p>Tumor-Treiber</p> <p>Identifizierte Tumortreiber: <i>BRCA2, PIK3CA</i></p> <p>Relevante Gene ohne onkogene Veränderung: <i>BRCA1, ERBB2</i></p>	<p>Virale Infektion</p> <p>Kein Hinweis auf eine Infektion mit HPV/EBV im Tumor</p>	<p>Keimbahn-Varianten</p> <p>Nachweis einer pathogenen Keimbahnvariante im Gen <i>BRCA2</i></p>	<p>Pharmakogenetik</p> <p>Kein Nachweis von Keimbahnvarianten mit Auswirkungen auf Arzneimittel</p>	<p>CHIP</p> <p>Kein Hinweis auf eine CHIP</p>

Varianten mit potenzieller therapeutischer Relevanz

Wegweiser für potenziell wirksame Medikamente

Die einzelnen therapierelevanten Veränderungen werden für jedes Gen detailliert dargestellt und die sich daraus ergebenden therapeutischen Optionen, einschließlich der EMA/FDA-Zulassung, angegeben (A). Diese Optionen bilden die Grundlage für die Diskussion in einem molekularen Tumorboard (MTB).

Im Anhang des medizinischen Befunds stellen wir eine umfangreiche Liste möglicher therapeutischer Strategien für jede identifizierte somatische Veränderung zur Verfügung (B). Diese Liste enthält neben den Medikamentenklassen und -namen auch deren Zulassung (FDA/EMA) und einschränkende Bedingungen.

Varianten mit potenzieller therapeutischer Relevanz:

A)

Gen	Funktionelle Klasse	Variante	NAF	Einfluss auf die Proteinfunktion	Therapie-Option zur Diskussion im MTB	EMA/FDA Zulassung	Zulassung in der vorliegenden Entität
<i>BRCA2</i> (Keimbahn)	frameshift	c.3847_3848delGT; p.Val1283Lysfs*2	het. und Verlust des Wildtyp-Allels im Tumor	inaktivierend	PARP-Inhibitor	EMA* & FDA*	EMA* & FDA*

B)

Medikament	Tumorentität	Zulassung	Zulassung beschränkt auf Biomarker/Sonstiges	Zulassung in Kombination mit weiterem Wirkstoff
Niraparib PARP-Inhibitor	EileiterTumor	EMA	advanced or relapsed cancer, prior response to platinum-based chemotherapy	
		FDA	cancer associated with homologous recombination deficiency (HRD) adult patients, advanced or recurrent cancer, prior response to platinum-based chemotherapy	
	Ovarialkarzinom	EMA	advanced or relapsed cancer, prior response to platinum-based chemotherapy	
		FDA	cancer associated with homologous recombination deficiency (HRD) adult patients, advanced or recurrent cancer, prior response to platinum-based chemotherapy	
	Peritonealkarzinom	EMA	advanced or relapsed cancer, prior response to platinum-based chemotherapy	
		FDA	cancer associated with homologous recombination deficiency (HRD) adult patients, advanced or recurrent cancer, prior response to platinum-based chemotherapy	
Olaparib PARP-Inhibitor	Brustkrebs	EMA	germline <i>BRCA1/2</i> variant, <i>HER2</i> -negative or HR-positive adult patients, locally advanced or metastatic breast cancer, prior endocrine or chemotherapy	
		FDA	deleterious or suspected deleterious germline <i>BRCA</i> mutation, <i>HER2</i> -negative or HR-positive adult patients, high risk or metastatic cancer, prior adjuvant or neo-adjuvant therapy	
	Eileiterkrebs	EMA	deleterious or suspected deleterious germline or somatic <i>BRCA</i> mutation adult patients, advanced (FIGO stages III and IV) cancer, prior response to platinum-based chemotherapy	
		FDA	cancer associated with homologous recombination deficiency (HRD) adult patients, advanced cancers, prior response to platinum-based chemotherapy	Bevacizumab
		FDA	deleterious or suspected deleterious germline or somatic <i>BRCA</i> mutation adult patients, prior response to platinum-based chemotherapy	

Beispielbefund: Exemplarisch für die befundene *BRCA2*-Variante und die sich daraus ergebenden therapeutischen Optionen bei einer Brustkrebspatientin. Oberer Teil (A): Ein Ausschnitt aus Tabelle 1 des Befunds, in dem Varianten mit therapeutischer Relevanz aufgeführt sind. Unterer Teil (B): Auflistung von Medikamenten (Niraparib und Olaparib sind in diesem Abschnitt als Beispiel aufgeführt). Neben Niraparib und Olaparib werden auch andere Medikamente (Rucaparib und Talazorib) beschrieben.

Den Beispielbefund finden Sie hier:
www.cegat.com/de/cancerprecision



Darstellung der Signalwege

Für ein detailliertes Verständnis der veränderten Signalkaskaden

Tumoren entstehen als Folge eines abweichenden Zellverhaltens bezüglich Zellwachstum und Zellsterben. Beide Prozesse geraten im Laufe der Tumorentwicklung außer Kontrolle. Typischerweise werden alle zellulären Prozesse durch ein komplexes Netzwerk von Signalwegen stark reguliert und kontrolliert.

Unser medizinischer Befund bietet einen umfassenden Überblick über das Netzwerk der tumorassoziierten Signalwege und ihre molekularen "Schlüsselakteure" sowie über alle relevanten genetischen Veränderungen und verfügbaren Medikamentenklassen, um:

- ✗ die Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Signalwegen zu verstehen und
- ✗ möglichen Umgehungsstrategien des Tumors entgegenzuwirken.

Tumoren zeichnen sich durch eine Anhäufung von Mutationen in Genen aus, die Schlüsselrollen in dieser komplexen Signalmaschinerie erfüllen. Eine einzige genetische Veränderung kann mehrere Signalwege beeinflussen. Daher ist es, neben dem Nachweis von krankheitsassoziierten Mutationen, entscheidend, das gesamte Zusammenspiel der Signalwege, die von den genetischen Varianten beeinflusst werden, zu verstehen.

Dieser Ansatz hilft mögliche Ausweichstrategien des Tumors zu identifizieren. So können alle möglichen therapeutischen Optionen, einschließlich wirksamer Kombinationstherapien, in Betracht gezogen werden.

Berücksichtigte Signalwege

- ✗ Signalübertragung über Rezeptor-Tyrosinkinasen
- ✗ Zellzyklus
- ✗ Reparatur von DNA-Schäden
- ✗ Hormonelle Wege
- ✗ Wnt-Signalweg
- ✗ Hedgehog-Signalweg
- ✗ Hippo-Signalweg
- ✗ Apoptosis-Signalweg
- ✗ Epigenetische Regulatoren

TMB Bestimmung und MSI Vorhersage

Die Grundlage für therapeutische Entscheidungen über Immuntherapien mit Checkpoint-Inhibitoren

Die Tumormutationslast (TMB), also die Anzahl der somatischen Mutationen pro Megabase (Mut/Mb), ist ein zuverlässiger Biomarker für das Ansprechen auf eine Behandlung mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren.

Je höher die Anzahl der genetischen Veränderungen innerhalb einer Tumorzelle ist, desto mehr mutierte Proteine werden exprimiert. Diese mutierten Proteine werden zu kurzen Fragmenten (Peptiden) verarbeitet, die auf der Zelloberfläche von Tumorzellen präsentiert werden. Solche mutierten Peptide werden als Neoantigene bezeichnet und sind hoch immunogen. Das bedeutet, dass sie von Immunzellen, insbesondere von T-Zellen, sehr effektiv erkannt werden. T-Zellen sind in der Lage, Tumorzellen nach der Antigenerkennung direkt zu eliminieren. Je höher die Zahl der Mutationen ist, desto größer ist daher die Chance, dass Neoantigene auf Tumorzellen präsentiert werden, und desto effizienter ist die Tumorbekämpfung durch T-Zellen.

Mit der Analyse unseres umfassenden, hochempfindlichen Panels im Tumor- und Normalgewebe, können wir den TMB präzise berechnen. Diese Metrik wird verwendet, um Tumoren in Gruppen mit niedriger und hoher Mutationslast zu klassifizieren. Wir führen die Klassifikation des TMBs sowie die genaue Mutationsrate der Tumorprobe auf.

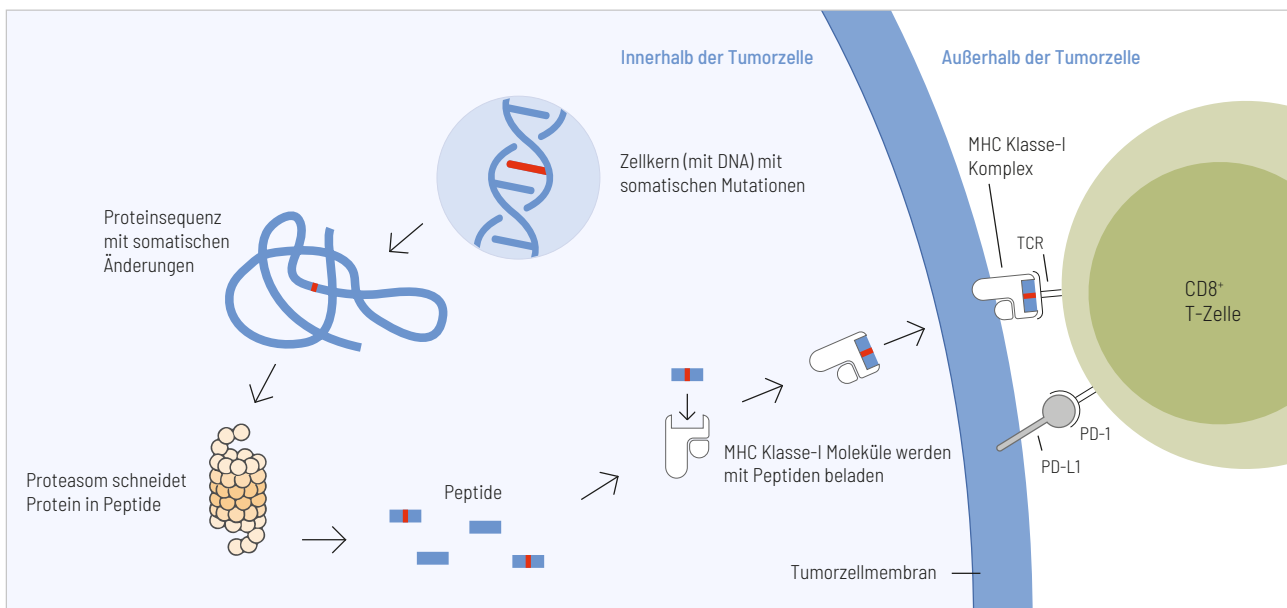
Bei der Berechnung des TMBs ist auch die Größe des Panels für die Genauigkeit der Ergebnisse entscheidend. Mit einer Größe von 2,2 Mb liegt CancerPrecision® deutlich über der Mindestanforderung von 1,5 Mb und gewährleistet eine robuste Berechnung des TMBs (Buchhalter *et al.*, 2019).

TMB und MSI sind zuverlässige Biomarker für die Vorhersage der Wirksamkeit von Immun-Checkpoint-Inhibitoren.

(Le *et al.*, 2015; Reck *et al.*, 2019; Palmeri *et al.*, 2022).

Die MSI (Mikrosatelliteninstabilität) ist ein weiterer wichtiger Parameter für das Ansprechen auf Immun-Checkpoint-Inhibitoren. Mikrosatelliten sind kleine repetitive DNA-Sequenzen, die sich im gesamten Genom finden. Die Größe von Mikrosatelliten kann sich aufgrund von Ausfällen der DNA-Mismatch-Reparaturmechanismen verändern.

Traditionellerweise wird der MSI-Status durch einen Vergleich von Mikrosatelliten-Regionen im Tumor- und Normalgewebe mittels PCR ermittelt. Wir bei CeGaT können den MSI-Status durch NGS vorhersagen. Diese Berechnung wurde mit Hunderten von Probenpaaren aus Normal- und Tumorgewebe verschiedener Tumorarten, bei denen mehr als 2.500 Mikrosatelliten-Foci untersucht wurden, validiert.



Präsentation von somatischen Peptiden, die von Tumorzellen stammen. Somatische Mutationen treten bei Krebs häufig auf und verändern dauerhaft die genomische Information. Diese genetischen Veränderungen können zur Expression von Proteinen mit veränderten Aminosäuresequenzen führen. Peptide, die eine somatische Veränderung tragen und damit ein besonders starkes immunstimulierendes Potenzial aufweisen, können auf der Oberfläche von Tumorzellen präsentiert werden und eine wirksame Anti-Tumor-Immunantwort hervorrufen.

HRD – Homologe Rekombinationsdefizienz

Verschiedene DNA-Reperaturmechanismen sorgen in gesunden Zellen für ein stabiles und fehlerfreies Genom. Die homologe Rekombination (HR) ist hierbei für die Reparatur von DNA-Schäden, die beide DNA-Stränge betreffen (Doppelstrangbrüche), von besonderer Bedeutung. Ist dieser Mechanismus gestört sammeln sich Mutationen, Chromosomenaberrationen und andere Fehler im Genom an und man spricht von einer homologen Rekombinationsdefizienz (HRD). Durch die daraus resultierende genomische Instabilität begünstigt die HRD die Tumorentwicklung und trägt zur Tumorentstehung bei verschiedenen Tumorarten, insbesondere bei Brust- und Eierstockkrebs, bei (Heeke *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2020).

Für zahlreiche HR-defiziente Tumoren gibt es wirksame therapeutische Ansätze, die sich die sogenannte synthetische Letalität zunutze machen, beispielsweise durch Verabreichung von PARP-Inhibitoren und platinhaltigen Chemotherapien. Diese Therapeutika verursachen DNA-Brüche, welche die verbleibende DNA-Reparaturmaschinerie von HR-defizienten Tumoren so stark belasten, dass diese absterben, während gesunde Zellen dank intakter Reperaturmechanismen überleben. Zur Identifizierung der Tumoren, bei denen diese Medikamente eingesetzt werden können, ist eine zuverlässige Bestimmung des HRD-Status von höchster Relevanz.

HR-defiziente Tumoren werden häufig durch Keimbahn- oder somatische Mutationen in *BRCA1* oder *BRCA2* verursacht. Daher wird dieses Muster oft als *BRCAness* bezeichnet. Darüber hinaus haben sich Mutationen in anderen HR-Genen wie *RAD51C*, *ATM* und *PALB2* als mögliche Ursache für eine HRD erwiesen. Allerdings muss nicht jeder genetische Defekt in HR-Genen zwangsläufig zu einer HRD im Tumor führen. Zudem kann eine HRD auch dann vorliegen, wenn keine HR-Genmutation durch Sequenzierung nachweisbar ist (z. B. wurde eine Promotor-Methylierung von *BRCAness*-Genen ebenfalls als Ursache für eine HRD identifiziert). Werden ausschließlich Sequenz-Mutationen in *BRCAness*-Genen untersucht, kann eine potenzielle HRD unentdeckt bleiben. Um sicherzustellen, dass HR-defiziente Tumoren nicht übersehen werden, berechnen wir den HRD-Score als Teil jeder CancerPrecision®-Analyse – unabhängig von der Tumorentität.

Der HRD-Score misst eine spezielle Signatur der genomischen Instabilität anhand der Anzahl der Chromosomen-

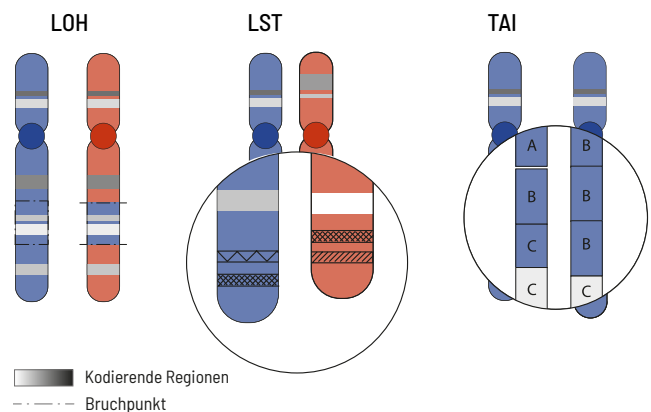
veränderungen wie Insertionen, Deletionen und Substitutionen, die auf genomweiter Ebene auftreten, auch ohne, dass die dafür verantwortlichen Genmutationen identifiziert werden müssen. Diese Signatur wird anschließend zur Berechnung des HRD-Scores der Tumorprobe verwendet. Der HRD-Score wird aus drei typischen HRD-Ereignissen berechnet:

- ✗ Loss of heterozygosity (LOH)
- ✗ Large-scale state transition (LST)
- ✗ Telomeric allelic imbalance (TAI)

LOH ist der irreversible Verlust eines elterlichen Allels, welcher besonders schwerwiegend ist, wenn das andere Allel bereits inaktiviert ist. LOH-Regionen werden definiert als Regionen, die größer als 15 Mb, aber kleiner als das gesamte Chromosom sind.

Zur Bestimmung der **LST** wird die Anzahl der Bruchpunkte zwischen benachbarten Chromosomenregionen bewertet, die Kopienzahlgewinne oder -verluste von mehr als 10 Mb umfassen.

Eine **TAI** tritt auf, wenn das Telomer eines Chromosoms in einem der beiden Chromosomen stark verkürzt ist, wodurch ein allelisches Ungleichgewicht in dieser Region entsteht. Dieses Ungleichgewicht resultiert daraus, dass die repetitiven DNA-Sequenzen in Telomerregionen besonders anfällig für HRD sind.



Der HRD-Score wird in unserem CancerPrecision®-Befund zusammen mit allen identifizierten somatischen Mutationen und ausgewählten Genfusionen sowie TMB, MSI und CNVs angegeben.

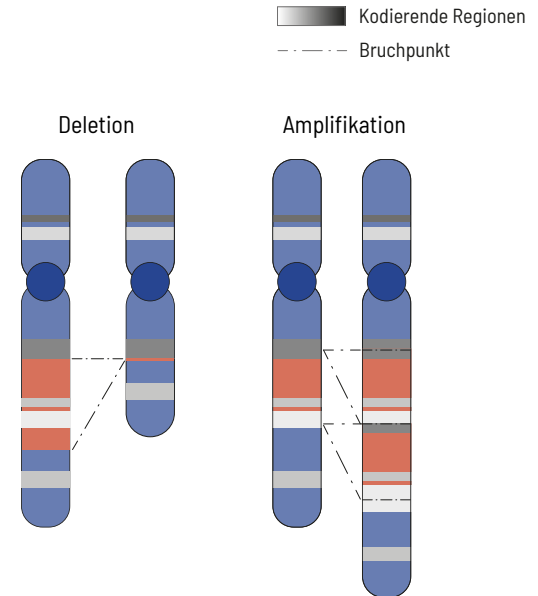
CNV-Analyse

Deletionen/Amplifikationen für die höchste therapeutische Ausbeute bestimmen

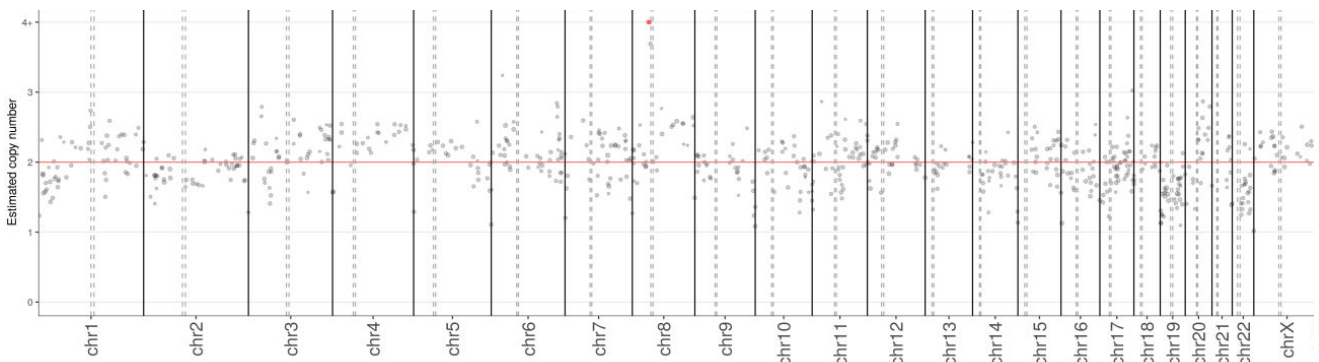
Zelluläre Prozesse sind streng reguliert. Diese Regulierung hängt von der korrekten Funktion der Gene ab. Bei Tumoren ist die Kopienzahl der Gene häufig verändert, wodurch die korrekte Funktion der betroffenen Gene beeinträchtigt wird. Eine Erhöhung der Kopienzahl eines Gens kann dessen Aktivität steigern, während eine (teilweise) Deletion zu einem Funktionsverlust führen kann. Daher können Chromosomenaberrationen, die zu Veränderungen der Kopienzahl führen, auch therapeutische Konsequenzen haben.

Bei Tumoren sind Kopienzahlvariationen (Copy Number Variations, kurz CNVs) aufgrund der allgemeinen genomischen Instabilität häufig. Hier sind oft große Chromosomenteile entweder deletiert oder amplifiziert. Es ist wichtig, diese Deletionen/Amplifikationen zu verstehen und die Gene in der betroffenen Region mit therapeutischer Relevanz zu kennen. Daher ermitteln wir Deletionen und Amplifikationen anhand der NGS-Daten.

Zusammen mit den betroffenen Genen mit therapeutischer Relevanz werden die Deletionen und Amplifikationen zu Beginn des Befunds aufgelistet. Ein vollständiges CNV-Profil der analysierten Regionen ist im Anhang des Befunds zu finden.



CNVs spielen in der Tumorgenetik oft eine wichtige Rolle. Die Kenntnis der Veränderungen bei CNVs hilft bei der Wahl der optimalen Behandlung. Die CNV-Analyse ist daher bei uns ein integraler Bestandteil der somatischen Tumordiagnostik.



Das Genom eines Tumors kann größere Kopienzahlveränderungen aufweisen. Die Abbildung zeigt auf der X-Achse die Chromosomen. Die Breite des jeweiligen Feldes ist hierbei proportional zur Basenanzahl im Chromosom dargestellt. Auf der Y-Achse werden die aus dem Coverage-Profil der sequenzierten Tumorprobe abgeleiteten Kopienzahlen dargestellt. Jeder Punkt enthält zusammengefasste Daten zur Abdeckung aus 1 Mb angereicherter DNA. Kopienzahlen von 0 (Homozygote Deletion) bis hin zu 4+ Kopien sind dargestellt. Ab 4 oder mehr Kopien werden die Datenpunkte rot markiert auf Höhe von 4 Kopien eingezeichnet. Bitte beachten Sie, dass der Tumorgehalt der Probe sowie dessen subklonale Zusammensetzung einen signifikanten Einfluss auf die errechneten Kopienzahlen haben können und die Abbildung nicht exakt die Kopienzahl in einer Tumorzelle wiedergeben kann, sondern die durchschnittliche Kopienzahl in der untersuchten Gewebeprobe darstellt.

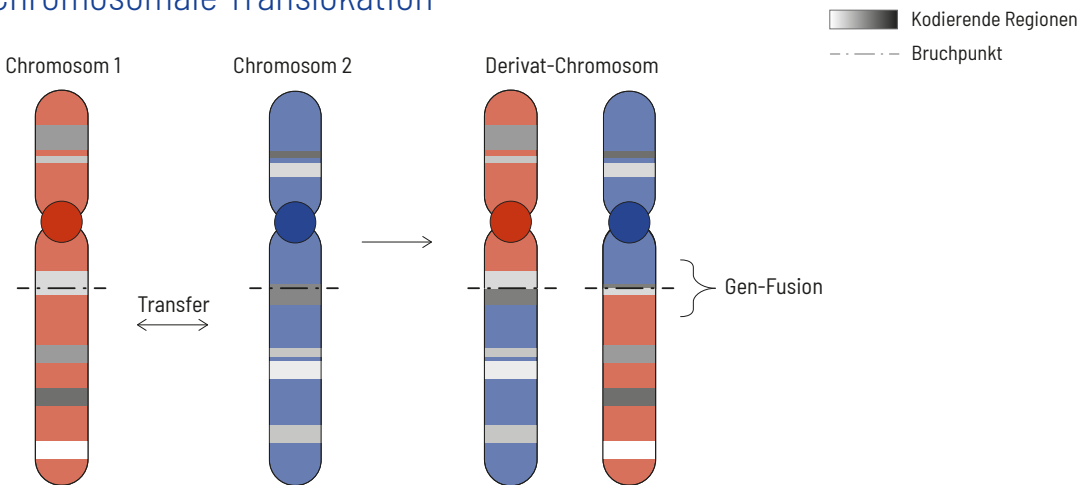
CancerFusionRx

RNA-basierte Identifizierung von Fusionstranskripten

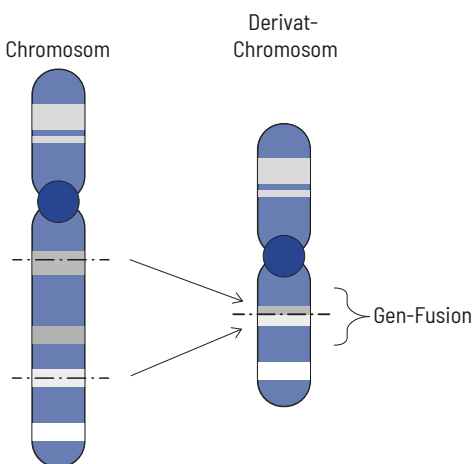
Chromosomale Veränderungen treten häufig und unabhängig von der Tumorentität auf. Infolgedessen kann es zu Genfusionen im Tumorgenom kommen. Fusionen sind oftmals starke Treiber der Tumorerkrankung und daher für Behandlungsentscheidungen sehr wichtig. Herkömmliche, auf PCR-Technologie basierende Methoden, können eine Fusion nicht nachweisen, wenn der Fusionspartner nicht bekannt ist (dies ist bei NTRK-Fusionen häufig der Fall). Selbst Analysen des gesamten Transkriptoms sind nicht sensitiv genug, insbesondere wenn der Tumorgehalt niedrig ist. Um alle bekannten und zuvor beschriebenen, sowie

neuartigen Genfusionen mit einer therapeutischen Option nachzuweisen, haben wir eine gezielte Anreicherung auf RNA-Basis entwickelt. Das Design umfasst aktuell mehr als 150 Gene für den Nachweis von Fusionen und beinhaltet über 120 Exon-Exon spezifische Anreicherungen mit bekannten Bruchpunkten. Diese Methode ist den DNA-basierten Methoden und auch Ansätzen auf Transkriptom-Basis überlegen. Wir empfehlen dringend, die genetische Tumordiagnostik durch RNA-Anreicherung für Fusionen zu ergänzen, um ein möglichst vollständiges Verständnis der Tumorbio-logie zu erhalten.

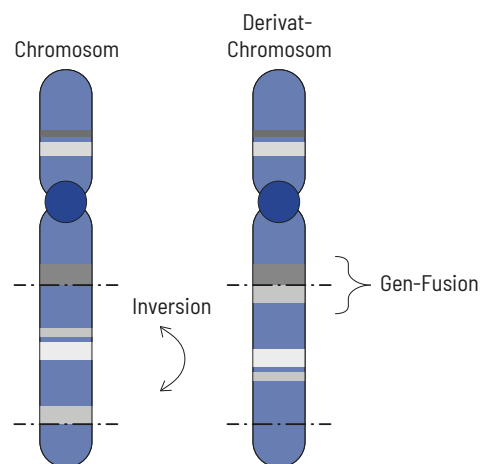
Chromosomale Translokation



Interstitielle Deletion



Chromosomale Inversion



Leistungsfähige Liquid Biopsy-Analysen

Tumorprofiling durch einfache Blutprobe

Die Liquid Biopsy-Analyse ist ein optimales alternatives Testverfahren in Fällen, in denen kein Tumorgewebe verfügbar ist, z. B. bei inoperablen Tumoren oder einem schlechten Patientenzustand. Die Grundlage der Liquid Biopsy-Analyse ist zellfreie DNA (cfDNA), die von nekrotischen und apoptotischen Zellen in die Blutbahn abgegeben wird. Die zirkulierende cfDNA wird sowohl von normalen als auch von Tumorzellen freigesetzt. Der Anteil der vom Tumor stammenden cfDNA (zirkulierende Tumor-DNA/ctDNA) hängt von der Tumorentität, dem Stadium der Erkrankung, der Tumorlast und weiteren Faktoren ab und ist daher nicht bei jeder Patientin und jedem Patienten gleich.

Vorteile von Liquid Biopsy-Analysen:

- ✗ Nicht-invasiv
- ✗ Schnelle und präzise Diagnose
- ✗ Echtzeitüberwachung von Therapien
- ✗ Frühzeitige Erkennung von Wiederauftreten (Rezidiv) oder Fortschreiten der Erkrankung

Da nur ein Bruchteil der zirkulierenden cfDNA aus dem Tumor stammt, sind hochsensitive Methoden erforderlich, um minimale ctDNA-Konzentrationen nachzuweisen. CeGaT hat umfangreiche Liquid-Biopsy-Panels, die zellfreie DNA untersuchen, entwickelt und validiert.

CancerPrecision® nutzt Liquid Biopsy-Analysen, um ein vollständiges genetisches Profil des Tumors zu erstellen und damit die behandelnde Ärztin sowie den behandelnden Arzt bei der Wahl der Therapie zu unterstützen. Für diese Analyse ist ein Tumoranteil von mindestens 20 % erforderlich. Da der Anteil an ctDNA unter 20 % liegen kann, bietet CeGaT zudem ein duplex UMI*-basiertes Panel an. CancerDetect® weist Sequenzvarianten in den handlungsrelevanten, am häufigsten vorkommenden Treibermutationen mit einer Allelfrequenz über 0,25 % nach. Dieser hochsensitive Nachweis tumorspezifischer Biomarker stellt ein hervorragendes Werkzeug zum Monitoring des Therapieansprechens und der minimalen Resterkrankung dar. Aufgrund der hohen Sensitivität des Ansatzes ist ein falsch negativer Befund aufgrund eines geringen Tumorgehalts der Probe weitaus unwahrscheinlicher.

* Unique molecular identifier

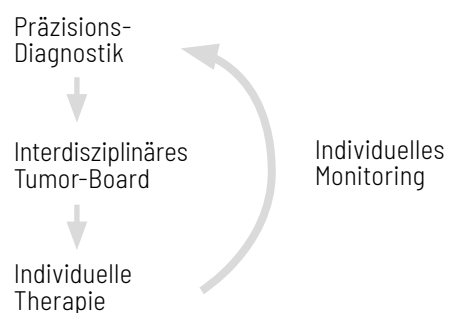
Integration von genetischem Tumor-Profiling in das Patientenmanagement

Unsere somatischen Tumor-Analysen begleiten optimal - von der Diagnose bis zum Monitoring

Zeit ist bei der Behandlung von Krebspatientinnen und Krebspatienten kostbar. Je früher Krebs erkannt wird und eine wirksame Behandlung erfolgt, desto höher ist die Chance auf Heilung. Wenn man die molekularen Details des Tumors frühzeitig erkennt, ermöglicht dies eine wirksame Behandlung in einem frühen Stadium. Die beste Strategie ist ein detaillierter diagnostischer Ansatz, der auch unsere CancerPrecision®-Analyse beinhaltet, um die genetischen Veränderungen des Tumors zu untersuchen.

Anschließend sollten die Ergebnisse in einem lokalen interdisziplinären MTB diskutiert werden. Auf der Grundlage aller verfügbaren Informationen über den Tumor und die Patientin, bzw. den Patienten, entscheidet dieses Gremium über die vielversprechendste Behandlungsstrategie. Diese

individualisierte Therapie sollte angewendet und die Patientin, bzw. der Patient, während der Behandlung auf Erfolg überwacht werden. Je nach Einzelfall sollte das Monitoring auch genetische Marker enthalten, wie unsere CancerDetect® Analyse, um Resistenzmechanismen oder Rezidive frühzeitig zu erkennen.



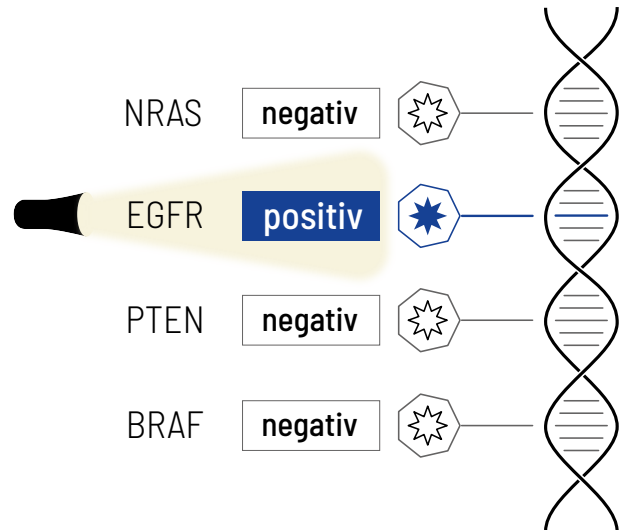
CancerDetect®

Hochsensitive Identifikation therapierelevanter Varianten aus Liquid Biopsy-Proben mit geringem Tumorgehalt

Die Analyse aus Liquid Biopsy weist zellfreie DNA (cfDNA) nach, die von nekrotischen und apoptotischen Zellen in den Blutkreislauf abgegeben wird und ist somit eine optimale Alternative, wenn kein Tumorgewebe zur Verfügung steht. Allerdings stammt nur ein Bruchteil der zirkulierenden DNA aus dem Tumor selbst. Daher sind hochsensitive Methoden erforderlich, um diese minimalen ctDNA-Konzentrationen nachzuweisen.

Das von uns entwickelte CancerDetect®-Panel basiert auf einer duplex UMI-basierten Technologie, die Sequenzvarianten in therapierelevanten, am häufigsten vorkommenden Treibermutationen nachweist. Aufgrund des hochsensitiven Nachweises tumorspezifischer Biomarker kann die Analyse der ctDNA optimal als Surrogatmarker für das Ansprechen der Behandlung im Rahmen der medizinischen Nachsorge eingesetzt werden.

Testung von Einzelmarkern oder Hotspots



Fakten zu CancerDetect®

- ✗ Die Liquid Biopsy-Analyse ermöglicht den Nachweis von Varianten mit potenzieller therapeutischer Relevanz bei Patientinnen und Patienten, bei denen der Tumor nicht zugänglich ist. Damit können Informationen über den Tumor gewonnen und eine Behandlung ermöglicht werden.
- ✗ Hochsensitiver und präziser Nachweis der am häufigsten vorkommenden Treibermutationen in 36 Genen mit sehr niedrigen Allelfrequenzen durch den Einsatz duplex UMI-basierter Technologie (NAF \geq 0,25 %).
- ✗ Hohe Abdeckung von 50.000-100.000x in den Rohdaten.
- ✗ Die einfach zu entnehmende, nicht-invasive und wiederholbare Probennahme bietet die besten Voraussetzungen für Folgeuntersuchungen.
- ✗ Durch den sehr empfindlichen Nachweis tumorspezifischer Biomarker kann die Analyse der ctDNA eingesetzt werden, um die Tumordynamik in Echtzeit zu verfolgen und wenn nötig einzugreifen oder die Behandlung anzupassen (z. B. bei erworbener Arzneimittelresistenz).

CancerDetect® Fallbeispiel

Patientin und Indikation:

- ✗ 42 Jahre alt, weiblich, metastasierendes nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom (Non-small cell lung cancer) mit einer *EGFR-L858R*-Mutation im Primarius
- ✗ Rezidiv nach initialem Ansprechen auf Afatinib-Behandlung
- ✗ Rezidiv inoperabel, keine Tumorbiopsie möglich

Primärer Befund:

Das Ergebnis einer Analyse der zellfreien DNA mit einem Standard-Panel für Lungenkrebs blieb negativ.

CancerDetect®-Befund:

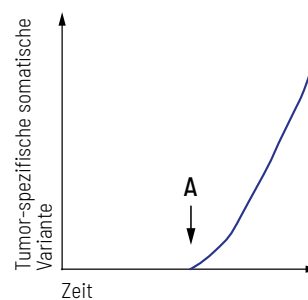
Unsere CancerDetect®-Analyse ergab einen Tumorgehalt von 2 % in der Liquid Biopsy und wies die *EGFR-L858R*-Mutation, sowie zusätzlich eine *EGFR-T790M*-Mutation nach. Die *EGFR-T790M*-Mutation stellt einen der häufigsten Resistenzmechanismen gegen Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) dar und tritt typischerweise bei NSCLC-Patientinnen und -Patienten nach Erstlinien-TKI-Behandlung auf. Bei dieser Patientin wurde die Behandlung mit dem *EGFR*-Inhibitor der dritten Generation Osimertinib angepasst.



CancerDetect® Anwendungen bei Monitoring

Anwendung "Rezidiv-Früherkennung":

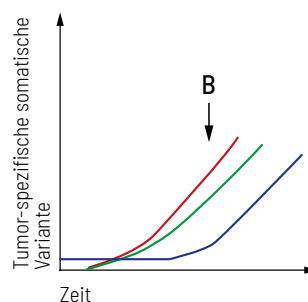
Nach der Operation/Behandlung wurde der Patient als tumorfrei betrachtet. Regelmäßige Liquid Biopsy-Analysen ergaben ein Fortschreiten des Tumors, welches mit der Zunahme einer tumorspezifischen Variante und dem Wiederauftreten des Tumors einherging. Der hochempfindliche Nachweis des Biomarkers kann ein Tumorrezidiv früher erkennen als herkömmliche bildgebende Verfahren.



A = Zeitpunkt des klinisch nachweisbaren Rezidiv

Anwendung "Monitoring während der Behandlung":

Nach der Behandlung kam es bei dem Patienten zu einer starken Regression und es zeigte sich ein stabiler Zustand. Das longitudinale Monitoring liefert ein aktuelles molekulares Profil des Tumors und erkennt aufkommende Therapieresistenz rechtzeitig. Hier treten neben der Primärtumormutation 2 weitere Subklone auf, die eine entsprechende Anpassung der Behandlung notwendig machen.



B = Zeitpunkt des klinisch nachweisbaren Rezidiv und erworbener Resistenz

Hinweise zum Probenmaterial und -versand

Ein Tumor verändert sich im Verlauf der Erkrankung. Wir empfehlen daher, uns eine aktuelle Tumorprobe zuzusenden. In einigen Fällen kann eine Analyse von mehr als nur einer Probe sinnvoll sein.

Standardanforderungen für Proben:

Normalgewebe:

- ✗ 1-2 ml EDTA-Blut (empfohlene Probenart), oder
- ✗ genomische DNA (1-2 µg)

Tumorgewebe: (Tumorgehalt min. 20 %)

- ✗ FFPE-Tumorblock (min. 5 × 5 × 5 mm) (empfohlene Probenart), oder
- ✗ FFPE-Objektträger mit Tumorgewebe: 10 ungefärbte Gewebeschnitte, Gewebegröße 5 × 5 mm, 4-10 µm, oder
- ✗ genomische DNA (> 200 ng), oder
- ✗ frisch gefrorenes Tumorgewebe, oder
- ✗ 3 × 10 ml cfDNA-Röhrchen für Liquid Biopsy-Analysen

Andere Probenmaterialquellen sind auf Anfrage möglich.
Bitte beachten Sie: Bei unzureichender Probenqualität oder Tumorgehalt kann die Analyse fehlschlagen.

Wenn Sie mehr als eine Option für Tumorproben haben, setzen Sie sich bitte mit uns in Verbindung (tumor@cegat.de). Wir unterstützen Sie gerne bei der Auswahl der optimalen Probe für Ihre Patientin oder Ihren Patienten.

Checkliste benötigter Materialien:

- Tumorgewebeprobe
- Normalgewebeprobe
- Ausgefülltes Einsendeformular
- Klinische Hintergrundinformationen zur Patientin oder zum Patienten und der Tumorerkrankung

Unsere Einsendeformulare für CancerPrecision® und CancerDetect® können hier heruntergeladen werden: www.cegat.com/de/einsendeformulare



Ablauf



Eingang von Tumorgewebe, Normalgewebe und Einsendeformular



Parallele Sequenzierung von Tumor- und Normalgewebe mittels Next Generation Sequencing



Nachweis und Identifizierung von therapie relevanten Biomarkern durch die bioinformatische Analyse der Sequenzierdaten



Interpretation und Diskussion der Ergebnisse durch ein interdisziplinäres Team



Zusammenfassung der Ergebnisse in einem ausführlichen medizinischen Befund

Das myCeGaT-Portal

Beauftragen Sie Ihre genetischen Analysen ab sofort online im myCeGaT-Portal. Scannen Sie hierzu den QR-Code **oder besuchen Sie** www.cegat.com/de/mycegat-portal



Häufig gestellte Fragen

Welche Tumorentitäten können mit CancerPrecision® analysiert werden?

Alle Tumorentitäten können mit unserem umfassenden somatischen Tumorpanel analysiert werden. Das Panel umfasst alle Gene, von denen bekannt ist, dass sie eine Rolle bei der Entwicklung, dem Wachstum und dem Überleben von Tumoren spielen, und die bei Tumoren aufgrund von Mutationen dysreguliert sein können. Außerdem wird die Zusammensetzung unseres somatischen Tumorpanels regelmäßig nach neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen aktualisiert, um sicherzustellen, dass immer alle relevanten tumorassoziierten Gene analysiert werden.

Wann ist der richtige Zeitpunkt für ein genetisches Tumor-Profilung?

Je früher, desto besser. Je länger die Lebensdauer eines Tumors ist und je mehr Therapien er überdauert, desto mehr Resistenzmechanismen und Überlebensstrategien entwickelt er. Das macht die Behandlung schwieriger. Im Idealfall sollte bereits nach der Erstdiagnose eine umfassende genetische Tumoranalyse durchgeführt werden. Die Kenntnis der tumorspezifischen genetischen Veränderungen ist entscheidend für die Wahl der besten Behandlung.

Welches Tumorgewebe sollte für die Analyse verwendet werden - der Primärtumor oder das neueste Tumorgewebe?

Tumoren verändern sich im Laufe der Zeit und mit jeder Therapie. Um sicherzustellen, dass die genetische Analyse ein aktuelles molekulares Profil des Tumors liefert, empfehlen wir dringend, das zuletzt gewachsene Tumorgewebe zu analysieren, z. B. nach einem Rezidiv oder einer Progression während oder nach einer bestimmten Behandlung. So werden mögliche Resistenzen, die der Tumor durch die Therapie erwerben könnte, bei der Analyse und somit bei der anschließenden Behandlungsentscheidung, berücksichtigt. Wir beraten Sie gerne unter tumor@cegat.de.

Was ist, wenn das neueste Tumorgewebe nicht operativ entfernt werden kann?

Manchmal ist eine Resektion von neu gewachsener Tumormasse nicht möglich, zum Beispiel, wenn der Tumor im Körper schwer zugänglich ist oder eine neue Operation für die Patientin oder den Patienten als zu riskant eingestuft wird. Für diese Fälle bieten wir die Liquid Biopsy-Analyse an (z. B. aus Blut): Hier wird die zellfreie DNA (cfDNA) analysiert, die von Tumorzellen in den Blutkreislauf

abgegeben wird. Dabei empfehlen wir die gleichzeitige Analyse des verfügbaren Tumorgewebes aus der Originalresektion und einer neu gewonnenen Liquid Biopsy. Dieser Ansatz ermöglicht ein robustes Tumor-Profilung auf Basis des Tumorgewebes und bietet die Möglichkeit auf Grundlage der ctDNA-Analyse ein sehr umfassendes und aktuelles Bild von den genetischen Veränderungen des Tumors zu erhalten. Für die Untersuchung von cfDNA werden spezielle Blutentnahmeröhrchen benötigt. Bitte kontaktieren Sie uns hierzu.

Die Patientin oder der Patient möchte eine Liquid Biopsy-Analyse durchführen und befindet sich gerade in Behandlung. Wann ist der beste Zeitpunkt für die Probenentnahme?

Die Probenahme sollte den Verlauf der Therapie nicht beeinflussen. Da diese Frage komplex ist und nicht pauschal beantwortet werden kann, empfehlen wir der behandelnden Ärztin oder dem behandelnden Arzt, sich mit uns in Verbindung zu setzen, um dies im Detail zu besprechen. Sie erreichen uns unter tumor@cegat.de.

Der Tumor wurde diagnostisch untersucht und entsprechend behandelt - die Patientin oder der Patient hat nun ein Rezidiv. Was soll ich tun?

Um eine Tumorerkrankung optimal behandeln zu können, kann nach einer gewissen Zeit eine Anpassung der Therapie erforderlich sein. Der Tumor könnte einen Abwehrmechanismus entwickelt haben, der die bisherige Behandlung unwirksam macht. In einem solchen Fall kann es zu einem Rezidiv kommen. Daher sollte eine neue Probe analysiert werden, um die Veränderungen zu identifizieren, die während der Therapie zum erneuten Tumorwachstum geführt haben. Basierend auf den neuen Erkenntnissen kann das weitere Vorgehen auf den Tumor abgestimmt werden.

Wozu wird das Normalgewebe benötigt?

Jeder Mensch unterscheidet sich von anderen Menschen durch Zehntausende von Keimbahnvarianten. Jede Tumorerkrankung entsteht durch genetische Veränderungen im Tumorgenom (somatische Mutationen). Um somatische Mutationen von Keimbahnvarianten zu trennen, müssen die einzelnen Keimbahnvarianten identifiziert werden. Wenn nur Tumorgewebe sequenziert wird, geschieht dies bioinformatisch, führt aber nachweislich zu einer erheblichen Anzahl an Fehlern.

Bei der Sequenzierung der passenden Normalgewebeprobe (von der selben Patientin oder von dem selben Patienten) werden die Keimbahnvarianten direkt identifiziert, und weitere Fehler damit ausgeschlossen.

Wann kann ich mit den Ergebnissen rechnen?

Nach dem Proben- und Zahlungseingang beträgt unsere Bearbeitungszeit 2-3 Wochen. Wir benötigen diese Zeit für die Probenverarbeitung im Labor (DNA-Isolierung, Konstruktion der Sequenzier-Library und Sequenzierung), die Analyse der NGS-Daten und für unser Diagnoseteam zur Prüfung der Daten und Erstellung des medizinischen Befunds.

Die Analyse der eingesandten Proben ist fehlgeschlagen. Was ist passiert?

Unsere Tumordiagnostik basiert auf qualitativ hochwertigen Daten. Manchmal ist die Menge oder Qualität der Tumor-DNA unzureichend. Auch der Tumorgehalt der Probe kann zu niedrig sein. In diesen Fällen fordern wir alternatives Probenmaterial an. Wenn dies nicht zur Verfügung steht, muss die Analyse abgebrochen werden.

Bitte beachten Sie: Für unsere tumordiagnostischen Analysen ist ein Tumorgehalt von 20 % Voraussetzung. In bestimmten Fällen, wie z. B. bei der Analyse von Liquid Biopsy oder frisch gefrorenem Tumorgewebe, kann der Tumorgehalt erst nach der Sequenzierung bestimmt werden. Proben mit einem Tumorgehalt unter 20 % können nicht zur

Auswertung herangezogen werden, dennoch müssen wir die Analyse mit dem vollen Preis in Rechnung stellen.

Wie funktioniert die Logistik?

Die Logistik ist sehr einfach. CeGaT stellt Probenentnahmeboxen zur Verfügung, die Anweisungen und entsprechende Entnahmeutensilien enthalten. Diese Boxen können auch für den Versand verwendet werden:

- ✗ EDTA-Kit (enthält EDTA-Röhrchen)
- ✗ FFPE-Kit (enthält FFPE-Objektträger für Gewebeschnitte und Luftpolsterfolie für den Tumorgewebeblock)
- ✗ LB-Kit (enthält STRECK®-Röhrchen)
- ✗ EDTA- + FFPE-Kit (enthält EDTA-Röhrchen und FFPE-Objektträger für Gewebeschnitte und Luftpolsterfolie für den Tumorgewebeblock)
- ✗ LB- + EDTA-Kit (enthält STRECK®-Röhrchen und EDTA-Röhrchen)

Die Probenentnahmeboxen sind kostenlos und können auf unserer Website, per Post oder per Telefon bestellt werden.

Wie hoch sind die Kosten für die Analyse?

Wir informieren Sie gerne über unsere Preise. Für deutsche Kunden bieten wir zudem Informationen zur Kostenerstattung an. Bitte kontaktieren Sie uns unter tumor@cegat.de.

Referenzen

- Buchhalter, I., Rempel, E., Endris, V., Allgäuer, M., Neumann, O., Volckmar, A.-L., Kirchner, M., Leichsenring, J., Lier, A., and Winterfeld, M. von, *et al.* (2019). Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis. *International journal of cancer* 144, 848-858.
- Heeke, A.L., Pishvaian, M.J., Lynce, F., Xiu, J., Brody, J.R., Chen, W.-J., Baker, T.M., Marshall, J.L., and Isaacs, C. (2018). Prevalence of Homologous Recombination-Related Gene Mutations Across Multiple Cancer Types. *JCO precision oncology* 2018.
- Hickmann, A.-K., Frick, M., Hadaschik, D., Battke, F., Bittl, M., Ganslandt, O., Biskup, S., and Döcker, D. (2019). Molecular tumor analysis and liquid biopsy: a feasibility investigation analyzing circulating tumor DNA in patients with central nervous system lymphomas. *BMC cancer* 19, 192.
- Jones, S., Anagnostou, V., Lytle, K., Parpart-Li, S., Nesselbush, M., Riley, D.R., Shukla, M., Chesnick, B., Kadan, M., and Papp, E., *et al.* (2015). Personalized genomic analyses for cancer mutation discovery and interpretation. *Science translational medicine* 7, 283ra53.
- Le, D.T., Uram, J.N., Wang, H., Bartlett, B.R., Kemberling, H., Eyring, A.D., Skora, A.D., Lubner, B.S., Azad, N.S., and Laheru, D., *et al.* (2015). PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *The New England journal of medicine* 372, 2509-2520.
- Lone, S.N., Nisar, S., Masoodi, T., Singh, M., Rizwan, A., Hashem, S., El-Rifai, W., Bedognetti, D., Batra, S.K., and Haris, M., *et al.* (2022). Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Molecular cancer* 21, 79.
- Morganti, S., Tarantino, P., Ferraro, E., D'Amico, P., Viale, G., Trapani, D., Duso, B.A., and Curigliano, G. (2020). Role of Next-Generation Sequencing Technologies in Personalized Medicine. In *P5 eHealth: An Agenda for the Health Technologies of the Future*, G. Pravettoni and S. Triberti, eds. (Cham: Springer International Publishing), pp. 125-154.
- Nassar, A.H., Adib, E., Abou Alaiwi, S., El Zarif, T., Groha, S., Akl, E.W., Nuzzo, P.V., Mouhieddine, T.H., Perea-Chamblee, T., and Taraszka, K., *et al.* (2022). Ancestry-driven recalibration of tumor mutational burden and disparate clinical outcomes in response to immune checkpoint inhibitors. *Cancer cell* 40, 1161-1172.e5.
- Nguyen, L., W M Martens, J., van Hoes, A., and Cuppen, E. (2020). Pan-cancer landscape of homologous recombination deficiency. *Nature communications* 11, 5584.
- Palmeri, M., Mehnert, J., Silk, A.W., Jabbour, S.K., Ganesan, S., Popli, P., Riedlinger, G., Stephenson, R., Meritens, A.B. de, and Leiser, A., *et al.* (2022). Real-world application of tumor mutational burden-high (TMB-high) and microsatellite instability (MSI) confirms their utility as immunotherapy biomarkers. *ESMO open* 7, 100336.
- Reck, M., Schenker, M., Lee, K.H., Provencio, M., Nishio, M., Lesniewski-Kmak, K., Sangha, R., Ahmed, S., Raimbourg, J., and Feeney, K., *et al.* (2019). Nivolumab plus ipilimumab versus chemotherapy as first-line treatment in advanced non-small-cell lung cancer with high tumour mutational burden: patient-reported outcomes results from the randomised, open-label, phase III CheckMate 227 trial. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 116, 137-147.
- Sun, J.X., He, Y., Sanford, E., Montesin, M., Frampton, G.M., Vignot, S., Soria, J.-C., Ross, J.S., Miller, V.A., and Stephens, P.J., *et al.* (2018). A computational approach to distinguish somatic vs. germline origin of genomic alterations from deep sequencing of cancer specimens without a matched normal. *PLoS computational biology* 14, e1005965.
- Walter, C., Hartkopf, A., Koch, A., Klumünzer, M., Schulze, M., Grischke, E.-M., Taran, F.-A., Brucker, S., Battke, F., and Biskup, S. (2020). Sequencing for an interdisciplinary molecular tumor board in patients with advanced breast cancer: experiences from a case series. *Oncotarget* 11, 3279-3285.
- Wu, T.-M., Liu, J.-B., Liu, Y., Shi, Y., Li, W., Wang, G.-R., Ma, Y.-S., and Fu, D. (2020). Power and Promise of Next-Generation Sequencing in Liquid Biopsies and Cancer Control. *Cancer control : journal of the Moffitt Cancer Center* 27, 1073274820934805.

Über uns

CeGaT ist ein weltweit agierender Anbieter von genetischen Analysen für verschiedenste Fragestellungen aus der medizinischen Praxis, Forschung und Pharmabranche.

Das 2009 in Tübingen gegründete Unternehmen kombiniert neueste Sequenzier Technologie und medizinische Expertise – mit dem Ziel, genetische Ursachen von Krankheiten zu identifizieren und die Patientinnen- und Patientenbetreuung zu unterstützen. Für Forschung und Pharmaindustrie bietet CeGaT ein breites Portfolio an Sequenzierdienstleistungen und Tumoranalysen an. CeGaT generiert die Datenbasis für klinische Studien und medizinische Innovationen und treibt die Wissenschaft mit eigenen Erkenntnissen voran.

Das inhabergeführte Unternehmen steht für Unabhängigkeit, eine umfassende persönliche Kundinnen- und Kundenbetreuung und herausragende Qualität. CeGaTs Labor ist nach CAP/CLIA, DIN EN ISO 15189 und DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditiert und erfüllt damit höchste internationale Standards. Um erstklassige Ergebnisse zu erhalten, werden alle Prozesse unter wissenschaftlicher Aufsicht im eigenen Haus durchgeführt.



CeGaT GmbH
Paul-Ehrlich-Str. 23
72076 Tübingen
Deutschland

Telefon: +49 7071 56544-55
Fax: +49 7071 56544-56
E-Mail: info@cegat.de



Akkreditiert nach
DIN EN ISO 15189:2014



CLIA ZERTIFIZIERT ID: 99D2130225