

IMPIEGO DELLA SCINTIGRAFIA CON GRANULOCITI AUTOLOGHI IN CHIRURGIA IMPLANTARE

Maria Cristina Sacchi*, Roberto Zoccola**, Alessandro Levis*, Laura Tartuferi*, Marco Bellanda

Azienda Ospedaliera «SS. Antonio e Biagio e C. Arrigo», Alessandria
*U.O.A. Ematologia, Primario dottor A. Levis; **Servizio di Medicina Nucleare

RIASSUNTO: L'indagine scintigrafica con ^{99m}Tc -HMPAO, finalizzata all'individuazione delle patologie infettive e flogistiche, appare di facile e semplice esecuzione fornendo elevati valori di sensibilità e specificità e risultando di particolare utilità nel valutare quanta efficacia abbiano avuto le fasi farmacologiche e chirurgiche di bonifica di un sito osseo infetto, o presunto tale, prima dell'esecuzione delle metodiche implantari.

PAROLE CHIAVE: chirurgia implantare, infezione, leucociti, scintigrafia con leucociti marcati, ^{99m}Tc -HMPAO

SUMMARY: ^{99m}Tc -HMPAO Labeled Leukocytes Scintigraphy in Implant Surgery The evaluation of bony sites that have undergone a bacterial aggression is, for everyone who's going to insert odontoprothetical implants, a source of great worry and, sometimes, of unexpected failures. In this work ^{99m}Tc -HMPAO labeled leukocytes scintigraphy is presented as a diagnostic research able to value how much effectiveness the phases, both pharmacological and surgical, of drainage of a bony site infected or supposed to be, has had. This study, aimed to the individuation of infectious and phlogistic pathologies, seems to be of easy and simple execution, giving high values of sensitivity and specificity.

KEY WORDS: infection, labelled leukocytes scintigraphy

La natura insidiosa dell'infezione può rendere difficile per l'odontoiatra la valutazione dei siti ossei che abbiano subito un'aggressione batterica, particolarmente importante quando ci si appresta a inserire degli impianti¹. Per risolvere questa problematica è necessario effettuare accurate procedure di visualizzazione.

La scintigrafia con leucociti marcati con indio¹¹¹, gallio⁶⁷ citrato e tecnezio^{99m} (tecnezio-99 hexamethylpropylene-amino-oxine = ^{99m}Tc -HMPAO)² rappresenta una metodica utile per l'individuazione di pato-

logie infettive e flogistiche³⁻⁵. La diagnosi effettuata con i leucociti marcati si basa sulla localizzazione dei leucociti all'interno delle aree di sequestro leucocitario focale.

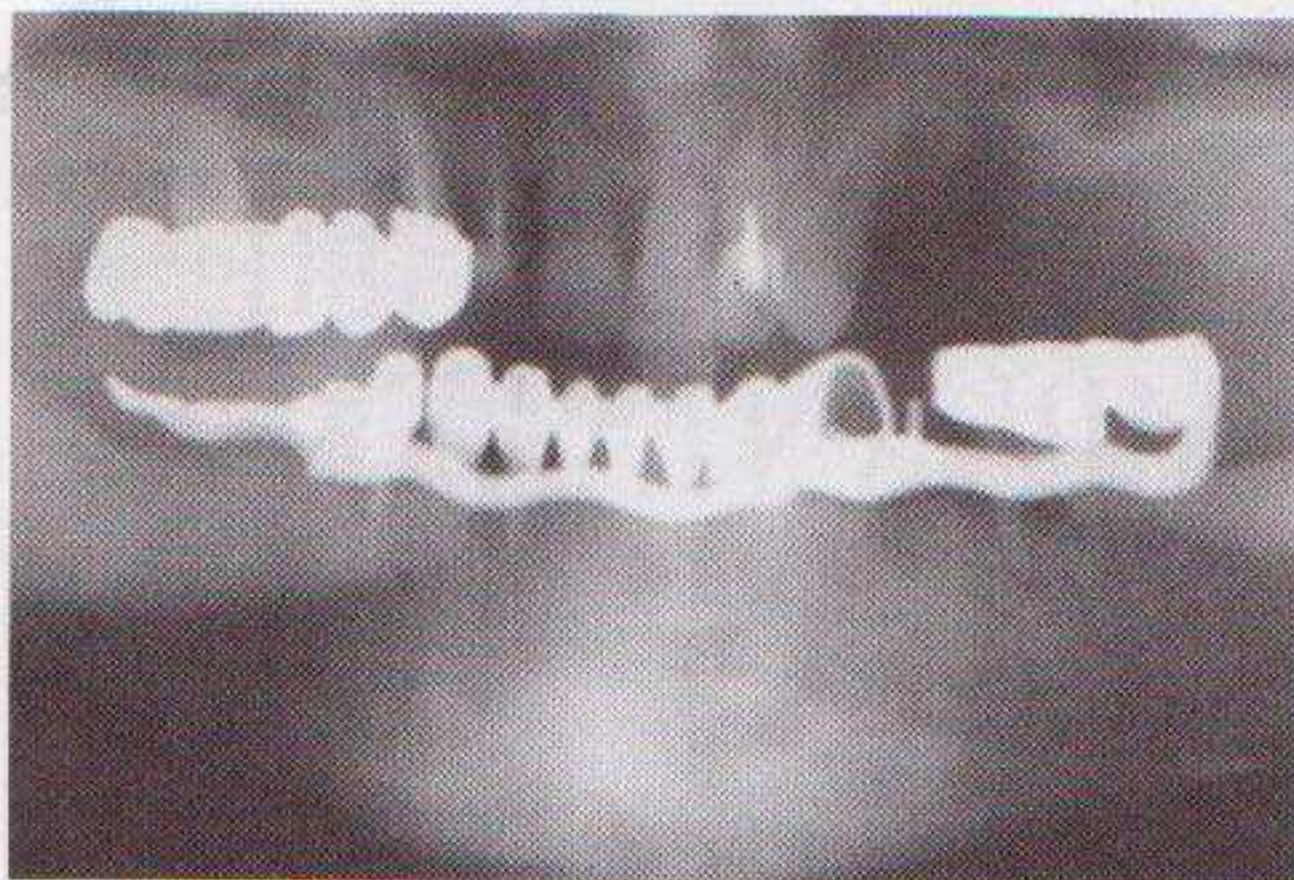
Il tecnezio^{99m} è la sostanza più largamente utilizzata per gli esami scintigrafici. Si adatta perfettamente alla diagnosi clinica per immagini, dato che ha un tempo di dimezzamento breve e un picco fotografico ottimale per le gamma-camere.

I diffusi generatori portatili di radioisotopi di molibdeno permettono di disporre di una fonte cospicua di tecnezio^{99m}, che viene ag-

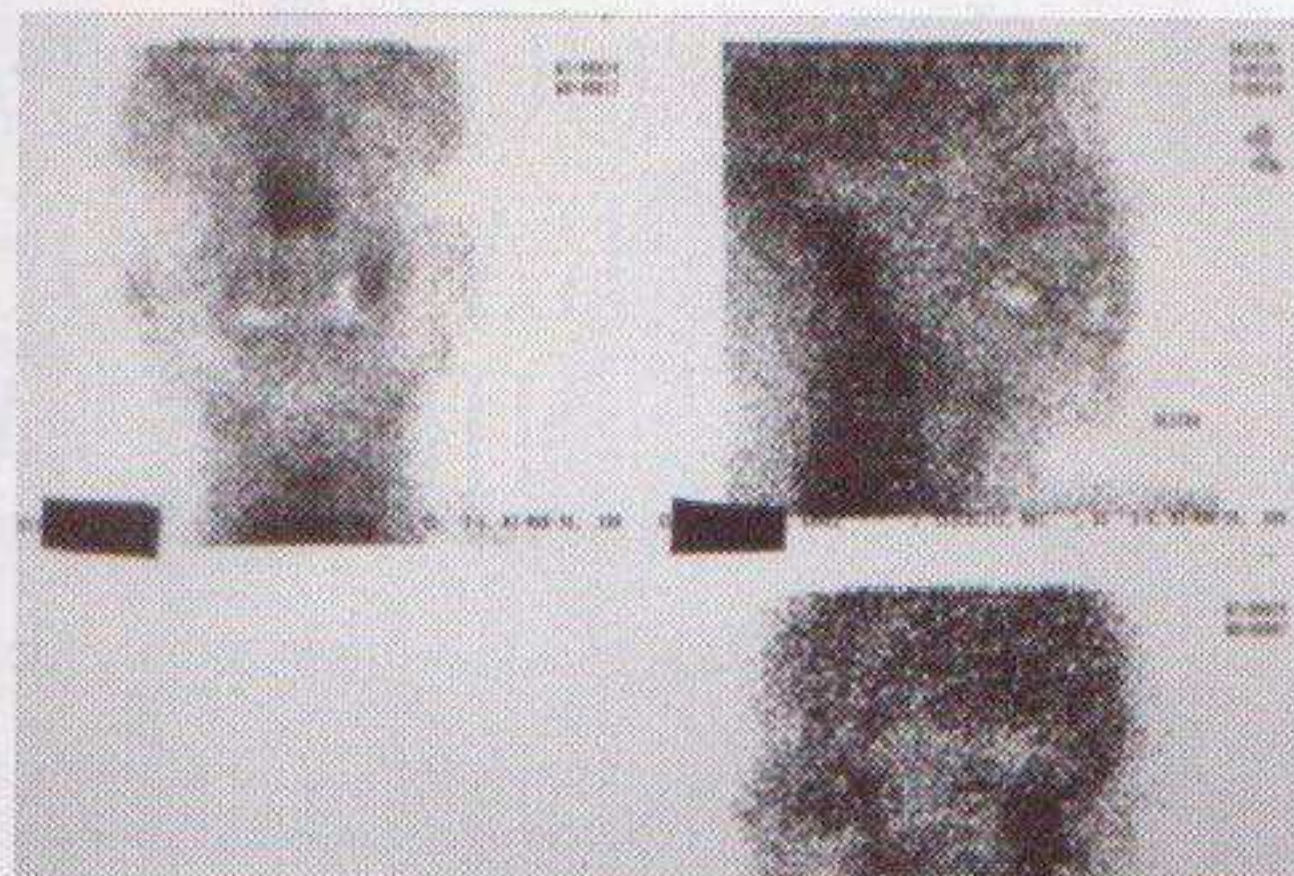
giunto a una fiala di Ceretec per formare una soluzione di ^{99m}Tc -HMPAO in salina isotonica.

Ceretec è il primo radiofarmaco autorizzato per la marcatura dei leucociti con il ^{99m}Tc .

Il complesso ^{99m}Tc -exametazime è una molecola neutra, lipofila, che attraversa le membrane lipidiche cellulari mediante diffusione passiva. Una volta all'interno della cellula, si suppone che il complesso reagisca con il glutatone e resti intrappolato. Studi in vitro hanno dimostrato che la marcatura non è completamente irreversibile e che una picco-



1 OPT: il paziente è stato sottoposto alle estrazioni di 1.4 e 1.5 in vista di una loro sostituzione con impianti. Nonostante un accurato curettage alveolare, la presenza di ripetuti episodi ascessuali all'anamnesi consiglia l'esecuzione della scintigrafia



2 Scintigrafia: l'esame non evidenzia alcun focolaio attivo nella zona interessata. Si procede all'impianto

la porzione di ^{99m}Tc viene eluita dalle cellule marcate².

È stato, inoltre, osservato che la marcatura con Ceretec possiede un minimo effetto sui test di vitalità cellulare per i granulociti così come la chemiotassi e la fagocitosi⁶.

La scintigrafia con leucociti marcati è un'indagine che spiega il naturale comportamento migratorio dei globuli bianchi, allo scopo di riuscire a far luce sulla risposta infiammatoria^{3-5,7}.

I globuli bianchi del paziente (*mixed leucociti*) vengono isolati da un campione di sangue intero e radio-marcati con un isotopo gamma-emittente. Una popolazione di *mixed leucociti* è formata da 3 sottogruppi: granulociti, linfociti e monociti.

La frazione di granulociti è la più consistente, costituendo circa il 70% della miscela. I granulociti sono le cellule principalmente coinvolte nell'infiammazione acuta e, pertanto, di maggior valore nella scintigrafia con leucociti marcati.

I leucociti marcati vengono poi rei-

niettati e la loro distribuzione nel corpo del paziente viene ottenuta con una gamma-camera.

Siti di infezione focale e processi infettivi appaiono così sull'immagine rappresentati come aree di anomalo assorbimento di tracciante.

Nei pazienti con radiografie non chiare si è rivelata molto utile la scintigrafia con leucociti marcati, al fine di identificare i casi non rilevabili radiograficamente⁷, come succede spesso nell'osteomielite.

Le principali indicazioni diagnostiche della scintigrafia con leucociti marcati con ^{99m}Tc -HMPAO possono essere così riassunte:

- localizzazione ed estensione di ascessi, specie in pazienti che presentano febbre post-chirurgica di origine sconosciuta⁸;
- diagnosi differenziale e follow-up di pazienti con morbo di Crohn o colite ulcerosa con valutazione di estensione e attività della malattia^{3,9-11};
- infezioni ortopediche post-chirurgiche specie in pazienti sottoposti a impianto di protesi e osteomieliti¹²;

□ complicanze del diabete (piede diabetico)^{4,13};

□ infezioni di protesi vascolari¹⁴;

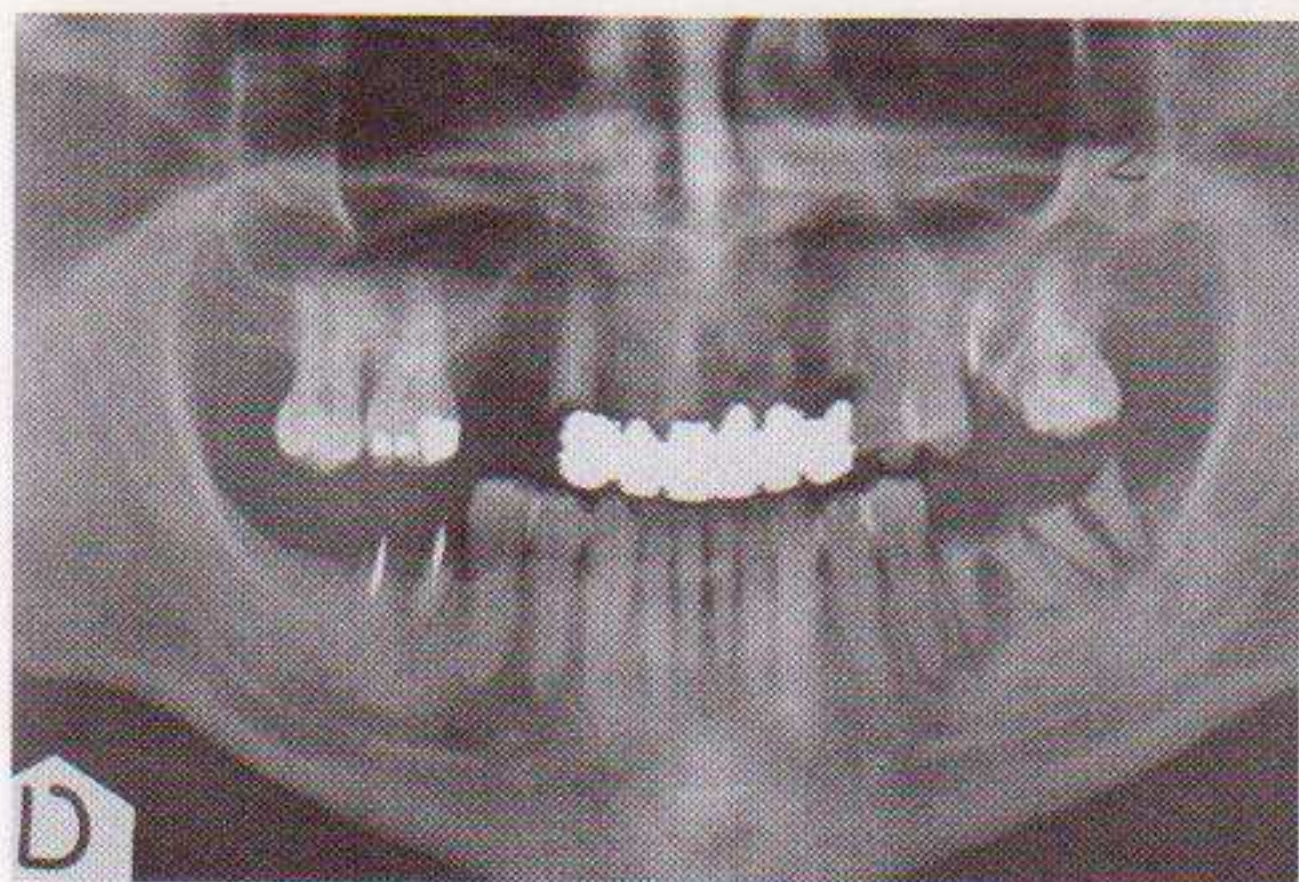
□ infezioni in odontoiatria¹⁵.

In odontoiatria, le sedi post-estrattive di elementi dentali che abbiano subito complicanze batteriche, nonostante la possibile accuratezza del curettage alveolare, costituiscono tuttora, ai fini implantari, un'incognita. I risultati preliminari, ottenuti mediante scintigrafia con granulociti marcati, sembrano evidenziare che tale metodica abbia una elevata sensibilità e specificità per aggiungere certezza alla procedura chirurgica.

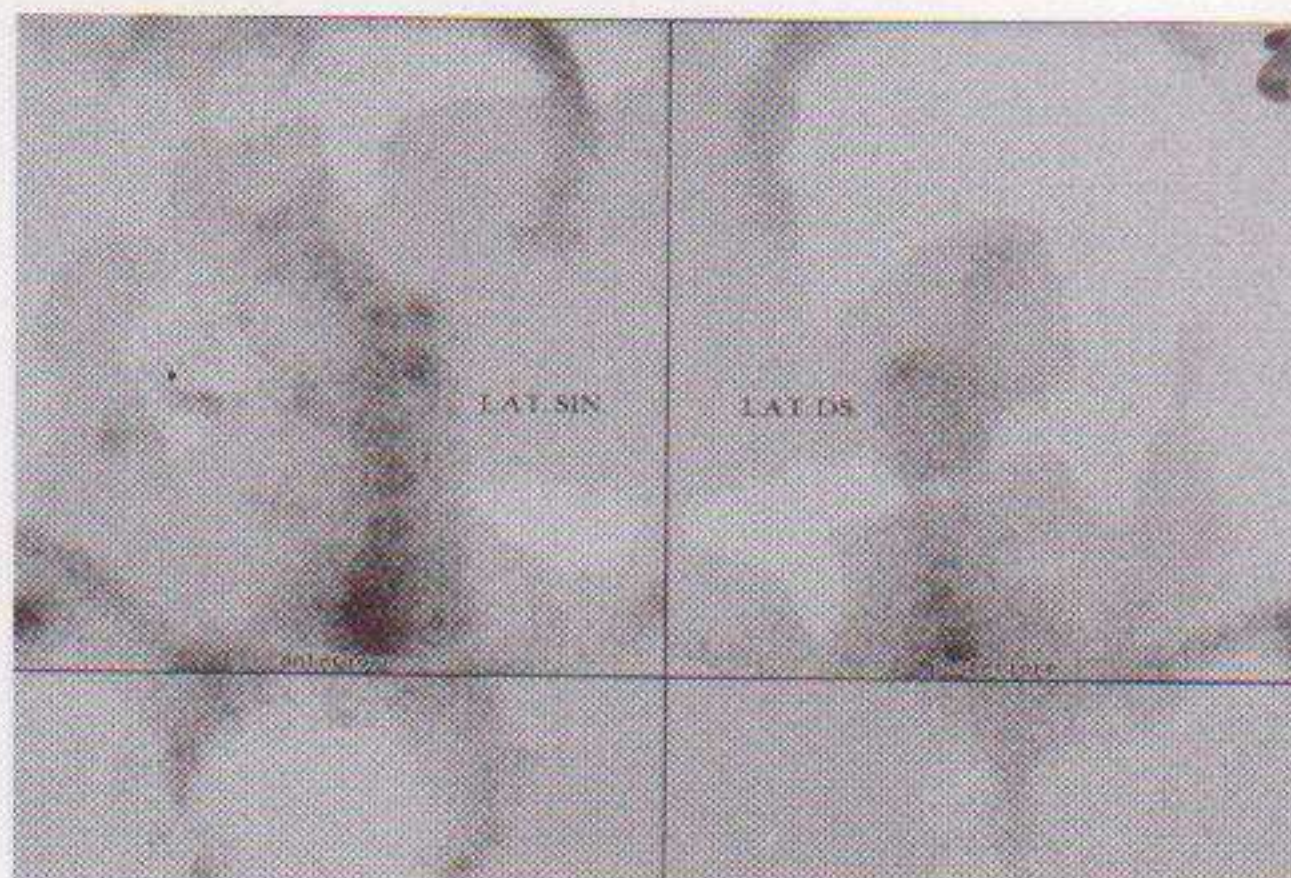
PAZIENTI E METODI

Tra i pazienti da sottoporre a implantologia ne sono stati selezionati 5 che, nella loro anamnesi prossima o remota, denunciavano, a carico dei siti obiettivo della terapia, una possibile aggressione batterica.

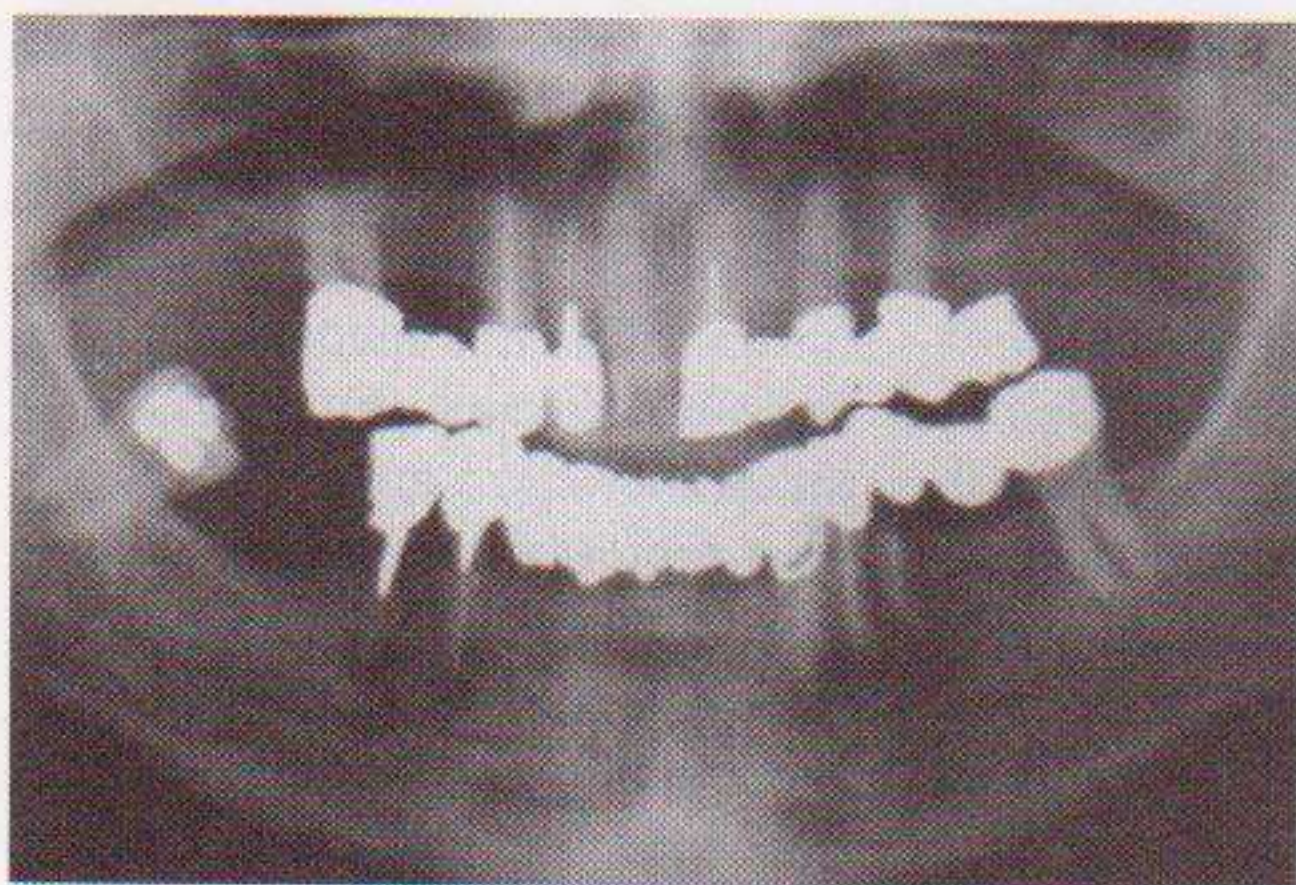
Tali pazienti sono stati sottoposti a



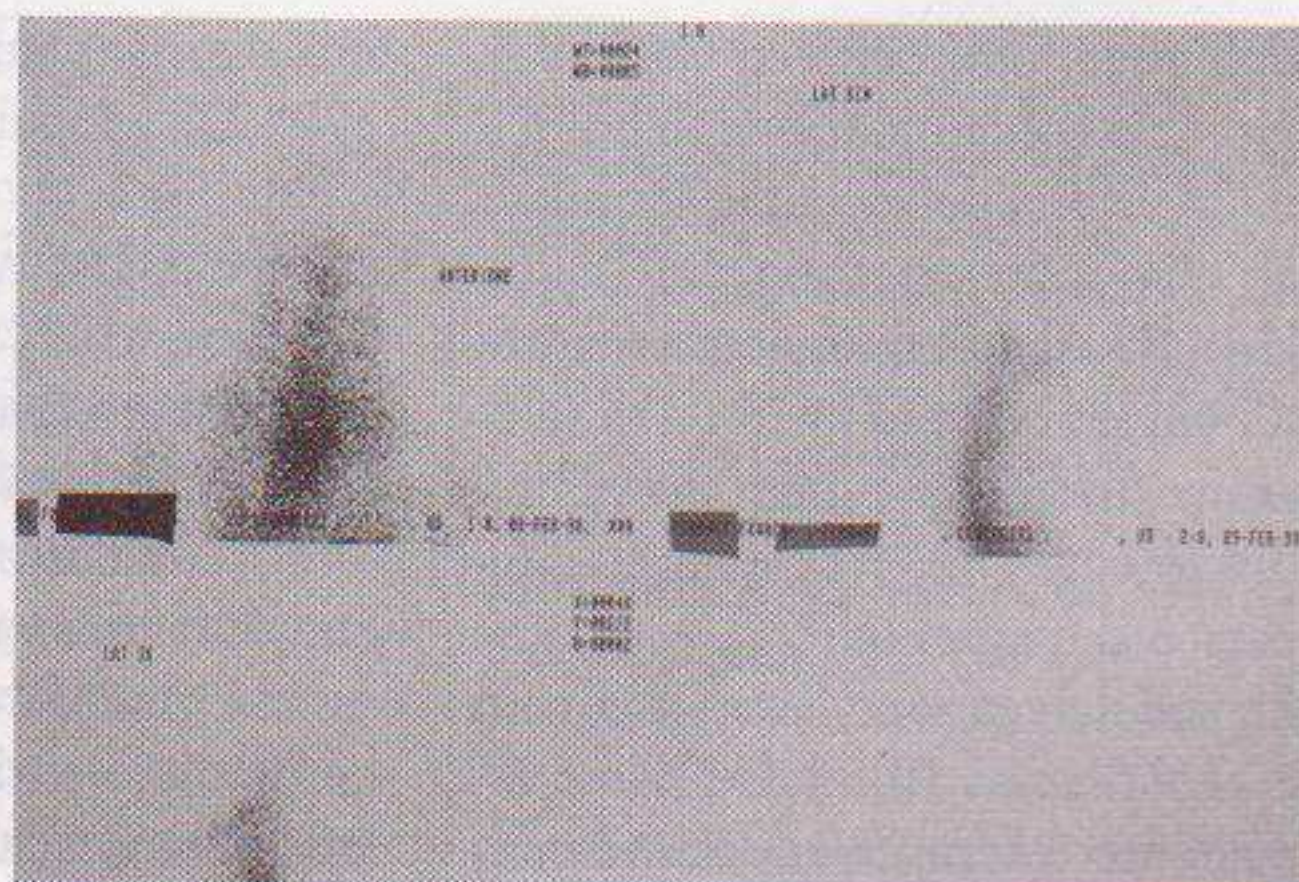
3 OPT: il paziente da molto tempo trascina, con ripetuti episodi acuti, una situazione drammatica. Il settore frontale superiore e le zone 3.6 e 3.7 vengono bonificati; per precauzione si ricorre alla scintigrafia



4 Scintigrafia: l'esame rivela una zona ipercaptante, evidente soprattutto da 1.3 a 2.3. L'intervento implantare viene rimandato



5 OPT: il paziente decide di sottoporsi a restauro implantare dell'arcata inferiore. Vengono estratti gli elementi 4.4, 4.5, 3.3, 3.4 e 3.5 e, data l'ampiezza della soluzione chirurgica prevista, viene consigliata la scintigrafia



6 Scintigrafia: l'indagine non rivela alcuna zona ipercaptante. Si procede con la terapia prevista

scintigrafia con frazioni granulocitarie marcate con ^{99m}Tc -HMPAO (Ceretec-Amersham International, Little Chalfont, Buckinghamshire, Gran Bretagna) (figure 1-10).

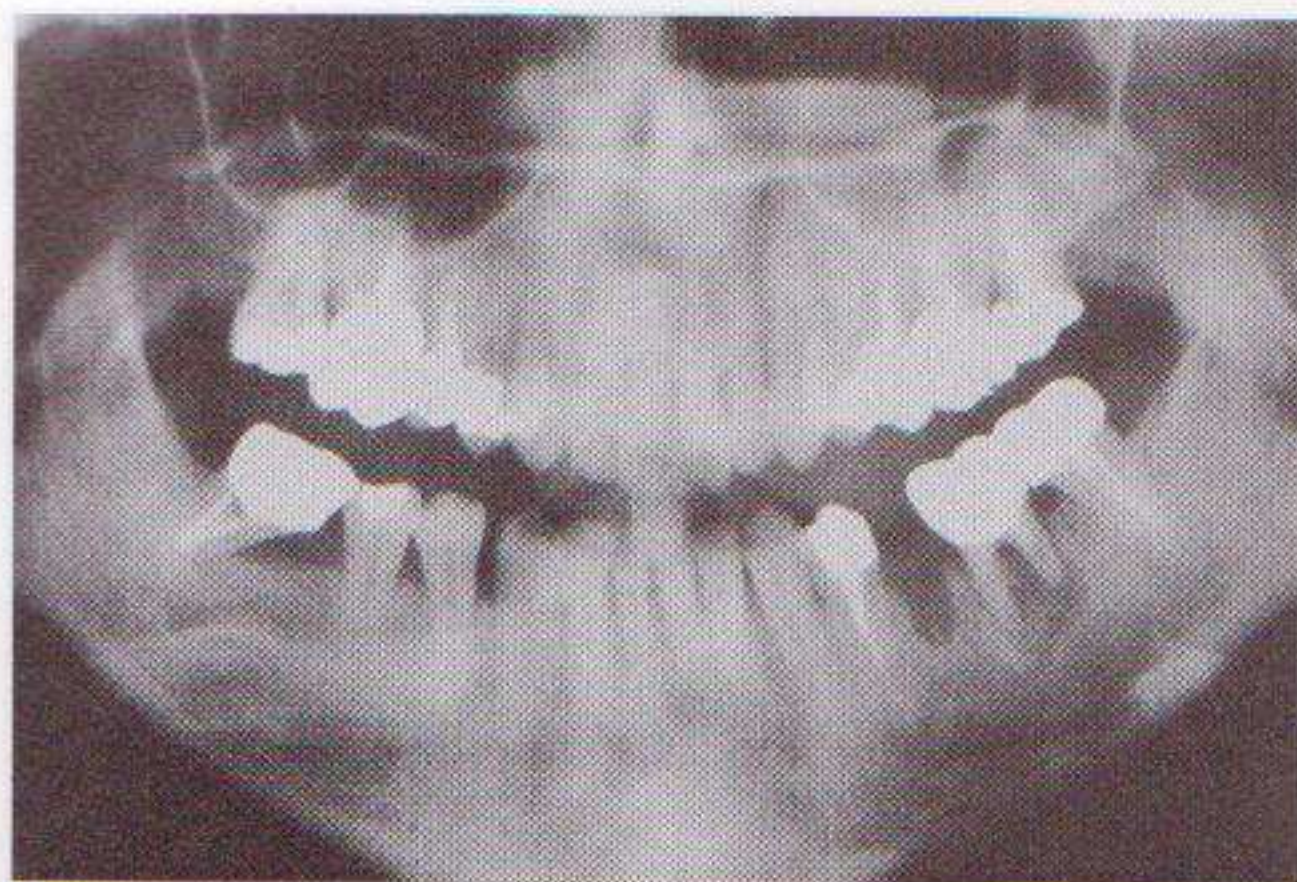
SCINTIGRAFIA CON GRANULOCITI NEUTROFILI MARCATI

A partire da un prelievo di 60 ml di sangue venoso, raccolto in 12 ml di

acido citrico destrosio (ACD) (Byk Gulden, Italia), vengono isolati granulociti neutrofili mediante il metodo di separazione delle cellule e di marcatura con ^{99m}Tc -HMPAO, descritto da Ferrante et al.¹⁶.

L'idrossietilamido (HES) (Byk Gulden, Italia) viene aggiunto a 40 ml di sangue per accelerare spontaneamente la sedimentazione degli eri-

trociti. Il surnatante viene aspirato e centrifugato a 150 giri per 10 minuti. Il pellet viene risospeso in 8 ml di PBS (Phosphate buffered saline-Dulbecco's, Hyclone, Cramlington NE23 9BL) e stratificato su gradiente di Fycoll-Hypaque ($d = 1.077 \text{ g/l}$). Oltre il 95% delle cellule ottenute è rappresentato da granulociti neutrofili e per il 5% da glo-



7 OPT: al paziente è stato estratto l'elemento 3.6, mentre 3.5 era stato estratto precedentemente, ma l'alveolo non sufficientemente bonificato. Entrambe le zone vengono attentamente curettate e, per fugare ogni dubbio, viene consigliata la scintigrafia



8 Scintigrafia: le zone interessate non rivelano nessun focolaio infettivo. Si nota invece una zona ipercaptante in corrispondenza di 2.7 che, infatti, anche in radiografia denota la presenza di un granuloma

buli rossi, monociti ed eosinofili. Non c'è contaminazione di linfociti. La vitalità delle cellule è risultata al 99% con il metodo del Trypan blue. Il pellet di granulociti neutrofili viene risospeso in 10 ml di soluzione fisiologica e marcato immediatamente con ^{99m}Tc -HMPAO preparato al momento.

Le cellule vengono lavate una volta e risospese in 10 ml di plasma del paziente (ottenuto mediante centrifugazione di 20 ml di sangue).

Il radiofarmaco viene quindi iniettato per via endovenosa e migra verso il sito dell'infezione, rendendo così possibile la diagnosi di presenza ed estensione del processo infettivo.

La dose somministrata al paziente varia in rapporto alla resa di marcatura tra 185 e 220 MBq.

La scintigrafia è stata ottenuta con immagini planari delle arcate dentali in 4 proiezioni (anteriore, laterale destra, posteriore e laterale sinistra) mediante acquisizione di 500.000 conteggi 3 ore dopo la reiniezione delle cellule. Le scintigrafie sono state ef-

fettuate con gamma-camera Prism 2000 XP a doppia testa rettangolare.

RADIOTOSSICITÀ

Utilizzando il ^{99m}Tc (tempo di dimezzamento fisico di 6 ore e scomparsa di attività ematica dopo 24 ore)⁶, l'irradiazione ai principali organi è decisamente contenuta e sicuramente inferiore a quella cui si sottopone il paziente in caso di ortopantomografia.

RISULTATI

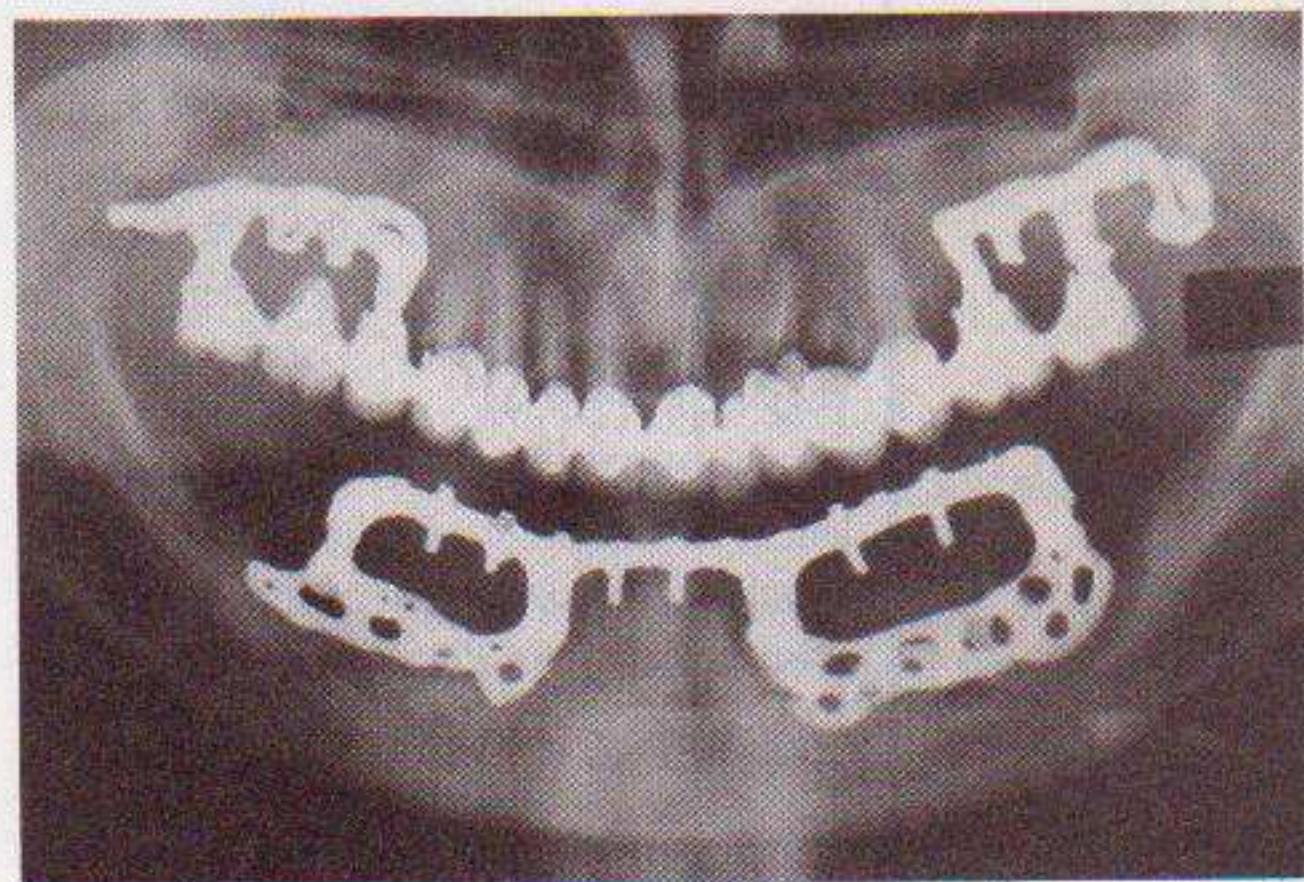
I risultati scintigrafici hanno portato a rinviare l'inserzione degli impianti in un caso soltanto (secondo caso clinico, figure 3 e 4), che viene rimandato per essere eventualmente sottoposto a nuovo esame dopo ulteriore terapia sia antibiotica sia chirurgica di toelettatura della zona interessata.

Nella fattispecie il paziente, inviato da un collega, non aveva subito nessun intervento di tal genere né pre-

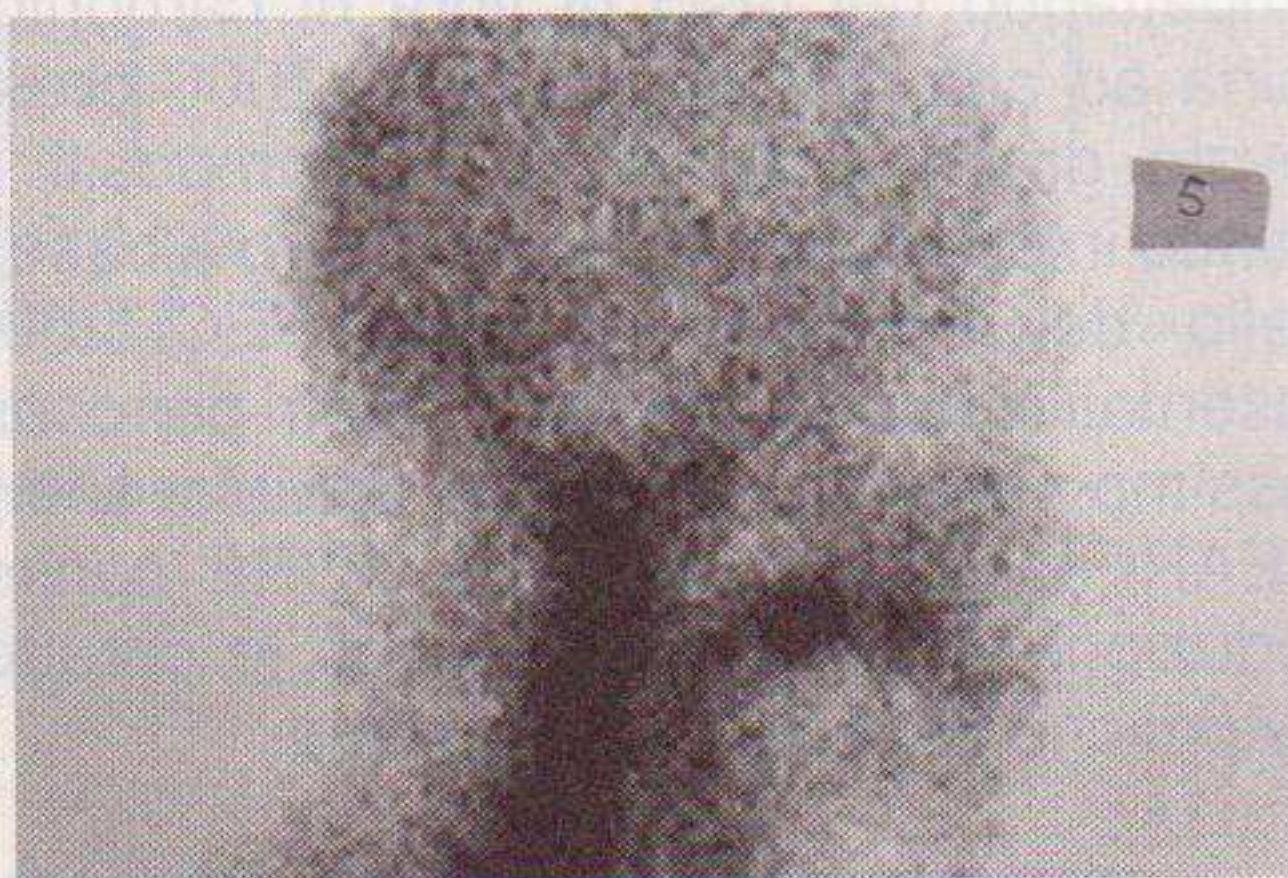
sentava nulla di rilevante all'esame obiettivo. Particolare interesse può suscitare il quarto caso clinico che, indagato per la zona mandibolare sinistra, rivela una ipercaptazione in sede 2.7 che, pur già evidenziabile in radiografia, essendo di non ampie dimensioni, può dare un'idea delle capacità di risoluzione della metodica (figure 7 e 8). I casi primo, terzo e quarto sono stati realizzati seguendo il piano terapeutico iniziale, mentre il quinto caso è ragione di particolare soddisfazione poiché dimostra, nel confronto tra l'arcata inferiore, già trattata e per nulla captante, e quella superiore, non ancora trattata e notevolmente captante, la buona riuscita dell'azione di bonifica (figure 9 e 10).

DISCUSSIONE

La metodica descritta nel presente lavoro consente un razionale utilizzo della scintigrafia con granulociti autologhi per valutare l'efficacia



9 OPT: il paziente, per il fallimento della terapia con impianti iuxtaossei, accusa grave sintomatologia batterica con franca secrezione purulenta. Si procede alla bonifica dell'arcata inferiore



10 Scintigrafia: l'esame scintigrafico rivela il buon successo della terapia all'arcata inferiore e permette di notare il permanere dell'infezione nell'arcata superiore

delle fasi farmacologiche e chirurgiche di bonifica di un sito infetto, o presunto tale, così da affrontare con maggiore serenità i casi di chirurgia implantare.

È doveroso sottolineare come tale indagine sia stata trasposta da altre specialità medico-chirurgiche nelle quali viene da tempo utilizzata.

È stato necessario qualche aggiustamento tecnico per adattare al solo cranio immagini previste per il *total-body*. In considerazione degli alti valori di sensibilità e specificità riportati in letteratura^{7,9,14,17}, e che la nostra limitata casistica sembra non smentire¹⁵, si ritiene che la scintigrafia con i granulociti marcati potrà rivelarsi particolarmente utile nella diagnosi e nella valutazione dei siti ossei che abbiano subito un'aggressione batterica. È altrettanto evidente che i valori di attendibilità riportati sono possibili solo in presenza di fondati sospetti clinici e, di conseguenza, che l'indagine deve essere limitata a casi clinici con elevata probabilità di malattia.

CONCLUSIONI

Nonostante il limitato numero di casi affrontati, la scintigrafia ossea con leucociti marcati sembra essersi rivelata un aiuto diagnostico in grado di fornire qualche elemento di certezza e di prevedibilità in più a chi si accinge alla pratica implantologica, non dimenticando anche i possibili aspetti medico-legali.

In conclusione, solo altre esperienze e il loro reciproco confronto potranno dare l'esatta dimensione dell'utilità e veridicità di questa tecnica, suscettibile tra l'altro di notevoli miglioramenti da parte dei produttori e gestori della componente tecnologica.

Corrispondenza a: dottor Marco Bellanda
Studio dentistico
via XX Settembre 37
15100 Alessandria

BIBLIOGRAFIA

1. Brånemark PI, Zarb G, Albrektsson T. Osteointegrazione tissutale. Quintess Biblio, 1987.
2. Danpure HJ, Osman S, Carroll MJ. The de-

velopment of a clinical protocol for the radiolabelling of mixed leucocytes with ^{99m}Tc-hexamethylpropyleneamine oxine. Nucl Med Commun 1988;9(6): 465-75.

3. Freeman A, Miles KA, Wraight EP. Can ^{99m}Tc-HMPAO leucocyte scintigraphy distinguish between Crohn's disease and ulcerative colitis? Br J Radiol 1994;67:472-7.

4. Ghirlanda G, Caputo S, Mancini L, Di Leo MAS, Greco AV. Le infezioni del piede diabetico. Il Diabete 1992;4(Suppl 2):47.

5. Roddie ME, Peters M, Danpure JH, Osman S, Handerson BL, Lavender JP, Carroll MJ, Neirinckx RD, Kelly DJ. Inflammation: imaging with ^{99m}Tc-HMPAO labelled leucocytes. Radiology 1988;166:767-72.

6. Mortelmans L, Malbrain S, Stuyck J, De Backer C, Heynen MJ, Boogaerts M, De Roo M, Verbruggen A. In vitro and in vivo evaluation of granulocyte labelling with [^{99m}Tc]d,1-HMPAO. J Nucl Med 1989;30(12):2022-8.

7. Johnson JA, Chistie MJ, Sandler MP, Parks PF, Homra L, Kaye JJ. Detection of occult infection following total joint arthroplasty using sequential technetium-99m HDP bone scintigraphy and indium-111 WBC imaging. J Nucl Med 1988;29:1347.

8. Mortelmans L, Verbruggen A, Augustinus J, Wilms G, De Roo M. Clinical usefulness of technetium-99m HMPAO labelled white blood cell imaging in abscesses. Clin Nucl Med 1989;14(2):127-9.

9. Scholmerich J, Schmidt E, Schumichen C, Billmann P, Schmidt H, Gerok W. Scintigraphic assessment of bowel involvement and disease activity in Crohn's disease using technetium 99m-hexamethyl propylene amine oxine as leukocyte label. *Gastroenterology* 1988;95(5):1287-93.
10. Tindale WB, et al. ^{99m}Tc -HMPAO labelled leucocyte imaging in Crohn's disease: a subtraction technique for the quantification of disease activity. *Clin Phys Physio Meas* 1992; 13(1):37-50.
11. Weldon MJ, et al. Comparison of ^{99m}Tc -HMPAO white cell scanning with barium radiology in the assessment of small bowel Crohn's disease. *Gut* 1992;Suppl 33:2,S48.
12. Moragas, et al. Tc-HMPAO leucocyte scintigraphy in the diagnosis of bone infection. *Nucl Med Comm* 1991;12:417-27.
13. Grunfeld C. Diabetic foot ulcers: etiology, treatment and prevention. *Adv Intern Med* 1992;37:103.
14. Vorne M, Laitinen J, Lehtonen J, Soini I, Toivio I, Mokka R. ^{99m}Tc -leukocyte scintigraphy in prosthetic vascular graft infections. *Nuklearmedizin* 1989;28(3): 95-9.
15. Sacchi MC, Zoccola R, Levis A, Tartuferi L, Bellanda M. Impiego della scintigrafia con leucociti marcati per aggiungere certezza alla fase chirurgica dell'implantologia. Poster presentation Convegno Nazionale «Multidisciplinarietà nel trattamento delle infezioni ossee articolari», Torino, 20-21 novembre 1998.
16. Ferrante A, Thong YHJ. Optimal conditions for simultaneous purification of mononuclear and polymorphonuclear leucocytes from human blood by the Hypaque-Ficoll method. *Immunol Methods* 1980;36:109-17.
17. Stahlberg D, Veress B, Mare K, Granqvist S, Agren B, Richter S, Lofberg R. Leukocyte migration in acute colonic inflammatory bowel disease: comparison of histological assessment and ^{99m}Tc -HMPAO labelled leukocyte scan. *Am J Gastroenterol* 1997;92(2):283-8.