



Charité Universitätsmedizin Berlin

Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
CCM – Luisenstr. 7 / Hufelandweg 9
10117 Berlin

Anna Sonnenburg, M.Sc.
Tel. +49 (30) 450 525 345
anna.sonnenburg@charite.de

Center for Cardiovascular Research
CCM - Hessische Str. 3-4
10115 Berlin

Dr. Jana Grune
Tel.: +49 (30) 450 525 294
jana.grune@charite.de

Miniprojekt Tumormarker

Endbericht, Untersuchung Migration Tumark Vision

1. Versuchsaufbau

Putenbrust wurde handelsüblich erworben und im Folgenden weitestgehend steril behandelt. Die Putenbrust wurde in etwa gleichgroße Teile zu 75 bis 100 g geschnitten. In jedes Stück wurden zwei metallene Haarnadeln orthogonal zueinander vollständig bis zur Biegung gesteckt. Eine Haarnadel wurde dabei frontal in die Schnittfläche, ca. 2 cm vom rechten Rand, die zweite von dort gesehen in die rechte Seite, ca. 1 cm von der Schnittfläche, in das Gewebe eingebracht. Beide Nadeln verliefen danach parallel zum Boden und befanden sich vertikal etwa in der Mitte des Putenbruststücks. Zwischen die beiden Nadeln wurde der Tumormarker implantiert, jeweils auf etwa gleicher Höhe, wobei der Katheter bis zur zweiten Markierung eingeführt wurde (Abb. 1). Im Versuchsaufbau (Tumark Vision) wurde zusätzlich in die linke Hälfte der Putenbruststücke ein ca. einen Zentimeter langes Kanülenstück (blauer Pfeil in Abbildung 1) eingebracht, von dem angenommen wurde, daß es sich als Positivkontrolle verhält, sich also im Gewebe deutlich bewegen sollte.

Je Tumormarker und Durchlauf wurden zwei Putenbruststücke identisch präpariert. Ein Stück wurde auf einem Laborrüttler gerüttelt (Probe; sowie Positivkontrolle gerüttelt in Durchlauf 3), ein weiteres wurde als Negativkontrolle gleich behandelt, aber nicht gerüttelt (Kontrolle; bzw Positivkontrolle ungerüttelt). Die Bezeichnungen Kontrolle und Probe beziehen sich jeweils auf einen Tumormarker, die Bezeichnung Positivkontrolle auf die zusätzlich mitgeführte Kanüle.

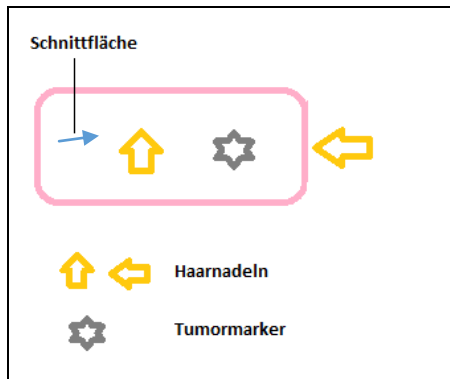


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus mit Angabe der Position der jeweils zu sonographierenden Metallteile. Der blaue Pfeil repräsentiert die in der 3. Versuchsreihe mitgeführte Positivkontrolle (Kanüle).

Die präparierten Putenbruststücke wurden in Einwegplastikschalen überführt und mit einer Inzisionsfolie abgedeckt, um die Sterilität bei der Sonographie zu wahren.

Die Sonographie erfolgte an einem Fujifilm VisualSonics mit dem Vevo 3100 Imaging System mit einem für Ratten ausgelegten Schallkopf. Sonographiert wurde an Tag 0 (Baseline) und an Tag 7 (Final), wobei die Bilder an Tag 0 und Tag 7 jeweils aus dem möglichst gleichen Blickwinkel aufgenommen wurden. Zwischen den Aufnahmen wurden die Putenbruststücke bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt und zusätzlich zur Inzisionsfolie die Schalen mit einem Deckel verschlossen. Die Kontrollen dienten vor allem dazu festzustellen, welche Bewegung schon durch die natürliche Veränderung des Gewebes (Austrocknung, Zersetzung) über die Zeit verursacht wird. Das Rütteln der Proben erfolgte auf einem Laborrüttler im niedrigen Frequenzbereich.

Ausgewertet wurde je ein möglichst scharfes Ultraschallbild pro Messung und Putenbruststück wie in Abbildung 2 dargestellt. Dazu wurde die dem Ultraschallgerät zugehörige Software verwendet und jeweils drei Frames pro Aufnahme vermessen. Die Angabe der Ergebnisse erfolgt als Differenz der Mittelwerte zwischen Tag 0 und Tag 7 in mm.

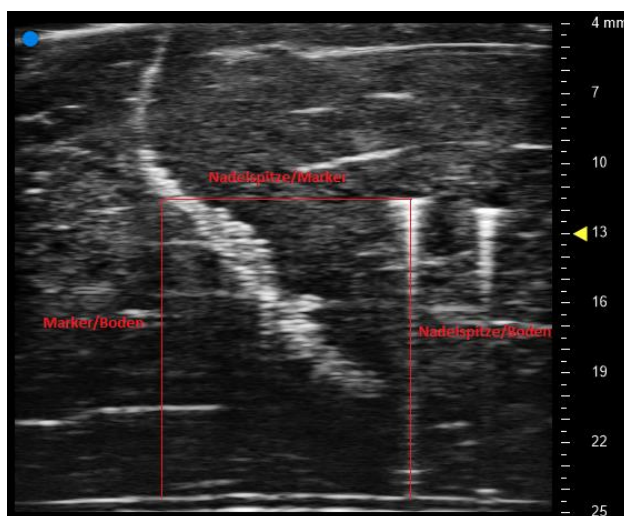


Abbildung 2: Beispieldarstellung der Bildvermessung. Gemessen wurden jeweils 3 Distanzen: Haarnadelspitze - Boden des Gefäßes, Haarnadelspitze – Markerrand und Markerrand – Boden. Distanzmessungen erfolgten in je 3 Frames pro Bild und jeweils gleich an Tag 0 und Tag 7.

2. Technische Limitierungen

Der verwendete Schallkopf FUJIFILM VisualSonic MX250 bietet eine Auflösung von minimal 75 µm zur Bilddarstellung. Er ist somit geeignet, auch sehr kleine Objekte wie die untersuchten Tumormarker darzustellen. Die Auswertung der aufgenommenen Bilder erfolgte allerdings nach Augenmaß, weshalb Distanzunterschiede von ≤ 1 mm nicht als Positivbefund gewertet wurden. Zudem erfolgten die Messungen stets nur in einer Ebene (von oben), so daß auch nur eine Bewegung in dieser Ebene erfaßt werden konnte. Dem wurde damit Rechnung getragen, daß auch das Rütteln in dieser Ebene erfolgte, so daß davon auszugehen ist, daß eine durch das Rütteln verursachte Bewegung der Marker in der gewählten Einstellung erfaßbar ist. Zwar wurde darauf geachtet, die Bilder an Tag 0 und Tag 7 jeweils möglichst aus dem gleichen Winkel aufzunehmen, dies ist aber naturgemäß nur bedingt möglich. Zum einen verhinderte die natürliche Zersetzung des Gewebes in den 7 Tagen Inkubationszeit die Aufnahme identischer Bilder, zum anderen erfolgte die Kontrolle der Bildgleichheit lediglich visuell.

3. Ergebnisse

Tabelle 1: Ergebnisse des Durchlaufs mit den Markern Vision, jeweils angegeben als Differenz in mm der gemessenen Distanzen zwischen Tag 0 und Tag 7. Kritische Distanzdifferenzen sind rot markiert.

Distanz	Probe: Distanzdifferenz in mm	Positivkontrolle, gerüttelt: Distanzdifferenz in mm	Kontrolle: Distanzdifferenz in mm	Positivkontrolle, ungerüttelt: Distanzdifferenz in mm
Tumark Vision 1				
Marker/Boden	0,48	-2,42	0,22	0,27
Nadel/Marker	0,27	2,90	-0,05	-0,84
Nadel/Boden	0,96	-1,21	0,30	0,22
Tumark Vision 2				
Marker/Boden	0,99	0,58	-0,09	0,82
Nadel/Marker	-0,12	-0,75	-0,04	-0,31
Nadel/Boden	0,90	0,55	-0,35	0,61

Tumark Vision: Es ließ sich keine Bewegung im Gewebe nachweisen. Die gewählte Positivkontrolle zeigte allerdings auch nur in einem Versuchansatz den gewünschten Effekt. Der Marker ist in der Sonographie nach sieben Tagen besser darstellbar als an Tag 0 (Abbildung 2).

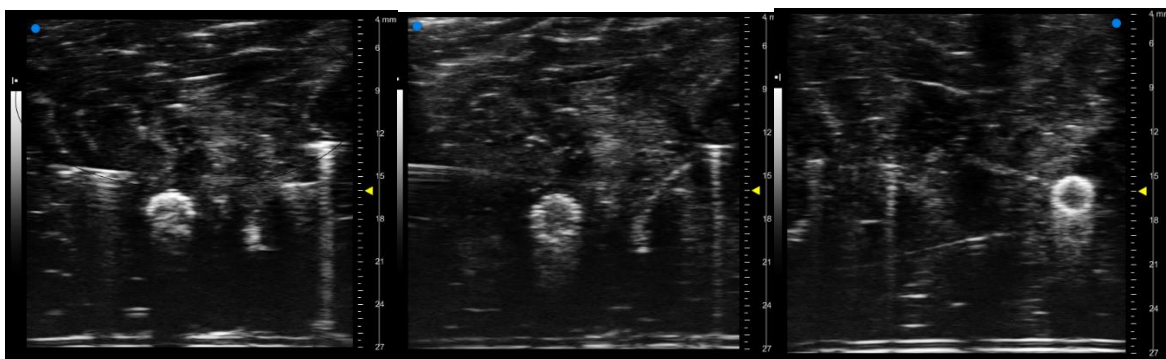


Abbildung 2: Der Tumark Vision an Tag 0 (links) und Tag 7 (Mitte und rechts). An Tag 0 hilft ein ausgeprägter Schallschatten, den Marker zu identifizieren. An Tag 7 ist die runde Form deutlich erkennbar.

4. Zusammenfassung der Ergebnisse

Für Tumark Vision konnte im Fazit keine Markerbewegung erfaßt werden. Die gewählte Positivkontrolle zeigte nur in einem Fall eine deutlich meßbare Bewegung und scheint damit nur bedingt als solche geeignet gewesen zu sein.

Limitierungen des gewählten Versuchsaufbaus im Vergleich zur In-vivo-Situation sind zum einen im Abschnitt Technische Limitierungen beschrieben und liegen zum anderen in der Kürze der Versuchszeit, der kleinen Stichprobe und der artifiziellen, durchweg gleichmäßigen Bewegung der Proben.