
Chapter 9

Nederlandse samenvatting met discussie en conclusie

Inleiding

De schildwachtklier (SWK) is de lymfeklier waarop een tumor rechtstreeks draineert. Door het verspreiden van tumorcellen via het lymfevocht kan een metastase ontstaan in een schildwachtklier. Door het uitvoeren van een SWK procedure kunnen lymfeklier metastasen worden aangetoond voordat de lymfeklier palpabel wordt. Een uitgebreid diagnostisch traject gaat vooraf aan een SWK operatie bij het mammacarcinoom. Veelal wordt de patiënt, nadat bij lichamelijk onderzoek, mammografie, echo, en PA onderzoek een maligne tumor in de borst is vastgesteld voorgedragen voor chirurgische behandeling. In 1 OK sessie wordt de tumor verwijderd en de SWK procedure uitgevoerd.

Vanaf het begin van het uitvoeren van de SWK procedure is er mondiaal geen farmacon voor deze techniek geregistreerd. Colloid albumin, Zwavel-colloid, Antimoon sulfide en het recent beschikbare Cysteïne-Rhenium colloid, worden gebruikt voor het detecteren van schildwachtklieren. Deze producten hebben het predikaat registratie voor perfusie lymfoscintigrafie, leverscintigrafie dan wel beenmergscintigrafie. In Europa wordt er voor SWK procedures voornamelijk Nanocoll[®] gebruikt. In Amerika gebruikt men het gefilterde Zwavel colloid en in Australië Antimoon trisulphide. Het recent commercieel verkrijgbare Cysteïne-Rhenium colloid wordt nog nauwelijks in Nederland toegepast. Het verschil in producttoepassing heeft te maken met het in diverse continenten ontbreken van de productregistraties van deze farmaca.

Dit proefschrift belicht onderzoek ten behoeve van het optimaliseren van de SWK procedure. In-vitro zijn maximale specifieke concentraties gelabeld ^{99m}Tc Nanocoll[®] getest op verschillende elutie tijdstippen van de ⁹⁹Mo/^{99m}Tc generator. Een radiochemische zuiverheid >95% was de uitgangswaarde op T= 5 uur na het labelen. In een aantal gerandomiseerde klinische studies wordt het geoptimaliseerde radiofarmacon getest.

In hoofdstuk 2 zijn twee pilot series beschreven waarbij de SWK procedure in de 1e serie van 28 patiënten wordt verricht met gelabeld ^{99m}Tc-colloid albumin met een 24 uurs eluaat, waarbij 1.3 GBq technetium is gelabeld aan 500 µg colloid albumin. In de 2^e serie (20 patiënten) is 1.3 GBq technetium gelabeld aan 125 µg colloid albumin. Alle 48 patiënten zijn geïnjecteerd met dezelfde dosis, hetzelfde volume en via een gestandaardiseerde injectietechniek. De SWK operatie vond plaats 20-24 uur na toediening van het radiofarmacon. De in serie 2 gebruikte concentratie colloid albumin

gaf gemiddeld een factor 5 hogere CPS in de SWK tijdens de OK. De pilot leverde in operatietijd geen significantie tijdswinst op. Dit hoofdstuk beschrijft daarnaast het proces van stap voor stap versnijden van Nanocoll[®], aangevuld met voorbeelden van dunne laag chromatografie.

De resultaten uit de pilot vormden de basis voor in-vitro en in-vivo onderzoek met als doelstelling het vaststellen van de maximale specifiek te labelen concentratie ^{99m}Tc-colloid albumin gebruikmakend van een zo hoog mogelijke ratio ^{99m}Tc/⁹⁹Tc.

In hoofdstuk 3 wordt achtereenvolgens beschreven: het in-vitro onderzoek van het bepalen van de partikel grootte van Nanocoll[®]; hoeveel partikels colloid albumin er in een vial Nanocoll[®] zitten en hoeveel Technetium atomen er aan 1 colloid partikel wordt gelabeld.

Verder wordt in dit hoofdstuk de maximale specifieke concentratie ^{99m}Tc Nanocoll[®] (24 uren eluaat) bepaald in-vitro. Tevens wordt een klinische studie met 5 verschillende concentraties ^{99m}Tc Nanocoll[®] beschreven.

Uit het in-vitro onderzoek komt naar voren dat de aangegeven partikelgrootte van Nanocoll[®] zich bevindt tussen een bandbreedte van 7-23 nm met een gemiddelde diameter van 12 nm. Dit komt niet overeen met de opgegeven productspecificatie. De resultaten uit de klinische studie in termen van CPS meting, tonen aan dat een labeling onder stikstof condities van 5.2 GBq ^{99m}Tc/500 µg Nanocoll[®] dezelfde gemiddelde CPS geeft als onder gelijke condities gelabelde cocentraties van 1.3 GBq ^{99m}Tc/125 µg Nanocoll[®]. Alle patiënten zijn geïnjecteerd met 75 MBq en werden 20-24 uur na de injectie geopereerd. De CPS meting werd gestandaardiseerd uitgevoerd. In de gerandomiseerde klinische studie zijn onder vacuüm gelabelde concentraties van 1.3 GBq /125 µg Nanocoll[®] vergeleken met een hogere specifieke concentratie van 1.3 GBq/50 µg, waarbij gemiddeld 50% meer CPS werd gemeten in de concentratie 1.3 GBq/50 µg.

De conclusie van dit hoofdstuk is dat een viervoudige toename van de concentratie (van 1.3 GBq/ 500µg naar 1.3 GBq/ 125µg), resulteert in een factor 6 (P<0,002) hogere CPS meting in de SWK. Een tienvoudige toename aan concentratie (van 1.3 GBq/ 500µg naar 1.3 GBq/ 50µg), resulteert in een factor 9 (P<0,001) hogere CPS meting in de SWK.

In hoofdstuk 4 beschrijven we in-vitro onderzoek met eluaten van de ^{99m}Tc/⁹⁹Mo generator van 2 uur, 24 uur en 72 uur na een voorgaande elutie. Het doel van de in-vitro testen met verschillende ratio's ^{99m}Tc/⁹⁹Tc was het kunnen bepalen van een optimaal labeling protocol voor ^{99m}Tc Nanocoll[®]. Na het uitvoeren van ITLC

chromatografie van ^{99m}Tc Nanocoll[®] in een grote diversiteit aan concentraties beschrijven we in dit hoofdstuk de onder stikstof en vacuüm verkregen maximale concentraties ^{99m}Tc Nanocoll[®]. De grenswaarde van de radiochemische zuiverheid werd op >95% gesteld. Bij het versnijden van colloïd albumin werd er simultaan met het verwijderen van dit colloïd ook het voor het reductieproces ($^{99m}\text{Tc}^{7+}$ naar $^{99m}\text{Tc}^{4+}$) aanwezige Sn-chloride in gelijke mate verwijderd. Verder in-vitro onderzoek naar het mogelijk nadelige effect van geëxtraheerd Sn-chloride door cysteine toevoeging toont aan onder bij alle geteste concentraties MBq/μg het 7-waardige technetium in gelijke mate reduceert tot het 5- en 4-waardige technetium. Tijdens ITLC chromatografie met trichloroacetic acid als loopvloeistof normaliseerde de labeling efficiency tot bijna 100%.

Dit hoofdstuk beschrijft klinische toepassingen in 368 patiënten, verdeeld over 5 series waarvan 2 gerandomiseerd. Aan alle patiënten is een dosis toegediend van 100 MBq. In de gerandomiseerde studie van 158 patiënten zijn in vacuüm gelabelde concentraties van 26 MBq/μg ^{99m}Tc Nanocoll[®] toegediend, uit eluties van 2 of 24 uur. Aan 33 patiënten is ^{99m}Tc Nanocoll[®] toegediend, gelabeld met een specifieke concentratie van 8 MBq/μg (72 uur eluaat onder stikstof). Aan 74 patiënten werd ^{99m}Tc Nanocoll[®] toegediend met een specifieke concentratie van 10.4 MBq/μg (24 uur eluaat onder stikstof). 103 patiënten kregen ^{99m}Tc Nanocoll[®] toegediend met een specifieke concentratie van 26 MBq/μg (2 uur eluaat onder stikstof).

De onderlinge resultaten tussen een 72 en 24 uren eluaat resulteren bij de groep met het 24 uren eluaat in een factor 6 hogere CPS ($P=0.005$) CPS in de SWK. Alle CPS metingen in de SWK zijn ex vivo verricht met een gestandaardiseerde meetmethode. Een vergelijk tussen een 72 en 2 uren eluaat resulteert in de 2 uren groep in een factor 17 hogere CPS ($P=0.001$) in de SWK. Een 2 uren eluaat resulteert gemiddeld in een factor 1.7 hogere CPS in vergelijk met een 24 uren eluaat. Er is geen verschil in CPS ($P=0.481$) tussen 26 MBq/μg gelabeld ^{99m}Tc Nanocoll[®] met een 2 uren eluaat onder stikstof en een 2 uren eluaat in vacuüm. De labeling onder stikstof is echter veel eenvoudiger uit te voeren dan een vacuüm labeling.

Conclusie: ^{99m}Tc Nanocoll[®], gelabeld met een 2 uren eluaat met een specifieke concentratie van 26 MBq/μg colloïd albumin onder stikstof is van de onderzochte specifieke concentraties het beste product voor de klinische detectie van de SWK.

Hoofdstuk 5: in 2 groepen zijn 161 patiënten, gelabeld met een specifieke concentratie van 26 MBq/μg ^{99m}Tc Nanocoll[®] in vacuüm, gerandomiseerd tussen een 2 ($n=74$) en een 24 ($n=87$) uren eluaat. De groepen werden verder onderverdeeld in elk 2 subgroepen met een onderverdeling in het verrichten van de SWK procedure en

lumpectomie in één operatie (n=46 met 24 uren en n=57 met 2 uren eluaat) en een groep waarbij enkele weken voorafgaand aan de SWK procedure een lumpectomie werd verricht (n=28 met 24 uren en n=30 met 2 uren eluaat). Er waren geen statistisch significante verschillen tussen de groepen.

Ex vivo gemeten CPS in de SWK werd er een significant hogere CPS gedetecteerd in groep A ($P < 0.004$). Er werd geen verschil in het percentage geslaagde SWK operaties ($P = 0.825$ en $P = 0.915$) waargenomen tussen de subgroepen.

De conclusie van dit hoofdstuk is dat het verschil in de ratio $^{99m}\text{Tc}/^{99}\text{Tc}$ tussen een 2 en 24 uren eluaat een significant hogere CPS oplevert bij het 2 uren eluaat ($P < 0.004$). Een SWK procedure verricht na een aantal weken eerdere lumpectomie geeft geen verschil in percentage geslaagde SWK operaties als in een gecombineerde OK-sessie van SWK procedure en de lumpectomie (94-97%).

In hoofdstuk 6 beschrijven we een studie van ^{99m}Tc -sestamibi scintigrafie bij patiënten met een niet palpabele afwijking in de borst met een tijdens het bevolkingsonderzoek borstkanker op het röntgen mammogram geconstateerde afwijking in de borst. Bij 101 opeenvolgende patiënten werd er een mammascintigrafie en okselscintigrafie verricht. Het mammascintigram en okselscintigram zijn beoordeeld door 2 nucleair geneeskundigen zonder kennis vooraf van lichamelijk onderzoek en andere beeldvorming. In 35/101 patiënten werd een maligniteit vastgesteld (28 ductaal carcinoom; 7 lobulair carcinoom). Histopathologisch werden er in 15/35 patiënten okselkliermetastasen gevonden na een uitgevoerde SWK procedure. In 10/15 patiënt betroffen dit micrometastasen ($< 2\text{mm}$). De ^{99m}Tc sestamibi scintigrafie van de oksel was negatief in deze 10 patiënten. In 5/15 patiënten werden macrometastasen aangetroffen ($> 2\text{mm}$). In de 5 patiënten met macrometastasen was de sestamibi scintigrafie van de oksel positief. Geconcludeerd wordt dat mammascintigrafie voor detectie van mamma pathologie bij de patiënten verwezen van het BOB onderzoek een sensitiviteit heeft van 82%; een specificiteit van 93%; een positief voorspellende waarde van 90% en een negatief voorspellende waarde van 87%. De histopathologisch en uit immunohistochemie bewezen SWK maligniteit in 15/15 patiënten matchte in 5/15 patiënten met de sestamibi scintigrafie (sensitiviteit 33%)

In hoofdstuk 7 wordt de uitkomst beschreven van een enquête (0-meting in 2005 en update in 2009) over de uitvoering van de SWK procedure bij het mammacarcinoom in Nederland. De enquête is eind 2005 en begin 2009 gehouden onder alle 70 (2009=71) afdelingen nucleaire geneeskunde in Nederland, De respons in 2005

was 89% en in 2009 was er een respons van 93%. Zowel in 2005 en 2009 zien we een grote spreiding in het toegevoegde volume bij labeling en het toepassen van wisselende specifieke concentraties ^{99m}Tc -colloid albumin gedurende de week. Een grote spreiding zien we in het uitvoeren van de labeling controle en in het vrijgeven door de apotheker. De patiëntdosis varieert sterk, evenals het aantal aan de patiënt toegediende depots en hoeveelheid volume. Het al dan niet toedienen van een tweede injectie bij non-visualisatie van de SWK is bij beide metingen onveranderd (40%:43%). We zien een verbetering in de uitvoering van fysische kwaliteitscontroles aan de probe(s), maar de spreiding in tijd is echter onverminderd groot. Bijna een kwart van de ziekenhuizen verrichtte in 2005 een vriescoupe tijdens de SWK procedure, in 2009 is dit gestegen naar bijna de helft. Met de enquête (2005 en 2009) hebben we aangetoond dat er in Nederland een veelvoud aan Nucleair Geneeskundige protocollen en gevarieerde Nucleair Geneeskundige technieken wordt gehanteerd bij het uitvoeren van de SWK procedure. Het ontbreekt in Nederland aan een gestandaardiseerde richtlijn voor de uitvoering van de SWK procedure. Het is aan te bevelen om de schildwachtklier diagnostiek te standaardiseren in een landelijk protocol en dit te integreren in de eerstvolgende update van de richtlijn mammacarcinoom.

Discussie, toekomstperspectief en conclusies

Sinds Morton in 1992 het onderzoek naar de klinische toepassing van de SWK procedure publiceerde hebben er vele ontwikkelingen op dit gebied plaatsgevonden. In een groot aantal publicaties is de techniek verder belicht met als hoogtepunten een aantal specifiek aan dit onderwerp toegewijde congressen. De behandelrichtlijn van het mammacarcinoom is vanaf de introductie van de eerste multidisciplinaire richtlijn in 2002 een dynamisch proces en heeft geresulteerd in uitgebrachte herzieningen in 2004, 2005, 2006 en 2008. In de herziene versies van de richtlijn wordt de SWK procedure in het diagnostische traject genoemd. Er heeft één nucleair geneeskundige zitting gehad in de commissie die betrokken geweest is bij het samenstellen van deze richtlijn.

De in 1992 gepubliceerde techniek van Morton wordt in de NUGES ziekenhuizen (nucleair samenwerkingsverband Noord-Holland) voor het eerst in 1995 toegepast. Wat eind 1995 startte bij patiënten met een melanoom is eind 1998 uitgebreid met de SWK procedure bij het mammacarcinoom en bij het anuscarcinoom. Daarnaast wordt er tijdens operaties toenemend gebruik gemaakt van nucleaire probe geleiding. Een uitbreiding van de ROLL (Radio-guided occult lesion localization) methode heeft plaatsgevonden in het simultaan bij de SWK procedure onder probe geleide excisie

van een niet palpabele mamma tumor. Ook neemt het onder lokale anesthesie uitvoeren van de SWK procedure toe.

Radiofarmacie

Tot heden was het labelen van hoog specifieke concentraties ^{99m}Tc Nanocoll[®] spaarzaam beschreven. Anno 2009 gebruikt men in Europa overwegend het farmacon Nanocoll[®]. In Amerika en Australië worden andere farmaca toegepast. Het recent commercieel verkrijgbare Cysteine-Rhenium-colloid wordt slechts door een enkel instituut toegepast. De genoemde producten zijn echter nergens op de wereld geregistreerd voor het diagnosticeren en detecteren van de SWK. De fabrikanten ondernemen vanwege de hieraan verbonden hoge kosten geen actie voor registratie van hun farmacon voor de detectie van schildwachtklieren, terwijl de farmaca inmiddels bewezen hebben dat ze hiervoor toepasbaar zijn. Dit proefschrift geeft antwoorden over het op een eenvoudige en reproduceerbare wijze bereiden en toepassen van hoog specifieke concentraties ^{99m}Tc Nanocoll[®] voor de detectie van schildwachtklieren. Uit een gehouden enquête (0-meting en update) hebben we geconstateerd dat de afdelingen nucleaire geneeskunde een diversiteit aan protocollen en verscheidenheid aan parameters hanteren voor de uitvoering van de SWK procedure. In de literatuur worden ondanks het toepassen van wisselende methodes en uitvoeringen van de SWK procedure, hoge percentages geslaagde SWK operaties beschreven. Bij een aantal technische varianten zoals het toegediende volume of gebruikte injectietechniek zijn de meningen verdeeld. Verschillende auteurs melden dat toegediende volumes en gebruikte injectietechnieken geen effect hebben op verkregen resultaten, terwijl andere auteurs daarbij het tegenovergestelde beweren. Het is aan te bevelen dat de vakvereniging NVNG, een aanzet geeft tot het standaardiseren van de nucleair geneeskundige aspecten van de SWK procedure. Vigerende documenten hiervoor zijn voorhanden. Tevens kunnen al ingevoerde richtlijnen in omliggende landen als voorbeeld dienen voor het in Nederland ontwikkelen van een richtlijn voor de uitvoering van de schildwachtklierprocedure bij borstkanker. In de richtlijn schildwachtklierprocedure bij borstkanker van de British Nuclear Medicine Society (BNMS) wordt aanbevolen om hoog specifieke concentraties te gebruiken bij de labeling van ^{99m}Tc Nanocoll[®]. Voor de SWK toepassingen is er in de wereld geen geregistreerd radiofarmacon. De voor de SWK procedure gebruikte radiofarmaca zijn allen geregistreerd voor andere toepassingen. Een reden voor het ontbreken van een registratie is het commerciële aspect van het opnieuw moeten initiëren van grootschalig vooronderzoek, inclusief de hiermee gepaard gaande hoge kosten. Gelet echter op reguliere regelgeving,

zoals de Geneesmiddelenwet en het relatief hoge aantal SWK procedures lijkt het tijdstip aangebroken voor het ontwikkelen van een specifiek radiofarmacon voor SWK detectie.

Ontwikkelingen in nucleaire beeldvormende technieken

De SWK procedure kent een breed scala aan beeldvormende technieken. Bij het toepassen van de SWK techniek met de gammacamera wordt er onderscheid gemaakt in het vervaardigen van dynamische opnames, het 2-4 uur na injectie vervaardigen van planaire opnames en het verrichten van SPECT scintigrafie. Enkele jaren geleden is er een draagbare gammacamera geïntroduceerd waarmee er tijdens de operatie opnames gemaakt kunnen worden van de schildwachtklier. De techniek kent echter zijn beperkingen door de grove computermatrix en de fixatie van de camera aan de operatietafel.

Recente publicaties maken melding van het gebruik van SPECT/CT. De voordelen van het toepassen van SPECT/CT zijn het goed in kaart kunnen brengen van de lokalisatie van de SWK. Vooral bij een SWK die niet in de pectoralis regio wordt gevisualiseerd kan dit voorafgaand aan een operatie additionele informatie opleveren. Het verrichten van SPECT/CT om een bij planaire opnames slecht zichtbare, dan wel niet opkomende SWK alsnog te visualiseren, heeft meerwaarde in het anatomisch lokaliseren van de SWK. Een mogelijk andere positionering van de arm van patiënt tijdens SPECT/CT en gedurende de operatie geeft aan deze techniek een beperking voor een OK lokalisatie van de oksel. De SWK kan door een andere ligging van de arm tijdens de operatie een andere lokalisatie (op enkele centimeters afstand) innemen. Het met een probe detecteren van een met SPECT/CT anatomisch gelokaliseerde SWK wordt tijdens de operatie bemoeilijkt door de efficiency van de probe. Ook de lagere target / non target ratio van de SWK tot de omgevingsruis kan hierin parten spelen.

Sinds de opkomst van PET/CT zijn er diverse publicaties verschenen van SWK diagnostiek met ^{18}F -FDG en detectie van axillaire metastasen in een range van 25%-50% worden beschreven. Recente literatuur in het aantonen van axillaire metastasen met PET/CT melden een diagnostische accuratesse van 83% met een sensitiviteit van 58% en een specificiteit van 95%. Een zeer recent verschenen manuscript beschrijft in een serie van 137 patiënten een diagnostische accuratesse in axillaire metastasen van het mammacarcinoom van 94.2% met een sensitiviteit van 77.1% en specificiteit van 100%. Er is echter nog geen kosten baten onderzoek gepubliceerd waarbij het voordeel van PET/CT opweegt tegenover een afname van SWK procedures.

Conclusie

In deze thesis hebben we de optimalisatie van de labeling van het radiofarmacon ^{99m}Tc Nanocoll® beschreven. Voor de optimalisatie zijn de in-vitro verkregen resultaten toegepast in klinisch onderzoek.

De hypothese dat ^{99m}Tc -colloid albumin gelabeld met een hoge specifieke concentratie ^{99m}Tc per colloid partikel een hogere countrate in een SWK oplevert dan bij het gebruik met lage concentraties ^{99m}Tc per colloid partikel wordt bevestigd. In klinische studies leidt dit inderdaad tot een significante toename van gemeten CPS in de SWK.

De hypothese is dat de hoeveelheid radioactiviteit in een SWK evenredig toeneemt bij toenemende specifieke concentraties ^{99m}Tc -colloid albumin. In onze uitgevoerde gerandomiseerde klinische studies zien we bij het toenemen van de concentratie aan MBq/ μg colloid een significante toename van de gemeten CPS in de SWK.

De aanname dat het toepassen van een zo vers mogelijk eluaat (hoge ratio $^{99m}\text{Tc}/^{99}\text{Tc}$) bij het labelen maximaal specifieke concentraties MBq/ μg colloid in een verdere verbetering resulteert van het radiofarmacon, wordt eveneens bevestigd. In onze klinische studies resulteert dit in de hoogst gemeten gemiddelde CPS in de SWK. De aanname dat het chemische reductieproces van $^{99m}\text{Tc}^{7+}$ reduceert naar $^{99m}\text{Tc}^{5+}$ en $^{99m}\text{Tc}^{4+}$, wordt in-vitro bevestigd. Dunne laag chromatografie van het onder alle specifieke concentraties MBq/ μg colloid albumin en het daarmee simultaan geëxtraheerde SN-chloride toonde aan dat het extraheren van de reductor SLN geen effect had op de labeling efficiency.

In-vitro onderzoek toont geen verschil in labeling efficiency bij het labelen met de maximaal toegestane hoeveelheid activiteit (volgens de productspecificaties van Nanocoll® = 5,2 GBq/500 μg) t.o.v. een tot 25% versneden product (1,3 GBq/ 125 μg). Door ons uitgevoerd klinisch onderzoek tussen beide labelingen toonde geen verschil aan in ex vivo gemeten CPS in de SWK.

Ten tijde van het onderzoek kon aannemelijk gemaakt worden dat ^{99m}Tc -sestamibi scintimammogram + okselscintigram in niet palpabele laesies van borstkanker een toekomst had als aanvullende diagnostiek voor het detecteren van de primaire tumor en van axillaire metastasen. Voortschrijdende technische ontwikkelingen hebben deze techniek echter naar de achtergrond geplaatst.

De in Nederland onder alle afdelingen nucleaire geneeskunde gehouden enquête (0-meting in 2005 en update in 2009) heeft tot de conclusie geleid dat er in Nederland een grote verscheidenheid is aan nucleaire geneeskundige aspecten van de SWK procedure. Standaardisatie hiervan in een landelijke richtlijn lijkt geïndiceerd.

Ook lijkt, mede gelet op het anno 2009 ontbreken van een registratiedocument voor SWK detectie gebruikte radiofarmaca, het tijdperk aangebroken voor het ontwikkelen van een specifiek radiofarmacon voor SWK procedures. Ideeën voor het ontwikkelen van een non-humaan product zoals ^{99m}Tc gelabelde glasbolletjes van 20 nm zijn gelanceerd maar blijven tot heden visionair.



