



Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie
des Klinikums rechts der Isar
der Technischen Universität München

Fakultät für Medizin

Multimodale Bildgebung zur Früherkennung von rheumatoider Arthritis

Florian Tilman Gassert

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizinischen Wissenschaft genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Wolfgang Weber

Prüfer der Dissertation:

1. Prof. Dr. Reinhard Meier
2. Priv.-Doz. Dr. Klaus Thürmel
3. Prof. Dr. Susanne Kossatz

Die Dissertation wurde am 21.01.2020 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 07.10.2020 angenommen.

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.) Einleitung	7
1.1) Rheumatoide Arthritis	7
1.1.1) Epidemiologie	7
1.1.2) Ätiologie.....	7
1.1.3) Pathologie	7
1.1.4) Klinisches Bild	8
1.1.5) Therapie.....	9
1.1.6) Bedeutung der Früherkennung.....	10
1.1.7) Aktuelle Diagnostik.....	10
1.2) Magnetresonanztomographie bei rheumatoider Arthritis.....	11
1.2.1) RAMRI Score	12
1.2.2) Kontrastmittel	12
1.2.3) SNR Analyse von MR Bildern.....	13
1.3) Positronen-Emissions-Tomographie	14
1.3.1) PET zur Bildgebung bei rheumatoider Arthritis.....	14
1.3.2) Integrine und Tracer.....	15
1.4) Zielsetzung.....	17
2.) Material und Methoden.....	18
2.1) Tiermodell.....	18
2.2) Paw Score	18
2.3) Gruppeneinteilung	19
2.3.1) SNR Studie.....	19
2.3.2) PET Studie	19
2.4) Magnetresonanztomographie.....	20
2.5) MR Bildanalyse	21
2.6) SNR Analyse	21
2.7) Tool Vergleich	21
2.8) PET	22
2.9) Statistik	23

2.10) Histologie	23
2.11) Immunhistopathologie	23
3.) Publikationen	25
3.1) SNR analysis of contrast-enhanced MR imaging for early detection of rheumatoid arthritis	25
3.2) In Vivo Imaging of Early Stages of Rheumatoid Arthritis by $\alpha 5\beta 1$ -Integrin Targeted Positron Emission Tomography	27
4.) Diskussion	29
4.1) Überblick	29
4.2) CIA Maus Modell und klinisches Scoring	29
4.3) MRT Analyse	30
4.4) Positronen-Emissions-Tomographie	31
4.5) Vergleich mit konventionellem Röntgen, CT, Optischen Bildgebungsverfahren, MSOT und Ultraschall	34
4.5.1) Konventionelles Röntgen und CT	34
4.5.2) Optische Bildgebungsverfahren	35
4.5.3) Multispektrale Optoakustische Tomographie	36
4.5.4) Ultraschall	37
4.5.5) Hybride PET/CT und PET/MRT	38
4.6) Limitationen	38
4.7) Fazit	40
5.) Zusammenfassung	41
6.) Literaturverzeichnis	42
7.) Anhang	49

Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Rheumatology
AK	Antikörper
ANOVA	Analysis of Variance
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
CCP	Zyklisches citrulliniertes Peptid
CIA	Collagen induced Arthritis
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DIP	Distales Interphalangealgelenk
DMARD	Disease-modifying antirheumatic drug
EDTA	Ethylendiamintetraazetat
EULAR	European League against Rheumatism
FDG	[¹⁸ F]2-fluorodeoxyglucose
FOV	Field of View
FPAT	Funktionelle Photoakustische Tomographie
g	Gramm
Hz	Hertz
IHC	Immunhistochemie
IL	Interleukin
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
ICC	Intra-Class-Correlation
ICG	Indocyanin Grün
k	Kilo
MCP	Metakarpophalangealgelenk
μ	Mikro
MRT	Magnetresonanztomographie
mm	Millimeter

n	Nano
OMERACT	Outcomes Measures in Rheumatoid Arthritis Clinical Trials Group
OSEM	Ordered Subset Expectation Maximum
p	Piko
PBS	Phosphat buffered saline
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
p.i.	Post Injektionem
PIP	Proximales Interphalangealgelenk
RA	Rheumatoide Arthritis
RAMRIS	Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Score
RF	Rheumafaktor
ROI	Region of Interest
SI	Signalintensität
SNR	Signal-to-noise-ratio
STDDEV	Standardabweichung
T	Tesla
TE	Echozeit
TNF	Tumornekrosefaktor
TR	Repetitionszeit

1.) Einleitung

1.1) Rheumatoide Arthritis

1.1.1) Epidemiologie

Mit einer Prävalenz von 1-2% in der westlichen Welt und circa 1% weltweit ist die rheumatoide Arthritis (RA) (auch chronische Polyarthritits oder primär chronische Polyarthritits (veraltet)) die häufigste Form der Arthritis.^{1,2} RA bringt neben dem Leid, das sie den Betroffenen zufügt, auch substantielle wirtschaftliche Konsequenzen mit sich.^{3,4} Dabei lagen in den Vereinigten Staaten die direkten Kosten für die Behandlung der RA im Jahr 2014 bei circa 13.500 \$ pro Jahr und betroffener Person, die indirekten Kosten zwischen 1.000 und 33.000 \$.^{5,6}

1.1.2) Ätiologie

Bei der RA handelt es sich um eine chronisch-entzündliche Systemerkrankung unklarer Ätiologie, welche sich durch einen meist schubartigen Verlauf und einen vorwiegenden Befall der Hand- und Fingergelenke äußert. Zudem können extra-artikuläre Organmanifestationen auftreten. Da eine familiäre Häufung auftritt, gilt eine genetische Prädisposition als wahrscheinlich. Inzwischen wurden zahlreiche Genloki identifiziert, die mit einem leicht erhöhten Risiko an einer RA zu erkranken einhergehen. Diese sind jedoch nicht ausreichend als ursächliche Erklärung der RA. Auch Umweltfaktoren wie zum Beispiel Rauchen leisten einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung der RA.⁷

1.1.3) Pathologie

Die RA entsteht durch einen pathologischen Prozess, bei dem es durch noch ungeklärte Auslöser zur Invasion von Immunzellen (T- und B-Lymphozyten sowie Plasmazellen) kommt. Diese setzen pro-inflammatorische Zytokine (TNF- α , IL-1, IL-6 u.a.), Matrixmetalloproteinasen, und Autoantikörper (z.B. Rheumafaktoren, Anti-CCP-AK) frei. Durch Freisetzung von knorpelaggressiven Enzymen (z.B. Kollagenase, Elastase) und Sauerstoffradikalen aus Granulozyten, die Invasion von Typ-A-Synovialzellen sowie die starke Vaskularisation der Synovialmembran kommt es zur Transformation der Synovia in den aggressiv-infiltrativ wachsenden Pannus. Dieser überwächst den

Knorpel und führt zu dessen Zerstörung.⁷ Zusätzlich kommt es zum Knochenverlust, zur Entzündung der Synovia und einer geschwollenen Gelenkkapsel.⁸ (Abb. 1)

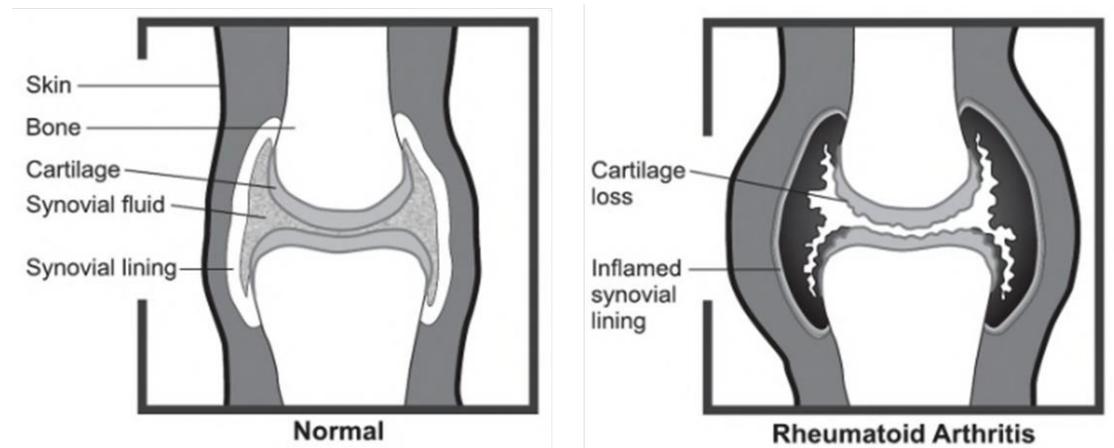


Abb. 1: Pathologie der RA⁹

Bei der RA kommt es im Gelenk zu verschiedenen pathologischen Vorgängen. Durch immunologische Prozesse entsteht ein aggressiv wachsender Pannus, der zu Knochen- und Knorpelverlust, einer entzündeten Synovialmembran und einer geschwollenen Gelenkkapsel führt.

1.1.4) Klinisches Bild

Hauptsymptom der RA sind Gelenkschwellungen, die sich teigig-weich (synovitisch) tasten lassen. Am häufigsten befallen sind dabei die proximalen Interphalangealgelenke (PIP) und Metakarpophalangealgelenke (MCP), jedoch nicht die distalen Interphalangealgelenke (DIP). Auch die Gelenke der Halswirbelsäule sind regelmäßig betroffen. Es besteht eine Druckschmerzhaftigkeit an geschwollenen Gelenken sowie eine Schmerzhaftigkeit der MCP-Reihen. Typischerweise berichten Patienten auch über eine Morgensteifigkeit der Gelenke, die mehr als eine Stunde anhält und sich bei Bewegung bessert. Dies ermöglicht eine Differenzierung der RA von anderen nicht-entzündlichen Gelenkserkrankungen wie Osteoarthritis. Bei der RA findet sich häufig ein symmetrisches Befallsmuster, welches jedoch nicht spezifisch für RA ist. In frühen Stadien dagegen präsentiert sich die RA oft asymmetrisch. Die Finger können dabei nahezu jede Deformität aufweisen, wobei gewisse Deformitäten gehäuft auftreten. Dazu zählen die ulnare Deviation, die Knopflochdeformität (Flexion der PIP und Extension der DIP), die Schwanenhalsdeformität (Hyperextension der PIP und Flexion der DIP) und der Z-Daumen, bei dem auf Grund einer Hyperextension des

Interphalangealgelenks und einer Flexion und Subluxation des MCP der Eindruck entsteht, dass der Daumen eine Z-Form annimmt. Ein weiteres mögliches Zeichen ist die Hammerzehdeformität. In der Maximalform werden die Deformitäten der Gelenke als Arthritis mutilans bezeichnet. Neben strukturellen Veränderungen (Luxation, Subluxation, Muskelatrophien) kommt es auf Grund der chronisch systemischen Entzündungsreaktion zu einem gehäuften Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen, zu Hautbefall, zu einem Befall der Lungen, des Bluts und weiterer Organe. Zudem besteht häufig eine Osteoporose mit erhöhter Frakturneigung.¹⁰

1.1.5) Therapie

Eine Heilung der RA ist aktuell nicht möglich. Allerdings kann der Krankheitsverlauf beeinflusst werden, indem die Progression der Erkrankung verhindert beziehungsweise verlangsamt wird. Mit neuen Therapeutika ist es inzwischen sogar möglich eine Remission der Krankheit zu erreichen.¹¹ Medikamentöse Therapieformen stehen dabei im Vordergrund und haben zum Ziel die Entzündungsaktivität zu hemmen und so strukturelle Schäden zu vermindern. Es kann dabei auf vier Medikamentengruppen zurückgegriffen werden:

- Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) wie Ibuprofen,
- Kortikosteroide wie Prednisolon,
- Disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs), welche die Progression der RA aufhalten können, und
- Biologicals, eine neuere Gruppe von Medikamenten, die gentechnisch hergestellt werden.

Letztere greifen an bestimmten Stellen des Immunsystems an, um die Entzündungsreaktion zu unterdrücken.^{12,13} Am effektivsten sind medikamentöse Therapien, wenn Wirkstoffe aus zwei oder mehreren dieser Gruppen miteinander kombiniert werden. Die Standardtherapie, welche auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, besteht dabei aus einem Kortikosteroid (Prednisolon) und einem DMARD (Methotrexat).¹⁴

Neben der medikamentösen Therapie stehen auch noch andere Therapieformen zur Verfügung. Dazu zählen Physiotherapie und verschiedene chirurgische Verfahren wie die Synovektomie oder der totale Gelenkersatz. Bei der Synovektomie wird die ent-

zündete Synovia operativ entfernt, was typischerweise zu einer Reduktion der Symptomatik führt. Ähnlichen Erfolg zeigt die Radiosynoviorthese (RSO, oder Radiosynovectomy), ein nicht-invasives Verfahren für die Behandlung einzelner rheumatischer Gelenke. Auch wenn diese Verfahren meist erst spät im Verlauf der Krankheit eingesetzt werden, können Sie bei Anwendung in frühen Stadien der RA die Dosis an benötigten Medikamenten und deren Nebenwirkungen reduzieren. Für die RSO werden beta-emittierende Radionuklide mit mittleren Halbwertszeiten und hoher, mittlerer oder niedriger beta-Energie verwendet und direkt in den Gelenkspalt injiziert. Dazu zählen ^{90}Y , ^{186}Re und ^{169}Er . Dadurch werden Entzündungszellen gehemmt, woraufhin die Entzündung reduziert und das Fortschreiten der Krankheit aufgehalten wird. Wie bei allen Therapieoptionen zeigt auch die RSO die besten Ergebnisse, wenn sie in frühen Stadien durchgeführt wird, optimaler Weise bevor klinische Symptome auftreten. Da die RSO jeweils auf einzelne Gelenke abzielt, werden nicht-invasive Verfahren benötigt, bei denen betroffene Gelenke frühzeitig identifiziert werden können.⁷

1.1.6) Bedeutung der Früherkennung

Unabhängig von der Form der Therapie gilt, dass ein früher Beginn der Therapie mit einem besseren Verlauf der Krankheit korreliert. Deshalb ist es essenziell die RA in einem frühen Stadium zu erkennen, um frühestmöglich eine Therapie zu beginnen und so das Fortschreiten der Krankheit aufzuhalten.¹⁵ Es werden Verfahren benötigt, die nicht nur eine frühe Diagnose der RA ermöglichen sondern auch zur Therapieüberwachung herangezogen werden können. Diese sollten zudem mit einer möglichst geringen Strahlenbelastung einhergehen, nicht von der Erfahrung des Untersuchers abhängen und das Kriterium der Wirtschaftlichkeit erfüllen.

1.1.7) Aktuelle Diagnostik

Die primären Verfahren zur Detektion der RA sind die klinische Untersuchung, das konventionelle Röntgen (CR) und die Bewertung von Laborparametern, wie der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) oder der Höhe des C-reaktiven Proteins (CRP) im Serum. Diese Verfahren sind jedoch mit einigen Limitationen verbunden: Die klinische Untersuchung ist abhängig von der Erfahrung des Untersuchers. Außer-

dem sind klinische Zeichen wie Schwellung oder Schmerz subjektive Parameter. Laborparameter wie BSG und CRP sind wiederum nicht spezifisch. Das konventionelle Röntgen gibt zwar Hinweise auf Knochenerosionen und eine Verkleinerung des Gelenkspalts, es können jedoch keine Rückschlüsse auf die Entzündungsaktivität und Weichteilschäden gezogen werden. Außerdem ist die Sensitivität dieses Verfahrens vor allem in frühen Stadien sehr gering.¹⁶ Deshalb basieren die „2010- American College of Rheumatology / European League against Rheumatism (ACR/EULAR) Kriterien zur Klassifikation der rheumatoiden Arthritis“ auf der klinischen Untersuchung der Gelenke (Bewertungsskala von 0 bis 5 Punkten). Weitere Kriterien sind serologische Parameter wie Rheumafaktoren (RF) und Antikörper gegen citrullinierte Proteine (ACPA) (0 bis 3 Punkte), die Akutphasereaktion (1 Punkt bei erhöhten BSG- oder CRP-Werten) und die Dauer der Beschwerden (1 Punkt wenn über 6 Wochen). Jeder Patient erhält somit einen Gesamtpunktwert zwischen 0 und 10 Punkten, wobei Patienten mit mehr als 5 Punkten klar als RA-Patienten klassifiziert werden sollten, auch wenn die finale Diagnoseentscheidung dem Arzt überlassen ist.¹⁷ Diese Kriterien werden weltweit als Standardklassifikation anerkannt, da sie die höchste Sensitivität, Spezifität und Genauigkeit aufweisen.^{18,19} Sie werden häufig durch verschiedene Bildgebungsmodalitäten wie das konventionelle Röntgen, den Ultraschall oder die MRT erweitert.²⁰

Im Mausmodell wird meist auf eine einfachere und praktikablere Methode zurückgegriffen, den sogenannten Paw Score.²¹ Dabei beurteilt der Untersucher Umfang, Schwellung, Wärme und Rötung jeder Pfote und vergibt einen Wert zwischen 0 und 4. Daraus ergibt sich ein Gesamtscore pro Tier zwischen 0 und 16 Punkten.

1.8) Magnetresonanztomographie bei rheumatoider Arthritis

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass die Magnetresonanztomographie (MRT) die Diagnose der RA in frühen Stadien erleichtert^{22,23}, da sie herangezogen werden kann, um subklinische Zeichen einer proliferativen Synovitis nachzuweisen.²⁴ Diese stellt sich als Verdickung der Synovialmembran dar, wobei nach Gabe eines Gadolinium-haltigen Kontrastmittels eine schnellere Signalanhebung und ein erhöhter Wasseranteil zu beobachten sind.^{19,25,26} Dabei gibt die „Outcome Measures in Arthritis Clinical Trials (OMERACT) MR imaging study group“ jedoch keine genaue Definiti-

on bezüglich der Größe der Verdickung.²⁵ Außerdem kann die MRT das Vorliegen einer RA nachweisen, auch wenn sie sich in klinischer Remission befindet und keine äußeren Zeichen einer Schwellung vorliegen.²⁷ Ein weiterer Vorteil gegenüber dem CR ist, dass die MRT Knochenerosionen mit einer höheren Sensitivität detektieren kann.²⁸ Diese entstehen als Folge der Synovitis. Sie stellen sich in der MRT als scharf begrenzte Areale mit Verlust von Knochentrabekeln und Kortikalisdefekt dar, welche vor allem bei i.v. Gabe von Gadolinium-haltigem Kontrastmittel gut sichtbar sind.²⁹ Zudem ist es in der MRT frühzeitig möglich auf ein Knochenödem zu schließen, welches sowohl als Vorläufer der RA als auch als Marker einer aktiven Entzündung zählt.³⁰

1.8.1) RAMRI Score

Verschiedene Studien haben Scoring-Methoden für Synovitis in MRT Bildern in frühen Stadien der RA beschrieben. Dabei wird entweder das Gelenk im Ganzen bewertet³¹ oder einzelne Regionen pro Gelenk.³² Die am häufigsten verwendete Scoring Methode ist jedoch der OMERACT RAMRI Score. Die „OMERACT MR imaging study group“ ist eine internationale, multidisziplinäre Vereinigung mit dem Ziel Techniken, Definitionen pathologischer Gelenksveränderungen und Scoring Systeme für die MR Bildgebung von RA zu standardisieren.²⁵ Sie hat einen „Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Score“ (RAMRIS) entwickelt, bei dem eine Beurteilung des Gelenks in drei Regionen stattfindet: das distale radioulnare Gelenk, das radiocarpale Gelenk und die intercarpalen, carpometacarpalen und MCP Gelenke. Dabei werden die ersten carpometacarpalen und MCP Gelenke nicht bewertet. Die einzelnen Gelenke werden dabei auf einer Skala von 0 bis 3 bewertet, wobei ein Score von 0 für keine Zeichen einer Synovitis steht und Werte von 1 bis 3 jeweils durch milde, moderate beziehungsweise starke Zeichen einer Synovitis gekennzeichnet sind.²⁵ Eine solche Bewertung ist bei MR Bildern von Mäusepfoten nicht möglich, weshalb ein modifizierter Score angewendet werden muss, bei dem das Sprunggelenk im Ganzen bewertet wird. Die Skala ist dabei an den OMERACT RAMRI Score angelehnt.

1.8.2) Kontrastmittel

Die intravenöse Gabe von Gadolinium-haltigem Kontrastmittel spielt eine wichtige Rolle bei der Detektion und Beurteilung der Synovitis im MRT. Kontrastmittelgestütz-

te MR Bilder weisen eine höhere Sensitivität und Spezifität bezüglich der Beurteilung akuter Synovitis auf.^{26,33} Gadofluorine P ist ein solches Gadolinium-haltiges Kontrastmittel. Es ist ein Abkömmling des Gadofluorine M, zeichnet sich jedoch durch eine bessere Verträglichkeit aus. Es ist ein amphiphiles Kontrastmittel mit geringem molekularem Gewicht und hoher Proteinbindung und ist durch eine lange Bluthalbwertszeit, Anreicherung im Interstitialraum und Aufnahme durch das retikuloendotheliale System gekennzeichnet.³⁴⁻³⁶ Diese Eigenschaften bewirken, dass Gadofluorine P bei erhöhter Gefäßpermeabilität, wie sie bei entzündlichen Prozessen vorliegt, in das umliegende Gewebe diffundiert und dort an extrazelluläre Proteine bindet.³⁷ Aktuell ist Gadofluorine P nur für Forschungszwecke und nicht für die Anwendung am Menschen zugelassen.³⁸

1.8.3) SNR Analyse von MR Bildern

Die Signal-to-noise-ratio (SNR) ist ein in den Naturwissenschaften weit verbreitetes Konzept. Sie wird häufig verwendet, um die Qualität von MRT Bildern verschiedener MR Tomographen zu vergleichen.³⁹ Sie hängt von vielen technischen Parametern ab, wie vom Field of View (FOV), von der magnetische Feldstärke, der Schnittdicke und der Empfängerspule.⁴⁰ Zudem kann mit der SNR der Effekt von Kontrastmitteln und die daraus resultierende Signalanhebung beurteilt werden.⁴¹ Der Vorteil dieses semiquantitativen Verfahrens ist, dass es weniger Untersucher-abhängig ist als die Analyse des Bildes durch einen Radiologen mit Hilfe des RAMRI Scores. Zwar müssen die "regions of interest" (ROI) per Hand eingezeichnet werden und sind deshalb Untersucher-abhängig, jedoch ist dieser Schritt unabhängig von der Erfahrung des Untersuchers bezüglich der Beurteilung von RA in MRT Bildern. Alle darauffolgenden Schritte (SNR-Analyse) sind allerdings Untersucher-unabhängig. Deshalb eignet sich dieses Verfahren für die semi-automatische Analyse von MRT Bildern.⁴²

Für die Berechnung der SNR gibt es verschiedene Verfahren. Für das am häufigsten verwendete Verfahren müssen zwei ROIs in das MRT Bild eingezeichnet werden. Eine ROI umschreibt dabei die Region, die tatsächlich von Interesse ist (ROI₁), die zweite ROI wird in den Hintergrund gelegt, um das Hintergrundrauschen zu bestimmen (ROI₂). Die SNR ergibt sich dann aus dem Quotienten der Signalintensität (SI) in der ROI₁ und der Standardabweichung (STDDEV) der Hintergrund-ROI₂⁴⁰:

$$\text{SNR} = \frac{\text{SI}(\text{ROI}_1)}{\text{STDDEV}(\text{ROI}_2)}$$

Eine wichtige Voraussetzung dieses Ansatzes ist, dass das Hintergrundrauschen innerhalb des zu analysierenden Bildes homogen verteilt ist.⁴¹

1.9) Positronen-Emissions-Tomographie

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist ein nuklearmedizinisches bildgebendes Verfahren, mit dem metabolische Vorgänge im Körper dargestellt werden können. Es zählt zu den Schnittbildverfahren und ermöglicht es, die Verteilung von schwach radioaktiven Substanzen (Radiopharmaka) im Organismus darzustellen. Dabei werden je nach Fragestellung das Vorhandensein und die Ausprägung verschiedener Stoffwechselfvorgänge oder anderer biologischer Prozesse erfasst. Es werden Radionuklide verwendet, die Positronen emittieren (β^+ -Strahlung). In der klinischen Anwendung wird die PET heutzutage nahezu ausschließlich in Kombination mit räumlich auflösenden Bildgebungsverfahren wie der MRT oder der Computertomographie (CT) angewendet.⁴³

1.9.1) PET zur Bildgebung bei rheumatoider Arthritis

[¹⁸F]2-fluorodeoxyglucose PET (FDG-PET) kann auf arthritische Läsionen hinweisen. Der Grund dafür ist, dass entzündliche Prozesse grundsätzlich mit einem höheren Energieumsatz und folglich mit einem gesteigerten Glukoseverbrauch einhergehen. Klinische Studien haben gezeigt, dass es im Ganzkörper FDG-PET möglich ist arthritische Gelenke zu identifizieren und die Therapie bei RA zu monitoren.^{44,45} Ein Problem bei der RA Bildgebung ist jedoch, dass die meisten Verfahren zwar entzündliche Prozesse darstellen können, diese jedoch nicht spezifisch für RA sind. Zudem sind bei manchen Verfahren, wie zum Beispiel dem CR oder der FDG-PET, frühe Stadien der RA, in denen die Funktionalität und Morphologie des Gelenks noch nicht verändert ist und kein stark veränderter Metabolismus vorliegt, gar nicht sichtbar. Gerade in diesen frühen Stadien ist es von Interesse bildgebende Verfahren zu entwickeln, die auch schon zu diesem Zeitpunkt sensitiv für RA sind. Solche Verfahren zielen zum Beispiel auf einen veränderten Rezeptorstatus.

1.9.2) Integrine und Tracer

Integrine sind Transmembranproteine, die in allen tierischen Zellen mit Ausnahme der Erythrozyten vorkommen. Sie übernehmen wichtige Aufgaben wie die Adhäsion an andere Zellen oder der extrazellulären Matrix und bei der Signaltransduktion. Sie bestehen aus zwei nicht kovalent miteinander verbundenen Glykoproteinketten, welche als Alpha- beziehungsweise Beta-Untereinheit bezeichnet werden. Es gibt 18 verschiedene Alpha-Untereinheiten und 8 Beta-Untereinheiten, welche durch verschiedene Kombinationen zu insgesamt 24 Integrinformen zusammengefügt werden können. Der extrazelluläre Teil der Alpha-Untereinheit trägt die Bindungsstelle, die sogenannte RGD-Sequenz (Arginin, Glycin, Asparaginsäure). (Abb. 2)

Da die synoviale Angiogenese einer der Schlüsselprozesse bei der Entwicklung der RA ist, wurde sie schon länger als Angriffspunkt für die Bildgebung früher RA-Stadien diskutiert.^{46,47} Ähnlich wie bei der Tumorentstehung führen die entzündlichen Prozesse der RA zur vermehrten Angiogenese, ausgelöst durch proliferierende Synovialzellen, welche einen erhöhten Sauerstoffverbrauch aufweisen. Folglich werden auch die an diesem Prozess beteiligten Integrine vermehrt exprimiert. Dazu gehören vor allem die beiden Integrin Subtypen $\alpha_v\beta_3$ und $\alpha_5\beta_1$. Sie werden vor allem in Endothelzellen der Synovia und in Chondrozyten exprimiert.⁴⁸ Verschiedene radioaktive RGD Peptide, welche an das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin binden, wurden bereits erfolgreich für die Tumorbildgebung und in der Darstellung von kardiovaskulären Erkrankungen eingesetzt. In der RA Bildgebung konnte für diese Peptide jedoch kein Vorteil gegenüber der FDG-PET gezeigt werden.⁴⁹ Das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin wurde in diesem Zusammenhang noch nicht untersucht. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass dieses spezifischer ist als $\alpha_v\beta_3$, da die Hochregulierung der Expression früh stattfindet, was gerade in frühen RA Stadien von Vorteil ist. Während für das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin mit ^{68}Ga -Avebetrin bereits seit längerem eine PET Sonde existiert, wurde mit ^{68}Ga -Aquibeptrin erst kürzlich eine Sonde entwickelt, welche an das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin bindet.^{50,51}

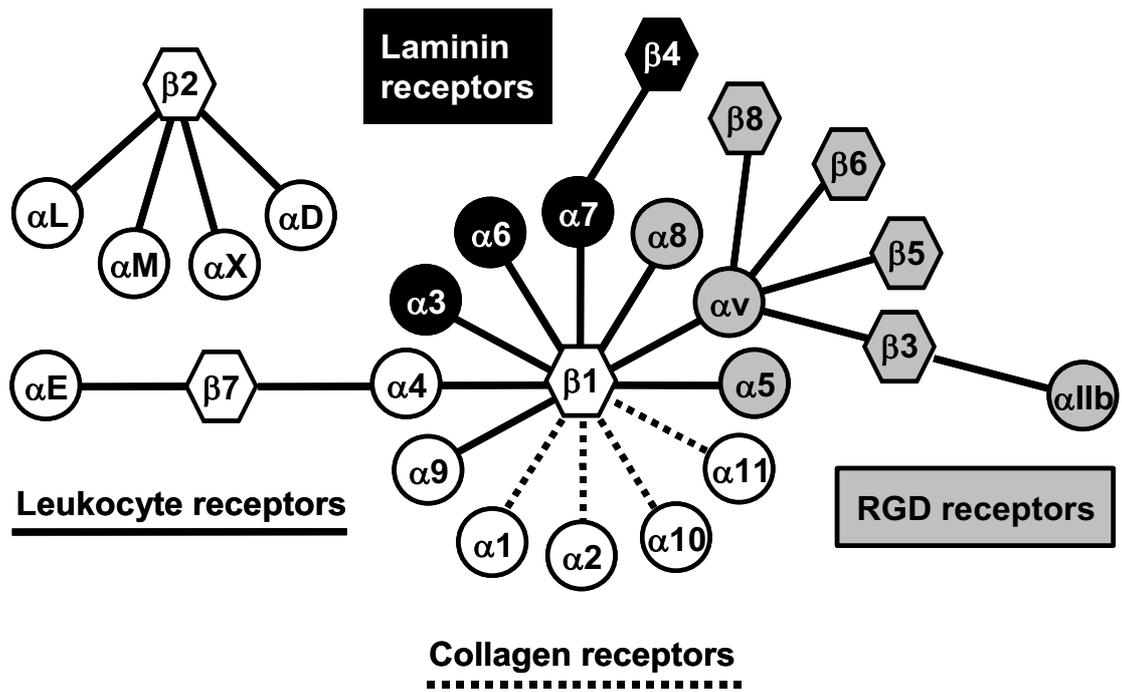


Abb. 2: Zusammensetzung der Integrinunterformen⁵²

Integrine bestehen aus je einer α - und einer β -Untereinheit. Es gibt 18 verschiedene α - und 8 β -Untereinheiten. Durch Kombination der Einheiten können 24 verschiedene Integrine entstehen. Dabei ergeben bestimmte Kombinationen unterschiedliche Rezeptoren. Zu diesen Rezeptoren zählen die Leukozyten-, die Laminin-, die Kollagenrezeptoren und die RGD Rezeptoren.

1.10) Zielsetzung

Ein wichtiger Faktor bei der Behandlung der RA ist der frühe Beginn der Therapie, um ein Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern. Aktuell findet die Diagnose der RA und folglich der Therapiebeginn meist erst nach dem Auftreten klinischer Symptome statt. In diesem Stadium ist es bereits oft zu irreversiblen Schäden im Gelenk gekommen. Bildgebungsmethoden wie das konventionelle Röntgen sind nur beschränkt dazu geeignet RA in frühen Stadien zu detektieren. Dies ist meist erst dann der Fall, wenn strukturelle Schäden bereits gut zu sehen sind. Deshalb werden Verfahren benötigt, die eine Diagnose der RA bereits in frühen Stadien ermöglichen. Im generellen Fokus stehen dabei die MRT und die PET.

Klinische Studien haben bereits gezeigt, dass die MRT eine frühere Diagnose der RA ermöglicht. Die Bewertung des MRT Bildes an Hand des OMERACT RAMRI Scores ist jedoch stark Untersucher-abhängig.

Deshalb soll in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe eines Mausmodells für RA untersucht werden, ob die SNR-Analyse eine weniger Untersucher-abhängige Diagnose früher RA Stadien ermöglicht als die Bewertung der MRT Bilder an Hand des OMERACT RAMRI Scores. Zudem soll die Frage beantwortet werden, ob die SNR Analyse eine frühere Diagnose der RA erlaubt.

Für die PET wurde gezeigt, dass der herkömmliche Tracer ^{68}Ga -Avebetrin zur Darstellung der RA keinen zusätzlichen Nutzen gegenüber der FDG-PET aufweist. Da das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin einen attraktiven Biomarker für die RA Bildgebung darstellt, soll in dieser Arbeit das Potential des neu entwickelten PET Tracers ^{68}Ga -Aquibeptrin für die selektive Bildgebung von Angiogeneseprozessen und somit die frühe Detektion einer RA ebenfalls im Mausmodell untersucht werden.

2.) Material und Methoden

2.1) Tiermodell

Alle Tierversuche wurde von der zuständigen Behörde der Regierung von Oberbayern überprüft und genehmigt (Az. 55.2-1-54-2532-179-11). Für alle Versuche wurden DBA/1JRj Mäuse im Alter von 7 bis 8 Wochen bei Versuchsbeginn eingesetzt (Janvier Labs, Frankreich).

Insgesamt wurden drei Gruppen mit je 6 zufällig ausgewählten Tieren gebildet (n=6): Eine RA-Gruppe (RA), eine RA-Gruppe, die eine Therapie gegen RA erhalten hat (RA+Th) und eine Kontrollgruppe (Ctrl).

Für die Induktion der Arthritis wurde Tieren der Gruppe RA und RA+Th einmalig 25 µl bovines Kollagen Typ II (Chondrex Inc., Redmond, USA) emulgiert in 25 µl kompletten Freund Adjuvanz (CFA) (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) unter Isofluran-Narkose subkutan in die Basis der Schwanzwurzel injiziert. Nach 14 Tagen wurden die Mäuse mit 50 µl inkompletten Freund Adjuvanz (IFA) (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) erneut stimuliert.

Allen Kontrolltieren (Ctrl) wurde zum gleichen Zeitpunkt 50 µl 1x PBS (pH 7,2) subkutan in die Basis der Schwanzwurzel injiziert.

Bei Tieren aus der Therapiegruppe (RA+Th) wurde einen Tag nach der CIA Induktion mit der i.p. Injektion von 1 mg/kg Methotrexat (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) und 4,2 mg/kg Methylprednisolonazetat (Pfizer, La Jolla, USA) jeweils einmal pro Woche begonnen.

Nach dem Abschluss der Experimente wurden die Tiere per Genickbruch euthanasiert.

2.2) Paw Score

Das präklinische Bewerten der Pfoten (Paw Score) wurde in Anlehnung an etablierte Standardkriterien durchgeführt.²¹ Umfang, Schwellung, Wärme und Rötung jeder Pfote wurde in einer Skala von 0 bis 4 eingeordnet. Dabei bedeutet ein Score von 0, dass es keine Anzeichen für ein Erythem oder eine Schwellung gibt, ein Score von 1, dass ein Erythem und eine milde Schwellung vorliegen, welche auf den Tarsus oder das Knöchelgelenk beschränkt ist, ein Score von 2, dass ein Erythem und eine milde

Schwellung sowohl im Tarsus und im Knöchelgelenk vorliegt, ein Score von 3, dass sich ein Erythem und eine mittelstarke Schwellung vom Knöchel bis zu den Metatarsalgelenken erstreckt und ein Score von 4 ist gleichzusetzen mit einem Erythem und einer starken Schwellung, die sich vom Knöchel über den gesamten Fuß bis hin zu den Zehen erstreckt, oder mit einer Ankylose der Extremität. Der Gesamtscore eines Tieres wurde als Summe der Scores der vier Einzelpfoten berechnet und kann somit Werte zwischen 0 und 16 annehmen.

2.3) Gruppeneinteilung

2.3.1) SNR Studie

Für die SNR Analyse wurden alle 18 Tiere der beschriebenen drei Gruppen (RA, RA+Th, Ctrl) einen Tag vor der CIA Induktion (Tag -1), 32 Tage danach (Tag 32) und 42 Tage danach (Tag 42) analysiert (Abb. 3).

2.3.2) PET Studie

Es wurden zwei Gruppen untersucht, eine Kontroll- und eine Versuchsgruppe, bei der mit Kollagen eine Arthritis induziert wurde. Die Kontrollgruppe bestand aus n= 3 Tieren, die Versuchsgruppe aus insgesamt 30 Tieren, wobei 5 Untergruppen mit n= 6 Tieren zu definierten Zeitpunkten untersucht wurden. Die Tiere der Kontrollgruppe wurden einmalig nach 6 Wochen im MRT und PET untersucht. Die Versuchsgruppen 1 bis 5 wurden ein, zwei, drei, vier und sechs Wochen nach der Stimulierung mit IFA im MRT und PET untersucht (Abb. 4).

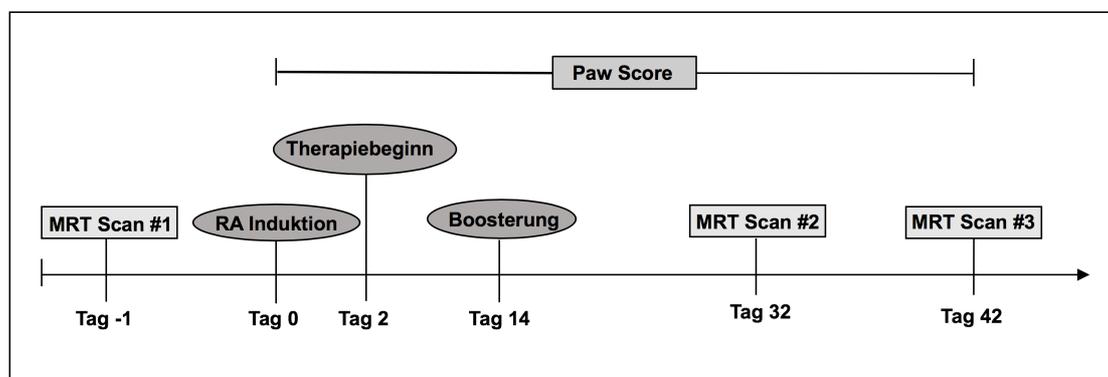


Abb. 3: Zeitlicher Ablauf der SNR Studie

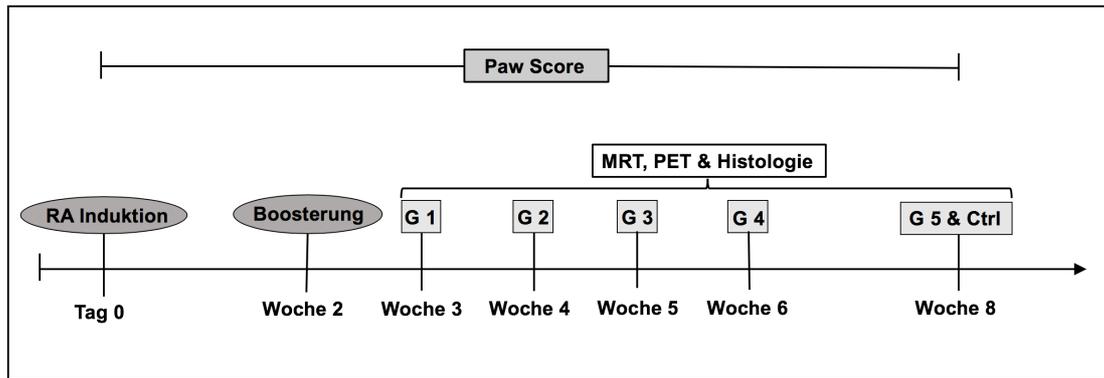


Abb. 4: Zeitlicher Ablauf der PET Studie

2.4) Magnetresonanztomographie

Für die MR Bildgebung wurde ein 7T Kleintier MRI System (MR901 Discovery, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) verwendet. Die Mäuse wurden mit Isofluran anästhesiert und zur i.v. Kontrastmittel Applikation katheterisiert (30G Kanüle). Die Tiere wurden in linker Seitenlage auf das Scannerbett abgelegt. Der Knöchel wurde mittig auf einer 3 cm Empfangsspule (RAPID Biomedical, Rimpar, Germany) platziert. Eine „2D multislice spoiled gradient recalled echo“ Sequenz wurde verwendet.

Für die SNR Analyse wurden folgende Einstellungen verwendet: 5 Schnitte, Schnitt- dicke 0,25 mm, TR 50 ms, TE 3,9 ms, Kippwinkel 30 Grad, Empfangsbandweite 46,9kHz, 150 Durchschnittswerte, Matrixgröße 192x96, Sichtfeld 15mm x 7,5 mm.

Für die Experimente mit der MRT und der PET Analyse wurden folgende MR Einstel- lungen verwendet: 6 Schnitte, 0,5 mm Schnittdicke, TR 50 ms, Kippwinkel 30 Grad, Empfangsbandweite 31,25 kHz, 80 Durchschnittswerte. Scandauer, Sichtfeld und Akquisitionsmatrix variierten auf Grund der Positionierung der Extremität und lagen durchschnittlich bei TE 2.05 ms, Matrixgröße 128 × 64, und Sichtfeld 10 mm × 5 mm. Die Schnitte wurden parallel zu den Knochen der unteren Extremität, also senkrecht zur Oberfläche der Pfote orientiert. Bilder wurden vor, direkt nach und 20 Minuten (SNR Studie) beziehungsweise 7 Minuten (PET Studie) nach Injektion des jeweiligen Kontrastmittels über den Schwanzvenenkatheter aufgenommen. Als Kontrastmittel wurden 100 µmol/kg Körpergewicht Gadoflourine P (invivoContrast GmbH, Berlin, Germany) injiziert.

2.5) MR Bildanalyse

Zur Beurteilung der Synovitis in MR Bildern wurde die Synovitis entsprechend dem EULAR-OMERACT RAMRI Score auf einer Skala von 0 bis 3 bewertet.⁵³ Die Bewertung wurde durch zwei Radiologen vorgenommen, die auf dem Gebiet der Arthritisbildung erfahren sind (über 10 Jahre). Dabei wurde jedes Gelenk auf einer Skala von 0 bis 3 bewertet, wobei ein Wert von 0 bedeutet, dass keine Zeichen von Synovitis vorliegen und Werte von 1 bis 3 gleichzusetzen sind mit einer milden, einer moderaten und einer starken Arthritis.

2.6) SNR Analyse

Für die SNR Analyse wurde eine ROI im Bereich zwischen dem distalen Unterschenkel und dem Metatarsus inklusive aller Gelenke der Fußregion in jedes MRT Bild eingezeichnet. Die mittlere Signalintensität dieser ROI wurde bestimmt. Zur Bestimmung des Hintergrundrauschens wurde eine rechteckige Region neben der Pfote eingezeichnet und als Referenz verwendet. Die SNR wurde berechnet als Verhältnis aus durchschnittlicher Signalintensität der Pfotenregion und der Standardabweichung der Referenzregion.⁴⁰ Die Differenz der SNR des Scans vor Injektion des Kontrastmittels und des Scans nach Injektion des Kontrastmittels wurde für jedes Tier zu jedem Zeitpunkt berechnet. Zur Bildanalyse wurde die OsiriX Software (Pixmeo, Bernex, Schweiz) verwendet.

2.7) Tool Vergleich

Anschließend wurde bewertet, ob die Scoring Methoden dazu geeignet sind die RA in einem frühen Stadium zu detektieren. Zum Vergleich der unterschiedlichen Scoring Methoden (Klinischer Score, RAMRIS, SNR) wurden die jeweiligen Werte der RA Gruppe an Tag 32 normalisiert. Dafür wurde für jede Scoring Methode der Wert an Tag 42 auf 100% gesetzt, da anzunehmen ist, dass an Tag 42 die maximale Ausprägung der Arthritis erreicht ist. Der jeweilige Wert an Tag -1 (Baseline) wurde entsprechend auf 0% gesetzt. Für die Berechnung der Prozentwerte an Tag 32 wurden die Baseline-Werte an Tag -1 von denen an Tag 32 abgezogen und dann ins Verhältnis zur Differenz aus Maximalwert (Tag 42, 100%) und Minimalwert (Tag -1, 0%) gesetzt.

2.8) PET

Die μ PET wurde nach einem Standardprotokoll durchgeführt.⁵⁴ Dabei wurde DBA Mäusen mit einem Gewicht zwischen 20 und 25g unter Isoflurananästhesie ein Radiopharmakon über einen Schwanzvenenkatheter injiziert. Um die Menge des biologisch aktiven Bestandteils in allen Injektionen konstant zu halten, wurde jede Spritze zusätzlich mit 500 pmol kaltem Standard gefüllt und die tatsächlich injizierte Gesamtmenge kalter Masse durch Messung des Spritzeninhalts vor und nach Injektion berechnet.

Für die Hemmung wurden 30 nmol kalten Standards hinzugegeben. Tieren, die keine Hemmung erhalten haben, wurden 18 ± 3 MBq mit einer molaren Aktivität von 38 ± 7 MBq/nmol und einer Masse von 480 ± 26 pmol injiziert. Für die PET Aufnahme 75 Minuten p.i. wurden die Tiere mit Isofluran anästhesiert. Die PET Scans wurden mit einem Siemens Inveon small-animal System durchgeführt. ^{68}Ga -Aquibeptrin und ^{68}Ga -Avebetrin Scans wurden gleichzeitig in Bezug auf den Krankheitsfortschritt aufgenommen, und zwar am selben Tag mit einem Abstand von 6 Stunden, um einen kompletten Zerfall des zuerst injizierten Radiopharmakons zu ermöglichen (die Gesamtrestaktivität wurde mit ungefähr 2% berechnet). Bilder wurden mit Hilfe der Siemens Inveon Software als Single Frames rekonstruiert, indem ein "Ordered Subset Expectation Maximum" (OSEM) 3D Algorithmus angewendet wurde. Alle gezeigten Bilder sind Projektionen mit maximaler Intensität, Blick von dorsal und einer Farbskala zwischen 0 und 3% der injizierten Dosis pro ml Gewebe.

Für die Quantifizierung des PET Signals wurden sphärische ROIs in die Knieregion (durchschnittliches Volumen $23,5 \text{ mm}^3$) und die Knöchelregion ($3,4 \text{ mm}^3$) eingezeichnet, wobei diese um das entsprechende Voxel mit der höchsten Intensität zentriert wurden. Pfoten wurden dabei auf Grund ihrer geringen Größe und dem daraus resultierenden Partialvolumeneffekt, der eine verlässliche Quantifizierung der Aufnahme des Radiopharmakons unmöglich macht, nicht analysiert.

[^{68}Ga besitzt eine hohe Positronenenergie ($E_{\beta^+,max} = 1.9 \text{ MeV}$, $E_{\beta^+,avg} = 836 \text{ keV}$), welche in einem hohen inhärenten Grad an Unschärfe resultiert.⁵⁵ Die mittlere Eindringtiefe von Positronen im Gewebe vor der Annihilation liegt bei 3-4 mm, was den Durchmesser der Mauspfote überschreitet. Deshalb ist der Anteil der Positronen, der

das Pfortengewebe vor der lokalen Annihilation verlässt zu hoch, um eine verlässliche Quantifizierung des PET Signals zu gewährleisten, zumal, weil die ausgestreckte Pforte von Luft umgeben ist und so Positronen unmittelbar aus dem FOV des Scanners verschwinden. Deshalb, obgleich ein Signal im PET deutlich sichtbar ist, wird es in den Pforten grundsätzlich unterschätzt. Dies trifft jedoch auf Grund des größeren Umfangs des Gewebes nicht bei der Anwendung am Menschen zu.]

Für die ROI-basierten Aufnahmevolumina (% injizierter Dosis pro mL Gewebe) wurde pro Gruppe der Mittelwert berechnet und die Werte \pm Standardabweichung angegeben.

2.9) Statistik

Eine "one-way analysis of variance" (ANOVA) mit "Bonferonie post test for multiple comparisons" wurde für die SNR Analyse und den Vergleich der Scores angewandt. Für alle Tage und Zeitpunkte wurde die "Intra-Class-Correlation" (ICC) berechnet.

Die Daten wurden mit GraphPad Prism Version 6.0 (GraphPad Software, San Diego, USA) analysiert. Datensätze mit $n \geq 5$ wurden mit dem Grubbs Ausreißer Test auf Ausreißer getestet. Ausreißer wurden nicht in die statistische Analyse mit eingeschlossen. P-Werte kleiner 0,05 wurden als signifikant (*) gewertet und p-Werte kleiner 0,001 als hoch signifikant (***) .

2.10) Histologie

Extremitäten wurden post mortem in 4% neutral gepuffertem Formalin für 48 Stunden fixiert, in Osteosoft (Merck, Darmstadt, Deutschland) für 4 Wochen nach Vorgaben des Herstellers entkalkifiziert und in Paraffin gebettet. 4 μ m dicke Schnitte wurden deparaffiniert und mit Movat Pentachrom (Morphisto, Frankfurt am Main, Deutschland) nach Standardprotokollen gefärbt. Gefärbte Schnitte wurden gescannt (Leica AT2, Leica, Wetzlar, Deutschland) und mit Imagescope Software (Leica, Wetzlar, Deutschland) analysiert.

2.11) Immunhistopathologie

Für die Immunhistochemie (IHC) wurden 4 μ m dicke Schnitte mit einem BondRXm System (Leica, Wetzlar, Deutschland) gefärbt. Dabei wurden die primären Antikörper

gegen alpha 5 integrin (abcam, ab 108327, Verdünnung 1:10.000) und beta 3 integrin (Cell Signaling, 13166S, Verdünnung 1:300) eingesetzt. Schnitte wurden deparaffiniert und mit einem EDTA Puffer (Epitope retrieval solution 2, pH 8) für 30 Minuten bei Raumtemperatur vorbehandelt. Antikörperbindung wurde mit einem Polymer refine detection kit (Leica Biosystems, Wetzlar, Deutschland) detektiert und mit DAB als dunkelbraunes Präzipitat visualisiert. Schnitte wurden gescannt (Leica AT2, Leica, Wetzlar, Deutschland) und mit Imagescope Software (Leica, Wetzlar, Deutschland) analysiert.

3.) Publikationen

3.1) SNR analysis of contrast-enhanced MR imaging for early detection of rheumatoid arthritis⁵⁶

In dieser Studie wurde evaluiert, ob die SNR Analyse von Kontrastmittelgestützten MRT Aufnahmen eine frühzeitige Diagnose der RA ermöglicht. Dazu wurden im CIA Mausmodell MRT Aufnahmen zu drei Zeitpunkten angefertigt: Tag -1 als Kontrolle, Tag 32 nach der Induktion der CIA als Frühstadium der RA und Tag 42 als maximale Ausprägung der RA. Jeden zweiten Tag wurde an Hand des Paw Scores der klinische Verlauf der Erkrankung dokumentiert und als Referenz verwendet. Die MRT Bilder wurden zum einen durch erfahrene Radiologen an Hand des OMERACT RAMRI Scores bewertet und zum anderen einer SNR Analyse unterzogen. Bei letzterer wurden die ROIs vom Untersucher eingezeichnet und die anschließende Computerbasierte Analyse automatisiert.

Es hat sich gezeigt, dass sowohl die Werte des RAMRI Scores als auch die Werte der SNR Analyse bereits an Tag 32 stark anstiegen, während klinisch zu diesem Zeitpunkt kaum Zeichen einer RA vorzufinden waren. Dieser Effekt war für die SNR Analyse stärker ausgeprägt und die Werte an Tag 32 entsprachen bereits fast denen des Maximums der RA an Tag 42. Einer Kontrollgruppe wurde keine RA induziert. Einer Therapiegruppe wurde Kollagen injiziert und zusätzlich mit Methotrexat und Methylprednisolon behandelt. Keines der Tiere dieser beiden Gruppen wies Zeichen einer RA auf.

Es wurde gezeigt, dass sich die Kontrastmittelgestützte MRT zur Unterstützung der Frühdiagnose der RA eignet, wobei die SNR Analyse der Auswertung der Bilder durch einen Radiologen überlegen und zudem zum größten Teil untersucherunabhängig ist.

Darstellung der Eigenleistung

Die Tiere wurden während des gesamten Experiments vom Doktoranden betreut. Dazu gehörte die Induktion der RA in dem CIA Mausmodell, das regelmäßige Scoring (Paw Score), die Gabe der Therapiemedikamente und die Vorbereitung für die MRT

Aufnahmen (Legen des Katheters). Die MRT Scans wurden vom Doktoranden zusammen mit Geoff Topping, PhD, durchgeführt, die Analyse an Hand des RAMRI Scores mit Prof. Dr. Reinhard Meier und Prof. Dr. Moritz Wildgruber. Des weiteren hat der Doktorand in Zusammenarbeit mit Felix Gassert die SNR Analyse und die statistische Auswertung vorgenommen. Dr. Melanie Kimm hat die Auswertung der histologischen Präparate durchgeführt. Zusammen mit Dr. Melanie Kimm und Felix Gassert hat der Doktorand federführend das Manuskript verfasst.

3.2) In Vivo Imaging of Early Stages of Rheumatoid Arthritis by $\alpha_5\beta_1$ -Integrin Targeted Positron Emission Tomography⁵⁷

In dieser Studie wurde untersucht, ob die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET die Diagnose von RA in frühen Stadien ermöglicht. Neben einer Kontrollgruppe wurde in 5 Gruppen von DBA Mäusen RA induziert und diese 3,4,5,6 beziehungsweise 8 Wochen nach der Induktion der kontrastmittelgestützten MRT und sowohl der $\alpha_5\beta_1$ -Integrin (Tracer: ^{68}Ga -Aquibeptrin) als auch der $\alpha_v\beta_3$ -Integrin PET (Tracer: ^{68}Ga -Avebetrin) unterzogen. Nach der Bildgebung wurden die Tiere geopfert und die Gelenke immunhistologisch untersucht. MRT Scans wurden an Hand des OMERACT RAMRI Scores ausgewertet. Die Signalintensitäten von ^{68}Ga -Avebetrin und ^{68}Ga -Aquibeptrin wurden in einer ROI um die Gelenke gemessen und gegenüber der Baseline normalisiert. Die Signalintensitäten beider Tracer stiegen dabei schon zu frühen Zeitpunkten an, während klinisch noch keine beziehungsweise kaum Zeichen einer RA ersichtlich waren. ^{68}Ga -Aquibeptrin stieg nicht nur früher an, sondern erreichte auch höhere Maximalwerte als ^{68}Ga -Avebetrin. Die histologischen Verteilungsmuster des $\alpha_5\beta_1$ -Integrins lassen auf einen engeren Bezug zu RA spezifischen Vorgängen und somit eine höhere Spezifität für RA schließen.

Es wurde gezeigt, dass die PET dazu geeignet ist RA in frühen Stadien zu detektieren. Dabei ist die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET der $\alpha_v\beta_3$ -Integrin PET überlegen.

Darstellung der Eigenleistung

Die Tiere wurden während des gesamten Experiments vom Doktoranden und Peter Sommer betreut. Dazu gehört die Induktion der RA im CIA Mausmodell, das regelmäßige Scoring an Hand des Paw Scores, die Gabe der Therapiemedikamente und die Vorbereitung für die MRT (Legen des Katheters). Die MRT Scans hat der Doktorand zusammen mit Geoff Topping, PhD und Peter Sommer durchgeführt, die Analyse an Hand des RAMRI Scores mit Prof. Dr. Reinhard Meier. Die Tracer wurden von PD Dr. Johannes Notni hergestellt und die PET Aufnahmen von Sybille Reder, Markus Mittelhäuser und Marco Lehmann durchgeführt. Die PET Daten wurden vom Doktoranden zusammen mit PD Dr. Johannes Notni und die histologischen Präparate von

Dr. Katja Steiger und Dr. Melanie Kimm ausgewertet. Zusammen mit PD Dr. Johannes Notni hat der Doktorand federführend das Manuskript verfasst.

4.) Diskussion

4.1) Überblick

In dieser Arbeit wurden MRT und PET hinsichtlich ihrer Eignung zur Detektion einer frühen Ausprägung der RA untersucht. Als Referenz wurde das präklinische Scoring der Pfoten zu Grunde gelegt. Bei RA Tieren wurde mit dem CIA Modell RA induziert. Bei der kontrastmittelgestützten MRT wurden die entstandenen Bilder einerseits durch erfahrene Radiologen an Hand des OMERACT RAMRI Scores ausgewertet und andererseits wurde mittels einer SNR Analyse untersucht, ob eine verstärkte Signalanhebung bei RA Tieren eine frühe Diagnose der RA ermöglicht. Eine weitere Modalität stellte die PET dar. Dabei wurde ein kürzlich entwickelter Tracer (^{68}Ga -Aquibeptrin) gegen das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin mit einem herkömmlichen Tracer (^{68}Ga -Avebetrin) gegen das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin verglichen. Da in vorherigen Studien gezeigt wurde⁵⁰, dass dieser Tracer in der Tumorbildgebung eingesetzt werden kann, weil er eine Darstellung von Angiogeneseprozessen ermöglicht, wurde die Annahme zu Grunde gelegt, dass er auch bei der Detektion der RA in frühen Stadien einen Vorteil gegenüber ^{68}Ga -Avebetrin bietet.

4.2) CIA Maus Modell und klinisches Scoring

Zur Bewertung des Erfolgs der RA Induktion durch das CIA Modell wird standardmäßig das präklinische Scoring der Pfoten verwendet. Es ist kostengünstig und es werden keine Hilfsmittel zur Durchführung benötigt. Verschiedene Studien haben bereits gezeigt, dass das CIA Maus Modell ein effektives Modell ist, um eine erosive Polyarthrititis ähnlich der RA in Versuchstieren zu induzieren.^{21,58} Dabei wird das Immunsystem spezifisch gegenüber Kollagen Typ II getriggert, wodurch viele Eigenschaften der RA nachgeahmt werden. Dazu zählen zum Beispiel die Anwesenheit von Rheumafaktoren und Antikörpern gegen CCP.⁵⁹ Deshalb wird im Mausmodell die durch CIA induzierte Polyarthrititis mit einer RA gleichgesetzt.

Der Zeitpunkt, zu dem die Tiere RA entwickeln, hängt stark von der Wahl des Mausstamms ab.⁶⁰ In den vorliegenden Studien wurden DBA/1 Mäuse verwendet, da sich diese als besonders empfänglich für das CIA Modell erwiesen haben.⁵⁹ Ähnlich wie bei Brand et al. entwickelten auch in der SNR Studie fast alle Tiere klinische Zeichen

einer Arthritis (5/6), jedoch meist erst ab Tag 32.²¹ Solche Schwankungen in Bezug auf den Zeitpunkt der Entstehung und die Ausprägung der Arthritis wurden bereits beschrieben.⁵⁹ Dasselbe CIA Protokoll²¹ hatte in unterschiedlichen Studien zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt.⁶¹

Dekkers et al. haben gezeigt, dass eine Kombinationstherapie aus MTX und Methylprednisolon eine effektive RA Therapie im CIA Modell darstellt.⁶² Standardmäßig wird dabei mit der Therapie zu Beginn der Studie, also kurz nach der Induktion begonnen, so auch in dieser Studie.

4.3) MRT Analyse

In den vergangenen Jahren hat der Stellenwert der MRT für die Diagnosestellung und die Quantifizierung der RA stetig zugenommen, da sie eine hohe anatomische Auflösung von sowohl Weichteilgewebe als auch Knochenstrukturen mit einem hohen Kontrast verbindet. Studien haben gezeigt, dass sie auch in ambivalenten klinischen Situationen hochsensitiv sein kann, und deshalb eine wichtige Bildgebungsmodalität für die Überwachung der Therapie bei RA ist.⁶³⁻⁶⁵ Unter Einsatz adäquater Kontrastmittel ermöglicht sie hochsensitiv die Detektion lokaler Entzündungen wie zum Beispiel Synovitis, weshalb sie sich zum Goldstandard der RA Bildgebung entwickelt hat.^{26,33,66} Dabei werden grundsätzlich Gadolinium-haltige Kontrastmittel eingesetzt, wozu auch Gadofluorine P zählt. Auf Grund seiner Eigenschaften eignet es sich optimal zur Darstellung entzündlicher Prozesse.³⁴⁻³⁷

Auch wenn die MRT in vielerlei Hinsicht anderen Diagnoseverfahren überlegen ist, ist sie vergleichsweise kosten- und zeitintensiv. Die Bewertung der Bilder durch einen Radiologen ist auch unter Anwendung des OMERACT RAMRI Scores untersucherabhängig. Obwohl in der vorliegenden Studie zwei sehr erfahrene Radiologen (>10 Jahre Erfahrung auf diesem Gebiet) die Bilder analysiert haben, wichen die Ergebnisse gering voneinander ab (ICC=0,92). Je weniger Erfahrung der examinierende Radiologe aufweist desto größer werden diese Abweichungen sein. Deshalb werden Verfahren benötigt, die weniger, oder im Optimalfall gar nicht vom Untersucher abhängen. Ein solcher semiautomatischer Ansatz wurde in dieser Studie untersucht. Dabei hängt der erste Schritt, das Einzeichnen der ROIs, vom Untersucher ab, die darauffolgende SNR Analyse wird vom Computer durchgeführt und ist folglich untersuche-

runabhängig. Die Methode bietet weiterhin den Vorteil, dass das Einzeichnen der ROIs kaum von der Erfahrung des Untersuchers abhängt und somit eine objektive Diagnose möglich ist.

Die Analyse des Signal-Rausch-Verhältnisses (SNR) ist in der Wissenschaft weit verbreitet. Die SNR wird häufig verwendet, um die Signalverstärkung durch Kontrastmittel zu messen, und um die Qualität von MR Bildern objektiv zu bewerten.⁶⁷ Deshalb ermöglicht sie den Vergleich von Bildern, die an verschiedenen MR Tomographen erzeugt wurden.^{39,41} Da die SNR eine quantitative Methode darstellt, birgt sie ein hohes Potenzial für automatisierte Bildanalysen.⁴² Ihr Nutzen in Bezug auf automatisierte Bildanalysen von MR Bildern bei RA wurde jedoch noch nicht untersucht. Verschiedene Arbeitsgruppen arbeiten aktuell an der automatischen Segmentierung des Gelenks.⁶⁸⁻⁷⁰ Dieser Ansatz, in Kombination mit der SNR Analyse der automatisch eingezeichneten ROIs, könnte eine vollautomatisierte Diagnosehilfe für RA darstellen.

Unsere Ergebnisse haben gezeigt, dass die SNR-Analyse Zeichen einer Entzündung im Gelenk früher detektieren kann als die alleinige Bewertung der MR Bilder durch einen Radiologen an Hand des OMERACT RAMRI Scores. Zudem ist diese Analyse unabhängig von der Erfahrung des Untersuchers und kann nahezu automatisch durchgeführt werden. Aufgrund der bereits beschriebenen Nachteile der MRT gegenüber anderen Bildgebungsmodalitäten ist sie für ein flächendeckendes RA Screening noch nicht geeignet. Definierte Risikogruppen könnten mit dieser Methode jedoch spezifisch auf RA untersucht werden, um eine frühe Therapie zu ermöglichen.

4.4) Positronen-Emissions-Tomographie

Die PET ermöglicht es, metabolische Prozesse im Körper darzustellen. Des Weiteren ist mit ihrer Hilfe eine sensitive Bildgebung auf molekularer Ebene möglich. Dabei macht sich die FDG-PET zu Nutze, dass ein gesteigerter Glukosemetabolismus zu einer Anreicherung der FDG führt. Diese lokale Signalsteigerung kann gemessen und dreidimensional dargestellt werden. Da Krebszellen einen gesteigerten Energiebedarf haben, findet die FDG-PET vor allem in der Onkologie Anwendung. Allerdings haben Takalkar et al. gezeigt, dass sie auch in der RA Bildgebung das Potential besitzt, eine objektive Diagnose der RA zu ermöglichen und mit ihr der Krankheitsver-

lauf unter Therapie dargestellt werden kann.⁷¹ So konnten Goerres et al. zeigen, dass bereits ein semiquantitatives, rein visuelles Scoring (Werte 0-4) der FDG-Aufnahme durch einen Nuklearmediziner eine hohe Korrelation mit klinischen Symptomen der RA aufweist.⁷² Da die RA sowohl in ihren Anfangsstadien als auch in Remission subklinisch verläuft, ist es wichtig sie auch in diesem Stadium zu detektieren, um entweder eine Therapie einleiten zu können oder einen Therapieerfolg überwachen zu können. Kubota et al. haben gezeigt, dass die Ganzkörper FDG-PET zwischen Patienten mit aktiver RA und solchen in klinischer Remission unterscheiden kann.⁷³ Beckers et al. haben in einer Studie mit 356 Gelenken die Sensitivität von FDG-PET bei der Detektion von entzündlichen Gelenken untersucht. Dabei ergab sich eine Sensitivität von über 90%.⁷⁴ Es wurden in der PET nur Gelenke detektiert, die auch tatsächlich entzündet waren, jedoch konnte nicht zwischen RA und anderen entzündlichen Gelenkerkrankungen unterschieden werden. Auch Ostendorf et al. haben die Spezifität von FDG-PET untersucht und dabei festgestellt, dass eine Unterscheidung zwischen RA und Osteoarthritis durch diese Untersuchung alleine nicht möglich ist.^{63,75} Deshalb werden Verfahren benötigt, die sowohl eine hohe Sensitivität als auch eine hohe Spezifität für RA aufweisen.

Der Ansatz, dafür Integrine als Zielstruktur zu verwenden, existiert schon länger. Bereits in den frühen 90ern wurde das erste RGD Peptid als Tracer für das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin erprobt.⁷⁶ ^{68}Ga -Avebetrin zielt ebenfalls auf den $\alpha_v\beta_3$ -Heterodimer. Dieses Transmembranprotein findet sich vorwiegend in der Plasmamembran von Endo- und Epithelzellen, Osteoklasten, Fibroblasten, Leukozyten und Tumorzellen. Es ist eines der am besten untersuchten Integrine und spielt bei vielen Prozessen eine Rolle. Eine Schlüsselrolle spielt es auch bei der Metastasierung von Tumoren und in der Angiogenese. Aktuell werden $\alpha_v\beta_3$ -Inhibitoren in klinischen Studien untersucht.⁷⁷ Auch in der PET-Bildgebung werden gegen $\alpha_v\beta_3$ gerichtete Kontrastmittel verwendet, um Angiogeneseprozesse darzustellen.⁵⁰ Da die Angiogenese auch bei der RA ein wichtiger Prozess ist und eine Zunahme an Gefäßen mit einer Erhöhung der $\alpha_v\beta_3$ Expression einhergeht, war es ein Ziel unserer Untersuchungen, ob der $\alpha_v\beta_3$ -Integrinspezifische Tracer ^{68}Ga -Avebetrin dazu geeignet ist RA zu detektieren.

Kürzlich wurde mit ^{68}Ga -Aquibeptrin auch ein Tracer gegen den $\alpha_5\beta_1$ -Heterodimer entwickelt.⁷⁸ Das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin ist der primäre Rezeptor für Fibronectin und stimu-

liert vornehmlich die Angiogenese. Es wird hauptsächlich in Chondrozyten und Endothelzellen, aber auch in Tumorzellen exprimiert.⁷⁹ Während der Angiogenese wird es stark hochreguliert, weshalb ein enger Zusammenhang zwischen Angiogenese und $\alpha_5\beta_1$ vermutet wird.^{54,80} Reife Endothelzellen exprimieren $\alpha_5\beta_1$ -Integrine nur in geringem Maße, in den Blutgefäßen von Tumoren hingegen liegt eine große Menge vor.

Deshalb wurden in dieser Studie Tracer gegen das $\alpha_v\beta_3$ - und das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin im Hinblick auf deren Fähigkeit RA zu detektieren miteinander verglichen.

Die IHC Färbung hat gezeigt, dass das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin vor allem in der stark proliferierenden Synovia vorzufinden ist. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die $\alpha_5\beta_1$ -Expression in engem Zusammenhang mit der Entstehung des bei RA typischen Pannus steht. Daher scheint das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin ein relativ spezifischer Marker für RA in Gelenken zu sein, im Gegensatz zum $\alpha_v\beta_3$ -Integrin, dessen Hochregulation in einem weniger engen Zusammenhang mit der Entwicklung der RA steht als vielmehr mit dem Begleitprozess der Angiogenese. Deshalb ist anzunehmen, dass sowohl therapeutische Ansätze als auch Bildgebungsverfahren, die gegen das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin gerichtet sind, weniger anfällig dafür sind unspezifische Prozesse wie die Angiogenese zu detektieren als solche die das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin als Zielstruktur haben.

Die Daten dieser Studie haben gezeigt, dass sowohl das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin als auch das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin zur RA Bildgebung geeignet sind, was zum größten Teil im Einklang mit früheren klinischen und präklinischen Studien ist.⁵² Jedoch zeigen sie auch, dass ^{68}Ga -Aquistiprin dem ^{68}Ga -Avebetrin in diesem Zusammenhang überlegen ist.

Die quantitative Analyse der PET Daten hat ergeben, dass die Baseline Signalintensität für $\alpha_5\beta_1$ etwas unter der von $\alpha_v\beta_3$ liegt, was in der klinischen Anwendung von Vorteil sein kann, da ein geringeres Hintergrundrauschen Hand in Hand mit einer höheren Sensitivität geht und deshalb die Wahrscheinlichkeit erhöht, RA bereits in frühen Stadien zu entdecken.

Außerdem zeigen die vorliegenden PET Daten, dass das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin während der Entstehung der RA früher hochreguliert wird als das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin. Dabei steigt es kontinuierlich an und erreicht höhere Level als das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin. Dieser Effekt ist noch ausgeprägter, wenn man die Signalintensität gegen die entsprechende Baseline normalisiert. Der klinische Verlauf der Arthritis im PET Experiment zeigte einen leich-

ten Anstieg ab der zweiten Woche, welcher sich relativ stabil hielt bis es in der vierten Woche zu einem erneuten Anstieg kam. Das entsprechende PET Signal zeigte jedoch schon in der dritten Woche einen deutlichen Anstieg. Im Gegensatz dazu steigt das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin Signal nicht über das klinische Niveau. Diese Beobachtung unterstützt die Annahme, dass die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET ein Verfahren darstellt, mit dem RA in frühen Stadien detektiert werden kann. Wie bereits oben erwähnt steigt das $\alpha_5\beta_1$ Signal nicht nur früher an, sondern auch deutlich stärker. So erreicht es in Woche 6 nahezu 300% der Baseline Signalintensität, während das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin nur weniger als 200% erreicht. Auch diese Daten zeigen, dass die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET geeigneter für die RA Bildgebung ist als die $\alpha_v\beta_3$ -Integrin PET. Auch wurde die Spezifität der PET für RA gezeigt, da die Signalintensität der Kontrollgruppe die der Baseline nicht überschritt.

Wir haben mit der $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET ein Verfahren etabliert, das verlässlich die Lokalisation arthritischer Foki ermöglicht. In Kombination mit anderen Diagnoseverfahren kann sie die Diagnose der RA erleichtern. Im Gegensatz zu den klassischen Bildgebungsverfahren CR, MRT und US liefert sie nicht nur eine anatomische, sondern auch eine funktionelle Darstellung des Gewebes.

Zudem kann sie auch für das Monitoring einer Therapie mit DMARDs eingesetzt werden, was einen hohen klinischen Nutzen mit sich bringt, da Therapieversager identifiziert werden können und so frühzeitig eine Umstellung der Medikation erfolgen kann. Die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET kann außerdem bei der Therapieplanung einer RSO Anwendung finden, da einzelne von RA befallene Gelenke identifiziert werden können. Da eine erfolgreiche RA Therapie essentiell von der frühen Diagnose der Erkrankung abhängt, kann die PET zu einem besseren Resultat der Therapie beitragen.

4.5) Vergleich mit konventionellem Röntgen, CT, Optischen Bildgebungsverfahren, MSOT und Ultraschall

4.5.1) Konventionelles Röntgen und CT

In der klinischen Routine ist das konventionelle Röntgen nach wie vor die Methode der Wahl für die Diagnose der RA. Sie ist essentieller Bestandteil der ACR/EULAR Klassifikationskriterien für RA.^{17,18} Diese Bildgebungsmodalität kann in fortgeschrittenen Stadien der RA Knochen- und Knorpelschäden verlässlich darstellen.⁸¹ Dabei

zeichnet sie sich durch niedrige Kosten, allgemeine Verfügbarkeit, eine standardisierte Durchführung und folglich eine gute Reproduzierbarkeit aus. In fortgeschrittenen Stadien weist sie außerdem eine hohe Spezifität für RA auf.⁸² Jedoch ist das CT dem CR in der Detektion von Knochenerosionen überlegen.⁸³ Deshalb wird das CT auch als Goldstandard für die Detektion von Knochendefekten angesehen. Ein Nachteil sowohl des CR als auch der CT ist der Einsatz ionisierender Strahlung. Bei der PET wird ebenfalls ionisierende Strahlung eingesetzt, die MRT hingegen arbeitet vollkommen strahlenfrei. Außerdem können sowohl die CT als auch das konventionelle Röntgen Weichteilgewebe nicht ausreichend darstellen. Hierbei ist ihnen die MRT deutlich überlegen.⁸⁴ Deshalb weist das konventionelle Röntgen verglichen mit der MRT eine niedrige Sensitivität vor allem in frühen Stadien der RA auf.⁸⁵⁻⁸⁷ Es kann keine frühen Zeichen der RA wie die alleinige Synovitis nachweisen. Außerdem liegt es in seiner Natur nur eine zweidimensionale Betrachtung des Gelenks zu ermöglichen, während die meisten anderen Bildgebungsverfahren mit Ausnahme des Ultraschalls eine dreidimensionale Bildgebung ermöglichen. Alles in allem ist das konventionelle Röntgen ein günstiges, gut verfügbares und schnelles Bildgebungsverfahren bei RA.⁸¹

4.5.2) Optische Bildgebungsverfahren

Optische Bildgebungsverfahren (Optical Imaging, OI) basieren auf der Visualisierung einer im Nahinfrarotbereich fluoreszierenden Substanz im Organismus. Ursprünglich wurden sie für die mikroskopische Bildgebung entwickelt, allerdings wurden sie kürzlich auch in makroskopischen Geweben getestet. Licht des nahinfraroten Spektrums (ca. 600 - 950 nm) durchdringt im Gegensatz zu sichtbarem Licht Gewebe einige Zentimeter weit. Die fluoreszierenden Substanzen können somit mittels fotografischer oder mikroskopischer Verfahren auch tief im Körper abgebildet werden. Die Fluoreszenzbildgebungsverfahren basieren auf der Detektion von spezifischen Fluoreszenzwellenlängen, welche von Fluorophoren emittiert werden, nachdem diese mit einem Laser einer bestimmten Wellenlänge angeregt wurden. Optische Bildgebungsverfahren wurden bereits sowohl im Mausmodell als auch an Patienten mit RA getestet.^{88,89} Bei der Untersuchung der Hand des Patienten entstehen zweidimensionale Bilder nach der dorsopalmaren Durchleuchtung der Hand mit Licht. Dabei

können sowohl die natürliche Absorption des Gewebes als auch Fluoreszenzsignale gemessen werden. In diesem Zusammenhang weisen vor allem oxygeniertes und desoxygeniertes Blut eine spezifische Absorptionswellenlänge auf.⁹⁰ Mit Hilfe von Rekonstruktionsalgorithmen dient Blut somit als „natürliches Kontrastmittel“.⁶⁶ Da bei Patienten mit RA eine Hyperperfusion der Hand stattfindet, wird Licht vermehrt durch oxygeniertes und desoxygeniertes Blut absorbiert. Zusätzlich können fluoreszierende Kontrastmittel wie Indocyanine Grün (ICG) dazu dienen, den Gewebekontrast zu erhöhen und den Blutfluss in der Hand darzustellen.⁹¹ Im Allgemeinen sind optische Bildgebungsverfahren günstig und zeichnen sich durch eine kurze Akquiszeit der Bilder und einen guten Weichteilkontrast aus. Im Gegensatz zu CR und CT arbeiten die OI Verfahren ohne ionisierende Strahlung. Auf Grund der begrenzten Eindringtiefe von Licht in das Gewebe können OI Verfahren in Abhängigkeit vom eingesetzten Verfahren jedoch nur Gewebe mit einer Dicke von wenigen Millimetern darstellen. Außerdem ist mit planaren OI Systemen keine drei- sondern nur eine zweidimensionale Darstellung möglich, wodurch die Analyse anatomischer Strukturen eingeschränkt ist. Mit der Fluorescence Molecular Tomography (FMT) wurde ein OI System entwickelt, bei dem durch Bildrekonstruktion eine dreidimensionale Darstellung des Gewebes möglich ist. Bei diesem fluoreszenzbasierten OI System rotiert ein Laser um das Objekt, ähnlich wie bei der CT. Mohajerani et al. haben gezeigt, dass dieses Verfahren zwischen entzündeten und nicht entzündeten Gelenken differenzieren kann.⁹² In der Detektion von Synovitis waren jedoch alle OI Systeme der MRT deutlich unterlegen.⁹³

4.5.3) Multispektrale Optoakustische Tomographie

Die Multispektrale Optoakustische Tomographie (MSOT) oder auch Funktionelle Photoakustische Tomographie (FPAT) basiert auf dem optoakustischen Effekt. Das Versuchsgewebe wird dabei mit hochenergetischen Laserstrahlen einer bestimmten Frequenz bestrahlt, was zur Erwärmung und Ausdehnung des Gewebes führt. Beim Zusammenziehen des Gewebes wird ein akustisches Signal ausgesendet, welches dann über geeignete Detektoren aufgezeichnet wird. Dadurch kombiniert die MSOT eine hohe Eindringtiefe mit hohem bildgebendem Kontrast. Da unterschiedliche Gewebe unterschiedliche Absorptionsspektren aufweisen, kann zwischen ihnen unter-

schieden werden.⁹⁴ Moderne MSOT Systeme verwenden mehrere zirkulär um das Versuchsobjekt angeordnete, bezüglich der Wellenlänge verstellbare Laser, um eine gleichmäßige Ausleuchtung des Objekts zu erreichen. Das resultierende Ultraschallsignal kann dann durch ebenfalls zirkulär angeordnete Detektoren erfasst werden, woraus anatomische Bilder rekonstruiert werden können.⁹⁵ Zusätzlich können Kontrastmittel wie ICG eingesetzt werden. Dabei werden nicht seine Eigenschaften als Fluorophor genutzt, sondern die spezifische Absorption im Nah-Infrarot-Spektrum. Durch die Kombination von ICG mit einem Tracer für eine spezifische Zielstruktur kann das anatomische Bild um eine Darstellung funktioneller Prozesse ähnlich wie bei der PET erweitert werden.⁹⁶ Im Gegensatz zur PET arbeitet die MSOT jedoch strahlenfrei. Rajian et al. haben untersucht, ob MSOT und MikroPET Angiogenese-prozesse im RA Mausmodell detektieren können. Dabei kamen sie zu dem Schluss, dass die MikroPET dem MSOT überlegen ist, da die MSOT Ergebnisse eine sehr hohe Varianz aufwiesen.⁹⁷ Bézière et al. haben untersucht, ob MSOT für die Diagnose von RA in frühen Stadien geeignet ist und stellten fest, dass sich Weichteilgewebe mit der MSOT ähnlich gut darstellen lässt wie mit der MRT. Im Gegensatz zur MSOT kann die MRT jedoch verlässlich geringste Knochenschäden und Knochenödeme darstellen.⁸⁹ Deshalb wird die MRT nach wie vor als Goldstandard in der RA Bildgebung betrachtet.⁶⁶

4.5.4) Ultraschall

Die Ultraschalluntersuchung stellt eine weitere Möglichkeit dar, RA-typische Gelenksveränderungen zu detektieren. Die Untersuchung ist dabei kostengünstig und fast überall auf der Welt verfügbar. Zudem erlaubt sie eine strahlenfreie Untersuchung. Anders als bei anderen Bildgebungsmodalitäten, bei denen die Bilder erst nach der Untersuchung beurteilt werden, beurteilt der Untersucher die Gelenke während der Untersuchung und kann so gegebenenfalls weitere Gelenke untersuchen. Zwar lassen sich mit dem US Weichteilgewebe darstellen, eine Beurteilung der knöchernen Strukturen und die Bewertung von Knochenödemen ist jedoch quasi unmöglich. Außerdem ist die US Untersuchung stark untersucherabhängig und weist eine lange Lernkurve auf.⁹⁸ Die MRT hingegen erlaubt eine Beurteilung der Knochenstrukturen und -ödeme. Dafür ist sie anfällig gegenüber Bewegungsartefakten und

weist eine geringere Auflösung auf als der US. Zudem bestehen bei manchen Patienten Kontraindikationen gegen das MR Kontrastmittel und es muss auf US und CR zurückgegriffen werden.

4.5.5) Hybride PET/CT und PET/MRT

Neuartige Bildgebungssysteme versprechen durch die Kombination der PET mit der CT oder der MRT sowohl eine hohe anatomische Auflösung als auch eine funktionelle Darstellung des Zielgewebes.⁴⁴ Die ersten klinischen Studien zur FDG-PET/CT bei RA wurden 1995 durchgeführt und zeigten eine gesteigerte FDG Aufnahme in entzündeten Gelenken.⁹⁹ Seitdem wurde die PET/CT weiterentwickelt und ermöglicht inzwischen sogar eine Unterscheidung zwischen RA und anderen entzündlichen Gelenkerkrankungen.¹⁰⁰ Vijayant et al. haben gezeigt, dass sich die FDG-PET/CT dazu eignet, den Therapieerfolg bei RA zu überwachen.¹⁰¹

PET/MRT ist zwar weniger weit verfügbar als PET/CT und geht mit einer längeren Akquisezeit (20-60 Minuten statt 3-5 Minuten) einher. Allerdings ist sie weniger strahlenbelastend. Die Strahlenreduktion liegt dabei bei bis zu 80%, was vor allem für Kinder mit Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis relevant ist.¹⁰²

Bisher wurden hybride Methoden jedoch nur für die FDG-PET getestet. Eine Kombination von $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET mit der MRT oder der CT könnte zu einer höheren Sensitivität und Spezifität bei der Detektion von RA führen als der Einsatz der unspezifischen FDG-PET.

4.6) Limitationen

Neben den spezifischen Nachteilen, die die MRT und die PET inherent mit sich bringen, muss noch auf weitere Limitationen der beiden Studien eingegangen werden.

In der SNR Studie wurde die Therapiegruppe von Beginn an mit MTX und Methylprednisolon behandelt. Dies entspricht vermutlich nicht der klinischen Realität, da eine Therapie meist erst nach dem Auftreten klinischer Symptome und subjektiver Beschwerden und der folgenden Diagnosestellung der RA eingeleitet wird. Im Mausmodell ist es jedoch nicht möglich, subjektive Schmerzen der Tiere und klinische Symptome verlässlich zu erfassen. Dies gelingt meist erst nach Schwellung des jeweiligen Gelenks. Deshalb wurde in der vorliegenden Studie die Therapie bereits an Tag 1 nach CIA Induktion begonnen. Da das CIA Modell über eine Stimulation des

Immunsystems gegenüber Kollagen Typ II wirkt und MTX und Methylprednisolon das Immunsystem hemmen, ist anzunehmen, dass das CIA Modell durch die Therapie bereits in der Entwicklung gehemmt wird, weshalb sich eine RA in der RA+Th Gruppe gar nicht erst manifestieren kann.

Da das Tiermodell von Brand et al. in unterschiedlichen Studien zu verschiedenen Zeitpunkten eine RA Entwicklung in den Versuchstieren bewirkt hat und auch das Maximum der RA zu unterschiedlichen Zeitpunkten erreicht wurde, können wir auch für die vorliegenden Studien nicht mit abschließender Sicherheit sagen, dass an Tag 42 die maximale Ausprägung der RA erreicht ist.^{21,61} Da jedoch in der SNR Studie ab Tag 38 nur noch ein sehr geringer Anstieg der RA beobachtet werden konnte und sich ab diesem Zeitpunkt quasi ein Plateau gebildet hatte, ist davon auszugehen, dass das Maximum der RA an Tag 42 erreicht ist. Da die PET Studie über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurde, ist in diesem Fall erst recht davon auszugehen, dass die maximale RA Ausprägung am Ende der Studie erreicht wurde.

Eine weitere Limitation unserer Studien ist die geringe anatomische Größe der Mauspfoten. Deshalb war es unmöglich die ROIs in den MRT Aufnahmen nur um die Synovia zu ziehen, weshalb das umliegende Gewebe inkludiert werden musste. Deshalb war die SNR Analyse nicht rein spezifisch für die Synovia. Da allerdings beide Kontrollgruppen der SNR Studie keine Veränderungen der SI oder der SNR zeigten, kann ausgeschlossen werden, dass Knochen- und Weichteilgewebe in den ROIs zu falsch positiven Ergebnissen bezüglich der Synovitis führte. Auch wenn die SNR Analyse größtenteils untersucherunabhängig ist, müssen die ROIs per Hand eingezeichnet werden, weshalb dieser Schritt vom Untersucher abhängt. Außerdem ist die SNR Analyse von MR Bildern nicht spezifisch für RA, sondern zeigt lediglich eine gesteigerte Kontrastmittelaufnahme. Dasselbe gilt für die PET. Zwar können Angiogenese-prozesse durch eine vermehrte Integrinexpression dargestellt werden, jedoch sind diese nicht spezifisch für RA. Deshalb sollten diese Bildgebungsmodalitäten keinesfalls alleine zur Diagnose der RA eingesetzt werden, sondern diese immer in Zusammenschau der Befunde gestellt werden.

4.7) Fazit

Die vorliegenden Studien haben sowohl für die PET als auch für die kontrastmittelgestützte MRT vielversprechende Ergebnisse gezeigt. Beide Verfahren ermöglichen es im Mausmodell für RA typische entzündliche Prozesse in Gelenken in frühen Stadien der Erkrankung zu detektieren. Dabei ist die SNR Analyse der MR Bilder sowohl der Analyse durch erfahrene Radiologen an Hand des OMERACT RAMRI Scores als auch dem klinischen Scoring überlegen. Zudem ist sie deutlich weniger untersucherabhängig und stellt eine Vorstufe zur Vollautomatisierung dar.

Bei der PET weist die $\alpha_5\beta_1$ -Integrin PET sowohl eine höhere Spezifität als auch eine höhere Sensitivität als die $\alpha_v\beta_3$ -Integrin PET auf. Die Signalintensitäten des ^{68}Ga -Aquibepin ($\alpha_5\beta_1$ -Integrin) stiegen deutlich früher und stärker an als die des ^{68}Ga -Avebetrin ($\alpha_v\beta_3$ -Integrin). Das $\alpha_5\beta_1$ Integrin wird vornehmlich auf Endothelzellen der proliferierenden Synovia vorgefunden, was darauf hindeutet, dass die Expression des Integrins in engem Zusammenhang mit der Entwicklung der RA steht.

Insgesamt sind beide Ansätze sehr vielversprechend, eine frühere Diagnose der RA und somit einen früheren Beginn der Therapie zu ermöglichen.

5.) Zusammenfassung

Mit einer Prävalenz von 1-2% ist die RA die häufigste Form der Arthritis. Es stehen heutzutage verschiedene medikamentöse und nicht-medikamentöse Behandlungsoptionen zur Verfügung. Um jedoch eine effektive Therapie zu gewährleisten, muss diese möglichst früh im Verlauf der Erkrankung eingeleitet werden, weshalb eine Diagnose im Frühstadium von äußerster Wichtigkeit ist.

In dieser Arbeit wurden im CIA Mausmodell zwei Bildgebungsverfahren auf ihre Fähigkeit hin untersucht, eine solche frühe Diagnose der RA zu ermöglichen:

Zum einen wurden kontrastmittelgestützte MRT Bilder durch Radiologen an Hand des OMERACT RAMRI Scores und mittels SNR Analyse ausgewertet und mit dem klinischen Score der Tiere verglichen. Dabei zeigte sich, dass beide Methoden eine Diagnose der RA in Stadien, zu denen noch keine beziehungsweise wenig klinischen Zeichen vorhanden waren, ermöglichten. Die SNR Analyse war der Analyse an Hand des OMERACT RAMRI Scores in dieser Hinsicht überlegen und zudem weniger untersucherabhängig.

Zum anderen wurden PET Bilder mit dem für das $\alpha_v\beta_3$ -Integrin spezifischen herkömmlichen Tracer ^{68}Ga -Avebetrin beziehungsweise dem für das $\alpha_5\beta_1$ -Integrin spezifischen neuen Tracer ^{68}Ga -Aquibeptrin analysiert und mit MR Daten verglichen. Dies zeigte im Verlauf der RA einen früheren und stärkeren Anstieg der Signalintensität für ^{68}Ga -Aquibeptrin als für ^{68}Ga -Avebetrin. Dies lässt vermuten, dass ^{68}Ga -Aquibeptrin sensitiver für eine Frühdiagnose der RA ist als ^{68}Ga -Avebetrin. Zudem lassen die histologischen Verteilungsmuster des $\alpha_5\beta_1$ -Integrins beziehungsweise des $\alpha_v\beta_3$ -Integrins einen engeren Bezug des ersteren zu RA spezifischen Vorgängen und somit eine höhere Spezifität vermuten.

Alles in allem eignen sich beide Verfahren zur Unterstützung der Diagnosestellung der RA in frühen Stadien.

6.) Literaturverzeichnis

1. Alamanos, Y., Voulgari, P.V. & Drosos, A.A. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum* **36**, 182-188 (2006).
2. Chopra, A. & Abdel-Nasser, A. Epidemiology of rheumatic musculoskeletal disorders in the developing world. *Best Pract Res Clin Rheumatol* **22**, 583-604 (2008).
3. Cooper, N.J. Economic burden of rheumatoid arthritis: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)* **39**, 28-33 (2000).
4. Osiri, M., Maetzel, A. & Tugwell, P. The economic burden of rheumatoid arthritis in a developing nation: results from a one-year prospective cohort study in Thailand. *J Rheumatol* **34**, 57-63 (2007).
5. Kvien, T.K. Epidemiology and burden of illness of rheumatoid arthritis. *Pharmacoeconomics* **22**, 1-12 (2004).
6. Rudan, I., *et al.* Prevalence of rheumatoid arthritis in low- and middle-income countries: A systematic review and analysis. *J Glob Health* **5**, 010409 (2015).
7. Arastéh, K. *Duale Reihe Innere Medizin*, (Thieme, 2018).
8. Lee, D.M. & Weinblatt, M.E. Rheumatoid arthritis. *Lancet* **358**, 903-911 (2001).
9. Cush, J.J.W., M. E.; Kavanaugh, A. Rheumatoid Arthritis: Early Diagnosis and Treatment. *Professional Communications* (2010).
10. Greten, H.G., T.; Rinninger, F.; Amling, M.; Andrassy, K. *Innere Medizin*, (Thieme, 2010).
11. Sieper, J. How to define remission in ankylosing spondylitis? *Ann Rheum Dis* **71 Suppl 2**, i93-95 (2012).
12. Chen, D.Y., *et al.* Dosing down and then discontinuing biologic therapy in rheumatoid arthritis: a review of the literature. *Int J Rheum Dis* **21**, 362-372 (2018).
13. Burmester, G.R. & Pope, J.E. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. *Lancet* **389**, 2338-2348 (2017).
14. Nogueira, E., Gomes, A., Preto, A. & Cavaco-Paulo, A. Update on Therapeutic Approaches for Rheumatoid Arthritis. *Curr Med Chem* **23**, 2190-2203 (2016).
15. Wu, Y., *et al.* Early detection of rheumatoid arthritis in rats and humans with ^{99m}Tc-3PRGD2 scintigraphy: imaging synovial neoangiogenesis. *Oncotarget* **8**, 5753-5760 (2017).
16. Zeman, M.N. & Scott, P.J. Current imaging strategies in rheumatoid arthritis. *Am J Nucl Med Mol Imaging* **2**, 174-220 (2012).
17. Aletaha, D., *et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* **62**, 2569-2581 (2010).
18. Arnett, F.C., *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **31**, 315-324 (1988).

19. Sommer, O.J., *et al.* Rheumatoid arthritis: a practical guide to state-of-the-art imaging, image interpretation, and clinical implications. *Radiographics* **25**, 381-398 (2005).
20. Rizzo, C., *et al.* Ultrasound in rheumatoid arthritis. *Med Ultrason* **15**, 199-208 (2013).
21. Brand, D.D., Latham, K.A. & Rosloniec, E.F. Collagen-induced arthritis. *Nat Protoc* **2**, 1269-1275 (2007).
22. Sugimoto, H., Takeda, A. & Hyodoh, K. Early-stage rheumatoid arthritis: prospective study of the effectiveness of MR imaging for diagnosis. *Radiology* **216**, 569-575 (2000).
23. Sugimoto, H., Takeda, A., Masuyama, J. & Furuse, M. Early-stage rheumatoid arthritis: diagnostic accuracy of MR imaging. *Radiology* **198**, 185-192 (1996).
24. McQueen, F.M. The use of MRI in early RA. *Rheumatology (Oxford)* **47**, 1597-1599 (2008).
25. Ostergaard, M., *et al.* OMERACT Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Studies. Core set of MRI acquisitions, joint pathology definitions, and the OMERACT RA-MRI scoring system. *J Rheumatol* **30**, 1385-1386 (2003).
26. Farrant, J.M., O'Connor, P.J. & Grainger, A.J. Advanced imaging in rheumatoid arthritis. Part 1: synovitis. *Skeletal Radiol* **36**, 269-279 (2007).
27. Brown, A.K., *et al.* Presence of significant synovitis in rheumatoid arthritis patients with disease-modifying antirheumatic drug-induced clinical remission: evidence from an imaging study may explain structural progression. *Arthritis Rheum* **54**, 3761-3773 (2006).
28. Ostergaard, M., Dohn, U.M., Ejbjerg, B.J. & McQueen, F.M. Ultrasonography and magnetic resonance imaging in early rheumatoid arthritis: recent advances. *Curr Rheumatol Rep* **8**, 378-385 (2006).
29. Boutry, N., *et al.* Magnetic resonance imaging appearance of the hands and feet in patients with early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* **30**, 671-679 (2003).
30. Narvaez, J.A., Narvaez, J., De Lama, E. & De Albert, M. MR imaging of early rheumatoid arthritis. *Radiographics* **30**, 143-163; discussion 163-145 (2010).
31. Klarlund, M., Ostergaard, M., Rostrup, E., Skjodt, H. & Lorenzen, I. Dynamic magnetic resonance imaging of the metacarpophalangeal joints in rheumatoid arthritis, early unclassified polyarthritis, and healthy controls. *Scand J Rheumatol* **29**, 108-115 (2000).
32. McQueen, F.M., *et al.* Magnetic resonance imaging of the wrist in early rheumatoid arthritis reveals a high prevalence of erosions at four months after symptom onset. *Ann Rheum Dis* **57**, 350-356 (1998).
33. Ostergaard, M. & Ejbjerg, B. Magnetic resonance imaging of the synovium in rheumatoid arthritis. *Semin Musculoskelet Radiol* **8**, 287-299 (2004).
34. Henning, T.D., *et al.* Cell labeling with the positive MR contrast agent Gadofluorine M. *Eur Radiol* **17**, 1226-1234 (2007).
35. Raatschen, H.J., *et al.* MRI tumor characterization using Gd-GlyMe-DOTA-perfluorooctyl-mannose-conjugate (Gadofluorine M), a protein-avid contrast agent. *Contrast Media Mol Imaging* **1**, 113-120 (2006).

36. Barkhausen, J., Ebert, W., Heyer, C., Debatin, J.F. & Weinmann, H.J. Detection of atherosclerotic plaque with Gadofluorine-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* **108**, 605-609 (2003).
37. Cho, H.R., *et al.* Magnetic resonance imaging of the pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats: Gadofluorine P and Gd-DOTA. *World J Gastroenterol* **21**, 5831-5842 (2015).
38. Kiryu, S., *et al.* Interstitial MR lymphography in mice: comparative study with gadofluorine 8, gadofluorine M, and gadofluorine P. *Magn Reson Med Sci* **11**, 99-107 (2012).
39. Redpath, T.W. Signal-to-noise ratio in MRI. *Br J Radiol* **71**, 704-707 (1998).
40. Welvaert, M. & Rosseel, Y. On the definition of signal-to-noise ratio and contrast-to-noise ratio for fMRI data. *PLoS One* **8**, e77089 (2013).
41. Dietrich, O., Raya, J.G., Reeder, S.B., Reiser, M.F. & Schoenberg, S.O. Measurement of signal-to-noise ratios in MR images: influence of multichannel coils, parallel imaging, and reconstruction filters. *J Magn Reson Imaging* **26**, 375-385 (2007).
42. Robson, P.M., *et al.* Comprehensive quantification of signal-to-noise ratio and g-factor for image-based and k-space-based parallel imaging reconstructions. *Magn Reson Med* **60**, 895-907 (2008).
43. Schicha, H.S., O. *Nuklearmedizin - Basiswissen und klinische Anwendung*, (Schattauer, 2007).
44. Kubota, K., *et al.* FDG PET for rheumatoid arthritis: basic considerations and whole-body PET/CT. *Ann N Y Acad Sci* **1228**, 29-38 (2011).
45. Yamashita, H., Kubota, K. & Mimori, A. Clinical value of whole-body PET/CT in patients with active rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* **16**, 423 (2014).
46. Marrelli, A., *et al.* Angiogenesis in rheumatoid arthritis: a disease specific process or a common response to chronic inflammation? *Autoimmun Rev* **10**, 595-598 (2011).
47. Paleolog, E.M. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* **4 Suppl 3**, S81-90 (2002).
48. Lowin, T. & Straub, R.H. Integrins and their ligands in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* **13**, 244 (2011).
49. Zhu, Z., *et al.* Evaluation of synovial angiogenesis in patients with rheumatoid arthritis using (6)(8)Ga-PRGD2 PET/CT: a prospective proof-of-concept cohort study. *Ann Rheum Dis* **73**, 1269-1272 (2014).
50. Notni, J., *et al.* Complementary, Selective PET Imaging of Integrin Subtypes alpha5beta1 and alphavbeta3 Using 68Ga-Aquibepirin and 68Ga-Avebetrin. *J Nucl Med* **57**, 460-466 (2016).
51. Notni, J., *et al.* Variation of Specific Activities of 68Ga-Aquibepirin and 68Ga-Avebetrin Enables Selective PET Imaging of Different Expression Levels of Integrins alpha5beta1 and alphavbeta3. *J Nucl Med* **57**, 1618-1624 (2016).
52. Schottelius, M., Laufer, B., Kessler, H. & Wester, H.J. Ligands for mapping alphavbeta3-integrin expression in vivo. *Acc Chem Res* **42**, 969-980 (2009).
53. Ostergaard, M., *et al.* An introduction to the EULAR-OMERACT rheumatoid arthritis MRI reference image atlas. *Ann Rheum Dis* **64 Suppl 1**, i3-7 (2005).

54. Tanjore, H., Zeisberg, E.M., Gerami-Naini, B. & Kalluri, R. Beta1 integrin expression on endothelial cells is required for angiogenesis but not for vasculogenesis. *Dev Dyn* **237**, 75-82 (2008).
55. Sanchez-Crespo, A., Andreo, P. & Larsson, S.A. Positron flight in human tissues and its influence on PET image spatial resolution. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **31**, 44-51 (2004).
56. Gassert, F.T., *et al.* SNR analysis of contrast-enhanced MR imaging for early detection of rheumatoid arthritis. *PLoS One* **14**, e0213082 (2019).
57. Notni, J., *et al.* In vivo imaging of early stages of rheumatoid arthritis by alpha5beta1-integrin-targeted positron emission tomography. *EJNMMI Res* **9**, 87 (2019).
58. Holmdahl, R., Jansson, L., Larsson, E., Rubin, K. & Klareskog, L. Homologous type II collagen induces chronic and progressive arthritis in mice. *Arthritis Rheum* **29**, 106-113 (1986).
59. Schurgers, E., Billiau, A. & Matthys, P. Collagen-induced arthritis as an animal model for rheumatoid arthritis: focus on interferon-gamma. *J Interferon Cytokine Res* **31**, 917-926 (2011).
60. Zhao, X.X., Bi, Y., Yin, X.Y. & Min, R. Suppression of collagen-induced arthritis by lipopolysaccharide in DBA/1 mice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **20**, 441-446 (2016).
61. Nandakumar, K.S. & Holmdahl, R. Collagen antibody induced arthritis. *Methods Mol Med* **136**, 215-223 (2007).
62. Dekkers, J.S., Schoones, J.W., Huizinga, T.W., Toes, R.E. & van der Helm-van Mil, A.H. Possibilities for preventive treatment in rheumatoid arthritis? Lessons from experimental animal models of arthritis: a systematic literature review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis* **76**, 458-467 (2017).
63. Colebatch, A.N., *et al.* EULAR recommendations for the use of imaging of the joints in the clinical management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* **72**, 804-814 (2013).
64. Axelsen, M.B., *et al.* A treat-to-target strategy with methotrexate and intra-articular triamcinolone with or without adalimumab effectively reduces MRI synovitis, osteitis and tenosynovitis and halts structural damage progression in early rheumatoid arthritis: results from the OPERA randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis* **74**, 867-875 (2015).
65. Conaghan, P.G., *et al.* Comparing the effects of tofacitinib, methotrexate and the combination, on bone marrow oedema, synovitis and bone erosion in methotrexate-naive, early active rheumatoid arthritis: results of an exploratory randomised MRI study incorporating semiquantitative and quantitative techniques. *Ann Rheum Dis* **75**, 1024-1033 (2016).
66. McQueen, F.M. MRI in rheumatoid arthritis: a useful tool for the clinician? *Postgrad Med J* **90**, 332-339 (2014).
67. Erdogmus, D.L., E. G.; Yan, R.; Principe, J. C.; Fitzsimmons J. R. Measuring the signal-to-noise ratio in magnetic resonance imaging: a caveat. *Signal Processing* **84**, 1035-1040 (2004).
68. Tameem, H.Z. & Sinha, U.S. Automated image processing and analysis of cartilage MRI: enabling technology for data mining applied to osteoarthritis. *AIP Conf Proc* **953**, 262-276 (2007).

69. Piplani, M.A., Disler, D.G., McCauley, T.R., Holmes, T.J. & Cousins, J.P. Articular cartilage volume in the knee: semiautomated determination from three-dimensional reformations of MR images. *Radiology* **198**, 855-859 (1996).
70. Peterfy, C.G., *et al.* Quantification of articular cartilage in the knee with pulsed saturation transfer subtraction and fat-suppressed MR imaging: optimization and validation. *Radiology* **192**, 485-491 (1994).
71. Takalkar, A.M., Khandelwal, A., Lokitz, S., Lilien, D.L. & Stabin, M.G. 18F-FDG PET in pregnancy and fetal radiation dose estimates. *J Nucl Med* **52**, 1035-1040 (2011).
72. Goerres, G.W., *et al.* F-18 FDG whole-body PET for the assessment of disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Nucl Med* **31**, 386-390 (2006).
73. Kubota, K., *et al.* Whole-body FDG-PET/CT on rheumatoid arthritis of large joints. *Ann Nucl Med* **23**, 783-791 (2009).
74. Beckers, C., *et al.* Assessment of disease activity in rheumatoid arthritis with (18)F-FDG PET. *J Nucl Med* **45**, 956-964 (2004).
75. Ostendorf, B., *et al.* Early detection of bony alterations in rheumatoid and erosive arthritis of finger joints with high-resolution single photon emission computed tomography, and differentiation between them. *Skeletal Radiol* **39**, 55-61 (2010).
76. Haubner, R., Maschauer, S. & Prante, O. PET radiopharmaceuticals for imaging integrin expression: tracers in clinical studies and recent developments. *Biomed Res Int* **2014**, 871609 (2014).
77. Raab-Westphal, S., Marshall, J.F. & Goodman, S.L. Integrins as Therapeutic Targets: Successes and Cancers. *Cancers (Basel)* **9**(2017).
78. Notni, J., Pohle, K. & Wester, H.J. Be spoilt for choice with radiolabelled RGD peptides: preclinical evaluation of (6)(8)Ga-TRAP(RGD)(3). *Nucl Med Biol* **40**, 33-41 (2013).
79. Schaffner, F., Ray, A.M. & Dontenwill, M. Integrin alpha5beta1, the Fibronectin Receptor, as a Pertinent Therapeutic Target in Solid Tumors. *Cancers (Basel)* **5**, 27-47 (2013).
80. Kim, S., Bell, K., Mousa, S.A. & Varner, J.A. Regulation of angiogenesis in vivo by ligation of integrin alpha5beta1 with the central cell-binding domain of fibronectin. *Am J Pathol* **156**, 1345-1362 (2000).
81. Llopis, E., Kroon, H.M., Acosta, J. & Bloem, J.L. Conventional Radiology in Rheumatoid Arthritis. *Radiol Clin North Am* **55**, 917-941 (2017).
82. Salaffi, F. & Carotti, M. Interobserver variation in quantitative analysis of hand radiographs in rheumatoid arthritis: comparison of 3 different reading procedures. *J Rheumatol* **24**, 2055-2056 (1997).
83. Salaffi, F., *et al.* Validity of a computer-assisted manual segmentation software to quantify wrist erosion volume using computed tomography scans in rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord* **14**, 265 (2013).
84. Salaffi, F.C., M.; Di Carlo, M. Conventional radiography in rheumatoid arthritis: new scientific insights and practical application . *Int J Clin Exp Med* (2016).

85. Backhaus, M., *et al.* Arthritis of the finger joints: a comprehensive approach comparing conventional radiography, scintigraphy, ultrasound, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum* **42**, 1232-1245 (1999).
86. Klarlund, M., *et al.* Magnetic resonance imaging, radiography, and scintigraphy of the finger joints: one year follow up of patients with early arthritis. The TIRA Group. *Ann Rheum Dis* **59**, 521-528 (2000).
87. Conaghan, P.G., *et al.* Elucidation of the relationship between synovitis and bone damage: a randomized magnetic resonance imaging study of individual joints in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **48**, 64-71 (2003).
88. Vonnemann, J., *et al.* Polyglycerolsulfate functionalized gold nanorods as optoacoustic signal nanoamplifiers for in vivo bioimaging of rheumatoid arthritis. *Theranostics* **4**, 629-641 (2014).
89. Beziere, N., *et al.* Optoacoustic imaging and staging of inflammation in a murine model of arthritis. *Arthritis Rheumatol* **66**, 2071-2078 (2014).
90. Muller, J., Wunder, A. & Licha, K. Optical imaging. *Recent Results Cancer Res* **187**, 221-246 (2013).
91. Meier, R., *et al.* Indocyanine green-enhanced imaging of antigen-induced arthritis with an integrated optical imaging/radiography system. *Arthritis Rheum* **62**, 2322-2327 (2010).
92. Mohajerani, P., *et al.* Fluorescence-aided tomographic imaging of synovitis in the human finger. *Radiology* **272**, 865-874 (2014).
93. Meier, R., *et al.* Detection of synovitis in the hands of patients with rheumatologic disorders: diagnostic performance of optical imaging in comparison with magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum* **64**, 2489-2498 (2012).
94. Ntziachristos, V. & Razansky, D. Molecular imaging by means of multispectral optoacoustic tomography (MSOT). *Chem Rev* **110**, 2783-2794 (2010).
95. Ma, R., Taruttis, A., Ntziachristos, V. & Razansky, D. Multispectral optoacoustic tomography (MSOT) scanner for whole-body small animal imaging. *Opt Express* **17**, 21414-21426 (2009).
96. Herzog, E., *et al.* Optical imaging of cancer heterogeneity with multispectral optoacoustic tomography. *Radiology* **263**, 461-468 (2012).
97. Rajian, J.R., Shao, X., Chamberland, D.L. & Wang, X. Characterization and treatment monitoring of inflammatory arthritis by photoacoustic imaging: a study on adjuvant-induced arthritis rat model. *Biomed Opt Express* **4**, 900-908 (2013).
98. Rowbotham, E.L. & Grainger, A.J. Rheumatoid arthritis: ultrasound versus MRI. *AJR Am J Roentgenol* **197**, 541-546 (2011).
99. Palmer, W.E., *et al.* Quantification of inflammation in the wrist with gadolinium-enhanced MR imaging and PET with 2-[F-18]-fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Radiology* **196**, 647-655 (1995).
100. Okabe, T., *et al.* F-18 FDG uptake patterns and disease activity of collagen vascular diseases-associated arthritis. *Clin Nucl Med* **36**, 350-354 (2011).
101. Vijayant, V., Sarma, M., Aurangabadkar, H., Bichile, L. & Basu, S. Potential of (18)F-FDG-PET as a valuable adjunct to clinical and response assessment in

- rheumatoid arthritis and seronegative spondyloarthropathies. *World J Radiol* **4**, 462-468 (2012).
102. Hirsch, F.W., *et al.* PET/MR in children. Initial clinical experience in paediatric oncology using an integrated PET/MR scanner. *Pediatr Radiol* **43**, 860-875 (2013).

7.) Anhang

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Pathologie der RA

Abb. 2: Zusammensetzung der Integrinunterformen

Abb. 3: Zeitlicher Ablauf der SNR Studie

Abb. 4: Zeitlicher Ablauf der PET Studie

Danksagung

Ich danke ganz herzlich Herrn Prof. Dr. Reinhard Meier und Herrn Prof. Dr. Ernst Rummeny, Leiter des Instituts für diagnostische und interventionelle Radiologie am Klinikum Rechts der Isar, für die Überlassung dieses interessanten Themas, sowie die stetige Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Melanie Kimm nicht nur für ihre stets bereitwillige und engagierte Unterstützung bei der Vermittlung des theoretischen Hintergrunds und der praktischen Durchführung meiner Arbeit, sondern auch für ein stets geduldiges Ohr und viele wertvolle Ratschläge.

Ich danke auch ganz herzlich Herrn Prof. Dr. Moritz Wildgruber für viele Ratschläge und Anregungen und ein immer offenes Ohr.

Außerdem möchte ich mich bei Sybille Reder, Markus Mittelhäuser und Marco Lehmann für die Unterstützung bei der Durchführung der PET und bei Katja Steiger, Olga Seelbach und Marion Mielke für die immunhistologische Aufarbeitung der Präparate bedanken. Außerdem bedanke ich mich bei Irina Eskina für ihre Unterstützung bei der Anfertigung der histologischen Präparate und bei Geoff Topping für die gemeinsame Durchführung der MRT Aufnahmen. Peter Sommer danke ich für die Einführung in das Thema und das Unterrichten im Mausmodell.

Am dankbarsten bin ich jedoch meinen Eltern Katharina und Tilman und meinen Brüdern Felix, Philipp und Julius für ihre uneingeschränkte Unterstützung und ihren vollkommenen Rückhalt.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, Florian Tilman Gassert, dass ich meine Doktorarbeit „Multimodale Bildgebung zur Früherkennung von rheumatoider Arthritis“ selbständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe und, dass ich alle von anderen Autoren wörtlich übernommenen Stellen wie auch die sich an die Gedankengänge anderer Autoren enganlegenden Ausführungen meiner Arbeit besonders gekennzeichnet und die Quellen zitiert habe. Die bildgebenden Untersuchungen dieser Studie und deren Auswertung wurden von mir eigenständig durchgeführt.

München, den

Florian Tilman Gassert

Publikationen

Florian T. Gassert, Felix G. Gassert, Geoffrey J. Topping, Ernst J. Rummeny, Moritz Wildgruber, Reinhard Meier, Melanie A. Kimm
SNR analysis of contrast- enhanced MR imaging for early detection of rheumatoid arthritis
PLOS ONE | DOI: 10.1371/journal.pone.0213082

Johannes Notni[#], **Florian T. Gassert[#] (contributed equally)**, Katja Steiger, Peter Sommer, Wilko Weichert, Ernst J. Rummeny, Markus Schwaiger, Horst Kessler, Melanie A. Kimm, Reinhard Meier
In vivo imaging of early stages of rheumatoid arthritis by $\alpha 5\beta 1$ -integrin-targeted positron emission tomography
EJNMMI Res. | DOI: 10.1186/s13550-019-0541-6