

**Immunszintigraphie mit dem monoklonalen NCA-95-  
Antigranulozyten-Antikörper und dem NCA-90-  
Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment zur  
Entzündungsdiagnostik bei Problemindikationen und zur  
Knochenmarkszintigraphie**

**Habilitationsschrift**

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach  
Nuklearmedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dr. (Univ.Zagreb) Velimir Ivančević  
geboren am 18. August 1958 in Zagreb

Präsident: Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Mlynek

Dekan: Prof. Dr. med. Joachim W. Dudenhausen

Eingereicht am: 28.09.2001

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. W. Becker
2. Prof. Dr. med. E. Henze

<b>Vorbemerkungen .....</b>	<b>4</b>
<b>1 Entzündungsszintigraphie bei Problemindikationen .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Subakute Endokarditis .....</b>	<b>6</b>
1.1.1 Szintigraphische Verfahren zur Diagnostik der Endokarditis .....	6
1.1.2 Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper zum Nachweis der subakuten Endokarditis .....	7
1.1.3 Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper in der Diagnostik der Prothesenendokarditis .....	8
<b>1.2 Fieber unbekannter Genese .....</b>	<b>9</b>
1.2.1 Nuklearmedizinische Verfahren zur Herdsuche bei Fieber unbekannter Genese .....	10
1.2.2 Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper in der Diagnostik des Fiebers unbekannter Genese .....	12
<b>1.3 Entzündliche Darmerkrankungen .....</b>	<b>13</b>
1.3.1 Szintigraphische Verfahren zur Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen .....	14
1.3.2 Nachteile der Immunszintigraphie mit monoklonalen Antigranulozyten-Antikörpern in der Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen .....	14
1.3.2.1 Unspezifische Darmaktivität bei der Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper .....	15
1.3.2.2 Unspezifische Darmaktivität bei der Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment .....	16
1.3.2.3 Falsch negative Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper bei aktivem M. Crohn unter immunsuppressiver Therapie .....	17
<b>1.4 „Low-grade“-Entzündungen der Knochen und Gelenke .....</b>	<b>18</b>
1.4.1 Szintigraphische Verfahren zur Diagnostik von „Low grade“-Entzündungen der Knochen und Gelenke .....	19
1.4.2 Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment in der Diagnostik von „Low grade“-Entzündungen der Knochen und Gelenke bei Patienten mit vorangegangenen Gelenkoperationen .....	20
<b>2 Knochenmarkszintigraphie .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Nuklearmedizinische bildgebende Verfahren bei Erkrankungen des hämopoetisch aktiven Knochenmarks .....</b>	<b>22</b>

<b>2.2</b>	<b>Immunszintigraphie des Knochenmarks mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper .....</b>	<b>22</b>
2.2.1	Alter und Knochenmark-Uptake des NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers.....	22
2.2.2	Normaler Knochenmark-Uptake des NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers und Uptake bei Fieber unbekannter Genese sowie malignen Erkrankungen.....	23
2.2.3	Immunszintigraphie des Knochenmarks mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper bei Patienten mit Panzytopenie .....	24
<b>2.3</b>	<b>Immunszintigraphie des Knochenmarks mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment.....</b>	<b>26</b>
	<b>Literatur .....</b>	<b>28</b>
	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>42</b>
	<b>Abkürzungen.....</b>	<b>45</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>46</b>
	<b>Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>47</b>
	<b>Eigene Publikationen .....</b>	<b>48</b>

## Vorbemerkungen

Die in der vorliegenden Habilitationsschrift zusammengefaßten Ergebnisse stammen aus von mir durchgeführten, publizierten Untersuchungen zur Immunszintigraphie mit monoklonalen Antigranulozyten-Antikörpern bei einigen bislang unzureichend untersuchten Fragestellungen. Es handelt sich dabei einerseits um Problemindikationen in der Entzündungsdiagnostik wie die subakute Endokarditis, entzündliche Darmerkrankungen, das Fieber unbekannter Genese und „Low-grade“-Infektionen der Knochen und Gelenke, und andererseits um die Wertigkeit der Immunszintigraphie in der Knochenmarkdiagnostik.

Diese Untersuchungen wurden an der Abteilung Nuklearmedizin der Georg-August-Universität Göttingen und der Klinik für Nuklearmedizin am Universitätsklinikum Charité der Humboldt-Universität zu Berlin durchgeführt. Sie wären ohne die engagierte Förderung des damaligen leitenden Oberarztes der Abteilung Nuklearmedizin in Göttingen und jetzigen Direktors der Klinik für Nuklearmedizin der Charité, Herrn Univ.-Prof. Dr. Dieter L. Munz, nicht möglich gewesen. Die Arbeiten auf dem Gebiet der Knochenmarkdiagnostik entstanden in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Dražen Huić vom Institut für Nuklearmedizin und Strahlenschutz am Universitätsklinikum Rebro der Universität zu Zagreb in seiner Eigenschaft als Stipendiat der Internationalen Atomenergiebehörde (IAEA) an der Klinik für Nuklearmedizin der Charité. Die hier vorgestellten Ergebnisse wurden in *peer reviewed* Zeitschriften veröffentlicht oder eingereicht und auf internationalen Kongressen vorgetragen. Sie bestehen aus acht Originalarbeiten und zwei ergebnistragenden Letters. Zwei Übersichtsarbeiten und eine Kasuistik wurden als Einleitungen bzw. Ergänzung zur jeweiligen Thematik eingefügt. Der Ergebnisteil beinhaltet neben kurzen Einleitungen zur jeweiligen Thematik Begleitschriften zu den entsprechenden Publikationen, auf die eindeutig verwiesen wird. In den Begleitschriften werden Ergebnisse kurz skizziert und die wesentlichen Aussagen hervorgehoben. Bewußt habe ich auf eine ausgiebige Darstellung von Grundlagen, verwendeter Methodik und Diskussionen verzichtet, da diese in den entsprechenden Publikationen detailliert abgehandelt werden. Die Publikationen selbst befinden sich im Anhang „Eigene Publikationen“ in der Reihenfolge ihrer Zitierung.

Die wechselnde Zusammensetzung und Reihenfolge der Autoren spiegelt den interdisziplinären Charakter der durchgeführten Untersuchungen und die kollegiale Zusammenarbeit mit den verschiedenen beteiligten Fachdisziplinen wider. In dieser

Habilitationsschrift wurden jedoch nur Publikationen berücksichtigt, an deren Entstehung ich entscheidenden Anteil hatte.

## **1 Entzündungsszintigraphie bei Problemindikationen**

### **1.1 Subakute Endokarditis**

#### **1.1.1 Szintigraphische Verfahren zur Diagnostik der Endokarditis**

Insbesondere Patienten mit subakuter, bakterieller Endokarditis stellen ein diagnostisches Problem dar. Der klinische Verlauf gestaltet sich prolongiert, der Erregernachweis schwierig, und morphologisch faßbare Veränderungen der Herzklappen sind oftmals sehr diskret. Die Echokardiographie als bildgebende Basisuntersuchung erlaubt keine zuverlässige Unterscheidung zwischen floriden Herzklappenvegetationen und postentzündlichen Residuen (1,2,3,4). Die beschriebene Patientengruppe könnte von der Entzündungsszintigraphie als komplementärer, nicht-invasiver Untersuchung beträchtlich profitieren.

Für die Entzündungsszintigraphie stehen mehrere nuklearmedizinische Verfahren zur Verfügung. Die verschiedenen Verfahren und deren Stellenwert in der Diagnostik der Endokarditis wurde in einer unserer Arbeitsgruppe in Auftrag gegebenen Übersicht dargestellt (Publikation 1).

Die Entzündungsszintigraphie mit Gallium-67 erbrachte bei der Endokarditis bislang keine überzeugenden Ergebnisse bei eingeschränkter Vergleichbarkeit der Studien aufgrund nicht standardisierter Durchführung. Die Anwendung neuerer Akquisitionsalgorithmen könnte die Resultate verbessern, nachteilig bleibt jedoch die geringe Ortsauflösung, vergleichsweise lange Untersuchungsdauer und für Wiederholungsuntersuchungen im Vergleich zu anderen entzündungsszintigraphischen Verfahren ungünstige Dosimetrie.

Mit Indium-111-Oxin markierte Leukozyten oder separierte Granulozyten weisen in der Diagnostik der Endokarditis keine ausreichende Sensitivität auf, wahrscheinlich bedingt durch die geringe Menge beteiligter Leukozyten und für die Datenakquisition nicht optimale strahlenphysikalische Eigenschaften des Indium-111. Wie bei Gallium-67 ist die Dosimetrie für Wiederholungsuntersuchungen ungünstig, die Untersuchungsdauer meist lang.

Für Technetium-99m-HMPAO-markierte Leukozyten oder purifizierte Granulozyten bei Endokarditis kann in Ermangelung ausreichender Daten derzeit keine verlässliche Beurteilung gemacht werden. Es scheint denkbar, daß die Sensitivität der Leukozytenszintigraphie durch die

Technetium-99m-Markierung mit im Vergleich zu Indium-111 höherem Photonenflux und durch Aufnahmen in SPECT-Technik verbessert werden kann. Die Dosimetrie ist günstig. Die Immunszintigraphie mit dem murinen monoklonalen NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper in SPECT-Technik liefert bei Endokarditis Informationen, die komplementär sind zu denen aus der Echokardiographie. Während die Echokardiographie unerläßliche Daten zu morphologischen und funktionellen Veränderungen der entzündeten Herzklappen bietet, scheint die Immumentzündungsszintigraphie die Floridität der zugrunde liegenden Entzündung erfassen zu können. Eigene Untersuchungen zeigen, daß methodologische Weiterentwicklungen wie zusätzliche Frühaufnahmen in der Perfusionsphase zur verbesserten anatomischen Zuordnung entzündlicher Herde und iterative SPECT-Rekonstruktionsalgorithmen die diagnostische Wertigkeit der Immumentzündungsszintigraphie steigern können (5). Die Dosimetrie ist günstig, bei Wiederholungsuntersuchungen muß jedoch die Möglichkeit der Bildung von humanen Anti-Maus-Antikörpern (HAMA) bedacht werden. Die Immumentzündungsszintigraphie wird vor allem bei Patienten mit nicht diagnostischer Echokardiographie und vorbestehenden Herzklappenerkrankungen empfohlen und scheint zur Verlaufskontrolle und zum Monitoring der antibiotischen Therapie geeignet zu sein.

#### Publikation 1:

Ivančević V, Munz DL. Nuclear medicine imaging of endocarditis. Q J Nucl Med 1999;43:93-99

### **1.1.2 Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper zum Nachweis der subakuten Endokarditis**

Nach einer präliminären Studie mit ermutigenden Ergebnissen (6) untersuchte unsere Arbeitsgruppe in einer mit dem "Mallinckrodt-Förderpreis für Nuklearmedizin" ausgezeichneten prospektiven Arbeit (Publikation 2) erstmals die Immumentzündungsszintigraphie in einer aussagekräftigen Patientengruppe mit subakuter bakterieller Endokarditis in planarer und SPECT-Technik. Insgesamt wies die Immumentzündungsszintigraphie eine etwas schlechtere Sensitivität und Spezifität auf als die transösophageale Echokardiographie. Die Sensitivität der

transthorakalen Echokardiographie war unbefriedigend. Die Immunitzündungsszintigraphie war aber bei allen Patienten mit falsch negativer Echokardiographie richtig positiv, während die Echokardiographie bei allen Patienten mit falsch negativer Szintigraphie richtig positiv ausfiel. Essentiell war die Durchführung der Szintigraphie in SPECT-Technik. Planare Aufnahmen allein waren nicht diagnostisch.

Durch die Kombination beider Untersuchungsmodalitäten konnte die Endokarditis in allen Fällen nachgewiesen werden. Bei den Patienten mit Verlaufsuntersuchungen zeigte eine Normalisierung des szintigraphischen Befundes verlässlich eine klinische Besserung an, auch bei Patienten mit echokardiographisch persistierenden Vegetationen.

Zusammenfassend wird die Durchführung der Immunitzündungsszintigraphie bei allen Patienten mit unsicherem echokardiographischen Befund empfohlen. Die Methode könnte für das Monitoring der antibiotischen Therapie geeignet sein.

#### Publikation 2:

Morguet AJ, Munz DL, Ivančević V, Werner GS, Sandrock D, Bökemeier M, Kreuzer H. Immunoszintigraphy using technetium-99m-labeled anti-NCA-95 antigranulocyte antibodies as an adjunct to echocardiography in subacute infective endocarditis. J Am Coll Cardiol 1994;23:1171-1178

### **1.1.3 Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper in der Diagnostik der Prothesenendokarditis**

Patienten mit prothetischen Herzklappen haben ein erhöhtes Endokarditisrisiko (7). Prothesenendokarditiden nehmen einen Anteil von 10% bis 21% aller Endokarditiden ein (8,9,10,11), und zwar mit zunehmender Tendenz (12). Die echokardiographische Sicherung einer Endokarditis durch den Nachweis florider Herzklappenvegetationen ist bei Patienten mit prothetischen Herzklappen durch Artefaktüberlagerungen besonders erschwert (13). In einer methodologisch analog zur Publikation 2 durchgeführten prospektiven Studie untersuchte unsere Arbeitsgruppe erstmals die klinische Wertigkeit der Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper bei Patienten mit dem Verdacht auf

Prothesenendokarditis (Publikation 3). Die Kernfrage war dabei, ob die Immunitätszintigraphie bei diesen Patienten durch prothesenbedingte Artefaktbildung zu schlechteren Ergebnissen führt als bei Patienten ohne vorherigen Herzklappenersatz. Die diagnostische Wertigkeit der Immunitätszintigraphie und der Echokardiographie entsprach sowohl in der Höhe wie auch im Verhältnis der beiden Methoden zueinander völlig den Ergebnissen aus Publikation 2. Die hohe Wertigkeit der Echokardiographie war auf die transösophageale Technik zurückzuführen, während sich die transthorakale Technik allein als insuffizient erwies. Auch in dieser Patientengruppe war die Szintigraphie bei allen Patienten mit falsch negativer Echokardiographie richtig positiv, was ebenso für die Echokardiographie bei Patienten mit falsch negativer Szintigraphie galt. Zusammenfassend stellt die Immunitätszintigraphie auch bei Patienten mit Prothesenendokarditis eine wertvolle Ergänzung zur Echokardiographie dar, und zwar insbesondere bei Patienten mit unklarem sonographischen Befund. Prothesenbedingte Artefaktbildungen traten nicht auf.

### Publikation 3:

Morguet AJ, Munz DL, Ivančević V, Werner GS, Kreuzer H. Klinische Bedeutung der Szintigraphie mit dem murinen monoklonalen Antigranulozyten-Antikörper BW 250/183 für die Diagnose der Prothesenendokarditis. Dtsch Med Wschr 1995;120:861-866

## **1.2 Fieber unbekannter Genese**

Die klinische Diagnose des „Fiebers unbekannter Genese“ (fever of unknown origin, FUO) wird bereits seit 1961 definiert als seit mindestens drei Wochen anhaltende, auf über 38,8 °C erhöhte Körpertemperatur, gemessen zu wenigstens drei Zeitpunkten und ohne Ursachennachweis nach einer Woche intensiver klinischer Diagnostik (14). Infektionen, Neoplasien und Autoimmunerkrankungen/Kollagenosen stellen die häufigsten Ursachen des FUO dar (14,15). Die Prävalenz von Infektionen als Ursache des FUO beträgt bis zu 50% (15).

Die strenge Anwendung der beschriebenen Definition von FUO ist im klinischen Alltag und

demzufolge auch in manchen klinischen Studien erschwert bzw. nicht konsequent. Dies liegt daran, daß häufig eine klinisch ähnliche Konstellation vorliegt, wobei das Fieber weniger als drei Wochen besteht oder intermittiert, oder Anhaltspunkte für eine erregerbedingt entzündliche Pathogenese vorliegen. Diese klinische Konstellation kann als „okkulte Infektion“ klassifiziert werden (16). Im Gegensatz zum klassischen FUO weisen Patienten mit okkulten Infektionen häufig prädisponierende Faktoren auf wie Diabetes mellitus oder vorangegangene Operationen (17).

### **1.2.1 Nuklearmedizinische Verfahren zur Herdsuche bei Fieber unbekannter Genese**

In der Diagnostik des FUO wurden bisher die Szintigraphie mit Gallium-67 (18,19,20,21), mit Indium-111-markierten Leukozyten (22,23,24,25,26,27), mit Indium-111-markiertem polyklonalem humanem Immunglobulin (HIG) (28,29) sowie ansatzweise die Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper (30,31) und die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) mit Fluor-18-Fluordesoxyglukose (FDG) untersucht (32).

Gallium geht in vivo eine Verbindung mit Lactoferrin ein, einem Sekretionsprodukt von Leukozyten sowie mit Transferrinrezeptoren (CD 71), die von proliferierenden Tumorzellen verstärkt exprimiert werden (33,34). Daher können mit Hilfe der Galliumszintigraphie entzündliche und maligne Herde nachgewiesen werden, was zwar eine geringere Spezifität bedeutet, sich bei FUO jedoch vorteilhaft auswirkt, da auch nicht entzündliche Herde aufgespürt werden können. Nachteilig sind die bereits angesprochenen radiophysikalischen Eigenschaften mit geringer Ortsauflösung und ungünstiger Dosimetrie sowie unspezifische Darmaktivität, die die Sensitivität im Bauchraum verschlechtert.

Die Szintigraphie mit Indium-111-markierten Leukozyten stellt ein sensitives Verfahren bei verschiedenen akuten und chronischen Entzündungen dar, ist jedoch aufwendig und mit nachteiligen radiophysikalischen Eigenschaften und der mitunter langen Untersuchungsdauer behaftet. Nicht entzündliche Ursachen des FUO werden nicht erkannt.

Die Anreicherung des Indium-111-HIG erfolgt primär unspezifisch durch Übertritt aus den Kapillaren aufgrund erhöhter Kapillarpermeabilität, bedingt durch den zugrunde liegenden Entzündungsprozess (35). Von Nachteil sind auch hier die radiophysikalischen Eigenschaften

des Indium-111 und die lange Untersuchungsdauer.

Die PET mit dem Glukoseanalogon FDG, die vor allem bei onkologischen Fragestellungen zur Anwendung kommt (36), stellt ein für stoffwechselaktive Prozesse hoch sensitives funktionelles Schnittbildverfahren dar, das auch quantitative Stoffwechseldaten liefern kann. Im Vergleich zu anderen nuklearmedizinischen Verfahren weist die FDG-PET eine ausgezeichnete Ortsauflösung auf. Da sich außer Tumorzellen auch Entzündungszellen wie Granulozyten und Makrophagen durch eine erhöhte FDG-Aufnahme auszeichnen und die FDG-PET ein dem Gallium ähnliches Spezifitätsprofil aufweist, erscheint der Einsatz der FDG-PET bei FUO vielversprechend.

Wichtig für die Wahl des am besten geeigneten unter den verschiedenen, zur Verfügung stehenden nuklearmedizinischen Verfahren ist, ob es sich im gegebenen Fall um FUO im engeren Sinne oder eine okkulte Infektion handelt. Bei klassischem FUO ist ein Verfahren mit breitem Nachweisspektrum, bei okkulten Infektionen eines mit hoher Sensitivität für Infektionen wünschenswert.

Insgesamt fällt eine verlässliche Beurteilung der Rolle nuklearmedizinischer Verfahren bei FUO wegen uneinheitlicher diagnostischer Kriterien, unterschiedlicher Patientenkollektive und des Mangels an validen, prospektiven Studien schwer. Auf dem bisherigen Datenfundus basierend scheinen die Galliumszintigraphie und die Indium-111-Leukozytenszintigraphie den größten diagnostischen Beitrag zu liefern (33).

### **1.2.2 Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper in der Diagnostik des Fiebers unbekannter Genese**

Der NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper wird bei einer Vielzahl von entzündlichen Fragestellungen erfolgreich eingesetzt (37). Becker et al. (30) untersuchten erstmals die Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper in planarer Technik bei Patienten mit FUO.

Unsere Arbeitsgruppe führte die Immunentzündungsszintigraphie bei FUO, aufbauend auf den Ergebnissen aus der Diagnostik der Endokarditis (siehe 1.1.2 und 1.1.3), erstmals in planarer und SPECT-Technik durch. Darüber hinaus wurde erstmals eine differenzierte Beurteilung photopenischer Läsionen im zentralen, hämopoetisch aktiven Knochenmark vorgenommen (Publikation 4).

Der Einsatz der SPECT-Technik bewirkte eine Steigerung der Sensitivität, insbesondere bei Patienten mit einer Endokarditis als Ursache des Fiebers. Die Endokarditis war die Hauptursache falsch negativer Befunde in der in planarer Technik durchgeführten Studie von Becker et al. (30).

Bei Patienten mit a posteriori bestätigter Autoimmunerkrankung stellte der szintigraphische Ausschluß entzündlicher Herde bzw. von Abszessen eine wichtige Information auf dem Weg zur Diagnose einer seronegativen Autoimmunerkrankung bzw. einer Autoimmunerkrankung ohne geeignete Serummarker wie z.B. dem Still-Syndrom dar.

Die Immunentzündungsszintigraphie erwies sich im frühen Nachweis abdomineller Abszesse als der Sonographie und dem CT überlegen.

Bei Patienten mit einer metastasierenden, neoplastischen Erkrankung als Fieberursache ermöglicht die differenzierte Beurteilung photopenischer Läsionen im zentralen, hämopoetisch aktiven Knochenmark einen frühen Nachweis maligner Knochenmarkherde und eine Abgrenzung von anderen, nicht malignen Affektionen des Knochenmarks.

Zusammenfassend erwies sich die Immunentzündungsszintigraphie als nützliche, nicht invasive Ganzkörpermethode bei Patienten mit FUO. Von dieser Untersuchung profitierten unter den beschriebenen methodischen Bedingungen auch Patienten mit primär nicht-entzündlichen Ursachen des FUO.

Publikation 4:

Meller J, Ivančević V, Conrad M, Gratz S, Munz DL, Becker W. Clinical value of immunoscintigraphy in patients with fever of unknown origin. J Nucl Med 1998;39:1248-1253

### **1.3 Entzündliche Darmerkrankungen**

Unter dem Begriff der entzündlichen Darmerkrankungen (inflammatory bowel disease, „IBD“) werden die beiden nosologischen Entitäten des Morbus Crohn und der ulzerösen Kolitis zusammengefaßt. Bei beiden Erkrankungen ist eine zuverlässige Beurteilung der entzündlichen Intensität und Ausdehnung entzündeter Darmsegmente und, beim Morbus Crohn, dem Darm benachbarter Gewebe, für die Therapieplanung und -überwachung sowie die Prognose des Patienten entscheidend.

Die Basisdiagnostik für die Erfassung dieser diagnostischen Kriterien besteht aus den üblichen endoskopischen und radiologischen Verfahren sowie der Bestimmung von Entzündungsindices (z.B. CDAI, van Hees, Powell-Tuck, Truelove-Witts), die auf klinischen und paraklinischen Parametern beruhen.

Der Stellenwert neuerer Entwicklungen auf dem Gebiet der CT (38,39,40) und MRT (41,42,43) ist noch nicht ausreichend validiert (44,45,46,47).

Eine zuverlässige Beurteilung der Entzündungsaktivität ist mit Hilfe der Basisdiagnostik bisweilen nicht möglich. Die klinischen Entzündungsindices unterliegen z.B. Schwankungen, da sie auch subjektive Parameter in unterschiedlicher Ausprägung beinhalten. Die bildgebenden Verfahren weisen für frühe entzündliche Veränderungen der Darmwand und insbesondere benachbarter Gewebe nur eine eingeschränkte Sensitivität auf und erlauben keine sichere Trennung postentzündlicher Residuen von aktiv entzündlichen Prozessen. Die Koloskopie bietet keine Einsicht in tiefer in der Darmwand oder jenseits gelegene Regionen, die insbesondere beim Morbus Crohn relevant sind. Dünndarmsegmente sind nur zum kleinen Teil einsehbar. Sie stellt darüber hinaus für den Patienten, vor allem im akuten Krankheitsschub, eine schmerzhafteste Prozedur dar und bei häufigerer Durchführung auch psychische Belastung, so daß die Akzeptanz für die Koloskopie verständlicherweise eingeschränkt ist.

### **1.3.1 Szintigraphische Verfahren zur Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen**

Die Entzündungsszintigraphie ermöglicht die nicht invasive, simultane Beurteilung der Ausdehnung und Intensität entzündlicher Herde oder Darmsegmente bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen (48). Nuklearmedizinisches Verfahren der Wahl ist für diese Indikation die Szintigraphie mit radioaktiv markierten, autologen Leukozyten. Allgemein akzeptiert und ausgiebig untersucht sind die Leukozytenmarkierungen mit Indium-111-Oxin (49,50,51,52) und Technetium-99m-HMPAO (53,54,55,56,57). Aus methodologischen und strahlenhygienischen Gründen bevorzugen die meisten Arbeitsgruppen die Leukozytenmarkierung mit Technetium-99m-HMPAO (58,59,60,61,62), insbesondere bei Kindern (63,64,65,66,67).

Die Szintigraphie mit markierten Leukozyten ist wegen der Notwendigkeit der in-vitro Isolierung und Markierung von Leukozyten zeitlich aufwendig und arbeitsintensiv. Untersuchungen mit der methodologisch weniger anspruchsvollen Szintigraphie mit HIG, markiert mit Technetium-99m oder Indium-111, fielen im Vergleich zu den markierten Leukozyten jedoch schlechter aus (68,69,70,71). Die bereits beschriebene Immunentzündungsszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper wurde bei entzündlichen Darmerkrankungen bislang nur vereinzelt eingesetzt und schien dabei insbesondere im Bereich des Dünndarms weniger sensitiv zu sein als die Leukozytenszintigraphie (72,73, 74).

Neue methodologische Ansätze zur Entzündungssuche bei entzündlichen Darmerkrankungen stellen die Szintigraphie mit einem monoklonalen Anti-E-Selektin-Antikörperfragment und die FDG-PET dar (75,76). Aufgrund der geringen untersuchten Patientenzahlen kann der klinische Beitrag dieser Verfahren noch nicht eingeschätzt werden.

### **1.3.2 Nachteile der Immunszintigraphie mit monoklonalen Antigranulozyten-Antikörpern in der Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen**

Eigene Untersuchungen zur Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen mit Hilfe der Immunszintigraphie mit monoklonalen Antigranulozyten-Antikörpern deckten Nachteile auf, die in den im folgenden beschriebenen Arbeiten dargelegt werden. Motiviert durch diese

Ergebnisse wurde das Verfahren in der Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen von unserer Arbeitsgruppe nicht weiter verfolgt, da wir eine Fortführung klinischer Studien auf diesem Gebiet für ethisch nicht vertretbar hielten.<sup>^</sup>

### **1.3.2.1 Unspezifische Darmaktivität bei der Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper**

Unspezifische Darmaktivität zum Aufnahmezeitpunkt kann die diagnostische Wertigkeit jeder szintigraphischen Untersuchung zur Entzündungsdiagnostik bei entzündlichen Darmerkrankungen gefährden.

Unter unspezifischer Darmaktivität ist die nicht krankheitsbedingte Anreicherung des jeweiligen Radiopharmakons, seiner das Radionuklid tragenden Metabolite oder des Radionuklids selbst im Darm zu verstehen. Dabei kann es sich um eine Anreicherung in der Darmwand, eine Ausscheidung in das Darmlumen oder Kombination beider Vorgänge handeln.

Da sich der NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper außer an Granulozyten, Myelozyten und Promyelozyten auch an Zellen in der Mukosa des Gastrointestinaltrakts sowie Endothelzellen der Pankreasgänge bindet (77), untersuchten wir vor einer klinischen Studie zur Wertigkeit der Immunentzündungsszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper bei entzündlichen Darmerkrankungen die unspezifische Darmaktivität bei Patienten, bei denen das Verfahren zur Entzündungssuche außerhalb des Bauchraums eingesetzt wurde (Publikation 5). Es zeigte sich, daß bei einem klinisch relevanten Teil der Patienten unspezifische Darmaktivität vorhanden war, die die Sensitivität der Methode, insbesondere bei Vorliegen schwach entzündlicher Herde, vermindern könnte. Um welche Art von unspezifischer Darmaktivität es sich handelte, blieb offen. Unsere Ergebnisse widerlegten frühere Mitteilungen, nach denen bei der Immunentzündungsszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper keine unspezifische Darmaktivität vorgelegen hatte (78,79,80). Das Verfahren hat sich bei dieser Indikation bis heute nicht etablieren können.

Publikation 5:

Ivančević V, Munz DL. Nonspecific bowel activity in  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -labelled monoclonal anti-granulocyte antibody imaging (Letter). Nucl Med Commun 1992;12:899-900

### **1.3.2.2 Unspezifische Darmaktivität bei der Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment**

NCA-90 ist ein homotypisches Adhäsionsmolekül, das, wie das NCA-95, von Granulozyten (81), jedoch auch von der Mukosa und dem Adenokarzinom des Dickdarms exprimiert wird (82). Das Fab'-Fragment des monoklonalen, murinen NCA-90-Antigranulozyten-Antikörpers wird, mit Technetium-99m markiert, seit einigen Jahren in der nuklearmedizinischen Entzündungsdiagnostik verwendet (81,83), überwiegend bei Entzündungen im Bewegungsapparat (84,85,86,87). Die Anwendung bei entzündlichen Darmerkrankungen wurde bisher nur in einem Fallbericht vorgestellt (88).

Aufgrund der Ähnlichkeit zum NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper und der beschriebenen Expression des NCA-90 in der Mukosa des Dickdarms führten wir erstmals eine prospektive Untersuchung zur unspezifischen Darmaktivität bei der Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment durch (Publikation 6). Die potentielle Bedeutung unspezifischer Darmaktivität für die Entzündungsszintigraphie bei entzündlichen Darmerkrankungen und ihr Wesen wurden bereits im Abschnitt 1.3.2.1 erläutert.

Unsere Untersuchungsergebnisse belegen eindeutig, daß bei der Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment unspezifische Darmaktivität häufig und in mitunter hohem Ausmaß anzutreffen ist. Diagnostische Verwendung könnten die Frühaufnahmen nach einer Stunde finden, allerdings müßte dann mit einer verminderten Sensitivität gerechnet werden, insbesondere bei schwach entzündlichen Herden. Die segmentale Verteilung der Darmanreicherung und ihre Kinetik mit einer zeitabhängigen Aktivitätszunahme in den mehr aboral gelegenen Darmsegmenten dokumentieren eine Ausscheidung in das Darmlumen und den Weitertransport mit dem Darminhalt. Somit handelt es sich nicht primär um eine Bindung des Antikörperfragments in der Mukosa des Dickdarms, sondern wahrscheinlich um die biliäre Ausscheidung von transchelierten Technetium-99m-Komplexen.

Zusammenfassend zeigte sich, daß die unspezifische Darmaktivität bei der

Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment aufgrund ihrer Häufigkeit und Intensität bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen zu falsch positiven aber auch falsch negativen Befunden führen kann.

#### Publikation 6:

Ivančević V, Wolter A, Munz DL. Nonspecific bowel activity in imaging inflammation with Tc-99m labelled monoclonal anti-NCA-90 Fab' fragment MN3. Nuklearmedizin 2001;40:71-74

### **1.3.2.3 Falsch negative Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper bei aktivem M. Crohn unter immunsuppressiver Therapie**

Die immunsuppressive Therapie ist ein wichtiger Bestandteil in der Behandlung von entzündlichen Darmerkrankungen, insbesondere bei Patienten mit akuten Krankheitsschüben. Es stellt sich daher die Frage, inwieweit eine immunsuppressive Therapie die diagnostische Wertigkeit der Entzündungsszintigraphie, gleich mit welchem Radiopharmakon durchgeführt, beeinträchtigen kann. Bezüglich der Leukozytenszintigraphie gibt es hierzu widersprüchliche Beobachtungen (89,90,91,92). Über die Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper sind zu dieser Fragestellung keine Daten verfügbar. Bei einer Patientin mit akutem Schub eines Morbus Crohn, der auch immunsuppressiv behandelt wurde, beobachtete unsere Arbeitsgruppe, daß die Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper ein vollständig falsch negatives Ergebnis erbrachte, während eine Technetium-99m-Leukozytenszintigraphie eindeutig positiv ausfiel und eine ausgeprägte Entzündungsaktivität belegte (Publikation 7). Es erschien nicht gerechtfertigt, diese große Diskrepanz einer möglicherweise allgemein etwas geringeren Sensitivität der Immunentzündungsszintigraphie bei entzündlichen Darmerkrankungen im Vergleich zur Leukozytenszintigraphie zuzuordnen, wie sie von einigen Arbeitsgruppen beschrieben worden war (72,74,93). Wir formulierten daher eine Hypothese, nach der zentrale Wirkungen der immunsuppressiven Therapie auf Granulozyten und deren Vorläuferzellen im hämopoetisch aktiven Knochenmark für das beobachtete unterschiedliche Anreicherungsverhalten von Technetium-99m-markierten Leukozyten und NCA-95-Antikörper-markierten Granulozyten

in entzündeten Darmsegmenten verantwortlich sind. Diese Hypothese stützt sich auf die bekanntermaßen unterschiedliche Biokinetik dieser beiden Radiopharmaka. Während bei der Leukozytenszintigraphie im Blut zirkulierende Leukozyten - vornehmlich Granulozyten - in vitro markiert und re-injiziert werden, um sich direkt am Entzündungsfokus anzureichern, bindet sich der injizierte NCA-Antikörper hauptsächlich an in Knochenmark und Milz sessile Granulozyten bzw. deren Vorläuferzellen (94,95) und gelangt mit deren Ausschwemmung ins Blut an den Entzündungsfokus. Das bedeutet, daß periphere Wirkungen der Immunsuppression, z.B. auf die Chemotaxis, beide Radiopharmaka gleich beeinflussen, zusätzliche zentrale Effekte auf das Knochenmark jedoch nur die mit dem NCA-95-Antikörper markierten Granulozyten. Diese Hypothese ist bislang nicht verifiziert.

#### Publikation 7:

Ivančević V, Schwörer H, Sandrock D, Kaufmann C, Ramadori G, Emrich D, Munz DL. Falsely negative <sup>99m</sup>Tc-anti-granulocyte immunoscintigraphy and positive <sup>99m</sup>Tc-HMPAO-labelled leukocyte scan in active Crohn's disease. Nuklearmedizin 1995;34:248-251

### **1.4 „Low-grade“-Entzündungen der Knochen und Gelenke**

„Low-grade“-Entzündungen der Knochen und Gelenke ist ein Terminus technicus und steht für eine Gruppe von schlecht definierten und schwer zu diagnostizierenden Entzündungen. Low-grade-Entzündungen treten gehäuft bei Patienten mit Gelenkendoprothesen auf und haben bei diesen Patienten schwerwiegende Auswirkungen auf den postoperativen Heilungsprozeß und die Lebenserwartung der Endoprothese. Es ist experimentell belegt, daß Prothesenmaterial in situ die Infektanfälligkeit um mehr als das 10.000-fache erhöht (96). Infektionsraten nach Hüftendoprothesenimplantation betragen bis zu 2% (97,98), nach Implantation von Kniegelenkendoprothesen 0,7% bis 4,4% (99,100).

Low-grade-Entzündungen können sich postoperativ durch persistierende Schmerzen innerhalb von zwei Jahren nach der Operation bemerkbar machen. Alternativ kann auch eine frühe Prothesenlockerung im selben Zeitraum auftreten. Klinische Entzündungszeichen fehlen oder sind nur schwach ausgeprägt, während sich Laborparameter als unzuverlässig oder nicht

ausreichend spezifisch erwiesen haben (101,102,103,104). Röntgenologische Veränderungen sind weder spezifisch noch ausreichend sensitiv für Low-grade-Entzündungen (105,106,107). Der Stellenwert der präoperativen Punktion und des kulturellen Erregernachweises wird kontrovers diskutiert (103,107,108,109), ebenso wie der der histologischen Gefrierschnittdiagnostik tiefer Gewebeprobe (110,111).

Low-grade-Entzündungen werden zumeist durch Erreger niedriger Virulenz hervorgerufen, insbesondere durch *Staphylococcus epidermidis* (112). Solche Koagulase-negative Bakterien produzieren Exopolysaccharide, die sie vor Phagozytose schützen und den Effekt von Antibiotika mindern (113,114). Dadurch wird auch die präoperative Keimidentifizierung erschwert.

#### **1.4.1 Szintigraphische Verfahren zur Diagnostik von „Low grade“-Entzündungen der Knochen und Gelenke**

Der Wert mehrerer szintigraphischer Verfahren wurde in der Diagnostik von Low-grade-Entzündungen untersucht. Die Drei-Phasen-Skelettszintigraphie erwies sich dabei als sehr sensitiv, jedoch nicht spezifisch, insbesondere bei Patienten mit vorangegangener Gelenkprothesenimplantation (106,115,116).

Spezifischere szintigraphische Methoden umfaßten die Gallium-67-Szintigraphie (117), autologe Leukozyten, markiert mit Indium-111-Oxin (118) oder Technetium-99m-HMPAO (117,118,119,120), HIG, markiert mit Indium-111 (121) oder Technetium-99m (122), die Immunszintigraphie mit dem murinen monoklonalen NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper (122,123) und neuerdings FDG-PET (123,124,125). All diese Untersuchungen erbrachten unterschiedliche Resultate oder sind vorläufiger Natur. Die meisten der angeführten Studien beziehen sich jedoch nicht oder nur beiläufig auf Patienten mit Gelenkendoprothesen. Die einzige gezielte Untersuchung zu Low-grade-Entzündungen bei Patienten mit Hüft- oder Kniegelenkendoprothesen wurde von Glithero et al. (118) mittels Indium-111- und Technetium-99m-markierter Leukozyten durchgeführt. Dabei fanden die Autoren eine insgesamt unzureichende Sensitivität von 37% bzw. 50%.

#### **1.4.2 Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment in der Diagnostik von „Low grade“-Entzündungen der Knochen und Gelenke bei Patienten mit vorangegangenen Gelenkoperationen**

Das NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment und seine bisherige Anwendung wurden bereits im Abschnitt 1.3.2.2 beschrieben. Aufgrund der unzureichenden diagnostischen Möglichkeiten bei Low-grade-Entzündungen, insbesondere bei voroperierten Patienten, einerseits (s. Abschnitt 1.4) und der vielversprechenden Resultate mit dem NCA-90-Fab'-Fragment bei Entzündungen im Bewegungsapparat andererseits (84,85,86,87) wurde erstmals die diagnostische Wertigkeit dieses Radiopharmakons in der Diagnostik von Low-grade-Entzündungen bei Patienten nach Hüft- oder Kniegelenksoperationen, überwiegend Endoprothesenimplantationen, untersucht (Publikation 8).

Die Resultate belegten, daß die Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment bei diesen Patienten Low-grade-Entzündungen überaus empfindlich nachzuweisen vermag, jedoch nicht geeignet ist, septische von aseptischen Entzündungen zu unterscheiden, also eine geringe Spezifität aufweist. Auf der anderen Seite scheint das Verfahren Low-grade-Entzündungen mit hoher Sicherheit ausschließen zu können. Die Spezifität ist unzureichend insbesondere bei Patienten mit sog. „Girdlestone“-Hüften, d.h. Zustand nach operativer Entfernung einer Hüftgelenkendoprothese. Bei diesen Patienten wird daher grundsätzlich von einer Immunszintigraphie mit dem Fab'-Fragment abgeraten. Die diagnostische Genauigkeit des Verfahrens steigt bei Patienten mit Hüft- oder Kniegelenkprothesen in situ, allerdings kommen auch hier falsch positive Ergebnisse vor. Die neben der visuellen durchgeführte semiquantitative Beurteilung der szintigraphischen Anreicherungsintensität des Radiopharmakons im Entzündungsherd erlaubt ebenfalls keine Differenzierung septischer von aseptischen Entzündungen. Die szintigraphischen Ergebnisse wurden mit dem Zimmerli-Score verglichen, einem multiparametrischen Index zur klinischen/radiologischen/laborchemischen Beurteilung der Entzündungsaktivität. Dieser wies im Vergleich zur Szintigraphie einen höheren Vorhersagewert für vorliegende Low-grade-Entzündungen auf, ist jedoch bekanntermaßen ebenfalls unspezifisch bei Patienten mit rheumatoider Arthritis als Grunderkrankung oder mit zeitgleich bestehenden entzündlichen Herden außerhalb des zu beurteilenden Gelenks.

In der Diagnostik von Low-grade-Entzündungen der Knochen und Gelenke bei voroperierten

Patienten könnte die Hauptindikation für die Immunszintigraphie mit dem Fab'-Fragment liegen im Nachweis oder Ausschluß einer Entzündung bei Vorliegen einer rheumatoiden Arthritis oder anderer entzündlicher Herde und bei positivem Zimmerli-Score. Im Falle von Girdlestone-Hüften sollte das Verfahren aufgrund fehlender Spezifität nicht eingesetzt werden.

Publikation 8:

Ivančević V, Perka C, Hasart O, Sandrock D, Munz DL. Imaging of low-grade bone infection with a Tc-99m labelled monoclonal anti-NCA-90 Fab' fragment in patients with previous joint surgery. Eur J Nucl Med (eingereicht)

## **2 Knochenmarkszintigraphie**

### **2.1 Nuklearmedizinische bildgebende Verfahren bei Erkrankungen des hämopoetisch aktiven Knochenmarks**

Die nuklearmedizinische Knochenmarkdiagnostik dient zur Evaluierung einer fokalen oder generalisierten Knochenmarkbeteiligung bei malignen und hämatologischen Erkrankungen. Wissenschaftlich untersucht wird ihre Bedeutung für die funktionelle Beurteilung der Knochenmarkskapazität bzw. -reserve.

Die Rolle nuklearmedizinischer Verfahren in der Knochenmarkdiagnostik, ihre methodologischen Grundlagen sowie Stand und Perspektiven der betreffenden vorklinischen und klinischen Forschung wurden in einer Übersichtsarbeit dargelegt (Publikation 9). Der Auftrag zu dieser Übersichtsarbeit wurde mir vom Veranstalter der Symposiensreihe „International Forum Nuclear Medicine Charité Berlin“ aufgrund der Forschungsergebnisse unserer Arbeitsgruppe erteilt.

#### Publikation 9:

Ivančević V. Bone marrow. In Munz, DL, Hrsg.: Molecular nuclear medicine with antibodies, peptides and nucleotides. International Forum Nuclear Medicine Charité, Zuckschwerdt-Verlag, München Bern Wien New York 2000, pp.82-95

### **2.2 Immunszintigraphie des Knochenmarks mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper**

#### **2.2.1 Alter und Knochenmark-Uptake des NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers**

Beim Menschen wird das rote, hämopoetisch aktive Knochenmark mit zunehmendem Alter schlechter durchblutet und immer mehr zu gelbem Fettmark umgewandelt (126,127). In den

wenigen, bisher durchgeführten Studien, in denen der Knochenmark-Uptake des NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers in kleinen Kontrollgruppen, untereinander nicht standardisiert, bestimmt wurde (128,129), war der Einfluß des Alters der Probanden nicht untersucht worden. Hinzu kommt, daß in einer dieser beiden Arbeiten (129) ein anderer Antigranulozyten-Antikörper verwendet wurde.

Wir untersuchten erstmals den Einfluß des Alters auf den Knochenmark-Uptake bei Patienten mit einem normalen Knochenmarkszintigramm (erste Mitteilung in Publikation 10). Unsere Arbeitshypothese war dabei, daß es mit zunehmendem Alter zu einer Abnahme im Knochenmark-Uptake des NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers kommt. Die Ergebnisse bestätigten die Arbeitshypothese hoch signifikant. Daher wurden Normalbereiche des Knochenmark-Uptake für drei verschiedene Altersklassen bestimmt. Wir folgerten, daß bei Vergleichsuntersuchungen des Knochenmark-Uptake mit einem Normalkollektiv auf die Alterszusammensetzung dieses Kollektivs zu achten sei.

#### Publikation 10:

Ivančević V, Munz DL, Huić D. Antigranulocyte antibody uptake in bone marrow is age-dependent (Letter). J Nucl Med 1997;38:1172

### **2.2.2 Normaler Knochenmark-Uptake des NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers und Uptake bei Fieber unbekannter Genese sowie malignen Erkrankungen**

Die Methodologie zur semiquantitativen Bestimmung des Knochenmark-Uptake bei der Knochenmarkszintigraphie wurde 1984 von Munz eingeführt (95,130,131). Das zu dieser Zeit verwendete Radiopharmakon war Technetium-99m-markiertes Nanokolloid. Heute stellt der Technetium-99m-markierte NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper das Radiopharmakon der Wahl für die Knochenmarkszintigraphie dar (132,133,134,135). Da sich Biodistribution und Biokinetik der beiden Radiopharmaka unterscheiden, gelten die aus der Knochenmarkszintigraphie mit Nanokolloid bekannten Uptake-Werte nicht für die Immunszintigraphie des Knochenmarks.

Unsere Arbeitsgruppe bestimmte daher anhand eines größeren Normalkollektiv erstmals den

Normbereich des Knochenmark-Uptake für den NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper (Publikation 11). Dabei fiel eine inverse Korrelation des Knochenmark-Uptake mit dem Alter der Probanden auf, wie im Abschnitt 2.2.1 bereits dargelegt. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß das Vorliegen von Entzündungszeichen im Blut und/oder entzündlicher Herde den Knochenmark-Uptake nicht signifikant beeinflußt. Auch maligne Tumore, Lymphome und Plasmozytome ohne eine Knochenmarkaffektion größeren Ausmaßes verändern den Knochenmark-Uptake nicht. Bei einigen dieser Patienten lag eine mäßige Expansion des hämopoetisch aktiven Knochenmarks in die Peripherie vor, die ebenfalls ohne Auswirkungen auf den Knochenmark-Uptake blieb.

Die Bestimmung des Knochenmark-Uptake-Index erwies sich methodologisch als reproduzierbar und nicht untersucherabhängig.

Der klinische Nutzen der Bestimmung des Knochenmark-Uptake könnte vor allem in der Diagnostik und Verlaufskontrolle von Erkrankungen mit möglicher Knochenmarkdepression sowie in der Therapiekontrolle liegen. Mit dieser Arbeit wird eine Grundlage für vergleichend quantifizierende Auswertungen der Immunszintigraphie des Knochenmarks geboten.

#### Publikation 11:

Huić D, Ivančević V, Richter W-S, Munz DL. Immunoscintigraphy of the bone marrow: normal uptake values of technetium-99m-labeled monoclonal antigranulocyte antibodies. J Nucl Med 1997;38:1755-1758

### **2.2.3 Immunszintigraphie des Knochenmarks mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper bei Patienten mit Panzytopenie**

Diese prospektive klinische Studie war motiviert durch das im vorangegangenen Abschnitt 2.2.2 dargelegte Vorhaben, in dem die Immunszintigraphie des Knochenmarks und insbesondere der Knochenmark-Uptake überwiegend bei Patienten mit normaler Hämopoese untersucht worden waren.

In der aktuellen Studie sollte die klinische Wertigkeit der Knochenmarkszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper bei Patienten mit Knochenmarkdepression untersucht

werden (Publikation 12). Vorrangiges Ziel war dabei die Evaluierung der Trennschärfe des Knochenmark-Uptake hinsichtlich einer vorhandenen Knochenmarkdepression im Vergleich zum altersentsprechenden Normalbereich. Die Rechtfertigung für den Einsatz eines Verfahrens, das ein Maß für die Granulopoese darstellt, war die weithin akzeptierte Erkenntnis, daß die Granulopoese in den meisten Fällen als repräsentativ für die Hämopoese allgemein angesehen werden kann (136).

Der Knochenmark-Uptake fiel bei den Patienten mit Panzytopenie signifikant niedriger aus als in der Vergleichsgruppe mit normaler Knochenmarkfunktion. Es fand sich nur ein eng umschriebener Überschneidungsbereich, der hauptsächlich aus Patienten mit Autoimmunerkrankungen bestand, die peripher zwar eine Panzytopenie, zentral jedoch unauffällige Hämopoese aufwiesen, wie durch Biopsie belegt. Diese Konstellation einer Panzytopenie mit konkordant normaler Hämopoese und Knochenmarkszintigraphie rechtfertigte es, in diesen Fällen eine extramedulläre Blutzelldestruktion zu postulieren.

Der Knochenmark-Uptake korrelierte nicht mit der peripheren Leukozyten- und Erythrozytenzahl, was wir auf das Vorliegen einer kompensatorischen extramedullären Hämopoese zurückführten.

Das Verteilungsmuster hämopoetisch aktiven Knochenmarks schien für die jeweilige Entität spezifische Unterschiede aufzuweisen, allerdings war die Zahl der untersuchten Patienten zu gering, diese Hypothese zu erhärten. Insbesondere bei Patienten mit aplastischer Anämie fanden sich zwei unterschiedliche Verteilungsmuster, die auf verschiedene pathogenetische Mechanismen hindeuten könnten.

Zusammenfassend konnten wir zeigen, daß eine Knochenmarkdepression mit Hilfe des Knochenmark-Uptake verlässlich nachgewiesen werden kann. Die Wertigkeit des Knochenmark-Uptake in der Verlaufskontrolle von Patienten mit Knochenmarkdepression und möglicherweise krankheitsspezifische Verteilungsmuster des NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers im hämopoetisch aktiven Knochenmark sollten in multizentrischen Studien untersucht werden, für die die vorliegende Arbeit als Grundlage dienen kann.

#### Publikation 12:

Huić D, Ivančević V, Aurer I, Dodig D, Nemet D, Labar B, Poropat M, Munz DL. Bone marrow immunoscintigraphy in hematological patients with pancytopenia – preliminary results.

Nuklearmedizin (eingereicht)

### **2.3 Immunszintigraphie des Knochenmarks mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment**

NCA-90 wird als Differenzierungsantigen der monozytär/makrophagealen und der granulozytären Zelllinie angesehen (137). Das NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment und seine üblichen Indikationsgebiete wurden bereits im Abschnitt 1.3.2.2 beschrieben.

Die immunologische und biokinetische Ähnlichkeit dieses Fab'-Fragments mit dem NCA-95 Antigranulozyten-Antikörper, das Fehlen einer Immunantwort des Empfängers in Form einer HAMA-Bildung und die gute Verfügbarkeit des NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragments schienen es zu einer Alternative zum NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper in der Knochenmarkszintigraphie zu machen.

Aufbauend auf diesen Voraussetzungen untersuchte unsere Arbeitsgruppe erstmals die Wertigkeit des Technetium-99m-markierten NCA-90 Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragments in der Knochenmarkszintigraphie (Publikation 13). Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper zu gewährleisten, wurde in diesem Vorhaben die Methodologie aus den entsprechenden Studien mit dem kompletten NCA-95-Antikörper übernommen ( s. Abschnitt 2.2). Die Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Auswertung wurden mit den entsprechenden Ergebnissen der Knochenmarkszintigraphie mit dem kompletten Antikörper aus den Abschnitten 2.2.1 und 2.2.2 verglichen.

Das normale Verteilungsmuster des Fab'-Fragments im hämopoetisch aktiven Knochenmark unterschied sich nicht von dem des kompletten NCA-95-Antigranulozyten-Antikörpers. Auch bei Patienten mit Knochenmarkexpansion in die Peripherie oder Knochenmarkdepression schienen analoge Verteilungsmuster vorzuliegen.

Die Intensität der Anreicherung des Fab'-Fragments im Knochenmark wies einen großen Streubereich auf und fiel sowohl qualitativ als auch quantitativ deutlich geringer aus als die des kompletten Antikörpers. Die Beurteilbarkeit bestimmter Knochenmarkareale war infolgedessen erschwert oder gänzlich unmöglich. Anders als beim kompletten Antikörper nahm die Knochenmarkanreicherung des Fab'-Fragments mit der Zeit nicht zu, und es konnte keine Abhängigkeit des Knochenmark-Uptake vom Alter der Patienten nachgewiesen werden. In intraindividuellen Verlaufsuntersuchungen wies der Knochenmark-Uptake des NCA-90-

Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragments eine hohe, biologisch nicht begründbare Streuung auf.

Die große inter- und intraindividuelle Streuung des normalen Knochenmark-Uptake und seine fehlende Altersabhängigkeit führten wir auf die insgesamt vergleichsweise geringe Knochenmarkanreicherung und Schwankungen im Niveau der Untergrundaktivität zurück. Zusammenfassend zeigten unsere Ergebnisse, daß die Knochenmarkszintigraphie mit dem Technetium-99m-markierten NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment nur die qualitative, unvollständige Darstellung einiger Areale hämopoetisch aktiven Knochenmarks ermöglicht. Die semiquantitative Bestimmung des Fab'-Knochenmark-Uptake ist für die klinische Anwendung nicht brauchbar.

Das NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment stellt in der Knochenmarkszintigraphie keine Alternative für den kompletten NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper dar.

#### Publikation 13:

Ivančević V, Huić D, Wolter A, Munz DL. Bone marrow scintigraphy with Tc-99m labelled monoclonal anti-NCA 90 Fab' fragment: a feasibility study and comparison of bone marrow uptake with Tc-99m labelled monoclonal anti-NCA 95 antigranulocyte antibody. Nucl Med Commun (eingereicht)

## Literatur

1. Stewart JA, Silimperi D, Harris P, Wise NK, Fraker TD, Kisslo JA. Echocardiographic documentation of vegetative lesions in infective endocarditis: clinical implications. *Circulation*. 1980; *61*: 374-380.
2. Smyllie JH, Sutherland GR, Roelandt J. The changing role of echocardiography in the diagnosis and management of infective endocarditis. *Int J Cardiol*. 1989; *23*: 291-301.
3. Daniel WG, Schröder E, Nonnast-Daniel B, Lichtlen PR. Conventional and transoesophageal echocardiography in the diagnosis of infective endocarditis. *Eur Heart J*. 1987; *8(Suppl J)*: 287-292.
4. Berger M, Gallerstein PE, Benhuri P, Balla R, Goldberg E. Evaluation of aortic valve endocarditis by two-dimensional echocardiography. *Chest*. 1981; *80*: 61-67.
5. Ivancevic V, Morguet AJ, Sandrock D, Kögler A, Munz DL, Emrich D. Improvement of SPECT immunoimaging of endocarditis by iterative reconstruction and imaging of perfusion phase (abstract). *Eur J Nucl Med*. 1993; *20*: 940.
6. Munz DL, Morguet AJ, Sandrock D, Heim A, Sold G, Figulla HR, Kreuzer H, Emrich D. Radioimmunoimaging of subacute infective endocarditis using a technetium-99m monoclonal granulocyte-specific antibody. *Eur J Nucl Med*. 1991; *18*: 977-980.
7. Steckelberg JM, Wilson WR. Risk factors for infective endocarditis. *Infect Dis Clin N Am*. 1993; *7*: 9-19.
8. Goulet V, Etienne J, Fleurette J, Netter R. L'endocardite infectieuse en France. Caracteristiques epidemiologiques. *Presse Med*. 1986; *15*: 1855-1858.
9. King JW, Nguyen VQ, Conrad SA. Results of a prospective statewide reporting system for endocarditis. *Am J Med Sci*. 1988; *295*: 517-527.
10. van der Meer JTM, Thompson J, Valkenburg HA, Michel MF. Epidemiology of bacterial endocarditis in the Netherlands. I. Patient characteristics. *Arch Intern Med*. 1992; *152*: 1863-1868.

11. Skehan JD, Murray M, Mills PG. Infective endocarditis: incidence and mortality in the North East Thames Region. *Brit Heart J.* 1988; *59*: 62-68.
12. Kaye D. Changing pattern of infective endocarditis. *Am J Med.* 1985; *78*: 157-162.
13. Khandheria BK. Suspected bacterial endocarditis. To TEE or not to TEE. *J Am Coll Cardiol.* 1993; *21*: 222-224.
14. Petersdorf RG, Beeson PB. Fever of unexplained origin: repost on 100 cases. *Medicine.* 1961; *40*: 1-30.
15. Smith JW. Southwestern internal medicine conference: fever of undetermined origin: not what it used to be. *Am J Med Sci.* 1986; *292*: 56-64.
16. Peters AM. Finding the cause of an undiagnosed fever. *Eur J Nucl Med.* 1996; *23*: 239-242.
17. Peters AM. Nuclear medicine imaging in fever of unknown origin. *Q J Nucl Med.* 1999; *43*: 61-73.
18. Hilson AJW, Maisey MN. Gallium-67 scanning in pyrexia of unknown origin. *Br Med J.* 1979; *4*: 1330-1331.
19. Knockaert DC, Mortelmans LA, De Roo MC, Bobbaers AD. Clinical value of <sup>67</sup>Ga scintigraphy in investigation of fever or inflammation of unknown origin in ultrasound and computed tomography era. *Acta Clin Belg.* 1989; *44*: 91-998.
20. McNeil BJ, Sanders R, Alderson PO, Hessel SJ, Finberg H, Siegelman SS, Adams DF, Abrams HL. A prospective study of CT, ultrasound, and gallium imaging in patients with fever. *Radiology.* 1981; *139*: 647-653.
21. Sfakianakis GN, Al-Sheikh W, Heal A, Rodman G, Zeppa R, Serafini A. Comparisons of scintigraphy with indium-111 leukocytes and <sup>67</sup>Ga in the diagnosis of occult sepsis. *J Nucl Med.* 1982; *23*: 618-626.
22. Davies SG, Garvie NW. The role of indium-labeled leukocyte imaging in pyrexia of unknown origin. *Br J Radiol.* 1990; *63*: 850-854.
23. Haentjens M, Piepsz A, Schell-Frederick E, Perlmutter-Cremer N, Frühling J. Limitations in the use of indium-111-oxine-labeled leukocytes for the diagnosis of occult infection

- in children. *Pediatr Radiol.* 1987; *17*: 139-142.
24. Hawker RJ, Hall CE, Drole Z, Rhys-Evans PH. Indium leukocyte imaging in true pyrexia of unknown origin. *Eur J Nucl Med.* 1985; *10*: 172-174.
25. Schmidt KG, Rasmussen JW, Sorensen PG, Wedebye IM. Indium-111 granulocyte scintigraphy in the evaluation of patients with fever of undetermined origin. *J Infect Dis.* 1987; *19*: 339-345.
26. Syrjälä MT, Valtonen V, Liewendahl K, Myllylä G. Diagnostic significance of indium-111 granulocyte scintigraphy in febrile patients. *J Nucl Med.* 1987; *28*: 155-160.
27. Tudor GR, Finlay DB, Belton I. The value of indium-111-labelled leucocyte imaging and ultrasonography in the investigation of pyrexia of unknown origin. *Br J Radiol.* 1997; *70*: 918-922.
28. Oyen WJ, Claessens RA, Raemaekers JM, de Pauw BE, van der Meer JW, Corstens FH. Diagnosing infection in febrile granulocytic patients with indium-111 labeled human immunoglobulin. *J Clin Oncol.* 1992; *10*: 61-68.
29. De Kleijn EA, Oyen WJG, Corstens FHM, van der Meer JWM, The Netherlands FUO Imaging Group. Utility of indium-111-labeled polyclonal immunoglobulin G scintigraphy in fever of unknown origin (FUO). *J Nucl Med.* 1997; *38*: 484-489.
30. Becker W, Dölkemeier U, Gramatzki MU, Schneider MU, Scheele J, Wolf F. Use of immunoscintigraphy in the diagnosis of fever of unknown origin. *Eur J Nucl Med.* 1993; *20*: 1078-1083.
31. Gratz S, Behr TM, Herrmann A, Meller J, Conrad M, Zappel H, Becker W. Immunoscintigraphy (BW 250/183) in neonates and infants with fever of unknown origin. *Nucl Med Commun.* 1998; *19*: 1037-1045.
32. Lorenzen J, Buchert R, Bleckmann C, Munchow N, Bohuslavizki KH. A search for the focus in patients with fever of unknown origin: is positron-emission tomography with F-18-fluorodeoxyglucose helpful?. *Rofu Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr.* 1999; *171*: 49-53.
33. Corstens FHM, van der Meer JWM. Nuclear medicine's role in infection and inflammation. *Lancet.* 1999; *354*: 765-770.

34. Becker W. Diagnostische Möglichkeiten der Nuklearmedizin bei chronischen Infektionen. *Radiologe*. 2000; *40*: 561-567.
35. van der Laken CJ, Boerman OC, Oyen WJG, van der Ven MTP, van der Meer JWM, Corstens FHM. Scintigraphic detection of infection and inflammation: new developments with special emphasis on receptor interaction. *Eur J Nucl Med*. 1998; *25*: 535-546.
36. Schiepers C, Hoh CK. Positron emission tomography as a diagnostic tool in oncology. *Eur Radiol*. 1998; *8*: 1481-1494.
37. Becker W. The contribution of nuclear medicine to the patient with infection. *Eur J Nucl Med*. 1995; *22*: 1195-1211.
38. Thiele J, Kloepfel R, Schulz HG. CT-Sellink-a new method for evaluating the intestinal wall. *Fortschr Roentgenstr*. 1993; *159*: 213-217.
39. Meyers MA, McGuire PV. Spiral CT demonstration of hypervascularity in Crohn's disease: "vascular jejunization of the ileum" or the "comb sign".. *Abdom Imaging*. 1995; *20*: 327-332.
40. Hara AK, Johnson CD, Reed JE, Ehman RL, Ilstrup DM. Colorectal polyp detection with CT colography: two- versus three-dimensional techniques. *Radiology*. 1996; *250*: 49-54.
41. Laniado M, Kornmesser W, Hamm B, Clauss W, Weinmann HJ, Felix R. MR imaging of the gastrointestinal tract: value of Gd-DTPA. *Amer J Roentgenol*. 1987; *150*: 817-821.
42. Li KCP, Ho-Tai PCK. The search for the ideal enteric MR contrast agent. *Diag Imaging*. 1990; *3*: 110-114.
43. Neuerburg J, Klose KC, Bohndorf K, Truong S, Gunther RW. MR tomography of colorectal disease with a negative rectal contrast medium. *Fortschr Roentgenstr*. 1992; *156*: 258-263.
44. Fasse J, Klose KC, Raguse T. An evaluation of preoperative computed tomography for chronic inflammatory bowel disease. *Colo-proctology*. 1987; *4*: 241-246.
45. Koelbel G, Schmiedl U, Majer MC, Weber P, Jenss H, Kueper K, Hess CF. Diagnosis of fistulae and sinus tracts in patients with Crohn's disease: value of MR imaging. *Amer J*

- Roentgenol. 1989; *152*: 999-1003.
46. Jabra AA, Fishman EK, Taylor GA. Crohn's disease in the pediatric patient: CT evaluation. *Radiology*. 1991; *179*: 495-498.
47. Klein H-M. CT and MRI assume role in bowel disease. *Diag Imaging Europe*. 1997; *3*: 31-38.
48. Ivancevic V, Vucelic B, Korac-Kovacevic B, Ivancevic D. Scintigraphy with radionuclide labelled leucocytes in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Gastroenterohepatol Arh*. 1989; *8*: 165-170.
49. Saverymuttu SH, Camillieri M, Rees H, Lavender JP, Hodgson HJF, Chadwick VS. Indium-111-granulocyte scanning in the assessment of disease extent and disease activity in inflammatory bowel disease. A comparison with colonoscopy, histology and fecal indium-111 granulocyte excretion. *Gastroenterology*. 1986; *90*: 1121-1128.
50. Becker W, Fischbach W, Jenett M, Reiners C, Börner W. In-111-oxine labelled white cells in the diagnosis and follow-up of Crohn's disease. *Klin Wochenschr*. 1986; *64*: 141-148.
51. Becker W, Fischbach W, Wepler M, Mosl B, Jacoby G, Börner W. Radiolabeled granulocytes in inflammatory bowel disease: diagnostic possibilities and clinical indications. *Nucl Med Commun*. 1988; *9*: 693-701.
52. Fischbach W, Becker W. Clinical relevance of activity parameters in Crohn's disease estimated by fecal excretion of In-111-labeled granulocytes. *Digestion*. 1991; *50*: 149-152.
53. Roddie Me, Peters AM, Danpure HJ, Osman S, Henderson BL, Lavender JP, Carroll MJ, Neirinckx RD, Kelly JD. Inflammation: imaging with Tc-99m HMPAO-labeled leukocytes. *Radiology*. 1988; *166*: 767-772.
54. Schölmerich J, Schmidt E, Schümichen C, Billmann P, Schmidt H, Gerok W. Scintigraphic assessment of bowel involvement and disease activity in Crohn's disease using technetium 99m-hexamethyl propylene amin oxin as leukocyte label. *Gastroenterology*. 1988; *95*: 1287-1293.
55. Middleton SJ, Li D, Wharton S, Reynolds PD, Wraight EP, Hunter JO. Validation of

- 99Tcm-HMPAO leucocyte scintigraphy in ulcerative colitis by comparison with histology. *Br J Radiol.* 1995; *68*: 1061-1066.
56. Weldon MJ, Masoomi AM, Britten AJ, Gane J, Finlayson CJ, Joseph AE, Maxwell JD. Quantification of inflammatory bowel disease using technetium-99m HMPAO labelled leucocyte single photon emission computerised tomography (SPECT). *Gut.* 1995; *36*: 243-250.
57. Arndt JW, Grootsholten MI, van Hogezaand RA, Griffioen G, Lamers CB, Pauwels EK. Inflammatory bowel disease activity assessment using technetium-99m-HMPAO leukocytes. *Dig Dis Sci.* 1997; *42*: 387-393.
58. Allan RA, Sladen GE, Bassingham S, Lazarus C, Clarke SE, Fogelman I. Comparison of simultaneous Tc-99m HMPAO and In-111 oxine labelled white cell scans in the assessment of inflammatory bowel disease. *Eur J Nucl Med.* 1993; *20*: 195-200.
59. Arndt JW, van der Sluys Veer A, Blok D, Griffioen G, Verspaget HW, Lamers CB, Pauwels EK. Prospective comparative study of technetium-99m-WBCs and indium-111-granulocytes for the examination of patients with inflammatory disease. *J Nucl Med.* 1993; *34*: 1052-1057.
60. Mansfield JC, Giaffer MH, Tindale WB, Holdsworth CD. Quantitative assessment of overall inflammatory bowel disease activity using labelled leucocytes: a direct comparison between indium-111 and technetium-99m HMPAO methods. *Gut.* 1995; *37*: 679-683.
61. Giaffer MH, Tindale WB, Holdsworth D. Value of technetium-99m HMPAO-labelled leucocyte scintigraphy as an initial screening test in patients suspected of having inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1996; *8*: 1195-2000.
62. Martin-Comin J, Prats E. Clinical applications of radiolabeled blood elements in inflammatory bowel disease. *Q J Nucl Med.* 1999; *43*: 74-82.
63. Charron M. Inflammatory bowel disease in pediatric patients. *Q J Nucl Med.* 1997; *41*: 309-320.
64. Shah DB, Cosgrove M, Rees JI, Jenkins HR. The technetium white cell scan as an initial imaging investigation for evaluating suspected childhood inflammatory bowel disease.

- J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1997; 25: 524-528.
65. Charron M, Fernando del Rosario J, Kocoshis S. Distribution of acute bowel inflammation determined by technetium-labeled white blood cells in children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 1998; 4: 84-88.
66. Del Rosario MA, Fitzgerald JF, Siddiqui AR, Chong SK, Croffie JM, Gupta SK. Clinical applications of technetium Tc 99m hexamethyl propylene amine oxime leukocyte scan in children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999; 28: 63-70.
67. Charron M, del Rosario FJ, Kocoshis SA. Pediatric inflammatory bowel disease: assessment with scintigraphy with 99mTc white blood cells. *Radiology.* 1999; 212: 507-513.
68. Hovi I, Taavitsainen M, Lantto T, Vorne M, Paul R, Remes K. Technetium-99m-HMPAO-labeled leukocytes and technetium-99m-labeled human polyclonal immunoglobulin G in diagnosis of focal purulent disease. *J Nucl Med.* 1993; 34: 1428-1434.
69. Mairal L, de Lima PA, Martin-Comin J, Baliellas C, Xiol X, Roca M, Ricart Y, Ramos M. Simultaneous administration of 111In-human immunoglobulin and 99mTc-HMPAO labelled leucocytes in inflammatory bowel disease. *Eur J Nucl Med.* 1995; 22: 664-670.
70. Delgado Castro M, Lancha C, Prats E, Mitjavilla M, Abos D, Martin-Curto LM, Crespo A, Banzo J. The diagnostic value of Tc-99m human polyclonal immunoglobulin imaging compared to Tc-99m HMPAO labeled leukocytes in inflammatory bowel disease. *Clin Nucl Med.* 1997; 22: 17-20.
71. de Lima Ramos PA, Martin-Comin J, Munoz A, Baliellas C, Vilar L, Roca M, Ramos M. Comparison of endoscopy, radiology and scintigraphy with Tc-99m-exametazine labeled leukocytes and In-111 labeled human polyclonal immunoglobulin G in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Med Clin Barc.* 1998; 111: 241-246.
72. Papos M, Nagy F, Narai G, Rajtar M, Szantai G, Lang J, Csernay L. Anti-granulocyte immunoscintigraphy and [99mTc]hexamethylpropyleneamine-oxime-labeled leukocyte scintigraphy in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 1996; 41: 412-

- 420.
73. Steinsträsser A, Oberhausen E. Granulocyte labelling kit BW 250/183. Results of the European multicenter trial. *Nuklearmedizin*. 1996; 35: 1-11.
74. Segarra I, Roca M, Baliellas C, Vilar L, Ricart Y, Mora J, Puchal R, Martin-Comin J. Granulocyte-specific monoclonal antibody-technetium-99m-BW 250/183 and indium-111 oxine-labelled leukocyte scintigraphy in inflammatory bowel disease. *Eur J Nucl Med*. 1991; 18: 715-719.
75. Bhatti M, Chapman P, Peters M, Haskard D, Hodgson HJV. Visualising E-selectin in the detection of inflammatory bowel disease. *Hrsg.: Gut*: 1998. Band 43. 40-47;
76. Skehan SJ, Issenman R, Mernagh J, Nahmias C, Jacobson K. 18F-fluorodeoxyglucose positron tomography in diagnosis of pediatric inflammatory bowel disease (Letter). *Lancet*. 1999; 354: 836-837.
77. Becker W. Immunoscintigraphy of infectious lesions. *Hrsg.: Munz DL, Emrich D: Immunoscintigraphy. Facts and Fiction. Amsterdam New York Oxford, Excerpta medica, 1990, 159-170. 0 444 81319 5.*
78. Mahida YR, Perkins AC, Frier M, Wastie ML. Monoclonal antigranulocyte antibody imaging in inflammatory bowel disease: a preliminary report. *Nucl Med Commun*. 1992; 13: 330-335.
79. Joseph K, Höffken H, Bosslet K, Schorlemmer HU. In vivo labelling of granulocytes with 99mTc anti-NCA monoclonal antibodies for imaging inflammation. *Eur J Nucl Med*. 1988; 14: 367-373.
80. Becker W, Fleig W, Marienhagen J, Hahn E, Wolf F. Diagnostische Bedeutung der intestinalen Aktivität bei der Immunszintigraphie mit Tc-99m-NCA-95 Antikörpern (Abstrakt). *Nuklearmedizin*. 1990; 29: A30-A31.
81. Becker W, Goldenberg DM, Wolf F. The use of monoclonal antibodies and antibody fragments in the imaging of infectious lesions. *Semin Nucl Med*. 1994; 24: 142-153.
82. Watt SM, Sala-Newby G, Hoang T, Gilmore DJ, Grunert F, Nagel G, Murdoch SJ, Tchilian E, Lennox ES, Waldmann H. CD66 identifies a neutrophil-specific epitope within the hematopoietic system that is expressed by members of the

- carcinoembryonic antigen family of adhesion molecules. *Blood*. 1991; 78: 63-74.
83. Becker W, Bair J, Behr T, Repp R, Streckenbach H, Beck H, Gramatzki M, Winship MJ, Goldenberg DM, Wolf F. Detection of soft-tissue infections and osteomyelitis using a technetium-99m-labeled anti-granulocyte monoclonal antibody fragment. *J Nucl Med*. 1994; 35: 1436-1443.
84. Harwood SJ, Camblin JG, Hakki S, Morrissey MA, Laven DL, Zangara LM, Patel JU, Webster WB Jr, Carroll RG. Use of technetium antigranulocyte monoclonal antibody Fab' fragments for the detection of osteomyelitis. *Cell Biophys*. 1994; 24-25: 99-107.
85. Becker W, Palestro CJ, Winship J, Feld T, Pinsky CM, Wolf F, Goldenberg DM. Rapid imaging of infections with a monoclonal antibody fragment (LeukoScan). *Clin Orthop*. 1996; 329: 263-272.
86. Hakki S, Harwood SJ, Morrissey MA, Camblin JG, Laven DL, Webster WB Jr. Comparative study of monoclonal antibody scan in diagnosing infection. *Clin Orthop*. 1997; 335: 275-285.
87. Harwood SJ, Valdivia S, Hung GL, Quenzer RW. Use of Sulesomab, a radiolabeled antibody fragment, to detect osteomyelitis in diabetic patients with foot ulcers by leukoscintigraphy. *Clin Infect Dis*. 1999; 28: 1200-1205.
88. Kresnik E, Gallowitsch HJ, Mikosch P, Molnar M, Unterweger O, Gomez I, Lind P. Immunoscintigraphy of an inflammatory process in Crohn's disease with a technetium-99m-labeled fragment (MN3 Fab') and with an intact monoclonal anti-granulocyte antibody (Mab BW 250/183). *Clin Nucl Med*. 1999; 24: 64-65.
89. Ascher NL, Ahrenholz DH, Simmons RL, Weiblen B, Gomez L, Forstrom LA, Frick MP, Henke C, McCullough J. Indium 111 autologous tagged leukocytes in the diagnosis of intraperitoneal sepsis. *Arch Surg*. 1979; 114: 386-392.
90. Saverymuttu SH, Peters AM, Hodgson HJ, Chadwick VS, Lavender JP. Indium-111 autologous leucocyte scanning: comparison with radiology for imaging the colon in inflammatory bowel disease. *Br Med J*. 1982; 285: 255-257.
91. McAfee JG, Samin A. In-111 labeled leukocytes: a review of problems in image interpretation. *Radiology*. 1985; 155: 221-229.

92. Datz FL, Thorne DA, Taylor A. Evaluation of factors that could potentially decrease the sensitivity of the In-111 labelled leukocyte scan. *J Nucl Med.* 1986; 27: 914.
93. Vorne M, Karhunen K, Lantto T, Mokka R, Makela P, Nikoskelainen J, Rajamaki A. Comparison of 123I monoclonal granulocyte antibody and 99Tcm-HMPAO-labelled leucocytes in the detection of inflammation. *Nucl Med Commun.* 1988; 9: 623-629.
94. Becker W, Borst U, Fischbach W, Pasurka B, Schäfer R, Börner W. Kinetic data of in-vivo labeled granulocytes in humans with a murine Tc-99m-labeled monoclonal antibody. *Eur J Nucl Med.* 1989; 15: 361-366.
95. Munz DL. Reflections on the mechanisms of targeting bone marrow, spleen, and inflammatory foci with radiolabelled monoclonal anti-NCA-95 antibodies. *Nuc Compact.* 1990; 21: 90-91.
96. Zimmerli W, Waldvogel FA, Vaudaux P, Nydegger UE. Pathogenesis of foreign body infection: description and characteristics of an animal model. *J Infect Dis.* 1982; 146: 486-497.
97. Maderazo EG, Judson S, Pasternak H. Late infections of total joint prostheses: a review and recommendations for prevention. *Clin Orthop.* 1988; 229: 131-142.
98. Steckelberg JM, Osmon DR. Prosthetic joint infections. Hrsg.: Bisno AL, Waldvogel FA: Infections associated with indwelling medical devices. 2 Washington, American Society for Microbiology, 1994, 259-290.
99. Bengtson S, Knutson K. The infected knee arthroplasty. *Acta Orthop Scand.* 1991; 62: 301-311.
100. Gill GS, Mills DM. Long term follow-up evaluationa of 1000 consecutive cemented total knee arthrolplasties. *Clin Orthop.* 1991; 273: 66-76.
101. Rand JA, Bryan RS. ^Reimplantation for the salvage of an infected knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1983; 65: 1081-1086.
102. Canner GC, Steinberg ME, Heppenstall RB, Balderston R. The infected hip after total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 1984; 66: 1393-1399.
103. Cuckler JM, Star AM, Alavi A, Noto RB. Diagnosis and management of the infected total joint arthroplasty. *Orthop Clin North Am.* 1991; 22: 523-529.

104. Sanzén L, Sundberg M. Periprosthetic low-grade hip infections. *Acta Orthop Scand*. 1997; 68: 461-465.
105. Weissman BN. The radiology of total joint replacement. *Orthop Clin North Am*. 1983; 14: 171-191.
106. Schauwecker DS, Park HM, Mock BH, Kernick CB, Ruoff AC 3rd, Sinn HJ, Wellman HN. Evaluation of complicating osteomyelitis with Tc-99m MDP, In-111 granulocytes and Ga-67 citrate. *J Nucl Med*. 1984; 25: 849-853.
107. Wilde AH. Management of infected knee and hip prostheses. *Curr Opin Rheumatol*. 1993; 5: 317-321.
108. Roberts P, Walters AJ, McMinn DJ. Diagnosing infection in hip replacements. The use of fine-needle aspiration and radiometric culture. *J Bone Joint Surg Br*. 1992; 74: 265-269.
109. Lachiewicz PF, Rogers GD, Thomason HC. Aspiration of the hip joint before revision total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 1996; 78: 749-754.
110. Athanasou NA, Pandey R, De Steiger R, Crook D, Smith PM. Diagnosis of infection by frozen section during revision arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br*. 1995; 77: 28-33.
111. Fitzgerald RH. Total hip arthroplasty sepsis prevention and diagnosis. *Orthop Clin North Am*. 1992; 182: 195-199.
112. Zimmerli W. The role of antimicrobial agents in the management of infected arthroplasties. *Orthopäde*. 1995; 24: 308-313.
113. Vaudaux PE, Zulian G, Huggler E, Waldvogel FA. Attachment of staphylococcus aureus to polymethylmethacrylate increases its resistance to phagocytosis in foreign body infection. *Infect Immun*. 1985; 50: 472-477.
114. Vogely HC. Infections in orthopaedic surgery: clinical and experimental studies. Proefschrift Universiteit Utrecht, <http://pablo.ubu.ruu.nl/~proefschrift/gnk.html>, 2000,
115. Al-Sheikh W, Sfakianakis GN, Mnyamneh W, Hourani M, Heal A, Duncan RC, Burnett A, Ashkar FS, Serafini AN. Subacute and chronic infections: diagnosis using In-111, Ga-67 and Tc-99m MDP bone scintigraphy, and radiography. *Radiology*. 1985; 155: 501-506.

116. Merkel KD, Brown ML, Dewanjee MK, Fitzgerald RH. Comparison of indium-labeled-leukocyte imaging with sequential technetium-gallium scanning in the diagnosis of low-grade musculoskeletal sepsis. *J Bone Joint Surg Br.* 1985; 67: 465-476.
117. Ivancevic V, Dodig D, Livakovic M, Hancevic J, Ivancevic D. Comparison of three-phase bone scan, three-phase 99m-Tc-HM-PAO leukocyte scan and 67-gallium scan in chronic bone infection. *Prog Clin Biol Res.* 1990; 355: 189-198.
118. Glithero PR, Grigoris P, Harding LK, Hesslewood SR, McMinn DJ. White cell scans and infected joint replacement. Failure to detect chronic infection. *J Bone Joint Surg Br.* 1993; 75: 371-374.
119. Devillers A, Moisan A, Jean S, Arvieux C, Bourguet P. Technetium-99m hexamethylpropylene amine oxime leukocyte scintigraphy for the diagnosis of bone and joint infections: a retrospective study in 116 patients. *Eur J Nucl Med.* 1995; 22: 302-307.
120. el Esper I, Dacquet V, Paillard J, Bascoulergue G, Tahon MM, Fonroget J. 99Tcm-HMPAO-labelled leukocyte scintigraphy in suspected chronic osteomyelitis related to an orthopaedic device: clinical usefulness. *Nucl Med Commun.* 1992; 13: 799-805.
121. Oyen WJG, van Horn JR, Claessens RAMJ, Sloof TJJH, van der Meer JWM, Corstens FHM. Diagnosis of bone, joint and joint prosthesis infections with In-111 labeled nonspecific human immunoglobulin G scintigraphy. *Radiology.* 1992; 182: 195-199.
122. Sciuk J, Brandau W, Vollet B, Stucker R, Erlemann R, Bartenstein P, Peters PE, Schober O. Comparison of technetium 99m polyclonal human immunoglobulin and technetium 99m monoclonal antibodies for imaging chronic osteomyelitis. First clinical results. *Eur J Nucl Med.* 1991; 18: 401-407.
123. Guhlmann A, Brecht-Krauss D, Suger G, Glatting G, Kotzerke J, Kinzl L, Reske SN. Fluorine-18-FDG PET and technetium-99m antigranulocyte antibody scintigraphy in chronic osteomyelitis. *J Nucl Med.* 1998; 39: 2145-2152.
124. Kalicke T, Schmitz A, Risse JH, Arens S, Keller E, Hansis E, Schmitt O, Biersack HJ, Grünwald F. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose PET in infectious bone disease: results of histologically confirmed cases. *Eur J Nucl Med.* 2000; 27: 524-528.

125. Zhuang H, duarte PS, Pourdehand M, Shnier D, Alavi A. Exclusion of chronic osteomyelitis with F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomographic imaging. *Clin Nucl Med.* 2000; 25: 281-284.
126. Moore SG, Dawson KL. Red and yellow marrow in the femur: age-related changes in appearance at MR imaging. *Radiology.* 1990; 175: 219-223.
127. Lahtinen T, Alhava EM, Karjalainen P, Romppanen T. The effect of age on blood flow in the proximal femur in man. *J Nucl Med.* 1981; 22: 966-972.
128. Bathmann J, Brugger W, Ullrich C, Mertelsmann R, Moser E. Radioimmune imaging of bone marrow in patients with plasmocytoma. *Nuklearmedizin.* 1995; 34: 66-70.
129. Chung JK, Yeo J, Lee DS, Park S, Lee MC, Kim BK, Koh CS. Bone marrow scintigraphy using technetium-99m-antigranulocyte antibody in hematologic disorders. *J Nucl Med.* 1996; 37: 978-982.
130. Munz DL. Bone marrow imaging: basic concepts and clinical results. *Nuklearmediziner.* 1984; 7: 251-268.
131. Munz DL. The scintigraphic bone marrow status in adult man: a new classification. Hrsg.: Schmidt HAE, Adam WE: *Nuklearmedizin: Darstellung von Metabolismen und Organ-Funktionen.* Stuttgart New York, Schattauer, 1987, 640-644.
132. Reske SN, Karstens JH, Gloeckner W, Steinsträsser A, Schwarz A, Ammon J, Büll U. Radioimmunoimaging for diagnosis of bone marrow involvement in breast cancer and malignant lymphoma. *Lancet.* 1989; 1: 299-301.
133. Munz DL, Sandrock D, Rilinger N. Comparison of immunoscintigraphy and colloid scintigraphy of bone marrow (Letter). *Lancet.* 1990; 1: 258-259.
134. Reske SN. Recent advances in bone marrow scanning. *Eur J Nucl Med.* 1991; 18: 203-221.
135. Munz DL. Bone marrow scanning. Principles, clinical results and indications. *Radiologe.* 1992; 32: 485-494.
136. Jamar F, Field C, Leners N, Ferrant A. Scintigraphic evaluation of the hemopoietic bone marrow using Tc-99m-anti-granulocyte antibody: a validation study with Fe-52. *Br J Haematol.* 1995; 90: 22-30.

137. Kuroki M, Yamanaka T, Matsuo Y, Ohtani T, Matsuo Y, Minowada J, Misumi Y, Oikawa S, Nakazato H, Matsuoka Y. Characterization of a species of non-specific cross-reacting antigen (NCA) expressed by human monocytic cell lines: structure and expression during cell differentiation. *Int J Cancer*. 1994; *15*: 886-891.

## Zusammenfassung

Die vorliegende Habilitationsschrift faßt publizierte Ergebnisse zum Themenschwerpunkt der Immunszintigraphie mit Antigranulozyten-Antikörpern bzw. Antikörperfragmenten zur Entzündungsdiagnostik bei Problemindikationen und zur Knochenmarkszintigraphie zusammen.

In der Diagnostik der subakuten Endokarditis und der Prothesenendokarditis ermöglichen Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper und die transösophageale Echokardiographie zusammen einen zuverlässigen Entzündungsnachweis auch bei denjenigen Patienten, bei denen jeweils eine der beiden Methoden versagt.

Bei Patienten mit Fieber unbekannter Genese ist die Immunszintigraphie der Sonographie und dem CT im frühen Nachweis abdomineller Abszesse überlegen. Bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen stellt der szintigraphische Ausschluß entzündlicher Herde eine wichtige Information auf dem Weg zur Diagnose einer seronegativen Autoimmunerkrankung dar. Schließlich erlaubt die Immunszintigraphie mit differenzierter Betrachtung photopenischer Läsionen im hämopoetisch aktiven Knochenmark bei Patienten mit einer metastasierenden neoplastischen Erkrankung als Fieberursache einen frühen Nachweis maligner Knochenmarkherde.

Für die Diagnostik entzündlicher Darmerkrankungen sind die immunszintigraphischen Verfahren mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper und mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment wegen bei beiden Methoden vorliegender unspezifischer Darmaktivität und fallweise beobachteter, falsch negativer Ergebnisse nicht geeignet.

Bei Patienten mit Low-grade-Entzündungen der Knochen und Gelenke und vorangegangenen Gelenkoperationen weist die Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment eine überaus hohe Sensitivität, jedoch geringe Spezifität auf. Der klinische Nutzen dieser Immunszintigraphie könnte im Nachweis oder Ausschluß einer Low-grade-Entzündung im untersuchten Gelenk bei Patienten mit rheumatoider Arthritis oder anderen, zeitgleich vorliegenden Entzündungen außerhalb des Gelenkes liegen.

In der Knochenmarkdiagnostik mittels der Immunszintigraphie mit dem NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper wurde eine hoch signifikante inverse Korrelation des Uptake-Index mit dem Alter der Probanden festgestellt. Bei Patienten mit Panzytopenie war der

Uptake-Index im Vergleich zum altersentsprechenden Normalkollektiv signifikant erniedrigt und wies eine hohe Trennschärfe gegenüber dem Normalbereich auf. Als Alternative zum NCA-95-Antigranulozyten-Antikörper untersuchten wir die Immunszintigraphie mit dem NCA-90-Antigranulozyten-Antikörper-Fab'-Fragment in der Knochenmarkdiagnostik. Das Verfahren gestattet jedoch nur eine qualitative, unvollständige Darstellung einiger Areale hämopoetisch aktiven Knochenmarks, während der Fab'-Knochenmark-Uptake-Index für die klinische Anwendung nicht brauchbar ist.

**Schlagworte:** Immunszintigraphie, Antigranulozyten-Antikörper, Entzündung, Knochenmark

### **Abstract**

The present habilitation thesis summarises the author's own published results on the thematic focus of immunoscintigraphy using antigranulocyte antibodies or antibody fragments for diagnosing infection in problematic indications and for bone marrow scintigraphy.

In diagnosing subacute infective endocarditis and prosthetic valve endocarditis the combined application of both immunoscintigraphy using the NCA-95-antigranulocyte antibodies and transesophageal echocardiography reliably proves infection even in patients with negative results in one of the methods applied.

In patients with fever of unknown origin immunoscintigraphy is superior to both sonography and CT in the early detection of abdominal abscesses. In patients suffering from autoimmune diseases the scintigraphic exclusion of infection is an important step towards verifying a serologically negative autoimmune disease. Finally, immunoscintigraphy with differentiated analysis of photopenic lesions in the haemopoietically active bone marrow allows an early detection of malignant marrow involvement in patients with metastasising neoplastic disease. Immunoscintigraphy with either NCA-95-antigranulocyte antibodies or NCA-90-antigranulocyte antibody Fab'-fragments is not suitable for diagnosing inflammatory bowel disease because of nonspecific bowel activity encountered in either method and because of falsely negative results observed occasionally.

In patients with low-grade bone-and-joint infection and previous joint surgery immunoscintigraphy using the NCA-90-antigranulocyte antibody Fab'-fragment is highly sensitive but lacks specificity. The clinical benefit of this method might consist of proving or excluding low-grade infection in the investigated joint in patients suffering from rheumatoid arthritis or other, contemporaneous inflammation outside of the joint under investigation. In investigating bone marrow diseases with the help of immunoscintigraphy using NCA-95-antigranulocyte-antibodies a highly significant inverse correlation of the uptake index with patient age was observed. In patients with pancytopenia the uptake index was significantly lower than in an age-matched normal group and displayed a clear-cut differentiation from the normal uptake range. The NCA-90-antigranulocyte antibody Fab'-fragment was investigated as an alternative to the NCA-95-antigranulocyte-antibody in diagnosing bone marrow disease. However, this method allows just a qualitative, incomplete evaluation of certain bone marrow regions, while the Fab' uptake index is not suitable for clinical use.

**Keywords:** immunoscintigraphy, antigranulocyte antibodies, infection, bone marrow

**Abkürzungen**

CDAI	-	Crohn's disease activity index
FDG	-	Fluordesoxyglukose
FUO	-	fever of unknown origin
HAMA	-	human anti-mouse antibodies
HIG	-	human immunoglobulin
HMPAO	-	Hexamethyl-Propylen-Amin-Oxim
IBD	-	inflammatory bowel disease
NCA	-	non-specific cross-reacting antigen
PET	-	Positronen-Emissions-Tomographie
SPECT	-	single-photon emission computed tomography

## Danksagung

Meinem langjährigen nuklearmedizinischen Lehrer, Herrn Univ.-Prof. Dr. D.L. Munz bin ich für seine uneingeschränkte Unterstützung, aktive Mitarbeit und sein großes Interesse am Verlauf der Projekte zu großem Dank verpflichtet. Ohne seine hervorragende Hilfe und Erfahrung wäre die Durchführung der Untersuchungen nicht möglich gewesen.

Ich danke allen Koautoren aus den beteiligten Arbeitsgruppen in Zagreb, Göttingen und Berlin. Die ausgezeichnete Zusammenarbeit der verschiedenen Arbeitsgruppen war Voraussetzung für das Gelingen der jeweiligen Projekte und bekräftigt einmal mehr, daß insbesondere erfolgreiche klinische Untersuchungen einer gut funktionierenden Teamarbeit bedürfen. Dies gilt insbesondere für die Nuklearmedizin als wahrhaft interdisziplinäres Fachgebiet.

Allen meinen nuklearmedizinischen Kollegen, den Physikern und Chemikern aus der Abteilung Nuklearmedizin der Georg-August-Universität Göttingen und der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Charité danke ich herzlich für die mir entgegengebrachte Kollegialität und das Verständnis.

Mein besonderer Dank gilt allen Assistentinnen und Assistenten, Schwestern und übrigen Mitarbeitern beider Kliniken. Die große Hilfsbereitschaft, auch über die Anforderungen des öffentlichen Dienstes hinaus und die guten zwischenmenschlichen Beziehungen haben entscheidend und motivierend zum Abschluß der Projekte beigetragen.

**Eidesstattliche Versicherung**

gemäß Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, daß

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- dem Bewerber die geltende Habilitationsordnung bekannt ist,

.....

Datum

.....

Unterschrift

**Eigene Publikationen**