

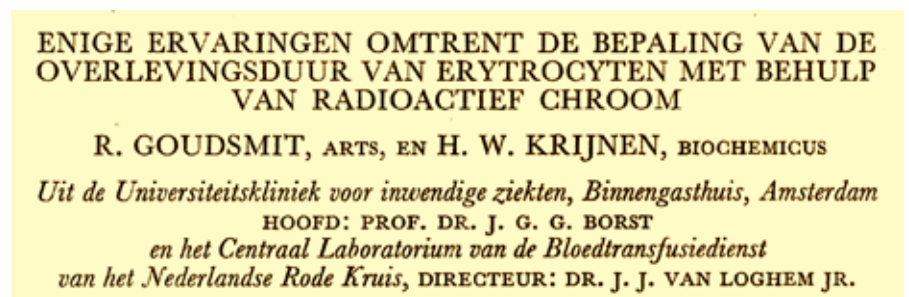
# Bloedcellabeling: weggevaagd door de wind?

Er waren tijden waarin de nucleaire geneeskunde een belangrijke rol speelde in de diagnostiek van diverse hematologische aandoeningen. Voornamelijk de kinetische onderzoeken met gelabelde bloedcellen namen veel tijd in beslag en de patiënten moesten meerdere dagen terug naar de afdeling. Een van de meest klassieke voorbeelden was destijds de bepaling van de erythrocytenoverlevingsduur. Deze bepaling, met diagnostiek naar hemolytische anemie als één van de belangrijkste indicaties, was vooral populair in de jaren zestig, zeventig en tachtig van de vorige eeuw. Het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde (NTvG) publiceerde reeds in 1956 en 1957 artikelen over dit onderwerp. Het onderzoek werd uitgevoerd door middel van bloedbepalingen op meerdere dagen gecombineerd met externe metingen van de opname van de met chroom-51 gelabelde autologe erythrocyten in de milt en lever met een scintillatiedetector. Een paar jaar later speelde de bepaling van het totaal erythrocytenvolume een belangrijke rol in de differentiatie van het ziektebeeld polycythaemia. Voor dit onderzoek werd ook een autologe erythrocytensuspensie gelabeld met chroom-51 (in latere jaren technetium-99m en indium-111) gebruikt.

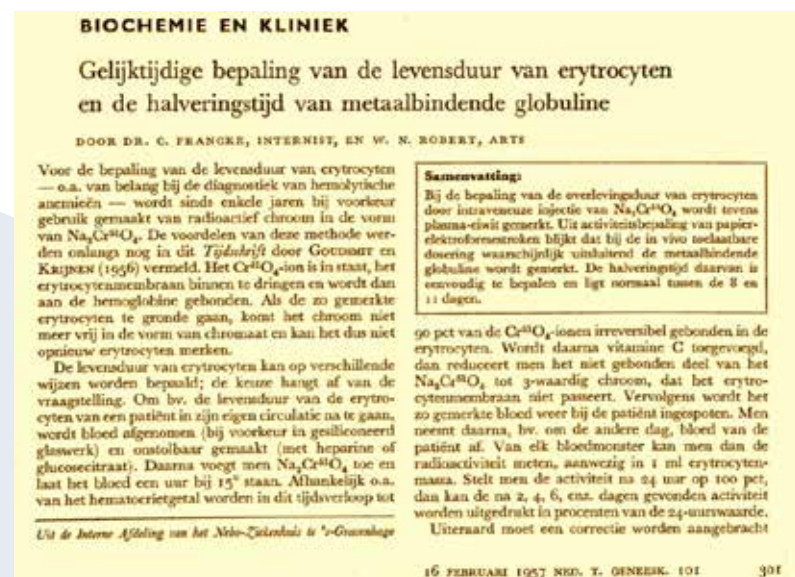
Begin jaren tachtig werden gelabelde erythrocyten gevalideerd voor het aantonen van bloedingen uit het onderste deel van de tractus digestivus; door een langere tijd van screening werd erythrocytenscintigrafie sensitiever bevonden dan het conventionele onderzoek van destijds (endoscopie, angiografie, bariumstudies). Het onderzoek, gebaseerd op de toediening van autologe erythrocyten

gelabeld met technetium-99m (of evt. met indium-111) met vervolgens gammacamera opnames van de buik tot 24 uur na injectie, werd één van de voorbeelden van acute nucleaire geneeskunde in de laatste twee decennia van de vorige eeuw. Ook in de laatste decennia van de vorige eeuw werden gelabelde erythrocyten zeer populair voor hartfunctieonderzoek, in het bijzonder ejectiefractionbepaling en analyse van de ventrikelwandbeweging. Hiervoor is om praktische redenen de voorkeur uitgegaan naar de zogenaamde in-vivo-labelingsmethode met eerst

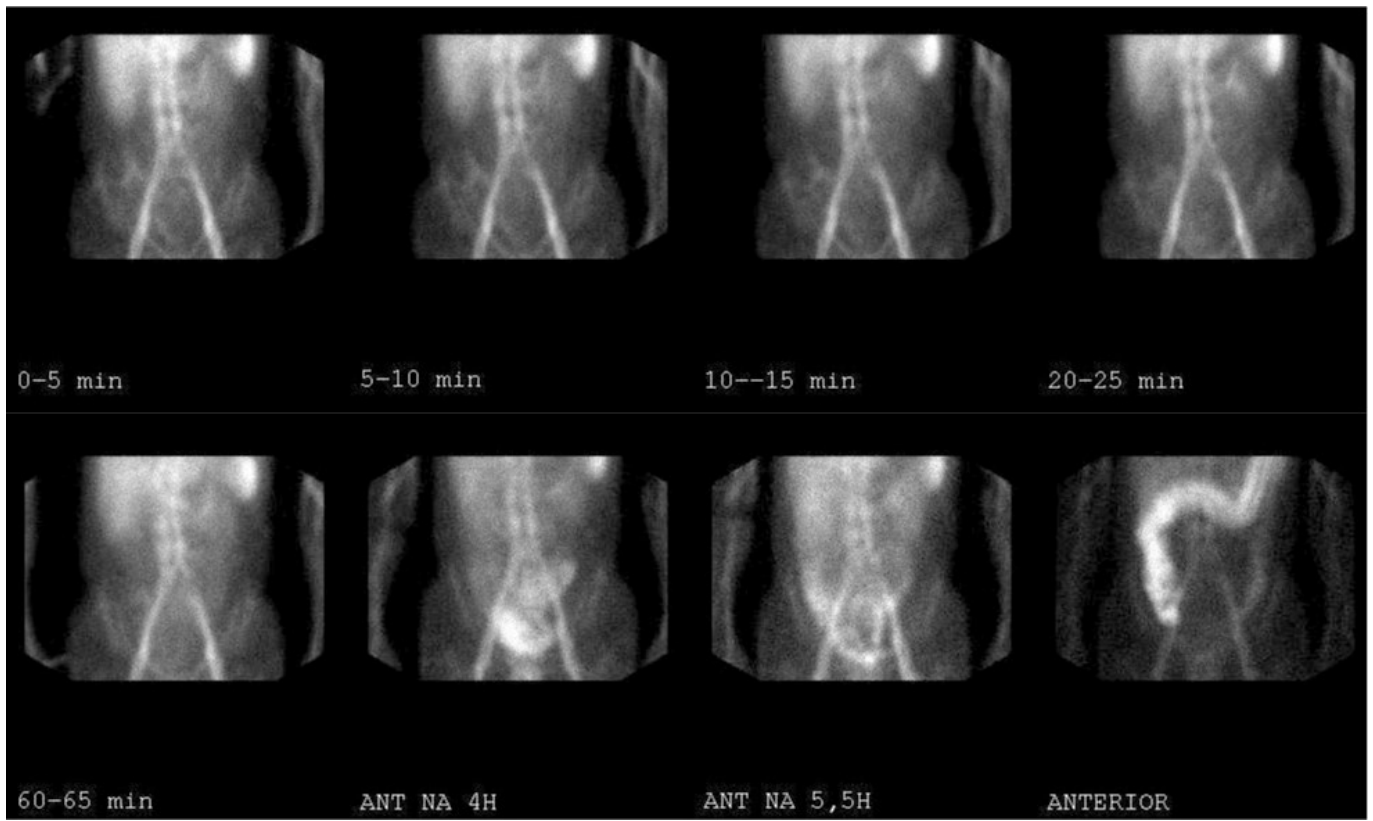
toediening van tin-pyrosfosfaat om de hechting van het later in te spuiten technetium-99m-pertechnetaat ( $[^{99m}\text{Tc}]\text{NaTcO}_4$ ) aan de erythrocyten te vergroten. Dit hartfunctieonderzoek is waarschijnlijk een van de weinige toepassingen van gelabelde rode bloedcellen die nog steeds met regelmaat wordt gebruikt. Een andere, meer zeldzame toepassing, was het gebruik van door warmte gedenatureerde autologe erythrocyten gelabeld met  $[^{99m}\text{Tc}]\text{NaTcO}_4$  voor het aantonen van ectopisch miltweefsel. In de jaren '70/'80 werd de



Titel van een publicatie verschenen in het NTvG van 1956.



Eerste pagina van een publicatie over levensduur van erythrocyten verschenen in het NTvG van 1957.



Erythrocytenscintigrafie (omstreeks 2002, Antoni van Leeuwenhoek ziekenhuis) met sequentiële beelden van de buik t/m 24 uur na toediening van een met [<sup>99m</sup>Tc]NaTcO<sub>4</sub> gelabelde autologe erythrocytensuspensie in een patiënt met bloeding t.h.v. de ileocecale overgang (manifest vanaf 4 uur na toediening).

trombocytenlabeling in Nederland geïntroduceerd. Een van de eerste medische indicaties was idiopathische trombocytopenie (tegenwoordig immuun trombocytopenie). Meest gebruikte labels waren [<sup>111</sup>In]In-oxinaat en [<sup>111</sup>In]In-tropolonaat, die het oorspronkelijke gebruikte chroom-51 vervingen; de eerste toepassingen waren gekoppeld aan de bepaling van de trombocytenoverlevingsduur door middel van bloedmetingen op meerdere dagen samengaande met externe metingen van de opname van de gelabelde trombocyten in de milt en lever met een scintillatiedetector. In hetzelfde decennium werd gedurende een paar jaren scintigrafie met indium-111 gelabelde trombocyten gebruikt voor beeldvorming van de afzetting van bloedplaatjes in hart en atherosclerotische bloedvaten.

Tabel 9.1 Onderzoek en methode van labeling voor de meest gebruikte hematologische toepassingen.

onderzoek	farmacon	methode
hartfunctie	<sup>99m</sup> Tc-autologe erythrocyten	tinning
bloeding in tractus digestivus	<sup>99m</sup> Tc-autologe erythrocyten	tinning
	<sup>111</sup> In-autologe erythrocyten	oxinaat/tropolonaat
milt	<sup>99m</sup> Tc-autologe sferocyten	tinning
erythrocytenkinetiek	<sup>51</sup> Cr-autologe erythrocyten	ACD
	<sup>51</sup> Cr-autologe erythrocyten	ACD + ascorbinezuur
erythrocytenvolume	<sup>51</sup> Cr-autologe erythrocyten	ACD
	<sup>99m</sup> Tc-autologe erythrocyten	tinning
plasmavolume	<sup>125</sup> I/ <sup>131</sup> I-serumalbumine	
trombocytenkinetiek	<sup>111</sup> In-autologe trombocyten	oxinaat/tropolonaat
ontstekingsdetectie	<sup>111</sup> In-autologe leukocyten	oxinaat/tropolonaat
	<sup>99m</sup> Tc-autologe leukocyten	HMPAO
lymfocyten	<sup>111</sup> In-autologe lymfocyten	oxinaat/tropolonaat
ijzerkinetiek	<sup>59</sup> Fe-transferrine	AB-donorplasma

Overzicht van de meest gebruikte toepassingen van bloedcellabeling door de jaren heen (Bron: Leerboek Nucleaire Geneeskunde, Elsevier/De Tijdstroom, 1999).

*Nederlandse Vereniging voor Nucleaire Geneeskunde*

*Vergadering gehouden op 26 en 27 november 1987 te Groningen*

H.Louwes en J.J.Schuurman (Groningen), *Trombocyten-labeling met <sup>111</sup>In-tropolonate*

Bij 14 gezonde personen en bij 71 patiënten (34 met een idiopathische trombocytopenische purpura (ITP), 31 met een trombopenie door verschillende oorzaken en 6 met een recidief-trombopenie na splenectomie) werd een meting van de trombocytenuverleving uitgevoerd met <sup>111</sup>In-tropolonate. Het labeling-rendement bij gezonde personen met een gemiddeld aantal trombocyten van  $244 (SD: 49) \times 10^9/l$  bedroeg 87 (SD: 8)%. De procentuele hoeveelheid <sup>111</sup>In gebonden aan de erythrocyten en aanwezig in het plasma bedroeg respectievelijk 0,4 (0,5)% en 0,9 (0,7)%; deze percentages veranderden in het verloop van het onderzoek niet. Het labeling-rendement bij patiënten met een trombopenie met een gemiddeld trombocytenaantal van  $55 (32) \times 10^9/l$  bedroeg 80 (12)%. De procentuele hoeveelheid <sup>111</sup>In gebonden aan de erythrocyten en aanwezig in het plasma bedroeg bij deze patiënten resp. 1,0 (1,2)% en 1,3 (1,0)%, hetgeen niet veranderde in het verloop van het onderzoek.

De functie van de trombocyten werd voor en na labeling op een aantal wijzen gecontroleerd: door middel van microscopisch onderzoek, door het vermogen tot aggregatie met behulp van een aggregometer te onderzoeken en met de zgn. hypotonic shock-respons.

Volgens een aanbeveling van het International committee on standardization in haematology (1977) werd de gemiddelde levensduur met vijf wiskundige rekenmodellen berekend: een lineaire functie, een exponentiële functie, een gammafunctie en het gemiddelde en het gewogen gemiddelde van 2 van deze waarden.

Naast de bepaling van de gemiddelde levensduur werden de volgende grootheden bepaald: de initiële recovery (IR), de totale trombocytenproductie per dag (TTPD), alsmede de absolute opname in de milt en in de lever na 1 uur en gedurende de daaropvolgende 5 dagen. Met behulp van een 2-compartimentenmodel werden de volgende grootheden bepaald: de transportconstante van bloed naar milt, de transitie en de bloedstroom in de milt. Deze waarden werden bepaald om een beter inzicht te krijgen in de kinetiek van trombocyten bij diverse vormen van trombopenie.

Uit het onderzoek blijkt dat trombocyten-labeling met behulp van <sup>111</sup>In-tropolonate technisch goed uitvoerbaar is en dat de gemiddelde levensduur, de IR, de TTPD en het verloop in de tijd van de absolute opname in de lever en in de milt klinisch goed bruikbare grootheden zijn, met behulp waarvan mede vastgesteld kan worden of de trombopenie veroorzaakt wordt door ITP, door verlaagde productie, door hypersplenisme dan wel tot de categorie van recidieftrombopenie behoort. De waarde van de andere grootheden zoals berekend met het 2-compartimentenmodel moet uit nader onderzoek blijken.

Anders dan voor erythrocyten en trombocyten is de leukocytenlabeling in de jaren '80 van de vorige eeuw direct gevalideerd voor beeldvorming van infecties en ontstekingsprocessen. Voor de labeling werd gebruik gemaakt óf van een gemengde leukocytensuspensie die voor het grootste gedeelte uit leukocyten bestond maar ook voor een klein gedeelte uit trombocyten en erythrocyten, óf van een suspensie van granulocyten die overbleven na een verdere doorvoering van de scheiding van de bloedcellen. Bij verdenking op intra-abdominale ontstekingen en op ontstekingen van gewrichts- en vaatprothesen werd de voorkeur gegeven aan het gebruik van een granulocytensuspensie gelabeld met <sup>111</sup>In-oxinaat of <sup>111</sup>In-troponolaat. De voorkeur ging meestal uit naar de laatste label door een mindere cytotoxisch effect en het feit dat de cellabeling in plasma kon plaatsvinden, wat ook ten goede van de vitaliteit van de leukocyten kwam. In de jaren negentig is ook scintigrafie met [<sup>99m</sup>Tc]Tc-HMPAO-leukocyten gevalideerd voor inflammatoire darmziekte.

Het klinisch gebruik van bloedcellabeling zou in de loop van de jaren aanzienlijk minder worden. Kinetische studies zijn vrijwel verdwenen uit de dagelijkse praktijk en beeldvorming in het kader van detectie van darmbloeding of infectie valt nu in de categorie sporadisch. Alleen voor cardiologische indicaties worden gelabelde erythrocyten gebruikt, met name voor bepaling van de linkerventrikel ejectiefraction (LVEF) bij oncologische patiënten.

Op verzoek van de redactie van het TvNG in deze editie van Uit de Oude Doos de reflecties van twee collegae die intensief bij bloedcellabeling zijn betrokken geweest. Roel Bennink (hoogleraar radiologie in het Amsterdam UMC) is gedurende zijn

*Facsimile uit het verslag van de wetenschappelijke vergadering van de NVNG in november 1987 (Bron: NTVG 1988).*

J.W.Arndt, A.van der Sluys Veer, D.Blok, G.Griffioen, H.W.Verspaget, C.B.H.W.Lamers en E.K.J.Pauwels (Leiden), *Een vergelijkend onderzoek van <sup>99m</sup>Tc-WBC en <sup>111</sup>In-granulocyten bij patiënten met een inflammatoire darmziekte*

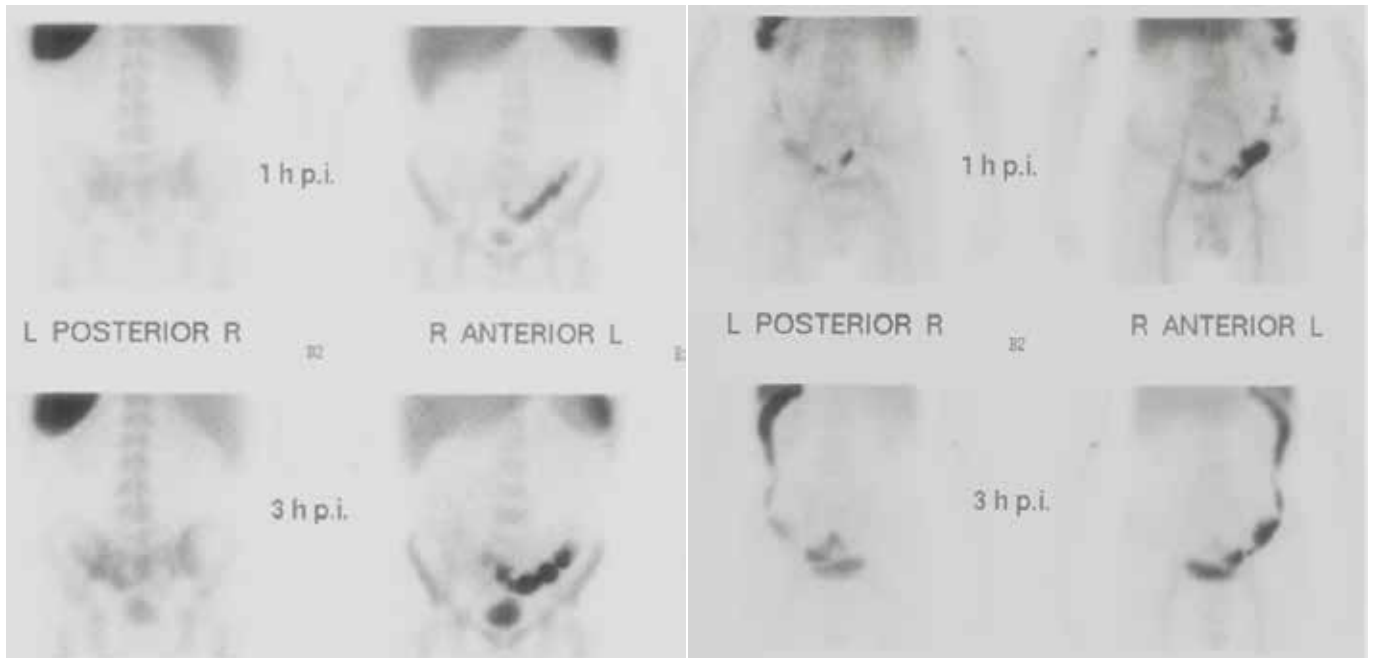
In een prospectief onderzoek werden een witte-bloedcellenpreparaat gemerkt met <sup>99m</sup>Tc-hexametazine (<sup>99m</sup>Tc-WBC) en een granulocytenpreparaat gemerkt met <sup>111</sup>In-tropolonate (<sup>111</sup>In-gran) vergeleken bij 14 patiënten met een inflammatoire darmziekte voor het vastleggen van aanwezigheid en locatie van actieve ontsteking. Scintigrafisch concordante positieve en scintigrafisch discordante resultaten werden op hun juistheid gecontroleerd door radiologisch en (of) endoscopisch onderzoek binnen 14 dagen. Op segmentsbasis werd op het <sup>99m</sup>Tc-WBC-scintigram vervaardigd 1 uur na injectie en het <sup>111</sup>In-gran-scintigram vervaardigd 3 uur na injectie een eensluidend resultaat gevonden in 102/111 (91,8%) segmenten. In 5/5 <sup>99m</sup>Tc-WBC-positieve/<sup>111</sup>In-gran-negatieve segmenten kon worden aangetoond dat het <sup>99m</sup>Tc-WBC-resultaat juist positief was. Met <sup>99m</sup>Tc-WBC-scintigrafie werden 4 extra patiënten (11/14 respectievelijk 7/14) met actieve darmontsteking ontdekt. Vooral wat betreft ontsteking in de dunne darm is het <sup>99m</sup>Tc-WBC-scintigram beter dan het <sup>111</sup>In-gran-scintigram: met deze technieken werden respectievelijk 6/6 en 3/6 van de aangetoonde actieve ontstekingen in het ileum ontdekt.

Geconcludeerd wordt dat een <sup>99m</sup>Tc-WBC-preparaat bij vroege scintigrafie (binnen 2 uur na injectie) minstens zo betrouwbaar is als een <sup>111</sup>In-gran-preparaat. Verdere voordelen zijn dat dagelijks een radiofarmacon ter beschikking is, dat de bereiding wat eenvoudiger en minder tijdrovend is en dat er een geringere stralingsbelasting is voor de patiënt.

Ned Tijdschr Geneeskd 1993; 137, nr 21

1073

*Facsimile uit het verslag van de wetenschappelijke vergadering van de NVNG in december 1992 (Bron: NTVG 1993).*



Voorbeelden van [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-HMPAO leukocytsintigrafieën van patiënten met inflammatoire darmziekte verricht omstreeks 1995 in het Academisch Ziekenhuis Leiden.

loopbaan als nucleair geneeskundige geconfronteerd met diverse facetten van het werk met gelabelde bloedcellen voor zowel de klinische praktijk als voor wetenschappelijk

onderzoek. Wim van den Broek heeft in zijn meer dan 41-jarige carrière als technoloog en paramedisch hoofd nucleaire geneeskunde in het Radboud UMC veel onderzoek

gedaan met labelingen van bloedcellen voor research en kliniek. Ze memoreren hieronder de diverse aspecten van het werk met gelabelde bloedcellen.

### Over bloedcellabeling: weggevaagd door de wind?

R.J. Bennink, afdeling Radiologie en Nucleaire Geneeskunde, Amsterdam UMC



Roel Bennink (geheel links) samen met Jan Booij, Gerrit Sloof en Hans van Isselt tijdens het congres van de World Federation of Nuclear Medicine and Biology (WFNMB) gehouden in Santiago, Chili in 2002.

Radioactieve labeling van bloedcellen is door de decennia heen altijd een intrigerende niche binnen ons vakgebied geweest. De ene periode wat meer in zwang dan de andere, maar nooit helemaal verdwenen. Ondanks een breed indicatiegebied is het echter nooit het frequent routine klinisch onderzoek geworden waar sommigen misschien wel van hebben gedroomd. In de loop der jaren zijn er belangrijke klinische indicaties voor bloedcel scintigrafie geweest zoals infectie en inflammatie, opsporen van een gastro-intestinale bloeding, inflammatoire darmziekten

>>

>>

zoals colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn, miltonderzoek met gedenatureerde erythrocyten, sekwestratie onderzoek met gelabelde bloedplaatjes en niet te vergeten de linkerventrikel ejectionfractie bepaling met gelabelde rode bloedcellen. Daarnaast is er in onderzoeksverband veelal preklinisch, maar soms ook in patiënten gebruik gemaakt van geselecteerde subpopulaties van granulocyten, lymfocyten, monocyten of dendritische cellen.

Grofweg valt er een verdeling te maken tussen het relatief eenvoudige onderzoek met gelabelde erythrocyten, en het meer complexe werk met witte bloedcellen. In vivo, of in vivo-vitro labelen van rode bloedcellen met technetium na voorbehandeling met pyrofosfaat is gemakkelijk uit te voeren, relatief goedkoop en derhalve breed beschikbaar. Voor

het labelen van witte bloedcellen (als gehele populatie) of geselecteerde subpopulaties is altijd een complexe isolatieprocedure nodig die, met toenemende eisen aan steriliteit en antistofblootstelling arbeidsintensief en duur is, mede door de noodzaak van een gespecialiseerd laboratorium en duurdere labelingsprocedures. Daarnaast is het zeker bij subpopulaties een uitdaging om voldoende cellen voor labeling te isoleren ten behoeve van de sensitiviteit van het onderzoek. Cellen nemen maar beperkt  $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-HMPAO op en indium-111 labeling is cytotoxisch dus ook in beperkte mate toepasbaar.

Natuurlijk hebben ook andere diagnostische onderzoeken de plaats ingenomen van bloedcel scintigrafie. Zo is er met de opkomst van  $^{18}\text{F}$ ]FDG-PET/CT in veel gevallen een beter alternatief voor opsporen van infectie/inflammatie ontstaan. GI-

bloedingen worden beter en sneller opgespoord met angiografie, waarbij zo nodig meteen een interventie kan plaatsvinden. Met de komst van biologicals zijn inflammatoire darmziekten veel beter onder controle te houden en worden veelal opgevolgd middels colonoscopie of MRI. Behoudens incidentele uitvoeringen blijft alleen de good-old in vivo erythrocyten labeling voor het bepalen van de LVEF enigszins overeind. Maar ook hier zijn andere technieken zoals echo en MRI belangrijke spelers.

Is bloedcellabeling daarmee weggevaagd door de wind? De tijd zal het leren. Immers, er is weinig zo onvoorspelbaar als het weer. Op zich blijft het onderzoeken van afweercel migratie een uitgelezen kans om bij te dragen aan de ontwikkeling van superselectieve biologicals en aan personalised medicine te doen in de klinische toepassing ervan.

### Van hot-lab tot beeldvorming in kliniek en research

Wim van den Broek, voormalig paramedisch hoofd nucleaire geneeskunde, Radboud UMC



Wim van den Broek (rechts) met Frans Corstens op het EANM Congres 1996 te Kopenhagen.

Na een opleiding als chemisch analist en 2 jaar ervaring in de organisch chemische research solliciteerde ik eind 1976 op een baan op het isotopenlaboratorium van Inwendige Ziekten (hoofd: prof. FHM Corstens) van het Sint Radboud ziekenhuis te Nijmegen. Destijds was er in Nijmegen een afdeling Nucleaire geneeskunde (onderafdeling van Radiotherapie) waar conventionele beelddiagnostiek werd gedaan en er was een isotopenlaboratorium voor de afdeling Inwendige ziekten waar functieonderzoek van inwendige orgaan systemen bij patiënten werd verricht. Denk hierbij aan onderzoeken die tegenwoordig niet meer, of sporadisch op een

afdeling nucleaire geneeskunde gedaan worden zoals Schillingtesten (vitamine B12 absorptie testen), calciumabsorptietesten, kwantitatieve eiwitlekage metingen via de darmen, bloed- en plasmavolume bepalingen, erythrocyten overlevingsduur studies en ijzer kinetiek studies. Hematologische diagnostiek werd destijds zeer frequent aangevraagd en vele onbegrepen hematologische vragen konden beantwoord worden met radioactief gelabelde bloedcellen. Het isotopen lab had de beschikking over een klein C-laboratorium waarin alle laboratoriumhandelingen, zowel steriel als niet steriel, plaatsvonden. De labelingen van de bloedcellen

>>

>>

werden onder “zo steriel mogelijke omstandigheden” in een alleen daarvoor gebruikte zuurkast uitgevoerd. De GMP-normen van de huidige tijd werden destijds in de verste verte niet gehaald. Erythrocyten overlevingsduur onderzoeken en bloed- en plasma-volume bepalingen met chroom-51 gelabelde autologe erythrocyten werden wekelijks uitgevoerd en waren erg tijdrovend. Bloedafnames en toedieningen bij de patiënten vonden plaats in het smalle toegangsgangetje naar het lab.

Middels bloedmetingen, die gedurende vier weken regelmatig werden afgenomen, kon de halfwaardetijd van de gelabelde erythrocyten worden bepaald. In de kelder van het ziekenhuis werden bij deze patiënten als aanvulling op de bloedmetingen de activiteit in diverse organen extern gemeten. Deze metingen werden verricht met een, bij de interne technische dienst ontwikkelde, afgeschermd scintillatiedetector. Hierdoor kon

vastgesteld worden óf en wáár ergens in het lichaam een verhoogde afbraak van erythrocyten plaatsvond. Het totale onderzoek naar de erythrocytenoverlevingsduur nam zo’n 30 dagen in beslag, waarbij de patiënt minimaal 15 keer naar de afdeling moest komen voor een meting en bloedafname.

Ook een veel aangevraagd onderzoek was de ijzerkinetiek studie. Door ijzer-59 te koppelen aan transferrine en dit vervolgens i.v. toe te dienen, kon na incorporatie van het ijzer-59 in de erythrocyten altijd de oorzaak van een onbegrepen bloedverlies opgespoord worden. Ook kon middels whole-body countermetingen het bloedverlies nauwkeurig kwantitatief bepaald worden. Dit onderzoek strekte zich uit over meerdere maanden.

In 1983 werden in Nijmegen de afdelingen Nucleaire Geneeskunde en het isotopeenlaboratorium samengevoegd en er ontstond een nieuw afdeling met grote

mogelijkheden om mee te groeien op het vakgebied van nucleaire geneeskunde. Nucleaire geneeskunde werd in 1984 in Nederland een erkend specialisme. Research naar nieuwe diagnostische mogelijkheden werd een belangrijk onderdeel van onze afdeling. De labeling van witte bloedcellen met indium-111 was begin tachtigerjaren van de vorige eeuw geïntroduceerd voor de detectie van infectiehaarden. De labeling was gecompliceerd, tijdrovend en riskant i.v.m. verwisseling van bloed van verschillende patiënten, maar werd op grote schaal toegepast in de kliniek. Om die redenen werd er onderzoek gedaan naar klinische toepassingen van eenvoudige te labelen radio-farmaca, zoals indium-111 gelabeld humaan niet-specifiek IgG, waarop prof. W. Oyen in 1992 promoveerde. In de dierexperimentele fase werden de scintigrafische afbeeldingen gemaakt, na afloop van het reguliere patiënten programma. Bij uitloop van dit programma kwam het

>>



C-laboratorium.



Afgeschermd scintillatiedetector voor externe orgaanmetingen.

>>

regelmatig voor dat de dierversorger met de dieren in de patiënten wachtkamer plaats moest nemen. Het kwam wel eens voor dat de dieren uit hun kooi ontsnapten om te onderzoeken wat er in de wachtkamer te doen was. Met het in gebruik nemen van een dierexperimenteel centrum nucleaire geneeskunde in het dierenlaboratorium waren deze problemen verleden tijd. Tegenwoordig zijn de omstandigheden waarin destijds gewerkt werd niet meer denkbaar, maar er was veel mogelijk om ideeën binnen het onderzoek ook praktisch tot uitvoer te brengen. Met regelmaat denk ik terug naar deze vervlogen tijd van pionieren.



*Opstelling voor whole-body countermetingen.*