

**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**TEZİN ADI**

**F-18 FDG İLE LÖKOSİTLERİN İNVİTRO İŞARETLEME**  
**ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. ÖZLEM ULUYOL**

**DANIŞMAN**

**DR.ÖĞRETİM ÜYESİ TARIK ŞENGÖZ**

**DENİZLİ – 2019**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÜKLEER TIP ANABİLİM DALI**

**TEZİN ADI**


**F-18 FDG İLE LÖKOSİTLERİN İNVİTRO İŞARETLEME  
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**


**UZMANLIK TEZİ  
DR.ÖZLEM ULUYOL**


**DANIŞMAN  
DR.ÖĞRETİM ÜYESİ TARIK ŞENGÖZ**

**DENİZLİ – 2019**


Dr. Öğretim Üyesi Tarık Şengöz danışmanlığında Dr. Özlem Uluyol tarafından yapılan, "F-18 FDG ile Lökositlerin İn vitro İşaretleme Etkinliğinin Araştırılması" başlıklı tez çalışması, gün.../ay.../yıl... tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Nükleer Tıp Anabilim Bilim Dalı'nda TIPTA/YANDAL UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Prof. Dr. Olga Yoylali 

ÜYE Prof. Dr. Sireyya Şengül 

ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Tarık Şengöz 

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.  
gün.../ay.../yıl.

Prof. Dr. Osman Çiftçi  
Pamukkale Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanı 

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana olan katkılarından dolayı bölüm hocalarım Prof. Dr. Dođangün Yüksel, Prof. Dr. Olga Yaylalı, Dr. Öğretim Üyesi Tarık Şengöz, Dr. Öğretim Üyesi Aziz Gültekin ve Dr. Öğretim Üyesi F.Selçuk Şimşek'e teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanma sürecinde bana rehberlik yapan tez hocam Dr. Öğretim Üyesi Tarık Şengöz'e özellikle teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanma sürecinde istatistik analiz teknikleri konusunda zamanını ayırarak bana yardımcı olan Dr. Öğretim Görevlisi Hande Şenol'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca gösterdiği arkadaşlık nedeniyle diğer uzmanlık öğrencisi arkadaşıma, her zaman gösterdikleri dostlukları ve yardımları nedeniyle tüm teknisyen ve hemşire arkadaşlarıma, fizikçi ve kimyacı arkadaşlarıma, sekreter arkadaşlarıma ve personelimize teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI .....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ .....	IX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XII
GİRİŞ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	3
1. İNFLAMASYON :.....	3
2. ENFEKSİYONUN GÖRÜNTÜLENMESİ: .....	3
3. ENFEKSİYON GÖRÜNTÜLEMEDE NÜKLEER TIP .....	4
3.1. Tek Foton Emisyon Tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi (SPECT/BT) ile Enfeksiyon Görüntüleme:.....	4
3.1.1. Nonspesifik ajanlar: .....	5
3.1.2. Spesifik ajanlar: .....	5
3.1.2.1. İşaretli Lökositler: .....	5
3.1.2.2. Radyo-işaretli Antibiyotikler: .....	7
3.1.2.3. Radyo-işaretli Antikorlar: .....	7
3.1.2.4. Radyo-işaretli Peptidler:.....	7
3.1.2.5. Radyo-işaretli Sitokin.....	7
3.2. Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) ile Enfeksiyon Görüntüleme.....	8
3.2.1. F-18 FDG Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) ile Enfeksiyon Görüntüleme .....	8
3.2.1.1.Major Endikasyonlar:.....	10

3.2.1.2. Minör Endikasyonlar.....	10
3.2.2. Tedavi Yanıtı Takipte F-18 Florodeoksiglukoz PET/BT: .....	10
3.3. 18-Fluro Deoksi Glukoz (F-18 FDG) İşaretli Lökositler ile Enfeksiyon Görüntüleme: .....	10
3.3.1. F-18 FDG ile Lökosit İşaretleme .....	11
3.4. F-18-FDG Dışı Ajanlarla Enfeksiyon PET: .....	16
3.4.1. Cu-64 İşaretli Lökositler:.....	16
3.4.2. I-124 Fialuridin: .....	16
3.4.3. Ga-68: .....	16
GEREÇ VE YÖNTEM: .....	17
1. GÖNÜLLÜLER: .....	17
2. YÖNTEM :.....	17
BULGULAR:.....	19
TARTIŞMA .....	22
SONUÇLAR .....	26
KAYNAKLAR.....	27

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- BT** : Bilgisayarlı Tomografi  
**Ga-67** : Galyum-67  
**Ga-68** : Galyum-68  
**GCSF** : Granülosit Koloni Stimülan Faktör  
**GLUT** : Glukoz Transporter  
**F-18 FDG** : Flor18-FlouroDeoksiGlukoz  
**IL-8** : İnterlökin-8  
**In-111** : İndium-111  
**MR** : Manyetik Rezonans  
**PET** : Pozitron Emisyon Tomografisi  
**SPECT** : Tek Foton Emisyon Tomografisi  
**Tc-99m** : Teknesyum-99m  
**USG** : Ultrasonografi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Sayfa No:**

<b>Şekil-1:</b> Glukoz ve FDG yapısı .....	8
<b>Şekil-2:</b> Glukoz ve FDG metabolizması .....	9
<b>Şekil-3:</b> Lökositlerin izolasyonu .....	17



## TABLÖLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b> Çalışma grupları ve elde edilen veriler .....	19
<b>Tablo 2</b> İnsülin varlığının F-18 FDG lökosit bağlanma yüzdesi üzerindeki etkisi .....	20
<b>Tablo 3</b> Farklı F-18 FDG dozlarının F-18 FDG lökosit bağlanma yüzdesi üzerindeki etkisi .....	20
<b>Tablo 4</b> İnkübasyon ortamı ısı değişiminin F-18 FDG lökosit bağlanma yüzdesi üzerindeki etkisi .....	21

## ÖZET

### F-18 FDG ile lökositlerin invitro işaretleme etkinliğinin araştırılması

Dr. Özlem ULUYOL

Çalışmamızda, PET görüntüleme için F-18 FDG ile işaretli lökosit hazırlanmasında, in-vitro işaretleme işleminde, lökosit inkübasyon ısısının, kullanılan F-18 FDG dozunun ve işlemde insülin kullanımının, lökosit bağlanma yüzdesine etkisinin araştırılmasını planladık. Çalışma invitro ortamda yapıldı. Açlık kan şekeri 80-120 mg/dl olan 25-55 yaş aralığında 24 gönüllüden alınan kanların lökositleri izole edildi. 37°C’de ve oda ısısında inkübe edilen, 2 mCi ve 10 mCi F-18 FDG ile işaretlenen gruplar oluşturuldu. Her grup kendi içinde, insülin ilaveli ve insülin ilavesiz olarak 2 farklı gruba ayrıldı. Her grup için elde edilen materyal santrifüj edilerek bağlı olan lökositlerin çökmesi sağlandı. Bağlı olan ve bağlı olmayan komponent aktiviteleri ayrı ayrı ölçülerek total aktivite elde edildi. Ölçülen bağlı komponent aktivitesi total aktiviteye bölünerek bağlanma yüzdesi hesaplandı. Elde edilen veriler, SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 software Armonk, NY: IBM Corp.) paket programıyla analiz edildi. Değişkenlerin ortalama±standart deviasyon, ortanca (minimum-maksimum) değerleri elde edildi. Bağımlı grupların karşılaştırmalarında Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. ( $p<0,05$ ) değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi. Çalışmamızda, insülin ilavesiz grupta ortalama bağlanma etkinliğini  $39,5\pm 0,072$  (%23-%52), insülin ilaveli grupta ortalama bağlanma etkinliğini  $40,2\pm 0,073$  (%27-%58) olarak hesapladık. Tüm gruplarda insülin uygulamasının istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadığı saptandı ( $p>0,05$ ). İnsülin uygulanmayanlarda, yüksek doz F-18 FDG ile bağlanan grupta bağlanma yüzdesinin, düşük doz F-18 FDG ile bağlanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanırken ( $p=0,049$ ), insülin uygulananlarda ise, düşük doz ve yüksek doz F-18 FDG ile bağlanmanın istatistik açıdan anlamlı fark oluşturmadığı görüldü ( $p=0,09$ ). 37°C’de inkübasyon uygulanan insülin ilaveli ( $p=0,036$ ) ve insülin ilavesiz ( $p=0,042$ ) gruplarda, oda ısısında inkübe edilen gruplara göre bağlanma yüzdesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü. F-18 FDG ile lökosit işaretleme, enfeksiyon tanısında kullanılması mümkün olan bir yöntem olup,

37°C’de inkübasyon ve yüksek doz F-18 FDG ile işaretleme bağlanma yüzdesini arttırırken, insülin uygulanması bağlanma yüzdesini değiştirmemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** F-18 FDG, lökosit işaretleme, insülin, PET, enfeksiyon görüntüleme.

## ABSTRACT

### Exploration of the efficiency of leukocytes invitro labelling with F-18 FDG

Dr. Özlem ULUYOL

In our study, we aimed to investigate the effect of leukocyte incubation temperature, F-18 FDG dose and the use of insulin in the process on leukocyte binding percentage in F-18 FDG labeled leukocyte PET study. The study was performed in invitro environment. Leukocytes were isolated from blood from 24 volunteers (25-55 years) with fasting blood glucose of 80-120 mg/dl. Groups were incubated at 37°C and room temperature and labeled with 2 mCi and 10 mCi F-18 FDG. Each group was divided into two groups as insulin added and not added. The material obtained for each group was centrifuged and leukocytes were precipitated. Total activity was obtained by measuring the bound and non-bound component activities separately. The bound component activity was divided into total activity and the binding percentage was obtained. Data were analyzed by SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 software -Armonk, NY: IBM Corp.). Continuous variables are expressed as mean  $\pm$  standard deviation, median (minimum-maximum). Wilcoxon Paired Two Sample Tests were used in the dependent group comparisons.  $P < 0.05$  was considered statistically significant in all analyzes. In our study, we calculated the mean percentage of attachment in the insulin-free group as  $\% 39,5 \pm 0,072$  ( $\%23$ - $\%52$ ), the percentage of mean attachment in the insulin supplemented group as  $\%40,2 \pm 0,073$  ( $\%27$ - $\%58$ ). There was no statistically significant difference in insulin administration in all groups ( $p > 0,05$ ). In the insulin free group, the percentage of binding of high-dose F-18 FDG was found to be significantly higher than low-dose F-18 FDG ( $p = 0.049$ ), whereas in the insulin-treated group, low-dose and high-dose F-18 FDG addition was no significant difference ( $p = 0.09$ ). Insulin supplementation ( $p = 0.036$ ) and insulin-free ( $p = 0.042$ ) incubated at 37°C were found to be significantly higher than the incubation groups at room temperature. Leukocyte marking with F-18 FDG is a method that can be used in the diagnosis of infection. High temperature incubation and high dose F-18 FDG marking increases the binding percentage, while insulin administration does not alter the binding percentage.

**Keywords:** F-18 FDG, leukocyte marking, insulin, infection imaging

## GİRİŞ

Tüm dünyada ileri yaş populasyonunun artması ile ortopedik protez, kardiyak araç, implant ve greft kullanımının artması, immunosupresif hasta populasyonunda ve Human Immunodeficiency Virus (HIV), tüberküloz (Tbc) gibi enfeksiyonlardaki artış, sitotoksik tedaviler (kemoterapi, transplantasyon) ve çoklu ilaç direnci gelişimi, enfeksiyonun erken tanısı ve odak belirlenmesinin önemini artırmıştır (1). Tanıda kullanılan rutin modaliteler (konvansiyonel radyoloji, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme, v.b.), ağırlıklı olarak oluşan morfolojik değişiklikleri görüntülemeye yöneliktir. Bu yöntemlerin tanısal doğrulukları, henüz morfolojik değişikliklerin oluşmadığı enfeksiyon ve inflamasyonun erken döneminde düşüktür. Ayrıca bu yöntemler, enfeksiyon-inflamasyonun iyileşme döneminde veya cerrahi sonrası dönemde (skar dokusu) oluşan anatomik değişikliklerin ayırımında yetersiz kalmaktadır. Nükleer tıp yöntemleri ise, tüm vücut görüntüleme ve hibrit görüntü (fizyoloji ve morfoloji) olanağı sağlamaktadır. Günümüzde hızlı gelişen bir görüntüleme yöntemi olan pozitron emisyon tomografi (PET), tanıda doğruluğu arttırması, yüksek duyarlılığı ve fonksiyonel bilgi de sağlaması nedeniyle, güçlü bir multi modalite görüntüleme tekniği olarak kabul görmektedir. PET görüntüleri ile dokulardaki hücre canlılığı, perfüzyon, inflamasyon, proliferasyon ve/veya metabolik aktivite görüntülenir. PET/BT'de en çok kullanılan radyoaktif ajan glukoz derivesi olan 2-(<sup>18</sup>F) fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18 FDG)'dur. Bir glukoz analogu olan FDG, canlı hücreler tarafından normal glikoliz yolağına girer. Ancak, ilk basamaktan sonra metabolize edilmeyip tutulur (2). Çoğunlukla neoplastik hücrelerdeki artmış glikolitik aktiviteye bağlı olarak kanser tanısında kullanılmakla birlikte, hem inflame hem de enfekte dokulardaki perfüzyon ve metabolizma artışı nedeni ile bu dokuların da görüntülenmesini sağlar (2). F-18 FDG işaretli lökosit kullanımı, akut enfeksiyon tanısında, yöntemin spesifitesini ve sensitivitesini arttırmaktadır (3). Ancak, bağlanma yüzdesi düşüklüğü ve F-18 FDG yarı ömrünün kısa olması, yöntemin sınırlayıcı özellikleridir (3). F-18 FDG ile lökosit işaretlemede henüz standardize edilmiş bir teknik mevcut olmayıp, bağlanma etkinliğini artırıcı yöntemlerle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. F-18 FDG işaretli lökosit PET çalışmasında biz, in-vitro işaretlemede, inkübasyon için insan vücut ısısına yakın bir sıcaklık (37°C) kullanılmasının, ortam

glukozu ile yarışacak olan F-18 FDG dozu artışının ve genel olarak glukozun hücre içine girişini artıran insülinin işaretleme işleminde kullanılmasının, işaretleme etkinliğini artırabileceği hipotezi ile yola çıktık. In-vitro işaretleme işleminde, lökositlerin inkübasyon ısısının, kullanılan F-18 FDG dozunun ve insülin kullanımının, lökosit bağlanma yüzdesine olan etkisini incelemeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### 1. İNFLAMASYON :

İnflamatuvar yanıtı pek çok olay başlatabilir. Bunlar;

- Enfeksiyonlar (bakteriyel, viral, parazitik) ve mikrobiyal toksinler,
- Travma (künt ya da delici),
- Fiziksel ya da kimyasal etkenler (termal zedelenme, radyasyon),
- Doku nekrozu,
- Yabancı cisimler
- İmmün reaksiyonlar (hipersensitivite reaksiyonları) ,v.b... (4).

Fizyolojik olarak inflamasyonun görevi, inflamasyon kaynağını yok ederek ve ya doku hasarını tamir ederek homeostazisi korumaktır. İnflamatuvar yanıtı başlatan mekanizmalar, inflamasyonu kontrol altına alan düzenleyici mekanizmaları da aynı anda başlatır. Böylece inflamasyonun süresi ve sınırları kontrolde tutulmaya çalışılır (4). İnflamasyon, akut inflamasyon ve kronik inflamasyon olmak üzere başlıca 2 grupta incelenir. Akut inflamasyon, etkene karşı oluşan en erken yanıttır. Süresi kısa olup, birkaç dakika ile birkaç gün sürebilir. Akut inflamasyonda hücresel ve vasküler yanıt meydana gelir (4).

Lökositler, inflamasyonun ve akut enfeksiyonun ana hücresel elementidir. Kan konsantrasyonları 4000-11000 /ml'dir. Lökositler iki ana hücre grubundan oluşur:

1. Lenfositler
  - a. T lenfositler
  - b. B lenfositler
2. Fagositler
  - a. Natürel killer hücreler
  - b. Polimorf lökositler (granülositler: nötrofiller, bazofiller ve eosinofiller)
  - c. Monosit-makrofajlar

### 2. ENFEKSİYONUN GÖRÜNTÜLENMESİ:

Enfeksiyon ve inflamasyonun varlığı ve yerinin belirlenmesi, diğer inflamatuvar patolojilerden ayırt edilebilmesi, doğru tedavinin başlanabilmesi ve devam ettirilmesi için birincil öneme sahiptir (1). Tanıda kullanılan rutin modaliteler (konvansiyonel radyoloji, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme,

v.b.) ağırlıklı olarak, oluşan morfolojik değişiklikleri görüntülemeye yöneliktir. Bu yöntemlerin tanınasal doğrulukları, henüz morfolojik değişikliklerin oluşmadığı erken dönem enfeksiyon ve inflamasyonda düşüktür. Ayrıca bu yöntemler, enfeksiyon-inflamasyonun iyileşme döneminde veya cerrahi sonrası dönemde oluşan anatomik değişikliklerin (skar dokusu gibi) ayırımında yetersiz kalmaktadır (5).

### **3. ENFEKSİYON GÖRÜNTÜLEMEDE NÜKLEER TIP**

Nükleer Tıp, fonksiyonel ve metabolik görüntüleme teknikleri ile enfeksiyon-inflamasyon odaklarının anatomik değişikliklere yol açmadan önce saptanmasına olanak sağlar (5). Enfeksiyon ve inflamasyon görüntüleme, nükleer tıpta başlıca araştırma alanlarından biri olmasına rağmen bu güne kadar enfeksiyon-inflamasyon ayırımını net olarak ortaya koyabilecek bir radyofarmasötik geliştirilememiştir. Yaklaşık yarım asırdan beri birçok radyofarmasötik kullanılarak hem klinik öncesi hemde klinik sintigrafik çalışmalarla enfeksiyon ve inflamasyon görüntüleme için araştırmalar yapılmıştır. Radyofarmasötiklerle görüntülemede spesifik ve nonspesifik ajanlar kullanılmaktadır. Nonspesifik ajanların tutulumunda, enfeksiyon odağı ile radyofarmasötik arasında herhangi bir etkileşim yoktur. Perfüzyon artışı ve vasküler permeabiliteye bağlı olarak aktivite tutulumu izlenir. Spesifik ajanlar ise vücuttaki doku affinitesine göre dağılım gösterir, inflamatuvar ve enfektif süreçteki affinite noktasına göre enfeksiyon odağında lokalize olur (6). Fonksiyonel görüntüleme sağlayan nükleer tıp görüntüleme yöntemleri non-invaziv özellikte olup tüm vücut görüntüleme olanağı sayesinde enfeksiyon odaklarının lokalizasyonu ve dağılımının tespit edilmesine imkan verir. Günümüzde kullanımı yaygınlaşan, aynı anda hem fizyolojik hem morfolojik değerlendirme ve anatomik korelasyon olanağı tanıyan hibrid görüntüleme cihazları, nükleer tıp tanı yöntemlerinin doğruluğunun ve kullanımının artmasını sağlamıştır (6,7).

#### **3.1. Tek Foton Emisyon Tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi (SPECT/BT) ile Enfeksiyon Görüntüleme:**

SPECT, gama ışınması yapan radyonüklidler kullanılarak kan dolaşımının izlenmesini, ölçülmesini ve fizyolojik mekanizmaların görselleştirilmesini sağlar. Radyoizotoplarla işaretlenmiş hücrelerin ve moleküllerin dağılımının incelenmesini sağlar. SPECT, BT ile kombine edilerek anatomik detay hakkında fikir edinilebilir (8). İnflamatuvar yanıtın farklı aşamalarını gösterebilmek amacıyla pek çok farklı



yaklaşım geliştirilmiştir. Klinik öncesi ve klinik çalışmalarda, enfeksiyon odağının tespitinde potansiyel diagnostik madde olarak bir çok radyofarmasötik üzerinde çalışılmıştır. Bununla birlikte, bu konuda araştırılan birçok görüntüleme ajanından sadece birkaçı klinik uygulamada kullanıma girmiştir (8).

### **3.1.1. Nonspesifik ajanlar:**

Ga-67 sitrat ve işaretli poliklonal insan immünoglobulin gibi radyonüklid bağlı bileşiklerdir. Ga-67, enfekte dokuda ve düşük demir seviyeli ortamda, tıpkı demir gibi, mikroorganizmalar tarafından üretilen sideroforlara alınır, hücre içine taşınarak yoğun bağlanma gösterir (9). Transferrin, haptoglobulin, albumin ve globulin gibi serum proteinlerine bağlanır. Ayrıca Ga-67 laktoferrin aracılığı ile lenfositler ve makrofajlar ile dokuya tutunur (10). Diğer nonspesifik ajanlar, inflamasyon ve ya enfeksiyon odaklarında, artmış permeabiliteye bağlı olarak tutulurlar. Bu bileşikler, aktive olmuş endotele bağlanma, lökosit akımı olması ya da mikroorganizmalar tarafından tutulma gibi çeşitli yollar kullanırlar (9,10).

### **3.1.2. Spesifik ajanlar:**

Tc-99m, In-111, I-123 gibi SPECT radyonüklidleri ve bunlarla işaretlenmiş peptidler, sitokinler, antibiyotikler, antigranülosit antikorlar olup, enfeksiyon/inflamasyon ayırımında uygunlukları çok sayıda klinik öncesi ve klinik çalışmalarla değerlendirilmiştir (10).

#### **3.1.2.1. İşaretli Lökositler:**

Vücuttaki diğer lökositler gibi radyonüklid işaretli lökositlerin de enfeksiyon odağında toplanmasıyla gerçekleştirilen enfeksiyon görüntüleme, nükleer tıp tarihi için önemli bir adımdır. İlk kez 1970'lerde, Thakur ve arkadaşları tarafından otolog lökositler In-111 ile işaretlenmiş ve insanda enfeksiyon tanısı amacıyla kullanılmıştır (11). Bugün hala işaretli lökosit sintigrafisi enfeksiyon tanısında altın standart kabul edilen görüntüleme yöntemidir. Lökositler, çoğunlukla In-111 ve Tc-99m radyoizotopları ile bağlanabilen sırasıyla 8-hidroksikinolin (oksin) ve hegzametil propilen amin oksim (HMPAO) gibi lipofilik bileşiklerle in-vitro olarak işaretlenmektedir (12). İşaretlenen hücrelerin çoğu nötrofiller olup, bakteriyel enfeksiyon gibi nötrofil lökosit ağırlıklı inflamasyonların tanısında daha yararlıdır. Lenfositler radyasyona karşı diğer kan hücrelerinden daha duyarlı olup, işaretlemeden sonra bozulabilir. Bu nedenle, hücresel yanıtın ağırlıklı olarak lenfositler ile oluştuğu tüberküloz benzeri

hastalık durumlarında yararı daha azdır. Akut kas-iskelet sistemi enfeksiyonları için özellikle çocuklarda düşük radyasyon dozu nedeniyle, Tc-99m-HMPAO işaretli lökosit kullanımı daha uygundur (12). In-111 oksin işaretli lökosit ise özellikle genitoüriner ve gastrointestinal sistem gibi visseral enfeksiyonlar için tercih edilir (12). Yağda çözünen bu molekül, hücre zarından geçer ve sitoplazmik bileşenlere bağlanarak hücrede kalır. Kullanılan lipofilik ajanlar kandaki diğer hücre tiplerini de bağlayacağı için tam kandan lökositler ayrılmalıdır. Lökosit işaretleme işlemi 2 saate yakın zaman alır, hastadan yaklaşık 40-60 ml kan alınması gerekir, görüntülemenin tamamlanması Tc-99m ile 24 saati, In-111 ile 72 saati bulmaktadır (11). In-111 oksin ile bağlı lökositlerin normal dağılımı karaciğer, dalak ve kemik iliği olup, enjeksiyon sonrası işaretli bileşiklerin yaklaşık %60'ı karaciğer, dalak, kemik iliği ve diğer dokular tarafından alınır. Karaciğer ve dalaktan temizlenmesi çok yavaş olup idrar ve feçes ile atılması çok düşüktür. Akciğerlerde uzamış tutulum akciğer patolojisi yoksa hücrelerin hasar gördüğünü gösterir. In-111, 67 saatlik yarı ömrü ile birçok klinik durumda gerekli olan geç görüntülemeye olanak sağlar. Dezavantajı, enerjisi [173 keV (%89), 247 keV (%94)] nedeniyle görüntülerin düşük rezolüsyonlu olması ve enjeksiyon sonrasında görüntüleme için 18-30 saat beklenmesidir (12). Tutulum, kemotaksise, işaretli hücre sayısına, hücre tipine ve inflamatuvar yanıtın özelliğine bağlıdır. In-111 oksin yağda çözünen nötral yapıdadır, hücre zarını kolaylıkla geçer, hücre içinde yer alan laktoferrin gibi stoplazmik bileşenlere sıkıca bağlanır ve 8-hidroksikinolin hücreden ayrılır.

Tc-99m işaretli lökositin biyodağılımı, In-111 bağlı lökosit biyodağılımına göre değişkenlik gösterir. Normal dağılımında retikuloendotelyal sisteme ilaveten üriner sistem, enjeksiyondan yaklaşık 4 saat sonra kalın barsak ve safra kesesi tutulumu görülür. Bu durum işaretli lökosit birikimine değil, düşük stabiliteli Tc-99m HMPAO molekülünün kısa sürede bozulmasına bağlı olup, geç görüntüleme için bu özellik dezavantajdır. Tc-99m işaretli lökosit görüntülemenin avantajı, optimal foton enerjisi (140 keV) ve enfeksiyon odağının birkaç saat içinde tespit edilebilmesidir (13). Tc-99m HMPAO'nun hücre içinde kalmasıyla ilgili 2 görüş ortaya konmuştur. Birinci görüşe göre, lipofilik Tc-99m HMPAO hücre içine girer, glutatyon gibi bir indirgeyici ajanla hidrofilik yapıya dönüşerek hücre içinde kalır. Diğer görüşe göre, Tc-99m HMPAO'nun diffüze olmayan proteinlere ve hücre organellerine bağlanarak

hücre içinde tutulmasıdır. İzole granülositler yerine tüm lökositler işaretlendiğinde lenfositlere ve kısmen eritrositlere bağlanmadan dolayı özellikle erken görüntülerde kan havuzu aktivitesi görülebilir (13). İyi bir işaretleme verimi için işaretlenecek lökosit sayısının en az  $2 \times 10^8$  lökosit olması gerekmektedir. Bu nedenle hastadan alınan kan miktarı önemlidir. Yetişkinlerden 40-80 ml, çocuklardan ise minimum 10-15 mL venöz kan alınır. 18-20 gauge iğne kullanılır, işaretli lökositler 1-2 saat içinde hastaya geri enjekte edilmelidir. 3 saatten sonra hücre canlılığında önemli miktarda azalma olur. SPECT radyofarmasötikleri ile lökosit işaretlemede sıcaklık  $22^\circ\text{C}$ 'i geçmemelidir (14). İn-vitro metodun zahmetli ve zaman alıcı bir prosedür olması, özel şartlar gerekmesi, kanla uğraşmayı gerektirmesi gibi sınırlayıcı nedenler, araştırmacıları in-vivo olarak lökositlere bağlanabilecek yeni yöntem arayışlarına itmiştir. Peptidler, antigranülosit antikorlar/antikor fragmanları kullanılarak in vivo lökosit işaretlemede önemli oranda çaba sarfedilmiştir (14,15).

#### **3.1.2.2. Radyo-işaretli Antibiyotikler:**

Antibiyotikler, her biri kendisine özgü mekanizmalar kullanarak enfeksiyon odağında bulunan bakteriler ile birleşip metabolize olurlar. Antibiyotiklerin radyoaktif işaretlemede in-vitro lökosit işaretleme prosedüründe bulunan dezavantajlar yoktur (15). Radyoaktif işaretleme için en çok çalışılanı, Tc-99m ile işaretleme siprofloksasin (Infekton) olup, ilk kez Vinjamuri ve arkadaşları tarafından işaretleme ve klinik olarak işaretleme lökositlerle karşılaştırılmıştır (15).

#### **3.1.2.3. Radyo-işaretli Antikorlar:**

İnsan poliklonal immünglobulin G, In-111 ve Tc-99m ile işaretleme ve kapsamlı olarak birçok klinik çalışmada test edilmiştir (16,17,18).

#### **3.1.2.4. Radyo-işaretleme Peptidler:**

Enfeksiyonda çok çeşitli peptidler beyaz kan hücrelerinde bulunan reseptörler için test edilmiş ve Tc-99m ve In-111 ile işaretleme. Antagonistler, ubikuitin, insan nötrofil peptid-1, fosfonodipeptid alafosfalin ile çalışmalar yapılmıştır (19,20).

#### **3.1.2.5. Radyo-işaretleme Sitokin**

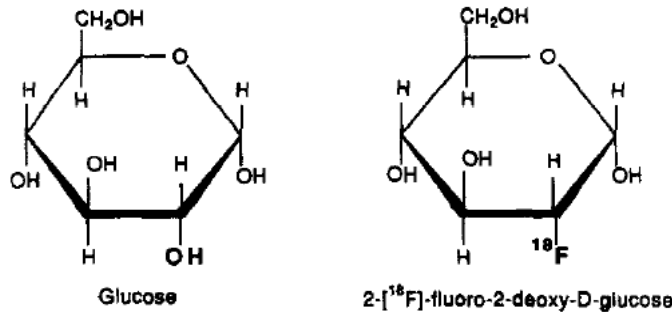
İnterlökin-1 (IL-1), IL-2, IL-8, Tc-99m ve I-123 ile işaretleme çalışmalar yapılmıştır (21,22,23).

### 3.2. PET-BT İle Enfeksiyon Görüntüleme:

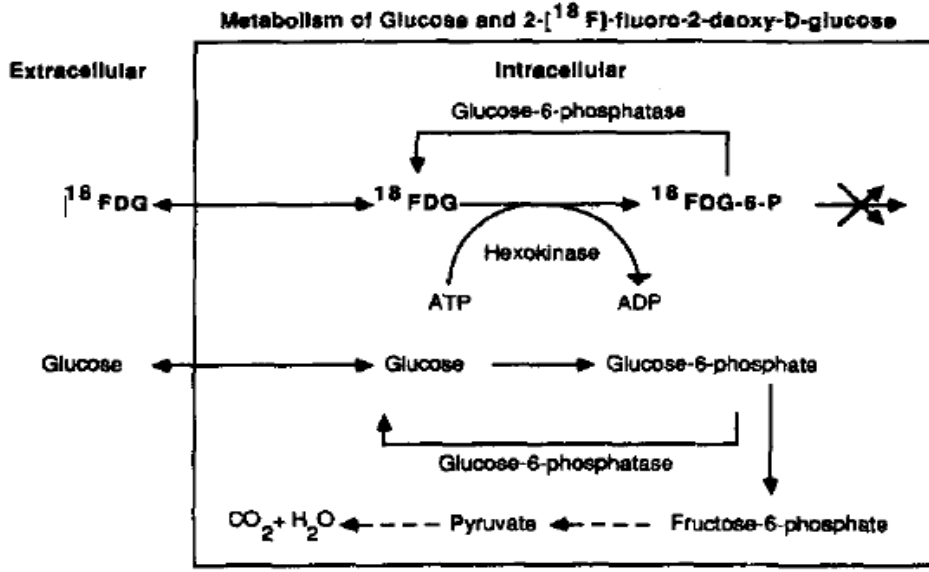
Günümüzde hızlı gelişme gösteren noninvaziv bir görüntüleme yöntemi olan PET/BT, tanıda doğruluğu arttırması, yüksek duyarlılığı, rezolüsyonu ve fonksiyonel bilgi de sağlaması ile güçlü bir multimodalite görüntüleme tekniği olarak kabul görmektedir. PET ile enfeksiyon görüntülemenin, SPECT radyofarmasötikleri ile yapılanlara oranla pek çok avantajı vardır. PET rezolüsyonu daha yüksektir, böylece izlenen tutulumlar net bir şekilde lokalize edilebilir. Ayrıca PET ile semikantitatif analiz yapılabilmesi, enfeksiyöz/nonenfeksiyöz proseslerin ayrımı ve tedavi yanıtının değerlendirilmesine olanak sağlar. Dual görüntüleme yöntemi olan PET/BT, tüm vücut tomografik görüntüleri ile morfolojik bilgi, PET görüntüleri ile kullanılan radyofarmasötiğe göre, dokulardaki hücre canlılığı, doku perfüzyonu, inflamasyon, proliferasyon, reseptör ekspresyonu ve/veya metabolik aktiviteyi görüntüler. Yani, aynı anda anormal metabolik aktivite izlenen dokularda oluşan fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri saptar (24).

#### 3.2.1. F-18 FDG Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) ile Enfeksiyon Görüntüleme:

PET/BT görüntülemeye en çok kullanılan radyoaktif ajan, glukoz derivesi olan 2-fluoro-2-deoksi-D-glukoz veya ticari ismi ile FDG'dir. Glukoz analogu olan FDG, glukoz ile aynı mekanizmayı kullanarak hücre içine girer. Geçişteki transport enzimi, 'hegzokinaz'dır. Canlı hücrelerde normal glikoliz yolağının ilk basamağında tutulur. Glukozdan farklı olarak metabolizmayı tamamlayamaz ve hücrede hapsolür; böylece görüntülenebilir hale gelir (PET görüntüleme). FDG, F-18 ile işaretlenerek F-18 FDG oluşturulmuş ve PET radyonuklidi olarak kullanımı yaygınlaşmıştır (24).



Şekil-1: Glukoz ve FDG yapısı



**Şekil-2:** Glukoz ve FDG metabolizması

Normal dokularda ve tümör dokularında F-18 FDG'nin hücre içine taşınması ve girişi bu GLUT'lar ile, hücre içinde tutulması ise hegzokinaz enzim aktivitesine bağlı fosforilasyonu ile sağlanır. Glukoz metabolizma hızı ile F-18 FDG tutulum hızı uyumludur (24).

F-18 (Flor-18), siklotronda O-18 (Oksijen-18)'den üretilen pozitron yayıcı bir ajandır. Karbon ile sağlam bağ oluşturur. Bağlandığı molekülün yapısını değiştirmez. Bu nedenle FDG ile bağlandığında, FDG'nin glukoz analogu olarak davranmasına etkisi yoktur. 511 keV enerjisi ve 110 dakikalık yarı ömrü ile PET görüntülemesi için uygundur (25).

F-18 FDG PET görüntüleme, çoğunlukla neoplastik hücrelerde oluşan artmış glikolitik aktivite nedeniyle kanser tanısında kullanılmakla birlikte, inflamasyonlu ve enfekte dokularda oluşan metabolizma ve perfüzyon artışı nedeniyle bu dokuların da görüntülenmesini sağlar (24,25). Yapılan çalışmalar, enfeksiyon ve inflamasyondan sorumlu hücrelerden özellikle nötrofil ve monosit/makrofajların daha yüksek oranda F-18 FDG tutulumuna sahip olduğunu göstermiştir (25). Malign hastalıklarda sorun teşkil eden bu durumun, uygun non-neoplastik endikasyonlarda fayda sağladığı anlaşılmıştır (25). F-18 FDG PET ile enfeksiyon ve inflamasyonun görüntülenmesi, birçok klinik durumun tanısında kullanılabilir.

Avrupa Nükleer Tıp Derneği / Nükleer Tıp ve Moleküler Görüntüleme Derneği (EANM)'in, F-18 FDG PET/ BT'nin enfeksiyon ve inflamasyonda kullanımı konulu ortak kılavuzunda yer alan endikasyonlar, majör ve minör endikasyonlar olarak gruplandırılmıştır (25) :

#### **3.2.1.1. Major Endikasyonlar:**

Sarkoidoz, periferik kemiklerde osteomyelit (postoperatif hasta veya diyabetik ayak harici), spinal enfeksiyon kuşkusunu (postoperatif haricindeki spondilodiskit veya vertebral osteomyelit), sebebi bilinmeyen ateş, postoperatif ateş ve tekrarlayan sepsis, immün yetmezliklerde ateş, nötropenik ateş, izole C reaktif protein veya sedimentasyon yüksekliği, metastatik enfeksiyon değerlendirilmesi, bakteriyemi riski yüksek olan hastalar ve vaskülitin primer değerlendirilmesi (25).

#### **3.2.1.2. Minör Endikasyonlar:**

Polikistik hastalarda potansiyel olarak enfekte karaciğer ve böbrek kistlerinin değerlendirilmesi, intravasküler cihaz, pacemaker veya kateterde enfeksiyon kuşkusunu, AIDS ilişkili oportünistik enfeksiyonlar, tüberküloz lezyonlarının metabolik aktivitelerinin değerlendirilmesi (25).

#### **3.2.2. Tedavi Yanıtı Takipte F-18 Florodeoksiglukoz PET/BT:**

Enfeksiyöz hastalıklarda tedavi yanıtını takipte kabul edilmiş tek endikasyon unrezektabl ekinokokus olgularıdır. Ancak, vaskülitlerde, sarkoidozda, otoimmün hastalıklarda (romatoid artrit, inflamatuvar barsak hastalığı, otoimmün tiroidit ve otoimmün pankreatit), osteomyelitte ve fungal enfeksiyonlarda da tedavi yanıtını takipte faydaları konusunda çalışmalar yapılmaktadır (26).

#### **3.3. F-18 FDG İşaretli Lökositler ile Enfeksiyon Görüntüleme:**

F-18 FDG PET, pek çok inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalığın tanısı için kullanılan değerli bir yöntem haline gelmekle birlikte, malign ve benign neoplaziler dahil olmak üzere, çok çeşitli nonenfeksiyöz inflamatuvar durumlar F-18 FDG tutulumu gösterebildiğinden, nonspesifik bir yöntemdir. Enfeksiyon görüntülemesinde F-18 FDG'den daha spesifik PET radyofarmasötikleri geliştirmek amacıyla yoğun çabalar sarf edilmektedir. Bu amaçla lökositlerin PET ajanları ile işaretlenmesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. F-18 FDG ile işaretli lökosit kullanımı, akut enfeksiyon tanısında, yöntemin özgüllüğünü ve duyarlılığını artırmaktadır. Ancak, düşük

bağlanma yüzdesi ve F-18 FDG yarı ömrünün kısa olması (110 dakika), yöntemi sınırlayan özelliklerdir. Henüz F-18 FDG ile lökosit işaretlemeye standardize edilmiş bir teknik mevcut olmayıp, bağlanma etkinliğini artırıcı yöntemler denenmektedir.

### **3.3.1. F-18 FDG ile Lökosit İşaretleme:**

F-18 FDG'e oranla daha spesifik bir PET ajanı geliştirebilmek için ilk girişim, otolog lökositlerin in vitro olarak işaretlenmesi yöntemidir. F-18 FDG ile işaretleme için, öncelikle lökosit içine glukoz girişini inceleme amacıyla, lökosit yüzeyindeki GLUT reseptörleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Enfeksiyon durumundaki lökosit membranında bu reseptörlerin değişimleri araştırılmıştır. Enfekte-inflame dokularda artmış oranda glukoz transporter proteinleri (özellikle GLUT-1, GLUT-3) ve ekstra aktif hegzokinaz izoformu bulunur. GLUT'lar, glukoz taşıyıcısı olarak da bilinirler. GLUT'lar 1'den 14'e kadar sıralanmıştır. Hücre dışı glukoz, GLUT'a bağlanır ve taşıyıcı konformasyonunu değiştirerek glikozu hücre içine alır. Glukoz hücre içine ayrıca ko-transport yolu ile de girebilir (27,28).

Bilinen GLUT'lar 3 class altında incelenmektedir (29):

#### Class I:

GLUT-1: Fetal dokular ile eritrositler ve kan-beyin bariyerinde bulunur. GLUT-1 ekspresyonu tümör ile ilişkilidir.

GLUT-2: Renal tübüller, karaciğer, pankreas beta hücreleri ve ince barsak basolateral membranında bulunur. Karaciğerde iki yönlü glukoz transportu yapar. Glukoz, galaktoz ve fruktozun üçü de GLUT-2 ile taşınır.

GLUT-3: Nöronlarda ve plasentada bulunur.

GLUT-4: Yağ dokusunda, ayrıca iskelet ve kalp kasında bulunur.

GLUT-14: Testiste bulunur, GLUT-3'e benzer.

#### Class II:

GLUT-5 (SLC2A5), enterositlerde fruktoz transportunu domine eder.

GLUT-7 (SLC2A7)- (SLC2A7), İnce ve kalın barsakta glukoz transportundan sorumludur.

GLUT -9 (SLC2A9)- (SLC2A9)

GLUT-11 (SLC2A11)

#### Class III:

GLUT-6 (SLC2A6)

GLUT-8 (SLC2A8)

GLUT-10 (SLC2A10)

GLUT-12 (SLC2A12)

GLUT-13, H<sup>+</sup>/myoinositoltransporter HMIT (SLC2A13) : Beyinde glukoz transportunu domine eder (29).

Diğer bir konu, glukoz metabolizmasında major düzenleyici hormona sahip olan insülin (30). İnsülin, kaynak hücresi pankreasın beta hücreleri olan, 51 amino asitten oluşan peptid yapıda bir hormondur. Dolaşımında plazmada çözülmüş halde taşınır, yarı ömrü 5 dakikadır. Salınımını artıran faktörler:

- Plazma glikozunun >100 mg/dl olması,
- Kanda amino asit artışı,
- Mide-bağırsak hormonları,
- Parasempatik güçlendirici-sempatik inhibe edici ajanlar.

İnsülinin hedef reseptörleri, tirozin-kinaz aktiviteli membran reseptörü ve insulin reseptör substratlı metabolik geçitlerdir. Vücuttaki etkisi, glukozun hücreye taşınmasında artış ya da glikozun metabolik kullanımında artış sonucu plazma glukoz değeri düşmesidir. Hücre düzeyinde etkisi, glikojen sentezi artışına, glukozun aerobik metabolizma artışına, protein ve trigliserid sentezinde artışa yol açması şeklindedir. Moleküler düzeyde etki, kas doku ve adipoz doku hücrelerinde GLUT taşıyıcıları devreye sokarak enzim aktivitesini değiştirmesi ve sinyal üreten geçitleri etkilemesidir. Plazma glukozundaki düşüş, negatif feedback etki ile plazma insulin salınımını düşürür, böylece kontrolsüz salınım engellenir (30).

F-18 FDG ile lökosit işaretlemeye temel oluşturabilecek olan çalışmalar, kan hücrelerindeki GLUT'lar ve enzimler ile ilgili çalışmalardır. Bir çalışmada, HIV-1 enfekte insan CD4-T lenfositlerinde GLUT-1,3,4,6 ekspresyonu ve hegzokinaz-2 enzim aktivitesinde artış tespit edilmiştir (31). Rodrigues R.S ve ark, lipopolisakkarit kaynaklı akut akciğer hasarında nötrofil birikimi ve aktivasyonunu incelemişler, F-18 FDG işaretli lökosit PET görüntülemeyi, ALI (Acute Lung Injury = Akut akciğer hasarı) / ARDS (Akut Respiratuvar Distres Sendromu)'nin erken ayırıcı tanısında kullanmayı amaçlamışlar, bu çalışmada, PAF ile aktive edilmiş lökositlerde GLUT-3 ve 4 ekspresyonunda ve hegzokinaz-1 aktivitesinde artış tespit etmişlerdir (32). Maratao ve arkadaşları, istirahatteki beyaz kan hücreleri ve aktive edilmiş durumdaki



beyaz kan hücrelerinin plasma membranında oluşan GLUT ekspresyonunu, insülin varlığında ve yokluğunda incelemişlerdir. Aktive edilmiş beyaz kan hücrelerinde, insülin yokluğunda GLUT-1,3,4 ekspresyonu artışı, insülin varlığında GLUT-3 ve 4 ekspresyonu artışı tespit etmişlerdir (33).

20 yıl önce Osman ve Danpure (34), insan lökositlerini F-18 FDG ile in vitro olarak işaretleyerek, bu konuda en sık kullanılan yöntemi geliştirmişlerdir. F-18 FDG tutulumunun, ortamda bulunan glukozu bağımlı olduğunu göstermişlerdir. Lökositlerin, ortamdaki glukoz konsantrasyonu 15 µg/ml (mikrogram/mililitre) iken %80 olan işaretlenme etkinliği, glukoz konsantrasyonu 1 mg/ml'ye çıkarıldığında %2'e düşer. Hücre içi glukoz retansiyonu da glukozun ekstraselüler konsantrasyonu ile ilişkilidir. Ekstraselüler glukoz yokluğunda, FDG'nin %9'u ilk 1 saatte lökositlerden hücre dışına çıkarken, ekstraselüler glukoz konsantrasyonu 1 mg/ml olduğunda bu oran %27 olmaktadır (34).

Forstrom ve ark. (35), insan lökositlerinin in-vitro F-18 FDG ile işaretlenmesi hakkındaki çalışmalarında, ortalama işaretleme etkinliğini %62,7 olarak bulmuşlar, aktivitenin %80'inin granülosit fraksiyonunda, %14'ünün mikst lenfosit-plazma fraksiyonunda ve %6'sının plazma fraksiyonunda olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, işaretleme işleminde lökositlerin F-18 FDG ile inkübasyon süresi ve bağlanma etkinliği ilişkisini de değerlendirmişler ve 15-20. dakika ölçümlerinde maksimum etkinliğin sağlandığını bulmuşlardır (35). Aynı çalışmada, kullanılan antikoagulan maddenin, inkübasyon ısısının, F-18 FDG dozunun ve insülinin de bağlanma etkinliğine etkisini incelemişler. Yine aynı çalışmada işaretleme sonrası F-18 FDG işaretli lökositlerin stabilitesini de araştırmış, trombositten fakir plazmada 4 saate kadar stabil olarak kalabildiğini göstermişlerdir (35). Forstrom ve ark (36), 4 normal gönüllüden oluşan diğer bir çalışmada dozimetri sonuçlarını ve F-18 FDG işaretli lökositlerin biyodistribüsyonunu değerlendirmişlerdir (36). Buna göre, beklendiği gibi, işaretli lökositler primer olarak retikuloendotelial sistemde dağılım göstermişlerdir. Ayrıca, büyük ihtimalle FDG'nin lökositlerden elüsyonuna bağlı olarak serebral ve üriner sistem aktivitesi de gözlenmiştir. FDG işaretli lökositler ile 222-252 MBq (6-6,8 mCi) aktivite uygulanması sonrası hesaplanan tüm vücut ve major organ dozimetre sonuçları, In-111 ile elde edilen sonuçlarla benzer düzeyde bulunmuştur (36).

Pellegrino ve ark. (37) F-18 FDG işaretli lökosit ve F-18 FDG'e ait tutulumları, steril terebentinle kemirgenlerde oluşturulan akut inflamasyon ile *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* kullanılarak oluşturulan bakteriyel enfeksiyon modelinde karşılaştırmışlardır. Her iki radyofarmasötüğün tutulumu da enfekte kas dokusunda, enfekte olmayan kas dokusuna oranla belirgin artmış olarak bulunmuştur. Ortalama enfekte olan/enfekte olmayan kas tutulum oranı, F-18 FDG ile işaretli lökositte F-18 FDG'e oranla yaklaşık 2 kat daha yüksek bulunmuştur (37). Ayrıca, F-18 FDG ile işaretli lökositlerin, enflame dokuyu normal dokudan ayırmada F-18 FDG PET'e oranla daha üstün olduğu gösterilmiştir. Pellegrino ve ark, bu çalışma için yaptıkları lökosit işaretleme işleminde ortalama bağlanma etkinliğini de % 64-75 olarak bildirmişlerdir (37).

Pio ve arkadaşları (38), F-18 FDG işaretli lökositler ile F-18 FDG'i insan ve fare modelinde karşılaştırmışlar ve bu iki radyofarmasötüğün dağılım paterninin farklı olduğu sonucunu bulmuşlardır. Ayrıca, F-18 FDG işaretli lökosit PET'in intestinal inflamasyon varlığını ve ciddiyetini saptamada kantitatif bir belirteç olabileceği sonucuna varmışlardır (38).

Dumarey ve ark. (39), F-18 FDG ile lökosit işaretlemeyi 21 hastada prospektif olarak değerlendirmiş, ortalama işaretleme etkinliğini  $75\pm 21$  (%24-96) olarak bildirmişlerdir. Ortalama invitro stabilite ise, işaretleme sonrası 4. saatte %90 olarak saptanmıştır. Görüntüleme, işaretlenen lökositlerin hastaya enjeksiyonundan sonraki 3. saatte gerçekleştirilmiştir. Diğer radyoaktif işaretli lökositlerde olduğu gibi, F-18 FDG işaretli lökositlerin de primer olarak retiküloendotelyal sistemde akümüasyonu izlenmiştir (39).

Rini ve ark. (40) 43 hastada, F-18 FDG işaretli lökosit ile görüntülemeyi, bir gama kamera koinsidans sistemi kullanarak In-111 işaretli lökosit görüntüleme yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Görüntülemeye 196-315 MBq F-18 FDG işaretli lökosit enjeksiyonu sonrası 2-6 saat; 17-25 MBq In-111 işaretli lökosit enjeksiyonu sonrası 24. saatte başlamışlardır. Ortalama F-18 FDG işaretleme etkinliği  $75\pm 21$  olup, ortalama işaretlenme etkinliği  $90\pm 5$  olan In-111'e oranla anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. F-18 FDG işaretli lökosit grubunda olan 6 hasta, işaretlenme etkinliği %35'in altında olduğu için çalışma dışı bırakılmıştır. Tersine, bu 6 hastada In-111 işaretleme etkinliği  $89-93$  ( $90\pm 2$ ) bulunmuştur. F-18 FDG işaretli

lökositler için ortalama hücre canlılığı %98 ile ortalama hücre canlılığı %81 olan In-111 işaretli lökositler ile benzer bulunmuş ve bu iki test arasında yüksek ölçüde uyum saptanmıştır (40).

Aksoy ve ark.(41), protez enfeksiyonlarında FDG işaretli lökosit PET'in tanısal rolünü araştırmışlar, pozitif F-18 FDG PET/BT çalışması olan 46 hastaya F-18 FDG işaretli lökosit PET/BT yapmışlardır. Ortalama işaretleme etkinliğini  $75\pm 17$  olarak saptamışlardır (41). Ancak, işaretli lökositlere canlılık testi yapmamışlardır.

Bhattacharya ve ark, akut pankreatitli hastaların enfekte sıvı koleksiyonlarında F-18 FDG işaretli lökosit PET/BT'nin tanısal rolünü araştırmışlardır (42). Ortalama işaretleme etkinliğini  $81\pm 10$  (%31-97) olarak bulmuşlardır. Tüm hastalarda işaretli lökosit canlılık oranı %99'un üzerindedir. İşaretli hücrelerin enjeksiyonundan 2 saat sonra görüntüleme yapılmış ve testin enfekte sıvı koleksiyonlarını saptamadaki doğruluk oranı %100 olarak raporlanmıştır (42).

Bhargava ve arkadaşları, çalışmalarında işaretli lökositlerin stabilitesini değerlendirmişler, 1.saatte  $85\pm 4$ , 4.saatte  $68\pm 7$ 'e düşen (azalan) bir ortalama stabilite değeri vermişlerdir (43).

Eldjarn C. ve ark. işaretleme işlemi sırasında antikoagulan olarak kullanılan heparinin granülosit aktivasyonunu ve mikroagregasyonunu uyarabileceği gerekçesi ile, antikoagülasyon için asit sitrat kullanmayı denemiş ancak, işaretleme etkinliğinde anlamlı fark bulamamışlardır (44).

Moon ve ark, lökositleri *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF) ve insülin ile inkübe ederek işaretlemiş ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlar, işaretleme etkinliğinde G-CSF'nin anlamlı artış sağladığını, insülinin ise kontrol grubu ile anlamlı değişikliğe neden olmadığını tespit etmişlerdir (45).

Paik ve arkadaşları, lenfosit ve monositlerin F-18 FDG ile işaretleme işleminde insülinin etkisini araştırmışlar, lenfositlerin işaretleme etkinliğinde anlamlı farka yol açmazken, monosit işaretleme etkinliğinde istatistiksel anlamlı artış sağladığını tespit etmişlerdir (46).

Yayınlarda, F-18 FDG işaretli lökositlerin yararlı bir enfeksiyon görüntüleme ajanı olduğu belirtilse de, bu prosedürün rutin klinik kullanıma geçirilmesi halinde incelenmesi gereken konular bulunmaktadır:

Bu konulardan ilki, FDG işaretli lökositlerin %25'in altı ile %90'in üzerinde bir aralıkta değişen işaretleme etkinliğidir. Bu değişkenlik dikkate alındığında, hücre işaretlemede ne kadar aktivite kullanılmalıdır? En kötü durumda, örneğin %25'lik işaretleme etkinliği yeterli midir? %90'ın üzerinde işaretlenme etkinliği var ise bu nasıl olmaktadır? Enjekte edilecek aktivite de orantılı olarak azaltılmalı mıdır? Eğer azaltılacaksa tanısal veri elde edebilmek için enjekte edilen hücrelerin sayısı yeterli olacak mıdır?

İkinci konu da, F-18 FDG işaretli lökositin stabilitesidir. Yayınlarda bildirilen sonuçlar değişkenlik göstermektedir. Dumarey ve ark, işaretlemeden yaklaşık 4 saat sonra %90'a varan bir ortalama stabilite değeri verirken (38), Bhargava ve ark. onlardan farklı olarak, ilk 1 saatte %85±4, 4.saatte ise %68±7'e düşen bir ortalama stabilite değeri vermektedirler (43).

İşaretleme etkinliği ve stabilite dışında, F-18'in 110 dakika olan yarılanma ömrü de lojistik problemlere neden olmaktadır. İn-vitro işaretleme işlemi yaklaşık 2 saat sürmektedir. Bu nedenle, hücreleri işaretlemede kullanılacak olan aktivite miktarı belirlenirken bu süre göz önünde bulundurulmalıdır. F-18'in 110 dakikalık yarılanma ömrü, işaretleme metodunu tesis dışında uygulamaya elverişsiz hale getirerek sadece belirli alanlarla sınırlandırmaktadır. Bazı durumlarda geç görüntü (24. saat gibi) alınması gerekebilmektedir. Ancak, F-18 FDG'nin kısa yarılanma süresi, aktivite enjeksiyonundan 4-5 saat sonrası için görüntü alınabilmesini imkansız hale getirir.

### **3.4. F-18-FDG Dışı Ajanlarla Enfeksiyon PET:**

**3.4.1. Cu-64 İşaretli Lökositler:** Preklinik veriler umut verici olsa da bu ajan ile yapılmış insan çalışması bulunmamaktadır.

**3.4.2. I-124 Fialuridin:** Fialuridin (FIAU), radioiyodine edilmiş timidin analogudur.

**3.4.3. Ga-68:** Pozitron emisyonu yapan Ga-68'in güncel kullanımının artması ile bu ajanın enfeksiyon görüntüleme rolünü araştıran çalışmalar yaygınlaşmıştır.

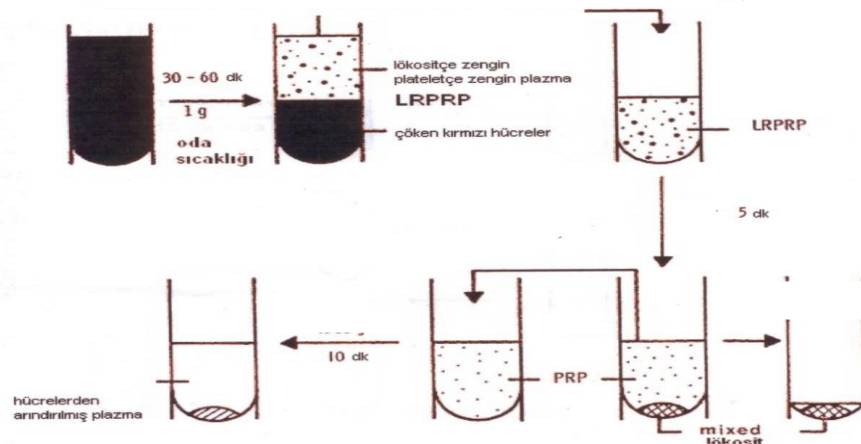
## GEREÇ VE YÖNTEM:

### 1. GÖNÜLLÜLER:

Çalışmanın amacı anlatılarak katılımı sağlanan kişilere gönüllü onam formu imzalatıldı. 25-55 yaş arasında, diyabetik olmayan, bilinen herhangi bir akut ya da kronik hastalığı bulunmayan, açlık kan şekeri 80-120 mg/dl olan 24 yetişkin gönüllü çalışmaya dahil edildi.

### 2. YÖNTEM :

Çalışma, invitro şartlarda laminer flow içinde çalışılarak gerçekleştirildi. Çalışmaya katılan gönüllülerin açlık kan şekeri düzeyleri glukometre ile ölçülerek, belirlenen değer 80-120 mg/dl olanlardan kan alındı. Antikoagülan olarak 3,5 cc Acit-Citrat-Dextrose (ACD) eklenen enjektörlere 20 ml venöz kan alındı. Bu ACD'li kan inkübasyon tüpüne boşaltılıp 5cc HESPAN ilave edildi ve 45-60 dakika inkübe edildi. Böylece kırmızı kan hücrelerinin çökmesi sağlandı. Üstte biriken plazma kısmı steril pipet yardımı ile ayrı bir tüpe alındı. Ayrılan lökositten zengin plazma santüföje yerleştirildi. Santrifüj işlemi için, Electromac M415P model masaüstü santrifüj kullanıldı. Tüpe ayrılmış olan lökosit ve trombositten zengin plazma 1380 devirde 10 dakika santrifüje edildi. İşlem sonrası ayrılan süpernatant steril pipetle çekilerek atıldı. Çökeltinin üzerine 4 cc serum fizyolojik (SF) eklenerek pipetle 8-10 defa em-bırak yapıp çökeltinin SF içine dağılması sağlandı ve 1480 devirde 5 dakika santrifüje edildi. Santrifüj sonrası süpernatant pipetle ayrıldıktan sonra, dipte lökositlerden zengin pellet oluştu.



Şekil-3: Lökositlerin izolasyonu

SF ile sulandırılan lökosit çökeltisi 2 ayrı tüpe bölündü. Bu aşamaya kadar her gönüllü kanına aynı işlem uygulandı. Bundan sonraki basamaklarda 3 farklı yöntem kullanıldı:

1.Yöntem: Aynı şekilde hazırlanan lökositler, 2 ayrı tüpe bölünerek tüplerden birine 10 IU insülin ilave edilip 37°C derecede 20 dakika beklendi. Diğer tüpe insülin ilave edilmedi. Sonra tüplerin her birine 10 mCi F-18 FDG ilave edilerek 37°C derecede 15 dakika daha bekletildi. 37°C'lik ısı, Nüve-NB5 tipi boiler ile sağlandı.

2.Yöntem: Yukarıda tanımlanan şekilde izole edilen lökositler 2 ayrı tüpe bölündü. Tüplerden birine 10 IU insülin ilave edilerek oda ısısında 20 dakika beklendi. Diğer tüpe insülin ilave edilmedi. Herbir tüpe 10 mCi F-18 FDG eklenip oda ısısında 15 dakika daha beklendi.

3.Yöntem: İzole edilen lökositler 2 ayrı tüpe bölündü. Tüplerden birine 10 IU insülin ilave edilip oda ısısında (26°C) 20 dakika beklendi. Diğer tüpe insülin ilave edilmedi. Her bir tüpe 2 mCi F-18 FDG eklenip oda ısısında 15 dakika daha beklendi.

İnsülin olarak bizim çalışmamızda kullandığımız kısa etkili insülin preparatı (Novo Rapid Flexpen-Novo Nordisk-Bagsvaerd-Danimarka) idi. Bu preparatın etki başlangıç süresi 15 dakika olup, 3-4 saat devam etmektedir.

Bu aşamadan sonra, her 3 yöntemde hazırlanan mataryeller, 1650 g devirde 5 dakika santrifüje edilerek bağlı lökositler izole edildi. Böylece insülin ilavesi sonrası toplam inkübasyon süresi 40 dakika oldu. Santrifüj sonunda oluşan çökelti, F-18 FDG ile bağlı olan lökositler, süpernatant kısmı ise serbest komponent idi. Üstteki serbest komponent enjektör ile çekilerek bağlı komponentten ayrıldı. Bağlı ve serbest komponent aktivitesi, kuyu tipi dozimetre ile ayrı ayrı ölçüldü. Bulunan değerler total aktiviteye bölünerek bağlı ve serbest komponentlerin yüzdeleri hesaplandı.

Elde edilen veriler, SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 software-Armonk, NY: IBM Corp.) paket programıyla analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama ( $\pm$  standart sapma), ortanca (minimum ve maksimum değerler) olarak ifade edilmiştir. Bağımlı grupların karşılaştırmaları için Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi kullanılmıştır.

Çalışma, Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 60116787-020 / 28712 sayı numarası ile etik kurul onayı almıştır.

### BULGULAR:

Çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz lökosit ile bağlı olan aktiviteler, total aktiviteler ve bağlanma oranları, değişkenlere göre oluşturduğumuz gruplar için sınıflandırılmıştır (Tablo-1).

**Tablo-1:** Çalışma grupları ve elde edilen veriler

Hasta numarası ve gruplar	İnsülin Uygulanmayan Grup			İnsülin Uygulanan Grup		
	İşaretli Lökosit Aktivitei (mCi)	Total Aktivite (mCi)	Bağlanma Oranı (%)	İşaretli Lökosit Aktivitesi (mCi)	Total Aktivite (mCi)	Bağlanma Oranı (%)
<b>37°C 10 mCi</b>						
1.	4,60	8,84	% 50	3,88	8,64	% 52
2.	3,63	7,89	% 46	2,96	7,40	% 40
3.	3,59	7,48	% 48	3,75	7,66	% 49
4.	3,12	6,78	% 46	3,19	7,08	% 45
5.	3,13	8,03	% 39	3,49	7,92	% 44
6.	3,47	8,26	% 42	3,61	8,02	% 45
7.	2,72	6,81	% 40	2,68	7,45	% 36
8.	4,59	8,82	% 52	4,62	7,97	% 58
<b>37°C 2 mCi</b>						
1.	0,73	1,62	% 45	0,83	1,77	% 47
2.	0,52	1,27	% 41	0,55	1,41	% 39
3.	0,58	1,48	% 39	0,82	1,68	% 40
4.	0,65	1,81	% 36	0,53	1,39	% 38
5.	0,49	1,16	% 42	0,52	1,18	% 44
6.	0,37	1,08	% 34	0,39	1,14	% 34
7.	0,60	1,34	% 45	0,58	1,32	% 44
8.	0,39	1,02	% 38	0,52	1,27	% 41
<b>Oda ısı 2mCi</b>						
1.	0,34	1,49	% 23	0,32	1,18	% 27
2.	0,71	1,74	% 41	0,72	1,80	% 40
3.	0,46	1,63	% 28	0,41	1,32	% 31
4.	0,34	1,30	% 26	0,44	1,47	% 30
5.	0,41	1,17	% 35	0,40	1,26	% 32
6.	0,74	1,86	% 40	0,55	1,58	% 35
7.	0,60	1,57	% 38	0,68	1,73	% 39
8.	0,55	1,66	% 33	0,38	1,08	% 35

Biz bu çalışmamızda, insülin ilavesiz grupta ortalama bağlanma etkinliğini %39,5 ± 0,072 ( %23-%52 ); insülin ilaveli grupta ortalama bağlanma etkinliğini %40,2 ± 0,073 ( %27-%58 ) olarak hesapladık.

Lökositlerin F-18 FDG ile işaretlenmesinde, ortamda insülin varlığının etkisi karşılaştırıldığında, 37°C’de yüksek doz, 37°C’de düşük doz ve oda ısısında düşük doz F-18 FDG kullanılan gruplar için insülin kullanımının istatistik olarak anlamlı fark oluşturmadığı saptanmıştır (p>0.05) (Tablo 2).

**Tablo-2:** İnsülin varlığının F-18 FDG lökosit bağlanma yüzdesi üzerindeki etkisi

	Ortalama(±SD) (%)	Ortanca(min-maks.) (%)	P değeri
İnsülinli 2mCi	40,0 (±4,0)	40,0 (34-45)	0,168
İnsülinli 10 mCi	40,9 (±4,1)	41,0 (34-47)	
İnsülinli 2 mCi Oda ısısı	45,4 (±4,7)	46,0 (39-52)	0,575
İnsülinli 10 mCi Oda ısısı	46,1 (±6,9)	45,0 (36 -58)	
İnsülinli 2 mCi Oda ısısı	33,0 (±6,7)	34,0 (23-41)	0,574
İnsülinli 10 mCi Oda ısısı	33,6 (±4,5)	34,0 (27-40)	

F-18 FDG dozunun bağlanma yüzdesine etkisi Tablo 3’te gösterilmiştir. İnsülin uygulanmayan grupta yüksek doz F-18 FDG ile bağlananlarda bağlanma yüzdesinin, düşük doz F-18 FDG ile bağlananlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (p=0,049). İnsülin uygulanan grupta ise düşük doz ve yüksek doz F-18 FDG ilavesinin istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşturmadığı görülmüştür (p=0,09).

**Tablo-3:** Farklı F-18 FDG dozlarının F-18 FDG lökosit bağlanma yüzdesi üzerindeki etkisi

	Ortalama(±SD) (%)	Ortanca(min-maks.) (%)	P değeri (<0,05)
2 mCi İnsülinli	40,1 (±4,0)	40,0 (34-45)	<b>0,049</b>
10 mCi İnsülinli	45,4 (±4,7)	46,0 (39-52)	
2 mCi İnsülinli	40,9 (±4,1)	41,0 (34-47)	0,090
10 mCi İnsülinli	46,1 (±6,9)	45,0 (36-58)	



Lökositlerin inkübasyon ısısının bağlanma oranına etkisi, Tablo 4'te gösterilmiştir. 37°C ısıda inkübasyon uygulanan insülin ilaveli (p=0,036) ve insülin ilavesiz (p=0,042) gruplarda oda ısısında inkübasyon uygulanan gruplara göre bağlanma yüzdesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür.

**Tablo-4:** İnkübasyon ortamı ısı değişiminin F-18 FDG lökosit bağlanma yüzdesi üzerindeki etkisi

	<b>Ortalama(±SD) (%)</b>	<b>Ortanca(min-maks.) (%)</b>	<b>P değeri (&lt;0,05)</b>
<b>Oda ısısı İnsülinli</b>	33,0 (±6,7)	34,0 (23-41)	<b>0,042</b>
<b>37°C İnsülinli</b>	40,0 (±4,0)	40,0 (34-45)	
<b>Oda ısısı İnsülinli</b>	33,6 (±4,5)	34,0 (27-40)	<b>0,036</b>
<b>37°C İnsülinli</b>	40,9 (±4,1)	41,0 (34 -47)	

## TARTIŞMA

F-18 flurodeoxyglucose (F-18 FDG) pozitron emisyon tomografi (PET), pek çok inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalığın tanısında kullanılan çok değerli bir yöntem haline gelmekle birlikte, malign ve benign neoplaziler dahil olmak üzere, çok çeşitli non-enfeksiyöz inflamatuvar durumlar F-18 FDG tutulumu gösterebildiği için, nonspesifik bir yöntemdir. Enfeksiyon görüntülemesinde spesifik ya da en azından F-18 FDG'den daha spesifik PET radyofarmasötikleri geliştirmek için yoğun çabalar sarf edilmektedir. Bu amaçla, inflamasyonda primer rolü oynayan, enfekte dokudaki lökosit akümülyasyonunu görüntüleme üzerine gidilmiş, lökositlerin PET ajanları ile işaretlenmesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. F-18 FDG ile işaretli lökosit kullanımı, akut enfeksiyon tanısında, yöntemin spesifitesini ve sensitivitesini artırmaktadır. Ancak, düşük bağlanma yüzdesi ve F-18 FDG yarı ömrünün kısa olması (2 saat), yöntemi sınırlamaktadır. F-18 FDG ile lökosit işaretlemede henüz standardize edilmiş bir teknik mevcut olmayıp, bağlanma etkinliğini artırıcı yöntemler ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Biz de F-18 FDG ile lökosit işaretlemede bağlanma oranını etkileyebileceğini düşündüğümüz faktörlerden ısı, F-18 FDG dozu ve insülin kullanımını inceledik.

Biz bu çalışmamızda, insülin ilavesiz grupta ortalama bağlanma etkinliğini  $39,5 \pm 0,072$  (%23-%52); insülin ilaveli grupta ortalama bağlanma etkinliğini  $40,2 \pm 0,073$  (%27-%58) olarak hesapladık.

Yaptığımız literatür taramasında; Osman ve Danpure, ortam glukozunun F-18 FDG ile bağlanma etkinliğindeki rolünü inceledikleri invitro çalışmada, ortamdaki glukoz düzeyine göre değişmekle birlikte %2 ile %80 arasında değişkenlik gösteren bağlanma oranları bulmuşlardır (34). Lökositleri izole ettikten sonra, invitro olarak ortam glukozunu değiştirerek işaretleme yaptıkları için, değişkenliğin buna bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Biz çalışmamızda ortam glukoz düzeyinde değişiklik yapmaksızın invitro çalışma yaptık. Gönüllüler birbirine yakın özellikte ve sağlıklı kişiler idi. Bu nedenle, tespit ettiğimiz minimum-maksimum değerler arasında bu çalışmadaki kadar büyük farklar izlemedik. Forstrom ve arkadaşları da, insan lökositlerinin F-18 FDG ile işaretlenmesi hakkındaki invitro çalışmalarında, işaretleme tekniğinde değiştirdikleri parametrelere göre çok farklı yüzdeler elde etmişler, ortalama bağlama etkinliğini  $62,7 \pm 1,6$  olarak tespit etmişlerdir. Bağlı

aktivitenin %80'inin granülosit fraksiyonunda, %14'ünün mikst lenfosit-plazma fraksiyonunda ve % 6'sının plazma fraksiyonunda olduğunu göstermişlerdir (36). Biz çalışmamızı rutin PET-BT pratiğine yönelik düşündüğümüz için, izole ettiğimiz lökositleri fraksiyonlarına ayırmadık. Pellegrino ve ark. FDG işaretli lökosit ve FDG'e ait tutulumları, kemirgenlerde steril terebentin ile oluşturulan akut steril inflamasyon ile, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* ile oluşturulan bakteriyel enfeksiyon modelinde karşılaştırmışlardır. Bu çalışma için yaptıkları işaretleme işleminde, 20-40 ml kandan izole ettikleri lökositleri 10-20 mCi F-18 FDG ile 37°C'de 20 dakika inkübasyon ile bağlayıp ortalama bağlanma etkinliğini %64-75 aralığında bulmuşlar (37). Buldukları bağlanma etkinliği, bizim çalışmamıza kıyasla yüksektir. Bu farklılığın, kullanılan kan miktarına (lökosit sayısı), F-18 FDG dozunun yüksekliğine ve enfekte kanlarla çalışılmış olmalarına bağlı olabileceğini düşündük. Dumarey ve ark, F-18 FDG ile lökosit işaretlemeyi 21 hastada prospektif olarak değerlendirmişler, ortalama işaretleme etkinliğini  $75 \pm 21$  (%24-96) bulmuşlardır (39). Aksoy ve ark, protez enfeksiyonlarında F-18 FDG işaretli lökosit PET'in tanısal rolünü araştırmışlar, pozitif F-18 FDG PET/BT çalışması olan 46 hastada, lökositlerin ortalama işaretleme etkinliğini  $75 \pm 17$  olarak saptamışlardır (41). Bhattacharya ve ark. akut pankreatitli hastaların enfekte sıvı koleksiyonlarında F-18 FDG işaretli lökosit PET/BT'nin tanısal rolünü araştırmışlar, ortalama işaretleme etkinliğini  $81 \pm 10$  (%31-97) olarak bulmuşlardır (42). Bu çalışmalarda lökositlerin uyarılmasına sebep olabilecek enfekte kan örnekleri kullanılmıştır. Biz çalışmamızı, herhangi bir enfeksiyon hastalığı ya da kronik hastalığı olmayan 25-55 yaş sağlıklı gönüllülerden alınan kanlarla yaptık. Enfekte kandaki lökosit sayısı artışı, bu lökositlerdeki GLUT reseptörü ve hegzokinaz enzim aktivitesi artışı göz önüne aldığımızda, bu çalışmalar ile bizim çalışmamız arasında görülen ortalama bağlanma oranı farkının seçilen hasta profiline bağlı olduğunu düşündük. Rini ve ark, 43 hastada, F-18 FDG işaretli lökosit görüntülemeyi, bir gama kamera koinsidans sistemi kullanarak In-111 işaretli lökosit görüntüleme yöntemi ile karşılaştırdıkları çalışmada, 6 hastayı, işaretlenme etkinliği %35'in altında olduğu için çalışma dışı bırakmışlar, 43 hastada işaretleme etkinliği ortalamasını  $75 \pm 21$  bildirmişlerdir (40). Bu çalışmada düşük (%35 in altında) bağlanma etkinliği olan hastaların çalışma dışı bırakılmasının, ortalamanın yüksek hesaplanmasına sebep olduğunu düşündük.

Biz çalışmamıza düşük bağlanma etkinliklerini (%23 gibi) de dahil ettik, bu nedenle daha düşük ortalama hesaplanmış olabileceğini düşündük. Akut enfeksiyon durumunda lökositlerde artan sayı, GLUT reseptörü ve hegzokinaz aktivitesi nedeniyle F-18 FDG tutulumunun normal kişilere göre daha yüksek olması bağlanma etkinliğinin de fazla olmasını sağlamıştır. Biz çalışmamızı sağlıklı gönüllülerle yaptığımız için bağlanma etkinliğini daha düşük bulmuş olabiliriz. Eldjarn C. ve arkadaşları, işaretleme işlemi sırasında antikoagulan olarak kullanılabilen 3 ayrı madde (ACD, heparin, dekstrozsuz sitrat salin) ile invitro çalışma yapmış, ACD kullandıkları grupta bağlanma etkinliği ortalamasını %30,2 olarak hesaplamışlar (44). Bu oran, bizim çalışmamızda benzer şartlarda (insülinsiz grup) işlem yaparak tespit ettiğimiz bağlanma etkinliği ortalamasından ( $39,5 \pm 0,072$ ) daha düşük olmasına rağmen hemen hemen yakın değerlerdedir. Moon ve ark.'nın, lökositleri G-CSF ve insülin ile inkübe ederek işaretleyip kontrol grubu ile karşılaştırdıkları çalışmadaki kontrol grubu, bizim çalışmamızdaki 37°C insülinsiz grup ile benzer şartlarda işaretlenmiş olup, ortalama bağlanma etkinliği %40 olarak hesaplanmıştır (45). Bu sonuç, bizim çalışmamızda bulduğumuz değer ile benzerdir.

Biz çalışmamızda, farklı ısı ve dozlarda yaptığımız her işaretlemeyi 2 gruba ayırarak insülinli ve insülinsiz bağlanma etkinliklerini ölçtük. İnsülinli grupta 10 IU kristalize insülin uygulayarak işaretleme yaptık. İnsülinli ve insülinsiz grup arasında bağlanma etkinliğinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlemedik. Paik ve ark. 2002 yılında yaptıkları çalışmada, F-18 FDG ile lökosit işaretleme işleminde insülin ile inkübasyonun etkisini incelemiş, insülinin lenfositlerin işaretlenmesine hiçbir etkisinin olmadığını ( $p > 0,05$ ), monositlerin işaretlenme oranında anlamlı artış sağladığını ( $p < 0,05$ ) tespit etmişlerdir. 37°C'de 10 mCi F-18 FDG ile yaptıkları işaretleme işleminde, hücreleri, işaretleme öncesi 10-100 IU insülin ile 3 saat, F-18 FDG ilavesi sonrasında da 30 dk inkübe etmişler (46). Biz, F-18 FDG ile lökosit işaretlemenin rutin pratiğine yönelik bir çalışma yaptığımız için, lenfosit ya da monosit gibi alt gruplara ayırmadan, genel işaretleme etkinliğini test ettik. İnsülin ilavesi yaptığımız gruplarda, sabit doz kısa etkili insülin kullanarak, kısa etkili insülinin etki süresi olan 20 dakika, F-18 FDG ilavesi sonrasında da 20 dakika daha inkübasyon sağladık. Sonuçta insülin ilavesinin, istatistik olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını gördük. Fostrom ve ark, 100 miliünite regüler insülin ilavesi ile

çalışmış, insülinin işaretleme etkinliğine anlamlı etkisinin olmadığını saptamışlar (35). Moon ve ark. granülosit koloni stimulan faktör (GCSF) uyarısı ile ilgili yaptıkları çalışmada, 4 ayrı grup oluşturup, bunlardan hiçbir ilave olmayan kontrol grubu ve sadece insülin ilave ettikleri grup bizim çalışmamızla benzer şartlarda yapılmıştır. Onlar 0,1-100 mU regular insülin kullanmış, insülinli grupta işaretleme etkinliğini  $40,3 \pm 6$  olarak, insülinli grupta  $40,3 \pm 7,7$  olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlarda istatistik olarak anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir (45). Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumludur.

Biz çalışmamızda 2 mCi ve 10 mCi F-18 FDG ile çalışarak doz farkının etkisini araştırdık, her iki grupta insülin ilaveli ve ilavesiz 2 ayrı grup oluşturduk. İnsülinli grupta, doz artışının, bağlanma etkinliğini anlamlı şekilde artırdığını gözlemledik. İnsülin ilaveli grupta, bağlanma etkinliğinde dozlar arası fark istatistik olarak anlamlı bulunmadı. Yani, insülin varlığında hücrelerin FDG tutulumunun dozdan, yani F-18 FDG konsantrasyonundan bağımsız olduğunu saptadık. F-18 FDG dozunun işaretleme etkinliği ile ilişkisini araştırmış olan Fostrom ve ark, 100 microCuri, 500 microCuri, 1 mCi ve 2 mCi ile çalışmışlar, bağlanma etkinliği açısından dozlar arasında istatistik olarak anlamlı fark izlenmediğini bildirmişlerdir. İşaretleme işleminin uzun sürmesi ve F-18 FDG'nin bozunumu göz önüne alınırsa, kullanılan aktivitelerin çok küçük olması, dozlar arası farkın çok az olması bu sonuca neden olmuş olabilir (35).

Biz çalışmamızda oda ısısında ve  $37^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyonla çalışarak ısı farkının bağlanma etkinliğine etkisini araştırdık. Her iki grupta insülin ilaveli ve ilavesiz 2 farklı şekilde çalıştık.  $37^{\circ}\text{C}$ 'de yapılan işaretlemenin hem insülin varlığında, hem de insülin yokluğunda bağlanma etkinliğini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı sonucuna ulaştık. Fostrom ve ark. yaptıkları çalışmada  $20^{\circ}\text{C}$  ve  $37^{\circ}\text{C}$  olarak 2 ayrı grupta işaretleme yapmış,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de yaptıkları işaretlemenin,  $20^{\circ}\text{C}$ 'e göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (35). Bu sonuç, bizim bulgularımız ile uyumludur.

## SONUÇLAR

İnsülin ilavesi olmadan F-18 FDG ile lökosit işaretlemesi yapılan gruplar ve insülin ilaveli olan gruplar için hesapladığımız ortalama bağlanma etkinliklerini, literatürde yer alan, enfekte kan ile ya da stimüle lökositlerle yapılmış çalışmalara göre düşük bulmakla birlikte; sağlıklı gönüllülerden alınan kanlarla yapılan çalışmalarla oldukça uyumlu bulduk.

İşaretleme sırasında insülin ilavesinin F-18 FDG ile lökositlerin işaretlenme oranına istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığını gördük.

İşaretleme sırasındaki 37°C'lik inkübasyon ısısının, F-18 FDG ile lökosit işaretleme etkinliğini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığını tespit ettik. Bu sonuç literatür bilgileri ile uyumlu idi.

F-18 FDG dozu, insülinli ortamda bağlanma etkinliğini artırmaktadır. Bu sonuç literatür bilgileri ile uyumlu idi. İnsülinli ortamda ise, farklı F-18 FDG dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Bu yeni bir bulgudur. İnsülinli ortamda oluşan bu durumu açıklamak için daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Kumar R, Basu S, Torigian D, Anand V, Zhuang H, Alavai A. Role of modern imaging techniques for diagnosis of infection in the era of <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Clinical Microbiology Rev* 2008;21:209-24. DOI: 10.1128 / CMR.00025-07
2. Jamar F, Buscombe J, Chiti A, Christian PE, Delbeke D, Donohoe KJ, et al. EANM/SNMMI guideline for <sup>18</sup>F-FDG use in inflammation and infection. *J Nucl Med* 2013;54:647-58. DOI:10.2967 / jnumed.112. 112524
3. Yilmaz S, Aliyev A, Ekmekcioglu O, Ozhan M, Uslu L, Vatankulu B, et al. Comparison of FDG and FDG-labeled leukocytes PET/ CT in diagnosis of infection. *Nuklear medizin* 2015;54:262-71. DOI:10.3413/ Nukmed-0724-15-02
4. Baştürk B. İnflamasyonda İmmün Yanıt (Immune Response in Inflammation) *Türkiye Klinikleri J Immun Allergy-Special Topics*.2017;10(3):161-64
5. Vangu MW. Infection imaging in nuclear medicine Nuclear medicine has a role to play in investigating patients with suspected infection. *CME* 2013;31:295-97.
6. Bleeker-Rovers CP, Boerman OC, Rennen HJ, Corstens FH, Oyen WJ. Radio-labeled compounds in diagnosis of infectious and inflammatory disease. *Curr Pharm Des* 2004;10: 2935-50. DOI:10.2174/ 1381612043383539
7. Love C, Palestro CJ. Radionuclide imaging of infection. *J Nucl Med Technol* 2004 ;32:47-57.
8. Ertay T. Infection-Inflammation: SPECT Radiopharmaceuticals for Molecular Imaging Nuclear Medicine Seminars/ Nükleer Tıp Seminerleri 2016;2:63-70 DOI:10.4274/nts.010
9. Goldsmith SJ, Vallabhajosula S. Clinically proven radiopharmaceuticals for infection imaging: Mechanisms and applications. *Semin Nucl Med* 2009;39:2-10. DOI: 10.1053/ j.semnuclmed.2008.08.002
10. Das SS, Hal AV, Wareham DW, Britton KE. Infection imaging with radio-pharmaceuticals in the 21st Century. *Braz Arch Biol Technol* 2002;45:23-37. Doi:10. 1590 /S1516-89132002000500005
11. Becker W, Meller J. The role of nuclear medicine in infection and inflammation. *Lancet Infect Dis* 2001;1:326-33. DOI:10.1016 /S1473-3099(01)00146-3

- 12.** Roca M, de Vries EF, Jamar F, Israel O, Signore A. Guidelines for the labelling of leucocytes with (111)In-oxine. Inflammation/Infection Taskgroup of the European Association of Nuclear Medicine. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010;37:835-41. DOI:10.1007/s00259-010-1393-5
- 13.** de Vries EF, Roca M, Jamar F, Israel O, Signore A. Guidelines for the labelling of leucocytes with (99m)Tc-HMPAO. Inflammation/ Infection task group of the european association of nuclear medicine. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010;37: 842-48. DOI: 10. 1007/s00259-010-1394-4
- 14.** Vinjamuri S, Hall AV, Solanki KK, Bomanji J, Siraj Q, O'Shaughnessy E, et al. Comparison of <sup>99m</sup>Tc infecton imaging with radiolabelled white-cell imaging in the evaluation of bacterial infection. *Lancet* 1996;27;233-35. DOI:10.1016/s0140-6736(96)90407-9
- 15.** Sonmezoglu K, Sonmezoglu M, Halac M, Akgün I, Türkmen C, Onsel C, et al. Usefulness of <sup>99m</sup>Tc-Ciprofloxacin (Infecton) scan in diagnosis of chronic orthopedic infections: comparative study with <sup>99m</sup>Tc-HMPAO leukocyte scintigraphy. *J Nucl Med* 2001;42:567-74.
- 16.** Skehan SJ, White JF, Evans JW, Parry-Jones DR, Solanki CK, Ballinger JR, et al. Mechanism of accumulation of <sup>99m</sup>Tc-sulesomab in inflammation. *J Nucl Med*. 2003;44:11-8
- 17.** Love C, Tronco GG, Palestro CJ. Imaging of infection and inflammation with <sup>99m</sup>Tc-Fanolesomab. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2006;50:113-20.
- 18.** Rypins EB, Kipper SL, Weiland F, Neal C, Line B, McDonald R, et al. <sup>99m</sup>Tc Anti-CD 15 monoclonal antibody (LeuTech) imaging improves diagnostic accuracy and clinical management in patients with equivocal presentation of appendicitis. *Ann Surg* 2002;235:232-39. DOI: 10.1097/00000658-200202000 -00011
- 19.** Babich JW, Graham W, Barrow SA, Dragotakes SC, Tompkins RG, Rubin RH, et al. Technetium-99m labeled chemotactic peptides: comparison with indium111-labeled white blood cells for localizing acute bacterial infection in the rabbit. *J Nucl Med* 1993;34:2176-81.



- 20.** Akhtar MS, Iqbal J, Khan MA, Irfanullah J, Jehangir M, Khan B, et al. <sup>99m</sup>Tc-labeled antimicrobial peptide ubiquicidin (29-41) accumulates less in *Escherichia coli* infection than in *Staphylococcus aureus* infection. *J Nucl Med* 2004;45:849-56.
- 21.** Signore A, Capriotti G, Chianelli M, Bonanno E, Galli F, Catalano C, Quintero AM. Detection of insulinitis by pancreatic scintigraphy with <sup>99m</sup>Tc-labeled IL-2 and MRI in patients with LADA (Action LADA 10). *Diabetes Care* 2015;38:652-58. DOI: 10.2337/dc14-0580.
- 22.** Rennen HJ, Bleeker-Rovers CP, van Eerd JE, Frielink C, Oyen WJ, Corstens FH, Boerman OC. <sup>99m</sup>Tc labeled interleukin-8 for scintigraphic detection of pulmonary infections. *Chest* 2004;126:1954-61. DOI:10.1378/chest.126.6.1954
- 23.** Rennen HJ, Frielink C, Brandt E, Zaat SA, Boerman OC, Oyen WJ, Corstens FH. Relationship between neutrophil-binding affinity and suitability for infection imaging: comparison of <sup>99m</sup>Tc-labeled NAP-2 (CXCL-7) and 3 C-terminally truncated isoforms. *J Nucl Med* 2004;45:1217-23.
- 24.** Gotthardt M, Bleeker-Rovers CP, Boerman OC, Oyen WJ. Imaging of inflammation by PET, conventional scintigraphy, and other imaging techniques. *J Nucl Med Technol* 2013;41:157-69. DOI: 10.2967/jnumed.110.076232
- 25.** Jamar F, Buscombe J, Chiti A, Christian PE, Delbeke D, Donohoe KJ, et al. EANM/ SNMMI guideline for <sup>18</sup>F-FDG use in inflammation and infection. *J Nucl Med* 2013;54:647-58. DOI:10.2967/jnumed.112.112524
- 26.** Caoduro C, Porot C, Vuitton DA, Bresson-Hadni S, Grenouillet F, Richou C, et al. The role of delayed <sup>18</sup>F-FDG PET imaging in the follow-up of patients with alveolar echinococcosis. *J Nucl Med* 2013;54:358-63. DOI:10.2967/jnumed.112.109942
- 27.** Archana M. Navale<sup>1</sup> & Archana N. Paranjape. Glucose transporters: physiological and pathological roles. *Biophys Rev* 2016;8:5-9. DOI:10.1007/s12551-015-0186-2
- 28.** Maratou E, Dimitriadis G, Kollias A, Boutati E, Lambadiari V, Mitrou P, Raptis SA. Glucose transporter expression on the plasma membrane of resting and activated white blood cells. *Eur J Clin Invest* 2007;37:282-90. DOI: 10.1111 /j. 1365-2362.2007.01786.x

- 29.** Mueckler M, Thorens B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. *Mol Aspects Med.* 2013;34:121–38. DOI:10.1016/j.mam.2012.07.001
- 30.** Savaş H.B, Gültekin F. Insulin Resistance and Clinical Significance. *Med J SDU/SDÜ Tıp Fak Derg* 2017;24:116-25. DOI:10.17343/sdutfd.264358
- 31.** Williamson MK, Coombes N, Juszczak F, Athanasopoulos M, Khan M.B, Thomas R, et al. Upregulation of glucose uptake and hexokinase activity of primary human CD4+ T cells in response to infection with HIV-1. *Viruses* 2018;10:114. DOI: 10.3390/v10030114
- 32.** Rodrigues RS, Bozza AF, Hanrahan CJ, Li-Ming Wang LM, Qi W, Hoffman JM, et al. <sup>18</sup>F-Fluoro-2-deoxyglucose PET informs neutrophil accumulation and activation in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Nucl Med Biol* 2017;48: 52–62. DOI: 10.1016 / j.nucmedbio.2017.01.005.
- 33.** Maratou E, Dimitriadis G, Kollias A, Boutati E, Lambadiari V, Mitrou P, Raptis SA. Glucose transporter expression on the plasma membrane of resting and activated white blood cells *Eur J Clin Invest* 2007;37:282-90. DOI:10.1111/j.1365-2362.2007.01786.x
- 34.** Osman S, Danpure HJ. The use of 2-[<sup>18</sup>F]Fluoro-2-deoxyD-glucose as a potential in vitro agent for labelling human granulocytes for clinical studies by positron emission tomography. *Int J Rad Appl Instrum B* 1992;19:183-90.
- 35.** Forstrom LA, Mullan BP, Hung JC, Lowe VJ, Thorson LM. 18-FDG labeling of human leukocytes. *Nucl Med Commun* 2000;21:691-94.
- 36.** Forstrom LA, Dunn WL, Mullan BP, Hung JC, Lowe VJ, Thorson LM. Biodistribution and dosimetry of <sup>18</sup>F fluorodeoxyglucose labeled leukocytes in normal human subjects. *Nucl Med Commun* 2002;23:721-25.
- 37.** Pellegrino D, Bonab AA, Dragotakes SC, Pitman JT, Mariani G, Carter EA. Inflammation and infection: Imaging properties of 18F-FDG-labeled white blood cells versus <sup>18</sup>F-FDG. *J Nucl Med* 2005;46:1522-30.
- 38.** Pio BS, Byrne FR, Aranda R, Boulay G, Spicher K, Song MH, et al. Noninvasive quantification of bowel inflammation through positron emission tomography imaging of 2-deoxy-2-2[<sup>18</sup>F] fluoro-D-glucose-labeled white blood cells. *Mol Imaging Biol* 2003;5:271-77.

- 39.** Dumarey N, Egrise D, Blocklet D, Stallenberg B, Remmelink M, del Marmol V, et al. Imaging infection with <sup>18</sup>F-FDG-labeled leukocyte PET/CT: initial experience in 21 patients. *J Nucl Med* 2006;47:625-32.
- 40.** Rini JN, Bhargava KK, Tronco GG, Singer C, Caprioli R, Marwin SE, et al. PET with FDGlabeled leukocytes versus scintigraphy with <sup>111</sup>In-oxine labeled leukocytes for detection of infection. *Radiology* 2006;238:978-87. DOI:10.1148/radiol.2382041993
- 41.** Aksoy SY, Asa S, Ozhan M, Ocak M, Sager MS, Erkan ME, et al. FDG and FDG-labelled leucocyte PET/CT in the imaging of prosthetic joint infection. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41:556-64. DOI:10.1007/s00259-013-2597-2
- 42.** Bhattacharya A, Kochhar R, Sharma S, Ray P, Kalra N, Khandelwal N, et al. PET/CT with <sup>18</sup>F-FDG-labeled autologous leukocytes for the diagnosis of infected fluid collections in acute pancreatitis. *J Nucl Med* 2014;55:1267-72. DOI:10.2967/jnumed.114.137232
- 43.** Bhargava KK, Gupta RK, Nichols KJ, Palestro CJ. In-vitro human leukocyte labeling with (<sup>64</sup>Cu): an intraindividual comparison with (<sup>111</sup>In)-oxine and <sup>18</sup>F-FDG. *Nucl Med Biol* 2009;36:545- 49. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2009.03.001
- 44.** Eldjarn C, Andersen M, Moen R, Forfang RN, Signe E. Experiences with citrate rather than heparin as an anticoagulant for <sup>18</sup>F-FDG labeling of leukocytes. *J Nucl Med Technol.* 2011;39:312-16. DOI:10.2967/ jnmt. 110.085464
- 45.** Moon SH, Lee HY, Eo JS, Kim SG, Shim HK, Kwon HW, et al. Use of granulocyte colony-stimulating factor for fluorine-18-fluorodeoxyglucose labeling in human leukocytes. *Nucl Med Commun* 2011;32:186-91. DOI: 10.1097/MNM.0b013e328342 dea 1.
- 46.** Paik JY, Lee KH, Byun SS, Choe YS, Kim BT. Use of insulin to improve [<sup>18</sup> F] fluorodeoxyglucose labelling and retention for in vivo positron emission tomography imaging of monocyte trafficking. *Nucl Med Commun* 2002;23:551-57.
- 47.** Locke LW, Chordia MD, Zhang Y, Kundu B, Kennedy D, Landseade J, et al. A novel neutrophil specific PET imaging agent: cFLFLFK-PEG-<sup>64</sup>Cu. *J Nucl Med* 2009;50:790-97. DOI: 10.2967/ jnumed.108.056127
- 48.** Boerman OC, Laverman P, Oyen WJ. FIAU: from reporter gene imaging to imaging of bacterial proliferation. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2012;2: 71-72.

- 49.** Kumar V, Boddeti DK, Evans SG, Angelides S, 68Ga-citrate-PET for diagnostic imaging of infection in rats and for intra-abdominal infection in a patient. *Curr Radiopharm* 2012;5:71-5. DOI: 10.2174/1874471011205010071
- 50.** Vorster M, Maes A, Van de Wiele C, Sathekge MM. 68Ga-citrate PET/CT in Tuberculosis: A pilot study. *J Nucl Med Mol Imaging* 2019;63:48-55. DOI: 10.23736/S1824-4785.16.02680-7.