

Kvantitatiivinen PET-tutkimus kokeellisen osteomyeliitin kuvantamisessa

Jyri K. Koort, Tatu J. Mäkinen, Juhani Knuuti, Pentti Huovinen ja Hannu T. Aro

Kirurgian klinikka ja PET-keskus, Turun yliopisto, TYKS ja Kansanterveyslaitos

Positron emission tomography (PET) using F-18 fluorodeoxyglucose (FDG) is a promising new imaging modality for bone infections. The method is based on intensive cellular use of glucose during infection. The aim of the current study was to establish the FDG-PET characteristics of normal bone healing and bone infection under standardized conditions. A modified osteomyelitis model of Mader and Fitzgerald was applied in the rabbit (n=12). A metaphyseal defect of the proximal tibia was filled with bone cement. A predetermined amount (0.1 ml) of *Staphylococcus aureus* (strain 52/52A/80, 1×10^5 /ml) suspension was injected into the defect. The control animals received an equal saline injection without bacteria. Bone cement was removed from each animal at 2 weeks. During the follow-up, FDG-PET and pQCT were performed at 3 weeks and 6 weeks. Osteomyelitis was confirmed with bacterial cultures at the time of cement removal and again at sacrifice at 6 weeks. Compared with the contralateral intact tibia, control defects healing without infection showed an increased uptake ($p=0.019$) at 3 weeks but their FDG-PET tended to normalize within 6 weeks. In the osteomyelitis group, the uptake did not decrease over time and was significantly ($p<0.001$) increased both at 3 weeks and at 6 weeks compared with intact bone uptake. The uptake of the infected region was also significantly higher than that of non-infected control defects. Standardized osteomyelitis of the current model was shown to result in an intense continuous FDG-PET activation, which is higher than the transient response of a healing bone defect.

Huolimatta tutkimusmenetelmien kehittymisestä luuinfektioiden diagnostiikka on edelleen vaikeaa. Noninvasiivisessa diagnostiikassa käytetään magneettitutkimusta, tulehduspesäkkeen ja luuston gammakuvausta. Magneettitutkimuksella on katsottu olevan lukuisia etuja muihin kuvantamismenetelmiin nähden. Infektion aktiiviteetin, ja toisaalta hoitovasteen arviointi, on kuitenkin ongelmallista jopa magneettitutkimuksella. Perusdiagnostiikan tärkeimpiä osia on kudosiopsia ja kudosiselityksen otto ennen hoidon aloitusta. Nämä ovat tarpeen bakteeri-infektiodiagnoosin ja antibiootin oikean valinnan varmistamiseksi.

Alustavat kliiniset tutkimukset ovat osoittaneet, että PET-tutkimus (positroniemissiotomografia) voi olla hyvin sensitiivinen infektioiden diagnostiikassa (97-100 %)(1-5). Tutkimuksen spesifisyys on ollut hyvä (87.5-95 %) osteomyeliitin diagnostiikassa (3,7-8). Sen sijaan proteesi-infektioissa PET-tutkimuksen spesifisyys on jäänyt alhaisemmaksi (55 %) (2), vaikka metallivierasesineet (proteesit) eivät häiritse PET-kuvausta.

Fluorodeoksiglukosi (FDG) on osoittautunut hyväksi PET-tutkimuksen merkkiaineeksi infektioiden diagnostiikassa. FDG-PET-tutkimus perustuu aktivoituneiden leukosyyttien korkeaan

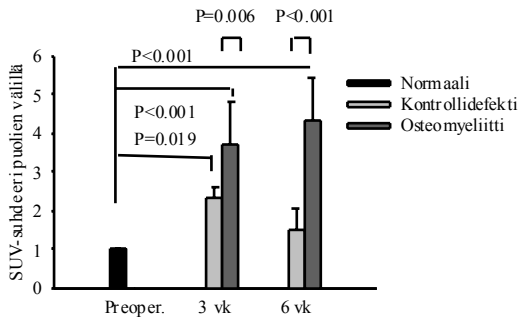
glukoosin kulutukseen (6, 7-11). Tyypillisesti kuvannetaan koko keho PET-tekniikalla, jolloin tuloksena on kolmiulotteinen koko kehon leikkokuvaus. Tämä mahdollistaa tuntemattomien infektiotokusten löytymisen (13). Terveessä luussa ja normaalissa luuytimessä on alhainen merkkiaineen kertyminen.

FDG-merkkiaineen käyttöön perustuva PET-tutkimus on osoittautunut lupaavaksi menetelmäksi erityisesti kroonisen osteomyeliitin diagnostiikassa ja hoitovasteen arvioinnissa (3-4). FDG-PET on osoittautunut selkeästi paremmaksi kuin leimatujen vasta-aineiden käyttöön perustuva tulehduspesäkkeen gammakuvaus (4). Menetelmä mahdollistaa luuinfektion ja ympäröivän pehmytkudosinfektion erotusdiagnostiikan (12).

PET-menetelmällä on omat rajoituksensa infektioiden diagnostiikassa. Tiedetään, että heti leikkauksen jälkeen tehtynä PET-kuvauksen aktiiviteetti voi olla ainoastaan leikkauksesta johtuvaa (12). Suurimpana vaikeutena on erottaa pahanlaatuisen kasvain osteomyeliitistä. Tässä erotusdiagnostiikassa auttaa PET-kuvauksen ja magneettitutkimuksen löydösten vertailu (6).

Mitattu aktiivisuus (kBq/kg) antaa kuvan FDG-merkkiaineen kerääntymisestä eri kudoksiin. Tämän lisäksi lasketaan suhteellinen puoliero affi-

soituneen luualueen ja vastaavan kontralateraaliluun FDG-kertymäsuhteesta. Kliinisessä pilottitutkimuksemme puoliero osoittautui varsin luupaavaksi mittaasmenetelmäksi (14).

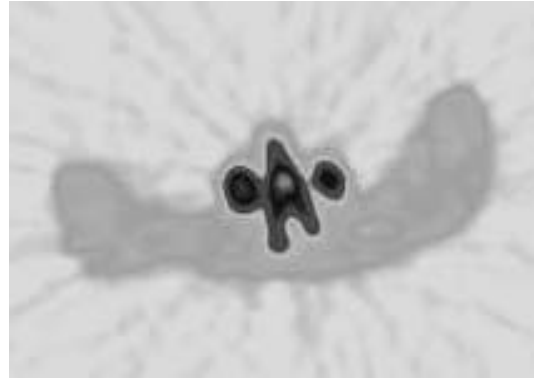


Kuva 1. FDG-PET aktiivisuus normaaleille luulle, paranevalle luudefektille ja osteomyeliittialueelle. Arvot ovat keskiarvoja \pm keskihajonta SUV arvoille intaktin ja leikatun luualueen parivertailussa.

Aineisto ja menetelmät

Kokeellinen osteomyeliittimalli oli yhdistelty ja modifioitu malli, joka perustui Maderin kaniinimalliin (15) ja Fitzgeraldin koiramalliin (16). Leikkaus suoritettiin 12 aikuiselle uroskaniinille (New Zealand white) (painojakauma 2470g-3660g) käyttäen atropiini + fentanyylifluanisoni (Hypnom®) anestesiaa. Luudefekti tehtiin poraamalla kortikaalinen luuikkuna 6 mm \times 2.3 mm tibian proksimaaliseen metafysiin mediaalisesti. Luuydin poistettiin alueelta huuhtelemalla keittosuolaliuoksella. Luupuutos täytettiin luusementillä (Palacos® R-40, Schering-Plough Europe), jossa ei ollut antibioottia valmistetulla vierasesineellä sisältävä keittosuolaliuos valmistettiin. Luukalvo ja lihaskalvot suljettiin defektin päälle, minkä jälkeen ruiskutettiin 0,1 ml bakteeriliuosta (*Staphylococcus aureus*, kanta 52/52A/80, liuoskonsentraatio 1×10^5 /ml) luudefektiin luusementin (vierasesineen) viereen. Tämän jälkeen iho suljettiin kerroksittain. Leikkaus suoritettiin oikeaan tibiaan, jolloin leikkauksen intakti vasen tibia toimi kontrollina. Leikkauksen kaniinien liikkumista ei rajoitettu. Kipulääkkeenä käytettiin karpofeenia. Vierasesineinfektion annettiin kehittyä kahden viikon ajan, jonka jälkeen toisessa leikkauksessa luusementti poistettiin. Osteomyeliitti varmistettiin vierasesineen poistoleikkauksessa ja 6 viikkoa myöhemmin seurannan päättyessä kudokset otettiin yhteydessä bakteeriviljelynäyttein.

Neljä eläintä kuvattiin ennen leikkausta FDG-PET-kuvauksen standardisoimiseksi. Samalla varmistettiin, ettei eläimillä ollut puoliero tibioiden välillä ennen leikkausta. Vertailututkimuksessa oli 8 kontrollieläintä, joille käytettiin lumeliuosta bakteerisuspension tilalla. Neljälle kaniinille aiheutettiin kokeellinen osteomyeliitti.



Kuva 2. FDG-PET-tutkimus kaniinin jalasta 6viikon kohdalla. Kaniini, jolla kontrollidefekti on parantunut hyvin ei ole eroja jalkojen välillä (A), kun taas aktiivisessa infektiossa on korkea paikallinen aktiivisuus (B).

Eläimet kuvattiin FDG-PET-menetelmällä anestesiassa 3 ja 6 viikon kuluttua vierasesineen poistoleikkauksesta. Luudefekti kuvattiin samaan aikaan myös kvantitatiivisella mikrotietokonekuvauksella (pQCT, Norland Stratec) osteomyeliitin aiheuttamien muutosten ja uudisluunkasvun mittaamiseksi. PET-tutkimuksessa käytetty FDG määrä oli 85-105 MBq. FDG annettiin korvan keskusvaltimeen. Kuvauksen suoritettiin 40 minuutin kuluttua injektion annosta käyttäen 20 minuutin dynaamista kuvausta yhdistettynä 5 minuutin transmissiokuvaukseen. FDG kertymän normalisoimiseksi laskettiin jokaiselle potilaalle luun affisioalueen SUV-arvo

(standardized uptake value) käyttäen seuraavaa kaavaa: $SUV = \frac{\text{mitattu aktiivisuus (KBq/kg)}}{(\text{injisoitu aktiivisuus (KBq) / kaniinin paino (kg)})}$. FDG-merkkiainetta keräävillä kudoksilla SUV-arvo on yli 1. Tämän lisäksi laskettiin suhteellinen SUV-arvo affisoituneen luualueen ja vastaavan kontra-lateraaliluun FDG-kertymäsuhteesta. FDG-PET mittaukset suoritettiin käyttäen standardia aluetta (ROI, ympyrän säde 3.8 mm) defektin alueella ja vastaavalla alueella vasemmassa tibiassa. Tilastollinen merkitsevyys erolle laskettiin käyttäen parillista t-testiä (paired t-test) ja yksi suuntaista ANOVA:a yhdessä Tukeyn t-testin kanssa (one-way ANOVA with Tukey t-test).

Tulokset

Ennen leikkausta tehdyissä FDG-PET kuvauksissa ei ollut merkittävää puolieroä sääriluiden välillä. Verrattaessa vastapuolen terveeseen sääriluuhun, paranevissa kontrollidefekteissä oli merkittävästi suurempi FDG:n kertyminen ($p=0.019$) 3 viikon kohdalla (Kuva 1). FDG-PET aktiivisuus kuitenkin normalistui 6 viikon seurannan aikana. Kuuden viikon kohdalla tehdyssä FDG-PET kuvauksessa ei enää havaittu merkitsevää eroa paranevan defektin ja intaktin luun välillä (Kuva 1). SUV-arvot vaihtelivat paranevalle kontrollidefektille välillä 0.51-1.21 (keskiarvo 0.75) 3 viikon kohdalla ja välillä 0.30-0.96 (keskiarvo 0.46) 6 viikon kohdalla. SUV-suhteen keskiarvo 3 viikon kohdalla oli 2.35 kohdalla ja 6 viikon kohdalla vain 1.32.

Hoitamattomassa osteomyeliitissä FDG aktiivisuus oli tilastollisesti merkitsevästi lisääntynyt ($p<0.001$) sekä 3 viikon että 6 viikon kohdalla verrattaessa intaktiin luuhun (Kuva 1). Osteomyeliittialueen FDG:n kertyminen oli merkittävästi suurempaa kuin kontrollidefekteissä sekä 3 viikon ($p=0.006$) että 6 viikon ($p<0.001$) kohdalla.

Osteomyeliittialueella ei tapahtunut merkittävää aktiviteetin laskua seurannan aikana, toisin kuin kontrollidefekteissä (Kuva 2).

SUV-arvot osteomyeliittialueelle vaihtelivat välillä 0.83-2.74 (keskiarvo 1.83) 3 viikon ja välillä 0.76-2.20 (keskiarvo 1.21) 6 viikon kohdalla. SUV suhde vaihteli välillä 2.7-5.2 (keskiarvo 3.7) 3 viikon ja välillä 3.2-5.5 (keskiarvo 4.3) 6 viikon kohdalla.

Pohdinta

Tämä tutkimus osoitti että luudefektin normaaliin paranemiseen liittyy merkittävästi suurentunut FDG-PET aktiviteetin nousu. Tämä on kuitenkin ohimenevää ja aktiviteetti normalistuu 6

viikon seurannan aikana. Tässä tutkimuksessa käytettiin standardoitua osteomyeliittimallia, joka aiheutti intensiivisen FDG-merkkiaineen kertymisen infektiotalueelle. Aktiivisuus oli suurempi kuin normaalissa luudefektin paranemisessa ja aktiviteetti ei normaalisti ollut 6 viikon seurannan aikana. Yleensä ottaen puoliero kahden sääriluun välillä oli parempi indikaattori osteomyeliitille kuin pelkät SUV-arvot. Vaikka SUV-arvot olivat poikkeavat osteomyeliitissä, puoliero antoi suhteellisesti pienemmän vaihtelun ja kahden puolen ero oli selkeämin havaittavissa. Tämän tutkimuksen tulokset sopivat kirjallisuudessa esitettyyn käsitykseen PET-tutkimuksen hyödyllisyydestä luuinfektioiden diagnostiikassa.

Kirjallisuutta

1. Stumpe KDM, Dazzi H, Schaffner A, von Schulthess GK: Infection imaging using whole-body FDG-PET. *Eur J Nucl Med* 27:822-32, 2000.
2. Love C, Pugliese PV, Afriyie MO, Tomas MB, Marvin SE, Palestro CJ: Utility of F-18 FDG imaging for diagnosing the infected joint replacement. *Clin Positron Imaging* 3(4):159, 2000.
3. Guhlman A, Brecht-Krauss D, Suger G, Glatting G, Kotzerke J, Kinzl L, Reske SN: Chronic osteomyelitis: detection with FDG PET and correlation with histopathologic findings. *Radiology* 206(3):749-54, 1998.
4. Guhlman 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* 39(12):2145-52, 1998.
5. Sugawara Y, Braun DK, Kison PV, Russo JE, Zasadny KR, Wahl RL: Rapid detection of human infections with fluorine-18 fluorodeoxyglucose and positron emission tomography: preliminary results. *Eur J Nucl Med* 25:1238-43, 1998.
6. Larson SM: Cancer or inflammation? A holy grail for nuclear medicine. *J Nucl Med* 10:1653-55, 1994.
7. Kubota R, Yamada S, Kubota K, Ishiwata K, Tamahashi N, Ido T: Intratumoral distribution of fluorine-18-fluorodeoxyglucose in vivo: high accumulation in macrophages and granulation tissues studied by microautoradiography. *J Nucl Med* 33:1972-80, 1992.
8. Jones HA, Clark RJ, Rhodes CG, Schofield JB, Krausz T, Haslett C: In vivo measurement of neutrophil activity in experimental lung inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 149:1635-9, 1994.

9. Weisdorf DJ, Craddock PR, Jacob HS: Glycogenolysis versus glucose transport in human granulocytes: differential activation in phagocytosis and chemotaxis. *Blood* 60:888-93, 1982.
10. Shearer JD, Amaral JF, Caldwell MD: Glucose metabolism of injured skeletal muscle: the contribution of inflammatory cells. *Circ Shock* 25:131-8, 1988.
11. Cline MJ, Lehrer RI: Phagocytosis by human monocytes. *Blood* 32:423-35, 1968.
12. Källicke T, Schmitz A, Risse JH, Arens S, Keller E, Hansis M, Schmitt O, Biersack HJ, Grünwald F: Fluorine-18 fluorodeoxyglucose PET in infectious bone diseases: results of histologically confirmed cases. *Eur J Nucl Med* 27:524-8, 2000.
13. 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* 25(4):281-4, 2000.
14. Koort JK, Friberg J, Knuuti J, Aro HT: PET-tutkimus osteomyeliitin diagnostiikassa. *SOT* 24(2):323-6, 2001.
15. Mader JT: Animal models of osteomyelitis. *Am J Med* 78(6B):213-217, 1985.
16. Fitzgerald Jr RH: Experimental osteomyelitis: description of a canine model and the role of depot administration of antibiotics in the prevention and treatment of sepsis. *J Bone Joint Surg* 65A (3):371-380, 1983.