

University of Groningen

New avenues in PET imaging of multiple sclerosis

Paula Faria, Daniele de

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2014

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Paula Faria, D. D. (2014). *New avenues in PET imaging of multiple sclerosis*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter

9

Samenvatting

Resumo

SAMENVATTING

Multiple sclerose (MS) is een neurodegeneratieve ziekte die gekenmerkt wordt door het binnendringen in het centraal zenuwstelsel (CZS) van ontstekings- en immuuncellen en de vorming van laesies. Ontsteking, demyelinisatie en remyelinisatie zijn dynamische processen die gedurende het verloop van de ziekte veranderen in de afzonderlijke laesies in een MS patiënt.

Tot nu toe is MRI (*magnetic resonance imaging*) de enige beeldvormingstechniek die gebruikt kan worden om de veranderingen in de aard en het aantal laesies in een MS patiënt te volgen. Met deze techniek is het echter niet mogelijk onderscheid te maken tussen de afzonderlijke pathologische processen, i.e. ontsteking (inflammatie), de-/remyelinisatie en neurodegeneratie.

PET (*positron emission tomography*) is een niet-invasieve beeldvormingstechniek die moleculaire en biochemische processen in het lichaam zichtbaar kan maken met behulp van specifieke liganden gelabeld met isotopen die positronen uitzenden (*positron emitters*). Dit proefschrift beschrijft de experimenten die wij hebben gedaan om te onderzoeken of PET *scanning* gebruikt kan worden om veranderingen in myeline (i.e. samenstelling en hoeveelheid) en het optreden van ontstekingen in het CZS te detecteren en over tijd te volgen; daarbij is gebruik gemaakt van een aantal proefdiermodellen waarin MS werd nagebootst.

De specifieke doelstellingen van dit promotie-onderzoek waren: (1) het testen van de efficiëntie en specificiteit van nieuw ontwikkelde myeline PET *tracers* en het bepalen van hun geschiktheid om de- en remyelinisatie zichtbaar te maken in het CZS tijdens de ontwikkeling van “MS laesies” in proefdieren; (2) het bepalen van de geschiktheid van PET om (veranderingen in) neuro-inflammatie in de hersenen en het ruggenmerg te detecteren gedurende de ontwikkeling van MS en (3), daaraan gerelateerd, het bepalen van de geschiktheid van PET *imaging* om de

effectiviteit van een anti-inflammatoire MS behandeling in kaart te brengen en te evalueren.

Het proefschrift begint in hoofdstuk 1 met een algemene inleiding in de belangrijkste karakteristieken van MS, gevolgd door een overzicht van de proefdiermodellen die in het preklinisch onderzoek naar MS gebruik worden en een beschrijving van de belangrijkste principes van PET *imaging*.

In hoofdstuk 2 volgt een uitgebreid *review* over de toepassing van PET *imaging* in klinisch en preklinisch MS onderzoek. Tot nu toe is het gebruik van PET binnen het MS onderzoek beperkt geweest tot het detecteren van neuro-inflammatie al dan niet in combinatie met het in beeld brengen van het glucose metabolisme. Aangezien naast neuro-inflammatie, ook andere processen, zoals de- en remyelinisatie en neurodegeneratie, een cruciale rol spelen in MS, is het van essentieel belang PET liganden voor *biomarkers* van deze processen te ontwikkelen en te testen. In het *review* worden dan ook enkele nieuwe potentiële PET *targets* voorgesteld en bediscussieerd.

In hoofdstuk 3 is onderzocht of 2 nieuwe myeline PET *tracers* ($[^{11}\text{C}]\text{CIC}$ en $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$) in staat zijn om demyelinisatie en remyelinisatie processen in het cuprizone muismodel voor MS te detecteren. *Ex vivo* biodistributie studies toonden aan dat beide *tracers* in staat waren om demyelinisatie te detecteren in de muizen na 5 weken op een cuprizone dieet. Echter alleen met $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$ kon de complete remyelinisatie, 5 weken nadat de muizen weer op gewoon dieet waren geplaatst, gedetecteerd worden. De *in vivo* PET *imaging* data toonden een trage kinetiek voor $[^{11}\text{C}]\text{CIC}$ en opname van $[^{11}\text{C}]\text{CIC}$ in het ruggenmerg was niet detecteerbaar. $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$, daarentegen, vertoonde een snelle kinetiek en een

duidelijke opname in het ruggenmerg. Er was geen correlatie tussen de *ex vivo* en de *in vivo* data voor [¹¹C]CIC, in tegenstelling tot [¹¹C]MeDAS waar een sterke correlatie kon worden aangetoond. [¹¹C]MeDAS bleek duidelijk superieur ten opzichte van [¹¹C]CIC wat betreft detectie van de- en remyelinisatie processen in het cuprizonen muismodel. Het cuprizonen muismodel moet echter als niet volledig geschikt MS model beschouwd worden voor dit onderzoek, omdat het niet tot echt focale laesies leidde, zoals die bij MS patiënten worden aangetroffen, maar slechts in een meer algehele vermindering van myeline-dichtheid; bovendien is het een nadeel dat de hoeveelheid myeline in de muis, in vergelijking met ratten of primaten, veel minder is.

Vandaar dat we in hoofdstuk 4 enkele PET experimenten weer herhaald hebben in een ratmodel met focale laesies. De inductie van focale, inflammatoire en demyelinisatie laesies in deze ratten vond plaats door middel van stereotactische injectie van lysolecithine. Het doel van de experimenten in hoofdstuk 4 was om te testen of de verschillende processen die zich afspelen in lokale laesies, met behulp van multiële PET *imaging*, parallel in kaart gebracht konden worden; de gebruikte PET liganden waren [¹¹C]MeDAS, [¹¹C]PK11195 en [¹⁸F]FDG, *tracers* voor respectievelijk myeline, microglia activatie en glucose metabolisme. Een langzame stereotactische injectie met lysolecithine leidde tot een kleine reproduceerbare laesie in het rechter corpus callosum en het onderliggend striatum die detecteerbaar was in de micro-PET scanner, ontwikkeld voor kleine proefdieren (resolutie: 1.35 mm). [¹⁸F]FDG PET kon geen significante verschillen aantonen in het glucose metabolisme in de laesies, 3 dagen, 1 week of 4 weken na lysolecithine injectie, duidend op het ontbreken van significante weefselschade. Met [¹¹C]PK11195 PET werd het proces van neuroinflammatie geanalyseerd. Een

toename in opname van deze *tracer* kon alleen geobserveerd worden op de plaats van de injectie 3 dagen en 1 week na injectie; [¹¹C]PK11195 opname was weer teruggekeerd tot op *baseline* niveau 4 weken na injectie. [¹¹C]MeDAS PET werd tenslotte gebruikt om demyelinisatie en remyelinisatie processen in de laesies te evalueren. De ratio tussen [¹¹C]MeDAS opname in de laesie ten opzichte van die in de contralaterale hersenhelft liet een afname zien 1 week na lysolecithine injectie en zelfs nog 4 weken na injectie. Histochemische validatie bevestigde dat er inderdaad nog slechts een minimale remyelinisatie had plaatsgevonden 4 weken na lysolecithine injectie. De resultaten van onze experimenten leidden tot de conclusie dat met PET *imaging* tijdelijke veranderingen in karakteristieke processen in focale laesies in ons ratmodel voor MS parallel gevolgd kunnen worden.

Nadat wij het lysolecithine ratmodel geoptimaliseerd en gestandaardiseerd hadden, hebben we dit model gebruikt om de farmacokinetische eigenschappen van [¹¹C]MeDAS en [¹¹C]CIC te bestuderen (hoofdstuk 5). Omdat de PET *tracer* voor β -amyloid plaque *imaging*, [¹¹C]PIB, recentelijk ook was aangemerkt als een potentiële PET ligand voor myeline, hebben we die ook meegenomen in de vergelijking met de andere myeline *tracers*. De kinetiek van de 3 myeline *tracers* kon het best beschreven worden met de Logan grafische analyse of het *reversible two-tissue compartment* model. Ook het distributievolume kon betrouwbaar vastgesteld worden met de Logan analyse of *compartment modeling*. Het distributievolume bleek sterk gecorreleerd aan de SUV (*standardized uptake value*) voor [¹¹C]MeDAS en [¹¹C]PIB. Alle 3 de myeline *tracers* bleken in staat gedemyeliniseerde laesies te detecteren. De snelheid en mate van remyelinisatie in het lysolecithine ratmodel bleek zeer variabel, maar over het algemeen

correleerde de PET *images* goed met de histochemische data, waaruit kan worden opgemaakt dat deze remyelinisatie variabiliteit toegeschreven moet worden aan het proefdiermodel en niet aan de *tracer* specificiteit. De homogene opname in de hersenen, de afwezigheid van opname in het ruggenmerg en de trage kinetiek maakten [¹¹C]CIC tot de minst geschikte *tracer* voor PET *imaging* van myeline. [¹¹C]MeDAS en [¹¹C]PIB hadden de snelste kinetiek, werden heterogeen opgenomen in de hersenen en hadden een zeer duidelijke opname in het ruggenmerg. Echter, gezien het feit dat [¹¹C]MeDAS in het algemeen een veel hogere opname had in de hersenen en een significant hogere opname in myelinrijke gebieden zoals hersenstam, middenhersenen en cerebellaire pedunculus dan [¹¹C]PIB, kan [¹¹C]MeDAS als de meest geschikte myeline PET *tracer* beschouwd worden.

De PET *tracers* werden verder geëvalueerd in een ander MS diermodel waarin met name de immunologische kenmerken van MS worden nagebootst, het EAE (*experimental autoimmune encephalomyelitis*) ratmodel ([hoofdstuk 6](#)). Het EAE ratmodel dat wij gebruikten imiteerde de relapsing-remitting vorm van MS (RRMS) en kenmerkte zich door periodes van klinische symptomen (e.g. achterpootverlamming) en periodes van herstel. Het doel van deze experimenten was te onderzoeken of PET geschikt was om de effectiviteit van een specifieke therapie te registreren in hersenen en ruggenmerg met behulp van PET *tracers* voor neuroinflammatie en de-/remyelinisatie gedurende alle fases van EAE. De behandeling die in onze studie werd toegepast was de toediening van dexamethason, een veel toegepaste ontstekingsremmer. Helaas konden geen vooraf geplande PET scans gedaan worden gedurende de remissie periode, omdat deze periode veel korter bleek en later kwam dan uit de literatuur bekend was.

Op de piek van de klinische score werden met behulp van [¹¹C]PK11195 de hoogste niveaus van inflammatie gemeten. Immunohistochemische analyses bevestigden dat een toename in [¹¹C]PK11195 opname gepaard ging met een toename in macrofaag/microglia activatie. Ongeveer 50% van de met dexamethason behandelde ratten vertoonden slechts milde klinische symptomen maar ontwikkelden geen verlamningsverschijnselen. Ondanks het ontbreken van klinische symptomen tijdens de PET scan in de dexamethason behandelde ratten, werd een significante toename in [¹¹C]PK11195 opname gedetecteerd in de hersenstam en het ruggenmerg in dieren die eerder wel symptomen hadden. Met behulp van de myeline PET *tracer* [¹¹C]MeDAS, werd het proces van demyelinisatie tijdens EAE gevolgd, echter geen teken van demyelinisatie kon worden gedetecteerd waarschijnlijk doordat de laesies te klein waren (<1mm), zoals bevestigd in de histologie. Met behulp van een recent ontwikkelde PET *tracer*, [¹⁸F]FB-IL2, voor T-lymfocyten, werd getracht T-cel infiltratie tijdens EAE in kaart te brengen. Alhoewel het hydrofiele karakter van deze *tracer* penetratie van de bloed-hersen-barrière (BBB) belemmert, werd besloten om deze *tracer* toch uit te testen omdat bij EAE de BBB permeabiliteit aanzienlijk is toegenomen. Geheel onverwachts lieten onze resultaten een afname in de binding van [¹⁸F]FB-IL2 zien in heel de hersenen op dag 6 en dag 15 na immunisatie en een normaal *baseline* niveau op dag 11 en 19. De afname in [¹⁸F]FB-IL2 binding vlak voor de eerste EAE symptomen en tijdens de piek van de symptomen correleert met een perifere lymfopenie eerder beschreven in EAE literatuur. Dit suggereert dat de [¹⁸F]FB-IL2 bindingsdata uit onze PET scans van de EAE hersenen slechts lymfocyten betroffen aanwezig in de hersenbloedvaten en niet geïnfiltreerde T-cellen. Uit de EAE experimenten konden we concluderen dat PET met [¹¹C]PK11195 een gevoelige beeldvormingstechniek is om neuroinflammatie tijdens de ontwikkeling en de voortgang van de ziekte te volgen (en daarmee ook het therapeutisch effect

van een anti-inflammatoire behandeling), dat het gebruik van [^{11}C]MeDAS helaas beperkingen heeft gerelateerd aan de beschikbare resolutie van de PET scanner en dat toepassing van [^{18}F]FB-IL2 voorsnog verder onderzoek vereist.

Het onderzoek in dit proefschrift heeft de mogelijkheden laten zien die PET *imaging* biedt om karakteristieke patho-cellulaire processen in hersenlaesies, zoals die ook optreden in MS, te volgen. Verder onderzoek is nodig voordat [^{11}C]MeDAS gebruikt kan gaan worden om de- en remyelinisatie in MS patiënten veilig in beeld te brengen. Daarvoor dienen eerst toxicologische studies opgezet te worden in proefdieren, voordat het uitgetest kan worden in een kleine groep MS patiënten. Het zou zeer interessant zijn als, met behulp van [^{11}C]MeDAS PET, laesies in grijze stof gedetecteerd kunnen worden, aangezien MRI daartoe ongeschikt is. De combinatie van de verschillende PET tracers ([^{18}F]FDG, [^{11}C]PK11195 en [^{11}C]MeDAS) biedt een unieke mogelijkheid om individuele MS laesies optimaal te karakteriseren, veranderingen in hun samenstelling te volgen en het effect van specifieke behandelingen daarop in beeld te brengen. Deze mogelijkheden zullen nog verder vergroot worden als hybride beeldvormingstechnieken, zoals PET-MRI, waarin de hoge specificiteit van PET gecombineerd wordt met de hoge resolutie van MRI, verder ontwikkeld worden. De ongekende specifieke toepassingsmogelijkheden van PET voor MS bevinden zich nog slechts in een beginstadium.

RESUMO

Esclerose múltipla é uma doença neurodegenerativa caracterizada por infiltração de células inflamatórias e formação de lesões desmielinizadas no sistema nervoso central. Inflamação, desmielinização e remielinização são processos dinâmicos que mudam com o tempo em lesões individuais de um mesmo paciente.

Até o momento, ressonância magnética nuclear é o método de escolha para detectar mudanças em (e número de) lesões em pacientes com esclerose múltipla. Porém, essa técnica não permite distinguir entre processos de inflamação e desmielinização/remielinização.

Tomografia por emissão de pósitron (PET) é uma técnica de imagem não invasiva que permite monitoramento de processos bioquímicos e moleculares *in vivo*, por meio do uso de ligantes específicos marcados com isótopos emissores pósitron. Essa tese descreve nossos estudos que tiveram como objetivo avaliar o potencial da imagem PET em detectar e monitorar mudanças no conteúdo de mielina e inflamação in diferentes modelos animais de esclerose múltipla.

Os objetivos específicos deste projeto foram avaliar: (1) a viabilidade de vários traçadores PET para imagem de processos de desmielinização e remielinização em modelos animais de esclerose múltipla e selecionar o traçador com as melhores características para imagem PET; (2) a viabilidade do PET em detectar mudanças em neuroinflamação cerebral e medula espinhal durante o progresso da doença; (3) o potencial da imagem PET em monitorar a eficácia de tratamento anti-inflamatório.

No capítulo 1, essa tese começa com uma introdução geral sobre as características da esclerose múltipla, seguido por uma visão global dos modelos

animais que são usados em pesquisa pré-clínica em esclerose múltipla e uma descrição dos princípios de imagem PET.

Capítulo 2 revisa o uso pré-clínico e clínico de imagem PET em esclerose múltipla. Na maioria dos estudos, a aplicação de PET é limitada a avaliação de neuroinflamação e metabolismo de glicose. Desde que outros processos também têm um papel importante em esclerose múltipla, métodos para imagem de biomarcadores destes processos são urgentemente necessários. Portanto, novos potenciais alvos para imagem e futuras aplicações em esclerose múltipla são também discutidos neste capítulo.

No capítulo 3, a capacidade de dois traçadores PET para imagem de mielina ($[^{11}\text{C}]\text{CIC}$ and $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$) em detectar processos de desmielinização e remielinização no modelo cuprizona foi investigada. Estudos *ex vivo de biodistribuição* cerebral indicaram que os dois traçadores são capazes de revelar desmielinização nos animais com 5 semanas em dieta de cuprizona. Porém, somente $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$ permitiu a detecção da completa remielinização 5 semanas depois que a dieta normal foi restaurada. Dados de imagem PET *in vivo* mostraram cinética lenta para $[^{11}\text{C}]\text{CIC}$ e captação em medula espinhal não foi detectada com esse traçador. $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$, ao contrário, teve uma cinética rápida e uma clara captação em medula espinhal. Não foi encontrada correlação entre dados *ex vivo* e *in vivo* para $[^{11}\text{C}]\text{CIC}$, mas para $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$ a correlação foi forte. Foi concluído que $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$ foi superior em detectar processos de desmielinização e remielinização no modelo animal cuprizona, quando comparado ao $[^{11}\text{C}]\text{CIC}$. A desvantagem do modelo cuprizona é que ele não apresenta lesões focais, como em pacientes com esclerose múltipla, mais sim

mudanças gerais no conteúdo de mielina por todo o cérebro. Além disso, camundongos tem uma quantidade menor de mielina quando comparado a outras espécies, como ratos e primatas. Portanto, é importante repetir nossos experimentos em outras espécies e em um modelo de lesão focal.

Para imitar uma lesão focal inflamatória desmielinizante do sistema nervoso central em pacientes com esclerose múltipla, o modelo lisolecitina foi usado nos experimentos PET descritos no capítulo 4. O objetivo destes experimentos foi avaliar o potencial da imagem PET para monitorar lesões locais usando [^{11}C]MeDAS, [^{11}C]PK11195 e [^{18}F]FDG como traçadores PET de mielina, micróglia ativada e metabolismo de glicose, respectivamente. Para induzir lesão no rato, semelhante a lesões em pacientes com esclerose múltipla, lisolecitina foi lentamente injetada estereotaticamente no corpo caloso direito e estriado direito. Após otimização do procedimento de injeção, uma pequena lesão com tamanho detectável por um PET scanner para pequenos animais (resolução de 1.35 mm) foi reprodutivelmente obtida. Imagem PET deste modelo foi realizada para monitorar metabolismo de glicose, neuroinflamação e mudanças de mielina da lesão focal. [^{18}F]FDG PET não mostrou diferenças significativas no metabolismo de glicose 3 dias, 1 semana e 4 semanas após injeção de lisolecitina, sugerindo a ausência de dano tecidual significante. [^{11}C]PK11195 PET foi utilizado para avaliar neuroinflamação. Aumento da captação deste traçador foi observado somente no local da injeção 3 dias e 1 semana após a injeção, enquanto que a captação retornou quase ao nível inicial após 4 semanas. [^{11}C]MeDAS PET foi usado para avaliar desmielinização e remielinização na lesão. A razão lesão/lado contralateral da captação cerebral mostrou um aumento da captação do traçador 1 semana após injeção de lisolecitina, o que ainda estava presente 4 semanas após injeção.

Avaliação histoquímica demonstrou que o mínimo de remielinização ocorreu 4 semanas após injeção de lisolecitina, o que está em concordância com os dados do PET. Foi concluído que imagem PET é capaz de detectar mudanças temporais de processos característicos em lesões focais do modelo lisolecitina para esclerose múltipla.

Tendo o modelo lisolecitina estabelecido e otimizado, ele foi usado no estudo de propriedades farmacocinéticas de três traçadores de mielina, como descrito no capítulo 5. Os dois traçadores utilizados no modelo cuprizone ($[^{11}\text{C}]\text{CIC}$ e $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$) foram também comparados no modelo lisolecitina em rato. Desde que o amplamente utilizado traçador PET para imagem de placa β -amilóide $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ foi recentemente descrito como potencial traçador para imagem de mielina, ele foi incluído na comparação com os outros dois traçadores. A farmacocinética dos 3 traçadores avaliados se ajustou melhor a análise gráfica de Logan e ao modelo do compartimento reversível de dois tecidos. O volume de distribuição foi confiavelmente determinado por análise Logan ou modelamento de compartimento. O volume de distribuição mostrou uma excelente correlação com valor de captação padronizado (Standard Uptake Value – SUV) para $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$ e $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$. Todos os traçadores avaliados foram capazes de detectar lesões desmielinizadas. A taxa de remielinização mostrou alta variabilidade, mas imagens PET correlacionaram bem com dados histoquímicos, indicando que a variabilidade na remielinização foi devido ao modelo animal e não à especificidade do traçador. Captação cerebral homogênea, falta de captação em medula espinhal e farmacocinética lenta fizeram de $[^{11}\text{C}]\text{CIC}$ o traçador de mielina menos promissor. $[^{11}\text{C}]\text{MeDAS}$ e $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ mostraram farmacocinética rápida, captação cerebral heterogênea e também captação em medula espinhal. Porém,

[¹¹C]MeDAS exibiu uma captação cerebral generosamente maior em regiões ricas em mielina, como tronco cerebral e mesencéfalo, do que [¹¹C]PIB. [¹¹C]PIB teve a menor captação em cerebelo, o qual é uma região que frequentemente contém lesões em pacientes com esclerose múltipla, fazendo com que esse traçador seja menos suscetível para imagem PET de mielina.

Prosseguindo com os resultados dos capítulos anteriores, traçadores PET foram adicionalmente avaliados em outro modelo animal para esclerose múltipla que imita as características imunológicas da doença, o modelo encefalomyelite autoimune experimental (*experimental autoimmune encephalomyelitis* – EAE) – capítulo 6. O modelo EAE usado em nosso estudo imita o tipo recidivante-remittente de esclerose múltipla e foi caracterizado por períodos de sintomas clínicos (por exemplo, paralisia de membros posteriores) e períodos de remissão. O objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade da imagem PET em monitorar a eficácia de tratamento através de imagens de neuroinflamação e desmielinização do cérebro e medula espinhal durante o progresso da doença. Neste estudo, dexametasona foi selecionada como uma droga anti-inflamatória típica. O desenho experimental não permitiu imagens durante o período de remissão, porque a remissão foi mais curta e ocorreu mais tarde do que antecipado, baseado na literatura. Porém, foi possível detectar aumentos significantes de macrófagos/micróglia ativada no tronco encefálico e medula espinhal de animais tratados com salina: os níveis mais altos de inflamação foram detectados no pico dos sintomas clínicos. Cerca de 50% dos ratos tratados com dexametasona apresentaram somente sintomas leves, mas não desenvolveram paralisia. Apesar da ausência de sintomas clínicos nos animais tratados com dexametasona no momento do PET scan, um aumento significativo de captação de [¹¹C]PK11195 foi

detectado no tronco encefálico e medula espinhal dos animais que mostraram sintomas previamente. A ocorrência de neuroinflamação foi confirmada por análise imunohistoquímica, demonstrando a sensibilidade de [^{11}C]PK11195 PET. Desmielinização foi avaliada por [^{11}C]MeDAS, traçador de mielina que mostrou melhores resultados in experimentos anteriores. Não foi encontrado indicação de significativa desmielinização por [^{11}C]MeDAS PET, provavelmente devido ao pequeno tamanho das lesões (<1mm), como confirmado por histoquímica. Outra característica investigada com imagem PET foi a infiltração de células T no sistema nervoso central. O recentemente validado traçador PET [^{18}F]FB-IL2 foi usado para imagem. A propriedade hidrofílica deste traçador dificulta sua penetração na barreira hemato-encefálica, porém, desde que a permeabilidade da barreira hemato-encefálica no modelo EAE é aumentada, [^{18}F]FB-IL2 foi testado neste modelo. Inesperadamente, nossos resultados mostraram uma diminuição do potencial de ligação do [^{18}F]FB-IL2 no cérebro total nos dias 6 e 15 depois da imunização e uma captação normal, quando comparado à imagem baseline, nos dias 11 e 19. Baseado na literatura, a diminuição da captação do traçador antes do início dos sintomas e no pico dos sintomas correlaciona com linfopenia periférica, sugerindo que o potencial de ligação medido em nossas imagens foi relacionado à presença de linfócitos nos vasos sanguíneos cerebrais e não à infiltração de células T no sistema nervoso central. Em conclusão, [^{11}C]PK11195 PET mostrou ser uma ferramenta sensível no monitoramento de neuroinflamação durante progresso da doença e para monitorar efeitos terapêuticos do tratamento anti-inflamatório. [^{11}C]MeDAS PET encontrou limitações técnicas neste modelo, enquanto [^{18}F]FB-IL2 necessita investigação futura antes que sua aplicação em esclerose múltipla seja considerada.

Em conclusão, o trabalho apresentado nesta tese mostrou a viabilidade da imagem PET em monitorar características da esclerose múltipla. Investigações futuras permanecem necessárias antes da viabilidade da imagem de mielina com [¹¹C]MeDAS possa ser investigada em pacientes com esclerose múltipla. Primeiro, estudos toxicológicos em animais precisam ser feitos e então prova de conceito (“proof-of-concept”) deve ser estabelecida em um número pequeno de pacientes. Uma oportunidade muito interessante seria avaliar a habilidade dos traçadores de mielina em detectar lesões em substância cinzenta, já que ressonância não é adequada para esta aplicação. Combinação de diferentes traçadores PET ([¹⁸F]FDG, [¹¹C]PK11195 e [¹¹C]MeDAS) pode contribuir para caracterização de lesões individuais, monitoramento de mudanças temporais em esclerose múltipla e avaliar resposta terapêutica. Abordagens utilizando sistemas de imagem híbridos, como PET-Ressonância, que combina a alta especificidade do PET com a alta resolução da ressonância, deveriam ser consideradas em esclerose múltipla como uma ferramenta para caracterização da doença, monitoramento de progressão e avaliação de tratamento.

Para concluir esta tese, é justo falar que diferentes aplicações de imagem PET em esclerose múltipla estão agora ao alcance.

