

KAN KOMPONENTLERİNİN ^{99m}Tc
ve ^{111}In RADYONÜKLİDLERİYLE
İŞARETLENMESİ

Güner ERBAY,
Ayfer SOYLU,
Kâzım SOYLU,
Metin KIR,
Gülseren ARAS.

Türkiye Atom Enerjisi Kurumu

Projesi

1987

KAN KOMPONENTLERİNİN ^{99m}Tc
ve ^{111}In RADYONÜKLİDLERİYLE
İŞARETLENMESİ

Güner ERBAY,
Ayfer SOYLU,
Kâzım SOYLU,
Metin KIR,
Gülseren ARAS.

Türkiye Atom Enerjisi Kurumu
Projesi

1987

Kan hücrelerinden eritrosit ve lökositler radyoaktif izotoplarla in vivo ve in vitro olarak işaretlenerek nükleer tıp yöntemleriyle görüntüleme de yıllardır kullanılmaktadır.

Lökositler en çok ^{111}In radyoizotopu ile işaretlenerek başta abse odağı araştırması olmak üzere çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. Bu çalışma halen Türkiye'de rutin bir yöntem haline geçmiş değildir. Buna sebep olarak kan komponentlerinin canlılığını muhafaza ederek ayrılması ve işaretlenmesinin oldukça güç, uzun ve deneyim gerektiren bir işlem olması ve ayrıca ^{111}In 'ın kısa yarı ömrü (67 saat) ve pahalı oluşu gösterilebilir.

Bu projede, kan lökositlerinin ayrılarak $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ve ^{111}In ile işaretlenmesi ve işaretlenen lökositlerin tekrar aynı insana verilerek (otolog) abse lokalizasyonu için kullanılması amaçlanmıştır.

Yapılan araştırmalar ve alınan sonuçlar bu raporda dört grupta toplanarak sunulmuştur:

- 1- Lökositlerin ayrılması
- 2- Lökositlerin işaretlenmesi
- 3- Kalite kontrolü
- 4- Klinik uygulama.

I- Lökositlerin Ayrılması

Yapılan literatür araştırmalarına göre lökositlerin diğer kan komponentlerinden separe edilmesinde kullanılan belli başlı yöntemler şöyle özetlenebilir.

- 1- Basit santrifüj
- 2- Sedimentasyon
 - Methyl cellulose
 - Dextran
 - Hydroxyethylstarch
- 3- Isopyknic santrifüj
 - Ficoll-Hypaque
 - Ficoll-Isopaque
 - Percoll
- 4- Yüzeye yapışma
 - EDTA
 - Lidocaine
- 5- Fagositoz
- 6- Hücre ayırıcılar (Elutriation)
- 7- Sitometre

Sedimentasyonla eritrosit çöktürme yöntemi, lökosit elde etmek için en çok kullanılan yöntemdir. Bovum (2) tarafından geliştirilen bu metodun esası gravite dolayısıyla oluşan eritrosit çöküşünü hızlandırmak için methyl cellulose (MC), dextran (D) ve hydroxyethylstarch (HES) gibi ajanların ilavesine dayanır. Böylece lökositlerin % 70 kadarı supernatant içinde kalır ve belli yıkama teknikleriyle ayrılabilir (11).

MC'un insanlarda kullanımı anafloktoid reaksiyon gibi bazı problemlere sebep olduğu için tercih edilmemektedir. HES ve 500.000 molekül ağırlıklı D ise Amerika Birleşik Devletleri'nde FDA tarafından insanlarda kullanımı kabul edilmiş, kan ayırımında kullanılan miktarlarda hiç bir toksisite taşımadıkları bildirilen maddelerdir (11).

Bu çalışmada MC (Sigma, ABD), D (Pharmacia, İsveç) ve HES (Sigma, ABD) ile çalışılarak herbiriyle yapılan işaretlemelelerde eritrosit kontaminasyonu, lökositlerin canlılığı ve bağlanma yüzdesi gibi parametreler araştırılmış ayrıca klinik uygulama da yapılmıştır. Bulunan sonuçlar karşılaştırılarak ve laboratuvar şartları göz önüne alınarak D ile çöktürme yönteminin kullanılmasına karar verilmiş ve klinik çalışmaların büyük bir kısmında (özellikle ^{99m}Tc ile yapılan işaretlemelelerde) bu yöntem uygulanmıştır. Tam kandan lökosit ayırmak için kullanılacak yöntem aşağıdaki şekilde optimize edilmiştir:

Çözeltiler

- | | |
|---------------------|--|
| % 6 D | : 6 gr. Dextran (Pharmacia, İsveç-
500.000 mol.ağ.)saf su ile 100
ml'ye tamamlanır. |
| % 0.2 Sodyum klorür | : 20 mg Sodyum klorür (Merck, Almanya)
100 ml saf su içinde eritilir. |
| Kalaylı Pirofosfat | : 60 mg. sodyum pirofosfat (Merck,
Almanya) ve 17 mg. kalay klorür
(Merck, Almanya),30 ml saf su
içinde eritilir. |

Yöntem:

1. Hastadan 10 cc lik üç ayrı plastik, disposable (Tıbset, Türkiye) enjektörle 20 G iğne ile 6 cc (toplam 18 cc) heparinli kan alınır.

2. Herbirinin üzerine 3 cc soğuk, steril D çözeltisi çekilerek hafifçe altüst edilir.

3. 2-4°C'de iyi bir ayırım elde edilene kadar (60-90 dakika) iğnesi yukarıda olmak üzere dikey durumda bekletilir.

4. Enjektörün pozisyonu bozulmadan 18 G iğne takılır ve iğne hafifçe bükülerek supernatant steril, vakumlu bir cam kan tüpüne (B-D vacutainer, 10 cc) aktarılır.

5. Lökosit süspansiyonu 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir.

6. Supernatant steril bir iğneyle çekilip atılır. Tüpün dibine biriken lökositler üzerine 3 cc soğuk, steril % 0.2 NaCl çözeltisi eklenir.

7. Vortex kullanmadan hafifçe çalkalanan karışım 1000 rpm'de tekrar 10 dakika santrifüj edilerek supernatant atılır.

8. Kırmızı renkli hücreler görülüyorsa yıkama işlemi tekrarlanır.

9. Elde edilen lökosit karışımı 0.5 cc. serum fizyolojik ile süspansiyon haline getirilir.

Bu şekilde eritrositlerden arındırılmış lökositler artık herhangi bir radyonüklidle işaretlenebilecek durumdadır.

II- Lökositlerin İşaretlenmesi

Literatürde lökositlerin Nükleer Tıp çalışmalarında kullanılmak üzere işaretlenmesi için çeşitli radyoizotoplar ve bunların değişik kimyasal formları denenmiştir (4,8,9,11, 14,15,17,18). Bunlar arasında dikkate değer bir bağlanma gösterdiği belirlenenler şöyle özetlenebilir.

51 Cr - Chromate

125 I - Quinoline

Iododeoxyuridine

¹¹¹In - Oxine

Tropolone

2-mercaptopyridine-1-oxide

^{99m}Tc - t-butyl isonitrile

Sulphur colloid

Millimicrospheres

Oxine

Pyrophosphate

Tropolone

Lökositlerin işaretlenmesinde kullanılacak uygun bir tekniğin taşınması gereken özellikler şöyle sıralanabilir:

- a. Kullanılan radyonüklid Nükleer Tıp görüntülemesine uygun özellikler taşınmalıdır.
- b. Sadece lökositlere spesifik bir metod olmalı, diğer kan hücreleri işaretlenmemelidir.
- c. Bağlanma yüzdesi yüksek olmalıdır.

d. Hücreler normal fonksiyonlarına (özellikle kemotaksis) devam edebilmelidir.

e. Stabilité yüksek olmalı, aktivite işaretli hücreler içinde kalmalıdır. (in vitro ve in vivo).

Son yıllarda yapılan çalışmaların büyük bir kısmı en ideal ajan olarak tanımlanan ^{111}In -Oxin üzerinde yoğunlaşmıştır (11,14,15,16,17). ^{111}In , 67 saatlik yarı ömrü ve 173 KeV (% 89) ve 287 KeV (% 94) lik deteksiyona müsait iki gama enerjisi ile Nükleer Tıpta rahatlıkla kullanılabilecek bir radyonüklittir. Oxine (8-hydroxyquinoline), moleköl ağırlığı 145 olan lipofilik bir şelat ajanıdır. Bakteriostatik özelliği dolayısıyla yıllardır hastalar üzerinde kullanılmaktadır. Hayvanlardaki parenteral öldürücü dozu LD (50) = 67 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Bu da işaretlemede kullanılan (50-100 μg) miktarın çok üstündedir. Indium gibi bazı katyonlarla pH 5-6' da 3:1 oranında kompleksler meydana getirir (11,17). Bu komplekslerdeki net yükü sıfırdır. Lipofilik karakteri dolayısıyla hücre ve bakteri membranlarını aşabilir. Hücre içinde bu kompleksin ayrıştığı ve indiumun çekirdek ve sitoplazma proteinleriyle sıkı bir bağ yaptığı bulunmuştur (11,17).

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ bilinen özellikleri dolayısıyla Nükleer Tıp'da en çok kullanılan radyonüklid olma özelliğini koruduğundan lökosit işaretlenmesinde bu radioizotopla da pek çok deneyler yapılmıştır (4,5,8,9,18). Fakat büyük olasılıkla $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -lökosit bağında in vivo olarak meydana gelen bir kopma sonucu açığa

çıkan ^{99m}Tc - Perteknetat: dolayısıyla insan vücudunda bu maddenin normal tutulum yeri olan tiroid, tükrük bezleri ve gastrointestinal sistemde aktivite birikimlerine rastlanmıştır. Bu da belli bazı bölgelerde abse lokalizasyonuna sınırlama getirmektedir.

Projenin radyoaktif işaretlemeyeyle ilgili bölümüne geçildiğinde bu dezavantajının bilincinde olarak ilk deneylerin laboratuvarımızda her an mevcut bulunan ^{99m}Tc -radyonüklidiyle yapılması uygun görülmüştür. Temini nisbeten güç, pahalı ve yarı ömürü dolayısıyla kullanma süresi kısıtlı olan ^{111}In radyoizotopuna geçmeden önce ayırma ve işaretleme işlemleri ^{99m}Tc ile yapılan deneylerle optimize edilmiştir.

^{99m}Tc işaretlemelerinde kalaylı pirofosfat ile inkübasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu radyonüklid kalayla beraber kullanıldığında lökositler arasında kalmış olabilecek serum albumini ve eritrositlerle bağlanacağından sorun yaratabilir. Aynı şekilde ^{111}In da kandaki transferine kolayca bağlanabilir. Fakat iyi bir lökosit ayırma yöntemi bu dezavantajları ortadan kaldıracaktır.

^{99m}Tc ile lökosit işaretlemek için aşağıdaki yöntem kullanılmıştır:

- 1- 6 cc kandan elde edilen likosit süspansiyonu üzerine 0.5 cc kalaylı pirofosfat çözeltisi koyularak 37°C ' de 15 dakika bekletilir.

- 2- 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek supernatant atılır.
- 3- Kalay fazlası % 0.9 NaCl ile yıkanarak ortamdan ayrılır.
- 4- 20-25 mCi (1 cc hacimde) ^{99m}Tc-Perteknetat ile 10 dakika oda sıcaklığında bekletilir.
- 5- % 0.9 NaCl ile iki kere yıkanır ve her iki yıkamadan elde edilen supernatantlar ayrı bir tüpe alınarak doz kalibratöründe sayılır (A).
- 6- İşaretli lökosit süspansiyonunun aktivitesi de ölçülür (B).
- 7- Aşağıdaki formüle göre bağlanma yüzdesi hesaplanır.

$$\text{Bağlanma Yüzdesi} = \frac{B}{A + B} \times 100$$

¹¹¹In işaretlemesinde kullanılan protokol:

- 1- Lökositsüspansiyonu üzerine 300-600 µCi ¹¹¹In-Oxine damla damla ilave edilip 15 dakika oda sıcaklığında bekletilir.
- 2- 100 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip supernatant ayrı bir tüpe alınarak sayılır (A).
3. İşaretli lökosit süspansiyonu da sayılır (B) ve bağlanma yüzdesi aynı formülle hesaplanır.
4. İşaretli lökosit süspansiyonu ya serum fizyolojik ya da ilk kandan ayrılan plazma fraksiyonunun 2700 rpm'de yarım saat santrifüj edilmesiyle trombositleri

ayrılan plazma ile seyreltilerek hastaya enjekte edilir.

III- Kalite Kontrolü

a) Bağlanma Yüzdesi (In vitro):

Değişik eritrosit çöktürme ajanları kullanılarak bulunan ^{99m}Tc ile bağlanma yüzdelerinin karşılaştırılması için yapılan deneylerin sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

	Deney Sayısı	En düşük	En yüksek	Ortalama
MC	5	65	85	73.6
D	8	68	95	81.2
HES	5	70	85	78.0

MC en düşük bağlanma kapasitesini göstermiş, D ve HES ise oldukça yakın değerler vermekle birlikte D belki de deney sayısının fazlalığı nedeniyle, hafif bir yükseklik göstermiştir. Literatürde genel olarak araştırmacılar HES ile daha iyi sonuçlar elde edileceğini savunmaktaysa da (2,11,14) bağlanmayan fraksiyonun ortamdan yıkama ile ayrılarak sadece bağlı kısmın hastaya enjekte edilecek olması bu küçük yüzde farklarının yöntemin seçiminde büyük bir etken olmadığını ortaya koymaktadır. MC daha önce de belirtildiği gibi klinik problemler yaratması olasılığı nedeniyle hasta çalışmalarında kul-

lanılmamış, ^{99m}Tc çalışmalarında D, ¹¹¹In çalışmalarında ise D ve HES kullanılmıştır.

Çeşitli nedenlerle hastalara enjekte edilmeyen bazı numuneler üzerinde yapılan çalışmalarda bağlanma yüzdesinin ilk birkaç saat içinde hiç düşme göstermediği, 24 saat sonra yapılan yıkamada ise aktivitenin % 20-25 kadarının yıkama ortamına geçtiği tesbit edilmiştir. bu da ^{99m}Tc'un intrasellüler proteinlerle kuvvetli bir bağ yapamadığı veya ^{99m}Tc-lökosit kompleksinin "back-diffusion" u nedeniyle stabil bir hücre işaretlemesi olamayacağı (11) görüşünü geç dönem için de olsa doğrulamaktadır.

b) Eritrosit Kontaminasyonu:

Lökosit süspansiyonlarından alınan numuneler May-Grünwald Giemsa boyasıyla yayma yapılarak (13) mikroskop altında incelenmiş ve eritrosit sayısının hiçbir zaman birkaç taneyi geçmediği görülmüştür.

c) Canlılık Deneyleri:

Ayırma ve işaretleme işlemleri sırasında lökositlerin canlılığını muhafaza etme oranının bulunması için Trypan mavisi ile boyanarak (13) mikroskop altında incelenmiştir. Canlılığını kaybetmiş hücrelerin oranının hiçbir yöntemle % 10'u geçmediği gözlenmiştir. Canlılığını yitirmiş, parçalanmış lökositler fagositik özelliklerini gösteremeyeceğinden metodon amacına uymazlar. Bu nedenle Trypan mavisi ile yapılan

bu kalite kontrol yöntemi çalışmanın önemli ve hasta uygulamalarında da ihmal edilmemesi gereken bir bölümdür.

IV- Klinik Uygulama

Lökositlerin % 65-75'ini oluşturan nötrofiller, fagositik özellikleri dolayısıyla vücudun herhangi bir yerindeki enfeksiyona bir reaksiyon olarak o bölgeye taşınır ve buradaki bakteri ve partiküler maddeleri yok etmeye çalışırlar. Beraberlerinde radyoaktif etiketlerini de götüreceklerinden belli bir bölgede abse olup olmadığına karar vermek ya da klinik bulgular dolayısıyla mevcut olduğu bilinen bir abse odağının yerini tayin etmek için Nükleer Tıp yöntemleriyle izleme olanağını verirler.

^{99m}Tc ve ¹¹¹In ile işaretli otolog lökositlerle çeşitli hasta gruplarında imajlama çalışmaları yapılmış olup, bu çalışmaların klinik teşhise çok yardımcı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar arasında sebebi bilinmeyen ateşe neden olan apse odağının yerinin bulunması, osteomyelitlerin takibi, Crohn hastalığı, kolitis ülseroza, divertikülit gibi iltihabi barsak hastalıklarının teşhisi, böbrek hastalıklarında enfeksiyonun mevcut olup, olmadığına gösterilmesi sayılabilir (1,3,5,6,7,11,13).

Bu projede de normal ve çeşitli hastalık gruplarına ait 25 vakada ^{99m}Tc ve/veya ¹¹¹In lökosit çalışması yapılmıştır. 15-20 mCi ^{99m}Tc veya 300-500 µCi ¹¹¹In ile işaretli

lökositler 2.5-3.0 cc serum fizyolojik içinde süspanse edildikten sonra hastaya intravenöz olarak yavaş yavaş enjekte edilmiş, ve Siemens, Scintiview gama kamerada düşük enerjili kolimatör ile vücudun çeşitli yerlerinde spot görüntüler alınmıştır.

Çeşitli zamanlarda imaj alınması denenmiş ve anlamlı bir bilgi elde edebilmek için 4 ve 24 saat sonra görüntü almak gerektiğine karar verilmiştir. Bazı hasta gruplarında 30 dakikalık veya birsaatlik erken imajın diğer bazı enfeksiyonlarda da 48 saatlik görüntünün ek bilgi verebileceği bildirilmişse de (1) genel olarak 4 ve 24 saatlik çekimlerin yeterli olduğu bu alanda çalışan araştırmacıların ortak fikridir (1,5,11,17,18).

18 cc kan ile çalışıldığında, literatüre göre 10^8 lökosit hücresi elde edilir (8,11). Bu sayıdaki lökositleri işaretlemek için de 20 mCi ^{99m}Tc veya 500 μCi ^{111}In 'un yeterli olduğu hesaplanmıştır (4,8,11).

18 yaşından küçük çocuklarda alınan kan miktarı ve ona orantılı olarak kullanılan radyoaktivite miktarı azaltılmıştır. Fakat imaj kalitesinin bozulacağı düşünüülerek hiçbir zaman ^{99m}Tc için 10 mCi ve ^{111}In -oxine için 100 μCi 'den daha az aktivite kullanılmamıştır (10).

500 μCi ^{111}In -lökosit enjeksiyonundan 70 kg ağırlığındaki bir yetişkinin alması beklenen radyasyon dozu aşağıdaki listede verilmiştir.

O R G A N	R A D
Dalak	13.0
Karaciğer	2.0
K. İliği	1.3
İskelet	0.36
Overler	0.19
Testis	0.01
Tüm Vücut	0.31

Standart MIRD denklemi yardımıyla hesaplanan bu doza ¹¹¹In içinde kontaminasyon olarak mevcut bulunan ve yüzdesi- nin % 0.08 - 0.1'i aşmadığı üretici firmalarca ifade edilen ¹¹⁴In' ün büyük bir katkısı olmadığı bildirilmektedir (10). ^{99m}Tc ile aynı işlem yapıldığında alınacak dozun daha az olduğu hesaplanmıştır (4,5,8,11).

¹¹¹In tarafından yayınlanan Auger elektronları yüksek enerjileri dolayısıyla işaretlenen her kan hücresine yüksek bir radyasyon dozu vermektedirler. Fakat, çeşitli araştırmacılar bu yüksek dozun nötrofillerin kemotaktik ve mikrobial özelliklerini veya trombositlerin agregasyonunu etkileyecek kadar fazla olmadığını söylemektedirler. Buna karşılık lenfositler radyasyona karşı daha hassas olup etkilenme ihtimali daha fazladır (17). Bu projede kullanılan ayırma ve işaretleme yönteminde lökositler alt gruplara ayrılmayıp karışım halinde bulunduğundan imajın kalitesini bozacak bir radyasyon etkisinin söz konusu olmadığı düşünülmektedir.

^{99m}Tc çalışmalarında 4 saatlik imajlarda belirgin bir akciğer tutulumu ile silik bir karaciğer ve dalak görünümüne rastlanmaktadır. 24 saatlik imajlarda ise akciğerler-

lerdeki aktivite yerini tamamen karaciğer ve dalağa bırakmaktadır. Patolojik bölgelerde beklenen aktivite artışı bazen ilk imajda hissedilebilmişse de genel olarak ikinci imajda daha belirgin olarak gözlenmiştir. Bazı vakalarda görülen tiroid ve gastrointestinal sistem aktivitesinin daha önce bahsedilen "in vivo kopma" nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Bu durum özellikle iltihabi barsak hastalıklarının teşhisi için yapılan sintigrafilerde yanılığa neden olabilir. Bu sebeple ¹¹¹In ile yapılan çalışmaların üstünlüğünü gösteren bir diğer işaret olarak sayılabilir.

¹¹¹In çalışmalarında ilk imajda silik, ikinci imajda tamamen belirgin olmak üzere karaciğer, dalak ve kemik iliği tutulumu gözlenmiştir. Görüntüler, bunun dışındaki aktivitelerin patolojiyi gösterdiği kabul edilerek yorumlanmıştır. Vakaların çoğu, radyoloji, ultrasonografi, cerrahi gibi diğer teşhis yöntemleri ile mukayeseli olarak incelenmiş ve bu yöntemle işaretlenen lökositlerle yapılan imajlamanın pek çok iltihabi hastalığın teşhisinde ışıktutabilecek rutin bir yöntem olabileceği sonucuna varılmıştır.

K A Y N A K L A R

1. Becker W, Fischback W, Reiners C, Börner W: Three-phase white blood cell scan: diagnostic validity in abdominal inflammatory disease. J Nucl Med 27: 1109-1115, 1986.
2. Boyum A: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J Clin Lab Invest (Suppl) 21:1-89, 1968.
3. Carrier L, Picard D, Chartrond R, Dianne D: Abdominal patterns of Indium-111 labeled leukocyte imaging. Clin Nucl Med, 11, 153-157, 1986.
4. English D, Andersen BR: Labeling of phagocytes from human blood with ^{99m}Tc -Sulfur colloid. J Nucl Med, 16,5-10, 1975.
5. Farid NA, White SM, Heck LL et al: ^{99m}Tc labeled leukocytes: preparation and use in identification of abscess and tissue rejection. Radiology 148: 827-831, 1983.
6. Fortner A, Taylor A Jr, Alazraki N, Datz F: Advantage of Indium-111 leukocytes over ultrasound in imaging an infected renal cyst. J Nucl Med 27: 1147-1149, 1986.
7. Froelich JW, Swanson D: Imaging of inflammatory process with labeled cells. Seminars Nucl Med, 14, 128-140, 1984.
8. Glenn HJ, Ruksawin, Haynie T, Konikowski T: Leukocyte labeling with technetium- 99m . Int J Nucl Med Biol, 3, 9-15, 1976.

9. Linhart NC, Barbu M, Gougerot MA, Bok B: Five leucocyte labelling techniques: a comparative in-vitro study. Brit J Haem. 53, 31-41, 1983.
10. Marcus C, Ctabin MG, Vatson EE: Pediatric radiation dose from (^{111}In) leukocytes. J Nucl Med 27, 1220-1221, 1986.
11. Mc Affee JG, Subramanian G, Gagne G: Technique of Leukocyte harvesting and labeling: problems and perspectives. Seminars Nucl Med 14, 83-106, 1984.
12. Shamil JM, Bennett DF: Indium-111 leukocyte scintigraphy in Wegener's granulomatosis involving the spleen. J Nucl Med 27: 1864-1866, 1986.
13. Sonnenwirth AC, Jarett L: Grandwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis II, The C.V. Mosby Company, 1980.
14. Thakur ML, Welch MI, Joist JH, Coleman RE: Indium-111 labeled platelets: studies on preparation and evaluation of in vitro and in vivo functions. Thromb. Res, 9, 345-357, 1976.
15. Thakur ML, Mc Affee JG: Survey of radioactive agents for in vitro labeling of phagocytic leukocytes-Part I. J Nucl Med 17:480-487, 1976.
16. Thakur ML: Indium-111: a new radioactive tracer for leukocytes. Exp Hemat (Suppl), 5, 145-150, 1977.
17. Thakur ML: Cell labeling: achievements, challenges, and prospects. J Nucl Med. 22, 1011-1014, 1981.
18. Uchida T, Nemoto T, Yui T, Matsuda S, Kariyone S: Use of Technetium- $^{99\text{m}}$ as a radioactive label to study migratory patterns of leukocytes. J Nucl Med, 20, 1197-1200, 1979.