



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI GENOVA

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

USO DELLA PET PER LA DIAGNOSI DIFFERENZIALE TRA
PLACCHE TUMEFATTIVE DA SCLEROSI MULTIPLA E LESIONI
NEOPLASTICHE

Candidata: Giulia Barbagallo

Relatrice: Chiarissima Prof.ssa Silvia Daniela Morbelli

Anno Accademico 2019-2020



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI GENOVA

Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

USO DELLA PET PER LA DIAGNOSI DIFFERENZIALE TRA
PLACCHE TUMEFATTIVE DA SCLEROSI MULTIPLA E LESIONI
NEOPLASTICHE

Candidata: Giulia Barbagallo

Relatrice: Chiarissima Prof.ssa Silvia Daniela Morbelli

Sessione di Laurea del Luglio 2020

Sommario

1	INTRODUZIONE.....	3
1.1	SCLEROSI MULTIPLA.....	3
1.1.1	EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO	3
1.1.2	ANATOMIA PATOLOGICA E PATOGENESI.....	5
1.1.3	MANIFESTAZIONI CLINICHE	7
1.1.4	DIAGNOSI	10
1.1.5	DIAGNOSI DIFFERENZIALE E METODICHE DI IMAGING	13
1.2	IL FENOMENO DELLA DEMIELINIZZAZIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA	14
1.3	L'USO DELLA PET NELLA SCLEROSI MULTIPLA.....	15
1.4	UTILITÀ E LIMITI DELLA RISONANZA MAGNETICA	16
1.5	TRACCIANTI PET PER LO STUDIO SULLA CINETICA DELLA MIELINA	18
1.6	TRACCIANTI PET PER LA NEUROINFIAMMAZIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA	22
1.6.1	TRACCIANTI CHE LEGANO IL TSPO.....	22
1.6.2	TRACCIANTI CHE LEGANO IL RECETTORE CANNABINOIDE 2.....	24
1.6.3	IMAGING MOLECOLARE DELL'ASTROGLIA.....	24
1.6.4	TRACCIANTI DEL RECETTORE ADENOSINICO.....	25
1.6.5	TRACCIANTI DEL RECETTORE DELLA SFINGOSINA-1-FOSFATO.....	25
1.7	L'USO DELLA PET NELLA DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLE PLACCHE TUMEFATTIVE DA SCLEROSI MULTIPLA	27
2	METODOLOGIE.....	30
2.1	PET CON TRACCIANTI AMMINOACIDICI.....	30
2.1.1	PREPARAZIONE DEL PAZIENTE	31
2.1.2	PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE DELL'IMMAGINE PET.....	31
2.1.3	RICOSTRUZIONE DELL'IMMAGINE PET.....	32
2.1.4	INTERPRETAZIONE DELL'IMMAGINE PET	33
3	DISEGNO SPERIMENTALE	35
3.1	BACKGROUND DELLO STUDIO.....	35
3.2	OBIETTIVI DI STUDIO	36
3.3	MATERIALI E METODI.....	37
4	RISULTATI.....	38
4.1	PAZIENTI.....	38
4.2	ANALISI DELLE [18F]DOPA-PET DEI PAZIENTI	40
5	DISCUSSIONE.....	48
6	BIBLIOGRAFIA	49

1 INTRODUZIONE

1.1 SCLEROSI MULTIPLA

La Sclerosi Multipla è una malattia autoimmune demielinizzante caratterizzata da episodi distinti di deficit neurologici attribuibili a lesioni focali della sostanza bianca (WM).

Le malattie demielinizzanti del SNC sono condizioni caratterizzate da un danno preferenziale alla mielina con risparmio assonale, che ha effetto sulla trasmissione degli impulsi elettrici nervosi e determina i deficit clinici.

Dopo i traumi cranici risulta essere la malattia più frequentemente responsabile di disabilità neurologica nell'età giovanile-adulta.

Descritta inizialmente da Cruveilhier (1835), nel 1868 Charcot ne delineava già gli aspetti clinici e neuropatologici, quali le multiple aree di demielinizzazione sparse nel SNC, con predilezione per le vie lunghe e la sostanza bianca periventricolare, il midollo spinale, i nervi ottici, il tronco encefalico e il cervelletto.

Nella maggior parte dei casi il decorso clinico è caratterizzato da riacutizzazioni e remissioni di durata variabile contrassegnati da deficit neurologici, seguiti da un graduale e parziale recupero della funzionalità neurologica. La frequenza delle recidive tende a diminuire durante il decorso della malattia, ma vi è un costante peggioramento neurologico nella maggior parte dei pazienti che ne sono affetti (1;2).

1.1.1 EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

La Sclerosi Multipla è una delle più comuni malattie demielinizzanti con prevalenza variabile, da 1 su 1.000 individui negli Stati Uniti e in Europa, a 2 su 100.000 abitanti in Asia e Africa subsahariana. Le donne sono colpite più degli uomini con rapporto 2:1, l'esordio è raro prima della pubertà e dopo i 65 anni, con il picco d'incidenza tra i 25 e i 30 anni di età. Gli studi sulla distribuzione e sulla storia naturale della patologia hanno migliorato la comprensione del ruolo di fattori di rischio sia endogeni che esogeni nella patogenesi (1;3).

L'esistenza di una suscettibilità geneticamente determinata a contrarre la malattia è avvalorata da numerosi studi su gruppi etnici, cluster familiari e gemelli.

L'incidenza della SM risulta 15 volte maggiore quando un parente di primo grado presenta la malattia (rischio dell'1-3% rispetto al rischio di 1/1000-2000 della popolazione generale) e 150 volte maggiore nei gemelli omozigoti (25-30% rispetto al 2-5% nei gemelli dizigoti). Il concetto di ereditarietà per questa patologia non si basa su un singolo gene causale, tale ipotesi risulta essere in contrasto con le stime di concordanza familiare e con l'osservazione di una riduzione lineare del rischio nei soggetti più lontani dal familiare affetto. È probabile invece che la suscettibilità sia determinata da molteplici loci ciascuno dei quali contribuisce in maniera limitata al rischio complessivo (ereditarietà poligenica).

Gli studi hanno indicato il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) sul cromosoma 6 come uno dei determinanti genetici della SM. Questo complesso codifica per gli antigeni di istocompatibilità HLA che presentano gli antigeni proteici ai linfociti T. Gli antigeni di classe II sono stati più frequentemente associati alla malattia, anche in base alla popolazione di riferimento: in quella caucasica di rilievo sono gli aplotipi DRB1 1501, DQA1 0102, DQR1 0602 dell'allele DR2, in Sardegna gli aplotipi come HLA-DR4 e DQW3.

Inoltre, sarebbero anche correlati alcuni loci della catena pesante (Vh) del recettore del linfocita T sul cromosoma 7, delle immunoglobuline sul cromosoma 19 e nella popolazione finlandese un gene legato alla proteina basica della mielina sul cromosoma 18 (2).

Sebbene sia stata dimostrata una certa importanza della suscettibilità genetica non sono state ancora spiegate completamente le variazioni nella prevalenza geografica e come il rischio cambi in caso di migrazione. Questi aspetti potrebbero confermare il ruolo dei fattori ambientali (4).

Studi epidemiologici suggeriscono la possibilità che individui con SM siano stati esposti nell'infanzia a fattori ambientali, probabilmente patogeni virali e non.

Sono stati studiati numerosi agenti infettivi, ma in nessun caso si è arrivati a una dimostrazione conclusiva di associazione. Tra gli agenti studiati vi sono il virus del Morbillo, l'Epstein Barr virus (EBV), il virus Simian 5 (SV5), gli herpes virus tra cui l'HSV6, alcuni retrovirus come l'HTLV1 e recentemente la *Chlamydia Pneumoniae*.

In particolare è stato dimostrato che, in comparazione a soggetti non infettati, l'incidenza della SM è aumentata di 15 volte nei soggetti che sono stati infettati da EBV nell'infanzia e 30 volte più alta in quelli infettati da EBV nell'adolescenza o nell'età adulta. Anche se il meccanismo immunopatogenetico non è ancora chiaro, questo dimostra una forte evidenza nella relazione causale tra infezione da EBV e SM (2;5).

Sono noti come fattori di rischio modificabili anche il fumo di sigaretta e l'obesità in età infantile, mentre i vaccini, gli eventi traumatici e lo stress non sono stati confermati come tali.

La maggior parte degli studi epidemiologici ha evidenziato un rapporto tra SM e latitudine. Infatti, è stato dimostrato un aumentato rischio di sviluppare SM nei soggetti deficitari di vitamina D, che spiegherebbe l'aumento progressivo d'incidenza della patologia con l'aumentare della latitudine (SM è molto comune tra 50° e 60° parallelo) (6).

La conferma di questo è emersa dall'osservazione delle popolazioni migranti che tendono a conservare il rischio della zona d'origine quando la migrazione avviene dopo i 15 anni, mentre acquisiscono il rischio del nuovo paese quando la migrazione avviene prima dei 15 anni di età (7).

In conclusione, numerosi dati sperimentali suggeriscono che in soggetti geneticamente predisposti un agente infettivo probabilmente non unico sia in grado di scatenare una risposta autoimmunitaria a seguito di un meccanismo di mimetismo molecolare. Alla propagazione di questo meccanismo contribuirebbero poi altri fattori che amplificano la risposta verso gli antigeni del SNC, provocando così un danno tissutale e la cronicizzazione della malattia (2).

1.1.2 ANATOMIA PATOLOGICA E PATOGENESI

La Sclerosi Multipla è una patologia autoimmune, pertanto le lesioni sono causate da una risposta immunitaria diretta contro le componenti della guaina mielinica.

Nella suscettibilità alla malattia è noto l'aplotipo DR2 esteso del complesso maggiore di istocompatibilità, inoltre, gli studi di sequenziamento del genoma hanno identificato delle associazioni aggiuntive con i polimorfismi a singolo nucleotide nei geni che codificano per i recettori delle citochine IL2 e IL7, i quali potrebbero influenzare l'attività dei linfociti T.

Il fatto che l'infiltrato nelle placche e nelle regioni cerebrali circostanti sia costituito da linfociti T (prevalentemente CD4+) e macrofagi conferma il ruolo chiave di queste cellule nella patogenesi della SM.

Gli studi disponibili dimostrano che i linfociti Th1 e Th17 (CD4+) reagiscono contro gli antigeni self della mielina. Nello specifico, i linfociti Th1 secernano IFN- γ che attiva i macrofagi, mentre il Th17 promuove il reclutamento dei leucociti.

Come detto precedentemente, è stato ipotizzato il ruolo delle infezioni virali nell'attivazione dei linfociti auto-reagenti. I linfociti CD4+ circolanti nel sangue periferico sono attivati da

un evento trigger, come ad esempio l'infezione da parte di un patogeno, che ne determina la migrazione attraverso la barriera emato-encefalica (BEE).

All'interno del SNC avviene da parte dei linfociti attivati il riconoscimento di auto-antigeni mielinici presentati da macrofagi e microglia, attraverso il meccanismo di mimetismo molecolare tra la proteina mielinica e la proteina del patogeno.

L'innescò della risposta autoimmune comporta un aumento della permeabilità della BEE, causata dal rilascio delle metalloproteasi, con il conseguente richiamo di altri linfociti dalla periferia, mediato da chemochine quali RANTES, MIP-1 α e IP-10.

Il propagarsi dell'infiammazione determina il coinvolgimento di linfociti T citotossici (CD8+), linfociti B, macrofagi, microglia e astrociti.

L'attivazione di molteplici meccanismi effettori (citochine, complemento, auto-anticorpi, proteasi, radicali liberi e derivati del NO) a livello locale esita in un danno della guaina mielinica, degli oligodendrociti e in un secondo tempo anche dei neuroni.

L'evoluzione della risposta infiammatoria dipenderà dal bilancio tra stimoli pro-infiammatori rilasciati da linfociti Th1, in minor misura anche da macrofagi e microglia, quali INF- γ , TNF- α e TNF- β , e stimoli anti-infiammatori prodotti dai linfociti Th2, quali TGF- β , IL10 e IL4.

Per questi motivi le terapie sono state formulate in modo da modulare o inibire la risposta delle cellule T e bloccare il reclutamento dei linfociti T nel cervello (1;2).

Le lesioni appaiono come placche multiple di forma irregolare, ben circoscritte, talvolta depresse, di aspetto vitreo e giallastro. Si parla di "sclerosi" perché a fresco queste hanno consistenza solida rispetto alla WM circostante. Si localizzano frequentemente agli angoli dei ventricoli laterali, ma sono presenti anche nei nervi ottici e in sede chiasmatica, nel tronco encefalico, nei tratti ascendenti e discendenti delle fibre nervose nel cervelletto e nel midollo spinale. Possono estendersi a tutta la sostanza bianca (WM) e nelle strutture della sostanza grigia (GM), dato che anch'esse sono attraversate da fibre mieliniche (1).

Le lesioni precoci sono caratterizzate da un infiltrato infiammatorio perivascolare di linfociti T, linfociti B e plasmacellule a cui segue la comparsa di macrofagi che iniziano ad aggredire la guaina mielinica (2).

Microscopicamente, nella placca attiva si riscontra una progressiva perdita della mielina con abbondanti macrofagi, ricchi di residui necrotici lipidici PAS positivi (colorazione Luxol Fast Blue-PAS per la mielina). Al centro le lesioni presentano piccole vene mentre negli strati più esterni è presente l'infiltrato infiammatorio di monociti e linfociti. Se nella sezione colorata per la mielina si evidenziano la placca demielinizzata e i manicotti linfocitari

perivascolari, nella stessa lesione, la colorazione per gli assoni mostra la loro relativa conservazione.

Studiando le placche attive sono state identificate 4 tipologie:

- I: placche ben definite e centrate sui vasi sanguigni con depositi di immunoglobuline e complemento;
- II: placche ben definite e centrate sui vasi sanguigni senza depositi;
- III: placche meno definite e non incentrate sui vasi con apoptosi diffusa degli oligodendrociti;
- IV: placche meno definite e non incentrate sui vasi con apoptosi solo centrale degli oligodendrociti.

Inoltre, è stato dimostrato che un solo paziente può presentare solo una coppia di quadri anatomopatologici I/II o III/IV, ciò suggerisce che queste forme possano riflettere meccanismi distinti piuttosto che diversi stadi di lesione.

Gli oligodendrociti possono proliferare nel tentativo di ricostruire la mielina, in alcuni casi con successo e parziale remielinizzazione, per questo motivo il confine tra la WM normale e quella patologica non è ben circoscritto. Si definisce “placca ombra” la lesione mielinizzata in maniera abnorme, nella quale le guaine mieliniche risultano assottigliate (1).

Nel tempo gli astrociti vanno incontro a trasformazioni reattive, proliferano e iniziano a formare un denso intreccio di processi fibrillari cicatriziali (2).

Non appena le lesioni diventano quiescenti l’infiltrato infiammatorio scompare.

Nel centro della placca inattiva sono evidenti la proliferazione astrocitaria, la gliosi fibrillare, la mielina è scarsa o assente, il numero degli oligodendrociti è ridotto ed è presente il danno assonale (1).

1.1.3 MANIFESTAZIONI CLINICHE

Le lesioni SM possono colpire ogni parte del SNC ma si osservano alcuni quadri tipici, inoltre l’esordio può essere monosintomatico oppure polisintomatico.

La mielina è formata da avvolgimenti concentrici della membrana plasmatica degli oligodendrociti e ha la funzione di isolare l’impulso nervoso che si propaga rapidamente dal corpo cellulare lungo l’assone, con modalità saltatoria da un nodo di Ranvier al successivo. La demielinizzazione determina importanti effetti sulla conduzione nervosa, perché nelle fibre demielinizzate la conduzione saltatoria non è possibile.

Il rallentamento della conduzione nervosa nella via piramidale è responsabile della fatica e il blocco della conduzione nervosa corrisponde alla perdita di funzione.

Nella maggior parte dei casi la SM si può presentare con ipostenia ad uno o a più arti (40%), neurite ottica (22%), parestesie e disestesie (21%), diplopia, vertigine e disturbo della minzione. I disturbi iniziali tendono nella maggior parte dei casi a regredire dopo un periodo di tempo variabile, in seguito possono ripresentarsi o possono comparire altri sintomi e segni di sofferenza focale del SNC.

Frequentemente la SM all'esordio si può presentare con una neurite ottica o retrobulbare, un deficit visivo monolaterale dovuto al coinvolgimento del nervo ottico. Di questi pazienti solo alcuni (dal 10 al 50%) svilupperanno la SM.

Una compromissione del nervo ottico anche se clinicamente non manifesta si può evidenziare con allungamento di latenza dei potenziali evocati visivi (PEV).

Il calo dell'acuità visiva è rapido, variabile da pochi decimi fino a cecità completa ed è accompagnato da dolore sopraorbitario o del globo oculare aggravato dai movimenti oculari. L'esame del campo visivo evidenzia di solito uno scotoma centrale, poiché risulta colpita la parte centrale del nervo ottico dove decorrono le fibre d'origine maculare.

L'esame del fundus oculare può evidenziare una papilla ottica normale nella neurite ottica retrobulbare, o una sfumatura dei margini papillari (papillite) quando è colpita la parte anteriore del nervo ottico. Successivamente la papilla ottica diventa pallida, specialmente nei settori temporali.

Con un aumento della temperatura corporea che si verifica dopo un esercizio fisico o con la comparsa di febbre si può avere il "fenomeno di Uhthoff" che si caratterizza per una diminuzione dell'acuità visiva che esprime il peggioramento della conduzione nervosa nelle fibre demielinizzate, secondario all'elevazione della temperatura. Il recupero dopo una neurite ottica è lento e può lasciare esiti.

Le lesioni del midollo spinale danno origine a deficit motori e sensitivi del tronco e degli arti, spasticità e difficoltà nel controllo volontario della funzione vescicale.

La fatica è costantemente presente nei pazienti con SM (80% dei casi) e compare anche dopo limitate e banali attività. L'ipostenia colpisce più spesso gli arti inferiori, in genere in maniera asimmetrica, o un solo arto inferiore o un solo emilato corporeo, mentre meno frequente è la compromissione di uno o entrambi gli arti superiori.

L'esame neurologico evidenzia anche la presenza di riflessi osteotendinei aumentati o policinetici, di riflessi patologici quali l'Hoffmann e il Babinski, il clono del piede e più raramente della rotula, mentre i riflessi addominali sono diminuiti o aboliti.

Quando la lesione interessa l'ingresso delle radici posteriori o la sostanza bianca adiacente le corna posteriori o anteriori, i riflessi profondi sono diminuiti o aboliti e possono comparire segni di atrofia muscolare.

Disturbi della sensibilità, descritti dal paziente come sensazione d'intorpidimento, formicolio, fasciatura o gonfiore, sono spesso sintomi d'esordio e sono dovuti ad una lesione dei cordoni posteriori, delle vie spino-talamiche o delle zone d'ingresso delle radici posteriori. Spesso iniziano in un piede per poi interessare anche l'altro e propagarsi ai settori prossimali degli arti inferiori.

All'esame obiettivo nelle fasi iniziali il paziente può avvertire come lontani o fastidiosi gli stimoli della sensibilità superficiale (tattile, termico, dolorifico). Talvolta sono interessate una o ambedue le mani (sensazione di indossare i guanti) oppure in caso di lesione a livello del midollo toracico si può avere una sensazione di costrizione del torace. Sensazioni dolorose sono più frequenti durante le ore notturne e si associano a spasticità.

In fase avanzata residuano spesso parestesie e disestesie nelle mani o nei piedi, ipoestesia distale agli arti inferiori e spesso si ha pallestesia agli arti inferiori (compromissione della sensibilità profonda).

Una lesione del midollo sacrale può essere responsabile, oltre che della ipo-anestesia perineale, anche di una perdita della sensazione al passaggio di urine feci. Inoltre, nei casi avanzati sono rilevanti anche disturbi della minzione e un rallentato transito intestinale.

I disturbi cerebellari diventano più comuni in fase avanzata, mentre quando si presentano all'esordio rappresentano un fattore prognostico negativo, data la scarsa tendenza a regredire. Il tremore intenzionale e la dismetria agli arti limitano in maniera rilevante l'autonomia del paziente. Altri sintomi frequenti sono l'andatura atasso-spastica, la disartria e il nistagmo, che può essere espressione di lesione delle vie cerebellari o delle vie internucleari nel tronco encefalico.

L'interessamento del tronco encefalico produce segni a carico dei nervi cranici, atassia, nistagmo (pendolare, fasico o tonico) e oftalmoplegia internucleare (deficit di adduzione e nistagmo orizzontale nell'occhio abdotto) da interruzione delle fibre del fascicolo longitudinale mediale. Una lesione dei nervi cranici III, IV e VI può determinare la diplopia. Una lesione della zona di ingresso del nervo trigeminale nel ponte, o placche interessanti i tratti trigeminali discendenti o il nucleo del trigemino determinano la nevralgia del trigemino. Anche ipoestesia e disestesie nel territorio trigeminale possono essere associate.

Quando una nevralgia del trigemino insorge in un soggetto con età inferiore a 50 anni, soprattutto se associata ad un disturbo della sensibilità, deve far pensare ad una patologia demielinizzante. Talvolta posso avere anche una paralisi del facciale.

Vertigini soggettive possono comparire nel 30% dei casi, così come un'ipoacusia, espressione di interessamento delle vie cocleari.

Aree di demielinizzazione periventricolare nella sostanza grigia possono essere responsabili di veri e propri disturbi cognitivi (memoria, attenzione visuo-spaziale, capacità di calcolo). In certi casi possono essere presenti un'euforia inadeguata, episodi psicotico-maniacali o turbe dissociative.

I sintomi parossistici, dati dalla ripetizione di un sintomo con le stesse caratteristiche a breve distanza di tempo, spesso scatenati da movimenti o stimoli sensitivi, sono infrequenti ma molto caratteristici e rappresentano la compromissione del midollo cervicale.

Tra questi vi è il "segno di Lhermitte", che consiste nella comparsa di una sensazione tipo scossa elettrica con irradiazione lungo la schiena fino agli arti inferiori, raramente fino agli arti superiori, scatenata dalla flessione o dall'estensione del capo.

Inoltre, si possono manifestare crisi di disartria e atassia parossistica (attacchi di disartria e turbe coordinazione della durata di 20-30 secondi ogni 30-60 minuti), contrazioni toniche (con assunzione di postura in flessione degli arti superiori o estensione degli arti inferiori per 1-2 minuti), dolori improvvisi e parestesie (2).

1.1.4 DIAGNOSI

La diagnosi si basa sui dati clinici, in particolare sulla disseminazione temporale e spaziale dei disturbi e dei segni neurologici. In assenza di caratteristiche cliniche patognomoniche o di un esame di laboratorio definitivo, la Sclerosi Multipla rimane una diagnosi d'esclusione basata su indagini paracliniche.

La diagnosi si basa sulla presenza anamnestica di almeno due episodi di sofferenza focale del SNC in paziente con esordio tra i 15 e i 50 anni, sul riscontro obiettivo di almeno due diversi sedi di compromissione della sostanza bianca delle vie lunghe di commissione, su un decorso a ricadute o cronico progressivo da almeno 6 mesi e sull'esclusione di altre possibili cause di malattia neurologica.

I dati clinici sono essenziali ma gli esami complementari, come l'esame del liquor cerebrospinale e i potenziali evocati, sono necessari per convalidare il giudizio clinico.

Nel liquor, sebbene ci possa essere una modesta pleiocitosi (al massimo 50 cellule/mm³), di solito il numero di cellule è normale (1-5 cellule/mm³). Il reperto più frequente è l'aumento delle immunoglobuline liquorali che testimonia una sintesi intratecale di IgG e in minor misura di IgA e IgM. Questo reperto risulta da un aumento dell'indice di Link, dato dal rapporto che misura le immunoglobuline rispetto all'albumina del liquor.

Il riscontro di bande oligoclonali di IgG su liquor mediante isoelectrofocusing o immunoblot, presente nel 95% dei pazienti SM, rappresenta la risposta umorale (cellule B) diretta contro un ampio pannello di antigeni nel SNC. Tuttavia questa risposta non è specifica della SM ma è presente anche in altre malattie infiammatorie a carico del SNC come la malattia di Lyme o l'infezione da HIV.

Il rallentamento della conduzione nervosa può essere dimostrato dai potenziali evocati.

Il tempo di conduzione centrale della via motoria esprime il grado di integrità del fascio piramidale. Il difetto di conduzione dato dalla perdita di mielina si evidenzia come un aumento della latenza, mentre l'ampiezza rimane in genere invariata.

I potenziali evocati dimostrano la disseminazione spaziale della malattia e permettono il riconoscimento di una lesione subclinica in sedi diverse da quelle clinicamente evidenti.

I potenziali evocati visivi (PEV) sono alterati nel 90% dei pazienti con una neurite ottica e in più dei due terzi dei casi di SM definita, anche in assenza di sintomi visivi.

I potenziali evocati somestetici (PES), espressione della ridotta conduzione a livello dei cordoni posteriori del midollo, sono rallentati nel 70-90% dei casi.

Criteri diagnostici per la Sclerosi multipla proposti da Poser (1983):

A) Sclerosi multipla clinicamente definita.

- Due episodi, evidenza clinica di due diverse e separate sedi lesionali.
- Due episodi, evidenza clinica di una sede lesionale ed evidenza paraclinica di un'altra lesione separata.

B) Sclerosi multipla definita da esami di laboratorio.

- Due episodi, evidenza clinica o paraclinica di una sede lesionale, presenza di bande oligoclonali o di una sintesi intratecale aumentata di IgG all'esame del liquor.
- Un episodio, evidenza clinica di due diverse sedi lesionali, presenza di bande oligoclonali o di un'aumentata sintesi intratecale di IgG all'esame del liquor.

- Un episodio, evidenza clinica di una sede lesionale e paraclinica di un'altra lesione separata, presenza di bande oligoclonali o di una aumentata sintesi intratecale IgG all'esame del liquor.
- C) Sclerosi multipla clinicamente probabile.
- Due episodi ed evidenza clinica di una sede lesionale.
 - Un episodio ed evidenza clinica di due sedi lesionali separate.
 - Un episodio, evidenza clinica di una sede lesionale ed evidenza paraclinica di un'altra lesione separata.
- D) Sclerosi multipla probabile da esami di laboratorio.
- Due episodi e presenza di bande oligoclonali o di una aumentata sintesi intratecale di IgG all'esame del liquor.

Il decorso della malattia è variabile ed imprevedibile, ma nell'80% dei casi si presenta e procede per ricadute, con la comparsa acuta o subacuta di un sintomo che raggiunge il suo acme in giorni o settimane per poi regredire parzialmente o completamente in 1-2 mesi.

La durata minima di una ricaduta è di 24h, la sua frequenza è variabile, in genere meno di una per anno, ed è maggiore nei primi anni per poi diminuire. L'intervallo libero può essere di poche settimane oppure molti anni e le ricadute possono regredire completamente o lasciare esiti.

Quando la malattia ha un decorso con ricadute viene definita "Ricadute remissione" (Relapsing remitting, RRMS). Il 50% dei pazienti entra nella forma "Secondariamente progressiva" (Secondary progressive, SPMS) entro 10 anni dalla diagnosi. Inoltre, in alcuni pazienti il decorso secondariamente progressivo risulta associato ancora a recidive e si definisce "Secondariamente progressiva con ricadute". Nel 10-15% dei casi la malattia risulta progredire fin dall'inizio e si definisce "Primariamente progressiva" (Primary progressive, PPSM).

Il numero e la frequenza delle ricadute, così come la presentazione clinica, sono importanti fattori prognostici. L'esordio precoce è associato a una prognosi migliore al contrario di quello tardivo, così come sintomi di tipo sensitivo e l'interessamento dei nervi cranici sono associati a un decorso più favorevole rispetto ai casi in cui fin dall'esordio si riscontrano sintomi piramidali o cerebellari (2).

1.1.5 DIAGNOSI DIFFERENZIALE E METODICHE DI IMAGING

Nella diagnosi differenziale sono da considerare le patologie che possono causare una sofferenza multifocale del SNC con un decorso remittente, quali ad esempio le vasculiti sistemiche o primitivamente cerebrali, il Lupus eritematoso sistemico, la malattia di Behçet, la malattia di Sjögren e la Sarcoidosi. La compromissione viscerale e l'alterazione degli esami ematochimici possono essere indicativi di una malattia autoimmune sistemica.

Anche le malattie infettive, quali la neurosifilide, l'AIDS e la malattia di Lyme, possono manifestarsi con una compromissione multifocale del SNC, con bande oligoclonali e sintesi intratecale di IgG, ma gli esami specifici di laboratorio permettono in genere di confermare la diagnosi.

L'utilizzo delle tecniche di imaging ha assunto nel tempo un ruolo di primo piano nella diagnosi e nella valutazione della progressione della SM.

La Tomografia Computerizzata (TC), che è stata diffusamente utilizzata negli anni 70' (le placche corrispondono a ipodensità parenchimali), in seguito è stata sostituita dalla Risonanza Magnetica (RM).

La tecnica RM ha la capacità di rilevare la disseminazione spaziale delle lesioni SM clinicamente asintomatiche.

Nelle sequenze in densità protonica/T2 si evidenziano tipiche aree iperintense nella sostanza bianca (WM) degli emisferi cerebrali. In particolare sono significative le lesioni >6mm in aree periventricolari, nella fossa cranica posteriore e nella corona radiata sopra il corpo calloso. In T1 è possibile riscontrare aree ipointense che rappresentano le placche croniche, i "buchi neri" (Black Holes) nella WM, che correlano parzialmente con la disabilità e con la progressione clinica della malattia.

L'utilizzo del Gadolinio come mezzo di contrasto permette di evidenziare le lesioni attive in sequenza T1, espressione di un'augmentata permeabilità della BEE. L'RM con Mdc ha una sensibilità circa 10-15 volte maggiore rispetto alla sola osservazione clinica, sensibilità che aumenta con proporzionalità diretta rispetto alla dose del contrasto.

Inoltre, il carico lesionale all'esordio della malattia è in grado di predire la conversione in SM clinicamente definita e il grado di compromissione clinica dopo 10 anni di malattia. Ciononostante le immagini convenzionali, come le sequenze T2 pesate, non sono in grado di distinguere tra iperintensità dovute a infiammazione, edema, demielinizzazione, danno assonale o gliosi. L'avvento di nuove metodiche ha fornito nuovi mezzi per indagare questi eventi fisiopatologici (2).

1.2 IL FENOMENO DELLA DEMIELINIZZAZIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA

La Sclerosi Multipla è una patologia eterogenea, caratterizzata da demielinizzazione focale della sostanza bianca, alterazioni neurodegenerative diffuse (es. perdita neuronale) e infiltrazione di cellule infiammatorie. La SM è tra le cause principali di disabilità neurologica nei giovani adulti e in quanto tale rappresenta un fardello importante a carico del mondo occidentale.

Negli ultimi anni l'RM è diventata uno strumento di inestimabile valore per comprendere, monitorare la patologia e confermare la diagnosi clinica. Possono essere usate varie sequenze di impulsi ma le immagini cerebrali T2 pesate (con attenzione alla distribuzione temporale e spaziale delle lesioni) rimangono lo standard nella pratica clinica. L'RM può essere usata anche per misurare l'outcome negli studi clinici (8;9;10;11).

L'evoluzione patogenetica della SM è dinamica e le alterazioni tissutali sono spesso associate a remielinizzazione focale parziale e a riorganizzazione architetturale, soprattutto in fase precoce di malattia.

Dato il successo dei farmaci modificanti la malattia nel ridurre l'infiammazione nella SM, negli ultimi anni è aumentato l'interesse nello sviluppo di nuovi composti capaci di promuovere la remielinizzazione e così riparare il danno tissutale e possibilmente ripristinare la funzione. Diversi farmaci si sono dimostrati capaci di avere effetto sulla remielinizzazione delle lesioni SM negli studi clinici, anche se manca ancora la loro applicazione nella pratica clinica. Lo sviluppo di farmaci remielinizzanti è attualmente ostacolato dalla mancanza di misurazioni capaci di quantificare attraverso un approccio riproducibile la remielinizzazione nella SM.

Sebbene l'RM sia usata per rilevare l'iperintensità della sostanza bianca in immagini T2 pesate e per monitorare l'evoluzione delle lesioni SM con elevata sensibilità, questa non è specifica per i processi istologici, ossia non è in grado di distinguere il danno tissutale in corso (demyelinizzazione e danno assonale) dai meccanismi di riparazione del tessuto, che includono la remielinizzazione. Sono state proposte delle tecniche RM quantitative, la Magnetization Transfer Ratio (MTR) e la Diffusion Weighted Imaging (DWI), come possibili approcci per misurare la remielinizzazione in vivo. Tuttavia queste tecniche non sono completamente selettive per la remielinizzazione ma sono influenzate anche dalla perdita assonale e dall'edema.

Le tecniche di imaging molecolare basate sulla Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) si sono dimostrate capaci di confermare la diagnosi clinica nel campo delle malattie neurodegenerative. L'uso potenziale della PET con tracciante per studiare la dinamica della mielina nella SM ha negli ultimi anni attirato l'attenzione nel mondo scientifico (8).

1.3 L'USO DELLA PET NELLA SCLEROSI MULTIPLA

La PET è una tecnica per quantificare in vivo processi biochimici e fisiologici (12).

La PET cerebrale con diversi traccianti è usata principalmente nel campo delle patologie neurodegenerative e dei tumori cerebrali (13;14;15).

Negli ultimi anni l'utilità potenziale della PET ha richiamato l'attenzione nel campo della SM principalmente con il fine di ricercare e sviluppare nuovi farmaci.

La SM è una patologia complessa, nella quale ci sono diversi processi che possono essere selezionati come target della PET. L'uso della PET con traccianti differenti è stata valutata nel contesto della ricerca per indagare sulla fisiopatologia della malattia (fenotipi, progressione) o per valutare la sua applicazione come endpoint nei trial clinici (16).

Sebbene ad oggi la PET sia il principale strumento di ricerca nella SM, è in discussione la sua indicazione nella diagnosi differenziale, in caso di sospetto di placche demielinizzate tumefattive.

Recentemente l'Amyloid-PET è stata suggerita come potenziale marker di danno della sostanza bianca nella SM. Tutti i traccianti Amyloid-PET legano la sostanza bianca indipendentemente da presenza o assenza di depositi β -Amiloide nella sostanza grigia adiacente, questo perché l'alto contenuto lipidico della mielina e la natura lipofila dei traccianti contribuisce alla loro captazione. Tuttavia il meccanismo di legame è ancora poco compreso. L'ipotesi che questi traccianti potessero legare la mielina è stata indagata ex vivo per mezzo del [11C]PiB e dell'autoradiografia.

Più recentemente l'Amyloid-PET con traccianti fluorurati è stata utilizzata per evidenziare la demielinizzazione in vivo in gruppi di pazienti con SM. È stato dimostrato che il [11C]PiB lega fortemente la NAWM (Normal Appearing White Matter) rispetto alle lesioni e al tessuto perilesionale, in linea con la perdita relativa di mielina di queste regioni. Ad oggi è stata dimostrata l'abilità di [11C]PiB di rilevare demielinizzazione e remielinizzazione delle singole lesioni. Tuttavia questo tracciante ha corta emivita e non è disponibile in commercio.

Dati i risultati dei trial clinici, la disponibilità dei traccianti amiloidi fluorurati per la PET, già usati nei trial terapeutici dell'Alzheimer, e la loro lunga emivita, si ritiene che l'Amyloid-PET sia una plausibile opzione nell'ambito degli studi sulla riparazione tissutale neuronale. Tuttavia nessuno degli studi pubblicati è stato fatto con l'obiettivo di ottimizzare un protocollo sull'applicazione dell'Amyloid-PET per la valutazione delle dinamiche della mielina. Per definire demielinizzazione e remielinizzazione sono stati utilizzati solo metodi utente dipendenti (ad es. regioni d'interesse disegnate manualmente) e cut-off arbitrari sulla captazione del tracciante. Ad oggi, non è stata provata la capacità della Amyloid-PET nell'esplorare le dinamiche della mielina nella NAWM e nel midollo spinale (8).

1.4 UTILITÀ E LIMITI DELLA RISONANZA MAGNETICA

L'RM svolge un ruolo ben definito nella diagnosi e nel follow up dei pazienti con SM e, inoltre, è la chiave per monitorare la sicurezza del trattamento, in quanto è sensibile ai segnali precoci della Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva (PML), un'infezione virale opportunistica che può affliggere i pazienti con SM trattati con il Natalizumab (10;17).

Queste attività sono realizzate nella routine clinica con l'uso dell'RM convenzionale e includono immagini T1 e T2 pesate e immagini post-Gadolinio T1 pesate. Queste sequenze sono in grado di identificare le lesioni SM relative all'attività infiammatoria e sono in grado anche di monitorare l'atrofia cerebrale che persiste per tutto il corso della patologia.

In particolare l'attività patologica può essere definita radiologicamente da lesioni nuove o allargate nelle immagini T2 pesate o da lesioni che prendono contrasto con Gadolinio in immagini T1 pesate (18).

Dato che l'attività patologica è più frequentemente rilevata dall'RM che dall'esame clinico, il monitoraggio con questa tecnica può affiancare l'esame neurologico per una migliore valutazione della risposta ai trattamenti. L'obiettivo, ad oggi, è che il paziente raggiunga lo status NEDA "No Evidence of Disease Activity". Negli studi clinici possono essere individuati degli endpoints RM in correlazione ad endpoints clinici, in modo da ridurre la durata dello studio e il numero dei pazienti coinvolti (19).

Inoltre, il rilievo radiologico dell'attività infiammatoria può essere importante per la selezione di pazienti con forme progressive di SM (PPMS, SPMS) coinvolti negli studi clinici in cui sono testati farmaci con attività antinfiammatoria. Infatti, l'effetto dei farmaci con attività antinfiammatoria nella progressione della disabilità è ridotto in pazienti con

PPMS, che non presentano segni di attività infiammatoria rilevati all'RM, rispetto ai pazienti SM che presentano aspetti all'RM suggestivi di attività infiammatoria in corso (20).

È importante sottolineare che la forte correlazione tra l'effetto dei farmaci immunomodulatori/immunosoppressori valutato con l'RM e gli effetti nelle manifestazioni cliniche e nelle recidive, non si osserva con farmaci che presentano un meccanismo d'azione che non implica effetti antinfiammatori (21).

Una limitazione dell'RM convenzionale è rappresentata dalla ridotta specificità istopatologica che le impedisce di distinguere i diversi aspetti caratterizzanti le lesioni SM, come demielinizzazione, danno neuro-assonale, remielinizzazione e aspetti di infiammazione indipendenti dalla captazione di Gadolinio come la "Smoldering Inflammation" (22).

Infatti, sebbene il grado di ipointensità nelle immagini T1 pesate sia stato correlato con il numero degli assoni residui, il segnale iperintenso nelle immagini T2 pesate può riflettere i diversi stati istopatologici delle placche SM (ad es. completamente demielinizzate, parzialmente remielinizzate "placche ombra" e lesioni remielinizzate) (23).

Di conseguenza, questo dovrebbe essere considerato quando si progettano gli studi clinici per testare farmaci con nuovi meccanismi d'azione, per esempio molecole volte a promuovere la remielinizzazione. In questo scenario, parametri RM utili per svolgere un'analisi quantitativa dovrebbero essere ottenuti da tecniche RM avanzate.

Questi approcci, nel contesto di studi clinici multicentrici, possono essere difficili da mettere in atto. Per ottenere risultati realistici è necessario omogeneizzare i protocolli tra i vari centri che presentano diverse possibilità tecniche, e svolgere una valutazione longitudinale della qualità.

Per quantificare il contenuto della mielina sono stati proposti alcuni metodi basati sulla risonanza.

La Myelin Water Imaging (MWI) è una metodica che fornisce la misurazione in vivo della mielina. Le placche di SM mostrano una frazione d'acqua della mielina ridotta in maniera variabile, con le lesioni più vecchie che mostrano una maggiore perdita di mielina (24). Questa nuova tecnica è stata realizzata a metà anni Novanta, a quel tempo per acquisire una singola fetta di encefalo erano necessari 25 minuti di tempo (25), con le nuove tecniche ad oggi bastano 4 minuti per ottenere tutto l'encefalo (26).

Un'altra tecnica sensibile al contenuto di mielina è la Magnetization Transfer Ratio Imaging (27), sebbene possa essere influenzata da altri processi fisiopatologici come l'edema. Tale tecnica misura lo scambio di magnetizzazione tra protoni leganti le macromolecole e protoni

liberi. I fattori che modificano l'equilibrio tra i due pool di protoni, influenzano il rapporto "magnetization transfer ratio" (MTR) tra l'intensità di segnale di immagini ottenute con o senza un impulso di radiofrequenze. L'edema e l'infiammazione, che determinano un aumento del pool di protoni liberi, causano una riduzione solo del 3-5% dell'MTR, invece la demielinizzazione e il danno assonale lo riducono in maniera più marcata. Inoltre, l'MTR risulta in grado di evidenziare un'alterazione del segnale anche nella sostanza bianca apparentemente normale (NAWM) (2).

In aggiunta, le tecniche d'immagine a diffusione, in particolare acquisite con schemi adeguati per un'analisi attraverso dei modelli multi-compartimentali, come la "Neurite Orientation Dispersion and Density Imaging" (NODDI), possono fornire dati riguardanti caratteristiche microstrutturali del tessuto cerebrale con specificità istopatologica migliore dell'RM convenzionale (28).

1.5 TRACCIANTI PET PER LO STUDIO SULLA CINETICA DELLA MIELINA

Nella Sclerosi Multipla vi è un meccanismo di riparazione incompleto (29), la remielinizzazione, che può essere presente in tutti fenotipi sia nelle lesioni focali o diffuse della sostanza bianca che nella NAWM (30).

Nella SM recidivante remittente (RRMS) le nuove lesioni spesso presentano anche remielinizzazione e queste tendono a non progredite nelle Black Holes. La remielinizzazione è presente anche nelle forme progressive, soprattutto nella forma primariamente progressiva (PPSM), persino nei soggetti senza evidente attività patologica all'RM (31).

Come è stato dimostrato dagli studi clinici, alcuni farmaci agiscono sulla remielinizzazione delle lesioni da SM, ma questi non sono ancora utilizzati nella pratica clinica (32).

Lo sviluppo di farmaci remielinizzanti è attualmente ostacolato dalla mancanza di misurazioni capaci di quantificare attraverso un approccio riproducibile la remielinizzazione nella SM (33).

Ad oggi non ci sono tecniche di imaging per valutare specificatamente demielinizzazione e remielinizzazione. Il primo tracciante utilizzato nella PET per lo studio della mielina è il [11C]1,4-bis(p-aminostryl)-2-methoxybenzene (BMB) ed è stato studiato sui babbuini nel 2006. Questo presenta alta affinità per la sostanza bianca, tuttavia, poiché si ottiene un'immagine a basso contrasto tra WM e GM, e sono necessari dei tempi di acquisizione

più lunghi con un tracciante a corta emivita, non ci sono stati ulteriori sviluppi nel campo della ricerca per questo tracciante (34).

Il [11C] Case Imaging Compound (CIC) è un composto simile per struttura al BMB, testato per la valutazione della cinetica della mielina in uno studio preclinico, tuttavia la sua efficacia nell'evidenziare la demielinizzazione non è stata confermata ex vivo (35).

Altro tracciante sperimentale è il [11C] N-methyl-4,4-diaminostilbene (MeDAS), che presenta alta sensibilità e specificità per la mielina ed evidenzia la WM nell'encefalo e nel midollo spinale. Inoltre si è scoperto che la captazione del tracciante diminuisce in caso di demielinizzazione infiammatoria da encefalite autoimmune e aumenta con la remielinizzazione spontanea seguente, in accordo con istopatologia e sintomi clinici (35;36). Recentemente l'Amyloid-PET è stata valutata come possibile marker di danno della sostanza bianca nella SM (37,38).

Tutti i traccianti Amyloid-PET legano la sostanza bianca perché l'alto contenuto lipidico della mielina e la natura lipofilica dei traccianti contribuisce alla loro captazione (39). Tuttavia il meccanismo di legame è ancora poco compreso. Dato che alcuni derivati del Rosso Congo usati per sviluppare traccianti Amyloid-PET hanno mostrato un'affinità con la mielina, questo ha suggerito che il foglietto beta presente sia nell'amiloide che nella Myelin Binding Protein, che è il principale componente della mielina, potrebbe essere il bersaglio di questi traccianti (35). L'Amyloid-PET è stata utilizzata per evidenziare la demielinizzazione sia nei babuini che in un gruppo di pazienti con SM.

Diversi Stilbeni e derivati di Benzotiazolo sono stati proposti per la PET (40).

Tutti questi studi dimostrano che l'Amyloid-PET rileva ridotta attività nelle Black Holes in immagini T1 pesate all'RM e nelle lesioni della sostanza bianca in immagini T2 pesate; questo suggerisce che la captazione del tracciante amiloide decresce con l'aumentare della demielinizzazione (41).

Il tracciante più utilizzato fino ad ora è il Thioflavine-T, derivato da [11C]2-(4-methylaminophenyl)-6-idroxibenzotiazole (PiB, Pittsburgh compound B) (40).

Nel 2011 la fissazione del PiB alla mielina è stata studiata per mezzo della fluorescenza nell'encefalo di topo e nei pazienti SM post mortem, ed è stato dimostrato che demielinizzazione e remielinizzazione sono chiaramente distinguibili perché marcate con diversa intensità dal PiB (41).

In parallelo Bodini et al. hanno valutato la capacità del PiB di esplorare le dinamiche della mielina in 20 pazienti RRMS e in 8 controlli sani: è stata dimostrata una riduzione progressiva del legame PiB dalla NAWM alle lesioni SM, che riflette la diminuzione del

contenuto di mielina. Essi hanno calcolato anche tre indici dinamici per ciascun paziente: Global Index of Myelin Content Change, Index of Demyelination, Index of Remyelination. Inoltre, è stato dimostrato che la remielinizzazione è inversamente proporzionale agli score di disabilità clinica.

Un altro studio in un gruppo di 24 pazienti con SM, identificati attraverso il Mayo Clinic Study of Aging sulla popolazione, ha dimostrato la relazione tra la funzione cognitiva nella SM tardiva ed il legame del tracciante PiB con corticale e sostanza bianca (42). In questo studio non è stata trovata differenza nello “Standardized Uptake Value Ratio” (SUV) di PiB nella corticale tra pazienti SM e controlli sani. Al contrario, la captazione di tracciante PiB è risultata più bassa nelle aree iperintense all’RM della WM, in confronto con la NAWM nei pazienti con SM, e la ridotta captazione di PiB in entrambe le aree iperintense in WM e in NAWM è stata messa in relazione con la riduzione della performance visuo-spaziale.

La captazione di PiB è stata confrontata con la distribuzione di MeDAS nel modello murino di SM (35). Mentre gli altri traccianti mostrano una captazione e un volume di distribuzione in accordo con lo stato della mielina locale, il PiB mostra un buon uptake da parte della sostanza bianca nel cervello ma un basso uptake nel cervelletto nonostante l’alta densità di mielina di questa regione. Invece la distribuzione del MeDAS è correlata con la densità della mielina in tutte le regioni dell’encefalo, pertanto fornisce informazioni quantitative su demielinizzazione e remielinizzazione in tutto il SNC (35). Inoltre il PiB presenta corta emivita e non è ancora in commercio.

Data la disponibilità dei traccianti amiloidi fluorurati per la PET, con la loro lunga emivita (109 minuti), già usati nei trial terapeutici dell’Alzheimer, si ritiene che l’Amyloid-PET sia una plausibile opzione nell’ambito degli studi sulla riparazione tissutale neuronale.

Ad oggi gli studi sull’Amyloid PET nei pazienti con SM sono stati effettuati con il [18F]Florbetapir e il [18F]Florbetaben (43;44).

Nello studio di Matias-Guiu 12 pazienti con diagnosi di SM e 3 controlli sani sono stati sottoposti ad RM e a [18F]Florbetaben-PET. La captazione del [18F]Florbetaben è stata misurata nelle placche demielinizzate (appare come lesione iperintensa in sequenza FLAIR), nella NAWM e nella sostanza grigia. Si è dimostrato che in media il SUV relativo al cervelletto era più alto nella NAWM che nella WM danneggiata ed era correlato con il grado di disabilità. Inoltre, questo studio includeva un gruppo eterogeneo di pazienti SM, 5 con forma recidivante-remittente (RRMS), 5 con forma secondariamente progressiva (SPMS) e 2 con forma primariamente progressiva (PPMS), e mostrava una riduzione di captazione più pronunciata nella sostanza bianca danneggiata riguardo alle forme RRMS (43).

È stato condotto, inoltre, uno studio che coinvolgeva la PET e il [18F]Florbetapir, al fine di indagare sulla captazione amiloide della lesione e della NAWM dei pazienti con SM e specificatamente valutare la correlazione tra i livelli di CSF Beta-Amyloid1-42, la captazione di tracciante e il volume cerebrale. È stato dimostrato nuovamente un SUV più basso nella sostanza bianca danneggiata rispetto alla NAWM in tutti i pazienti ed è stata osservata una diminuzione del SUV della NAWM in pazienti considerati in fase attiva di malattia (44). I risultati hanno evidenziato un ulteriore nesso tra il ruolo della Beta-Amiloide, il danno precoce alla mielina, l'attività patologica e la progressione clinica.

Ad oggi, sono stati proposti diversi traccianti PET per valutare la demielinizzazione, i quali consistono di molecole idrofobiche che sono in grado di legare le proteine della mielina.

Di conseguenza questi composti mostrano un aumento del segnale nella sostanza bianca normale, mentre le aree di captazione ridotta o assente corrispondono ai siti di demielinizzazione.

Recentemente è stato proposto un approccio diverso, ossia l'idea di un tracciante che legni in maniera specifica le proteine degli assoni demielinizzati in modo di avere un segnale positivo nei siti demielinizzati (45). In presenza di demielinizzazione i canali K^+ assonali sono più esposti e numerosi (46). È stato sviluppato un farmaco, la 4-Aminopyridina (4AP) approvato per la SM, in grado di legare e bloccare i canali, riducendo così l'efflusso aberrante di ioni K^+ , e di ripristinare la conduzione degli assoni demielinizzati (47).

Un derivato radiomarcato della 4-Aminopyridina è stato sviluppato come potenziale tracciante PET per valutare come si modifica la mielinizzazione. È stato dimostrato, usando l'autoradiografia, che questo tracciante sia più captato in regioni demielinizzate del SNC rispetto a quelle ben mielinizzate.

Inoltre, è stato dimostrato che un derivato fluorurato del 4AP sia in grado di rilevare la demielinizzazione nei roditori e nei primati non umani e che questo rappresenti un valido tracciante PET per rilevare in maniera non invasiva la demielinizzazione nel SNC (45).

1.6 TRACCIANTI PET PER LA NEUROINFIAMMAZIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA

La neuroinfiammazione è un processo complesso e dinamico che interessa diversi tipi di cellule e vie metaboliche (48). Fino ad oggi sono stati identificati diversi target e i corrispondenti traccianti per la Sclerosi Multipla.

1.6.1 TRACCIANTI CHE LEGANO IL TSPO

Diversi studi riportano l'attivazione della microglia in diversi stadi e nei diversi siti della Sclerosi Multipla. L'attivazione della microglia e dei macrofagi è stata studiata valutando il metabolismo glucidico (49;50). Studiando pazienti SM di stadi differenti si è dimostrato che il [18F]-Fluorodesossiglucosio (FDG) è in grado di distinguere, in base al consumo di glucosio, le lesioni della WM in acute (ipermetaboliche) e croniche (ipometaboliche).

Il FDG inoltre è stato recentemente proposto per studiare l'infiammazione nel midollo spinale sia negli animali che negli umani (51;52;53). Tuttavia, la maggiore limitazione rimane l'elevato uptake basale di glucosio da parte di tutto il cervello che ostacola l'utilizzo del FDG come marker per studiare le lesioni SM.

Dunque è stato proposto il TSPO (recettore benzodiazepinico periferico) come PET target per studiare gli eventi infiammatori nella SM. Questa proteina fa parte del "poro di transizione di permeabilità mitocondriale" ed è normalmente poco espressa nel cervello umano. La sovraespressione di TSPO è correlata all'attivazione proinfiammatoria della microglia M1-like che è associata alla neuroinfiammazione e al danno neuronale.

Le implicazioni in ambito fisiologico e patologico, dovute all'esistenza di due diversi stati di attivazione della microglia (M1 e M2), sono state oggetto d'indagine (54).

È stato dimostrato che alla TSPO-PET si ha una captazione eterogenea del tracciante (PK11195) nella lesione della WM (diverso uptake tra lesione e tessuto perilesionale) e, inoltre, che l'espressione di TSPO risulta essere correlata con la severità clinica e con la risposta alla terapia (55;56;28;57).

Il TSPO risulta essere il target non solo delle lesioni infiammatorie focali rilevate all'RM, ma anche del bordo delle lesioni croniche attive (diverso uptake tra core e periferia).

Attraverso l'utilizzo della TSPO-PET è stata dimostrata dal punto di vista immunoistochimico un'elevata attività da parte dell'immunità innata nelle lesioni con bordo iperintenso all'RM sia nei pazienti con SPMS (Secondary Progressive) che nelle forme

RRMS (Relapsing Remitting). È stato dimostrato che nelle lesioni SM l'aumentato segnale TSPO positivo è associato all'attivazione di microglia e macrofagi piuttosto che all'attivazione degli astrociti (58).

Questi studi dimostrano l'utilizzo potenziale della TSPO-PET nel campo della SM in relazione alla capacità del tracciante di evidenziare l'eterogeneità delle lesioni T2 pesate, l'infiammazione della sostanza grigia e le alterazioni infiammatorie croniche che non sono rilevate dalla RM convenzionale.

Il primo tracciante utilizzato per studiare in vivo l'espressione di TSPO è stato il [11C]N-butan-2-yl-1-(2-chlorophenyl)-N-methylisoquinoline-3-carboxamide (PK11195), un ligando non benzodiazepinico. Le limitazioni di questo tracciante sono la corta emivita, la bassa penetrazione della BEE e il fatto che il legame non sia specifico. Inoltre il TSPO risulta espresso in tutto il cervello, per cui non si ha una regione di riferimento per quantificare la captazione del tracciante (59). Sono stati fatti diversi studi, ma il modello matematico per quantificare il legame del PK11195 nel SNC non è stato ancora pienamente validato.

Per superare le varie limitazioni sono stati studiati altri traccianti di seconda e terza generazione in pazienti SM.

Il [11C]PBR28 si lega al TSPO grazie all'affinità del singolo nucleotide (rs6971) esone 4 del gene TSPO, tuttavia la presenza di polimorfismi di questo gene fa sì che il 30% della popolazione abbia una ridotta captazione del tracciante e questo complica l'interpretazione dei risultati degli studi pubblicati. Il fatto che, prima di poter usare la PET, sia necessario fare un test genetico per valutare il polimorfismo del TSPO, ne limita l'utilizzo nella pratica clinica (60).

Il tracciante di seconda generazione [18F]PRB111 risulta maggiormente captato dall'ippocampo nei controlli sani rispetto ai pazienti SM, inoltre mostra un'aumentata captazione nella NAWM che è inversamente correlata con l'MTR (magnetization transfer ratio). Questo suggerisce un legame potenziale tra l'attivazione della microglia e la demielinizzazione nelle regioni che appaiono normali nelle immagini T2 pesate (61).

Ad oggi il [11C]PRB28 rimane il tracciante con maggiore affinità per il TSPO ma una potenziale alternativa è il [18F]PBR06. È stato dimostrato che quest'ultimo lega il TSPO con specificità superiore al 90% negli animali e che la popolazione umana presenta minore variabilità di legame rispetto al PRB28. Inoltre il SUV ratio derivato da PRB06 risulta correlato con la severità clinica della SM.

1.6.2 TRACCIANTI CHE LEGANO IL RECETTORE CANNABINOIDE 2

I recettori cannabinoidi sono recettori associati a proteina G e si distinguono in due sottotipi: CB1 che è più espresso nel SNC e CB2 che risulta più espresso soprattutto nel sistema immunitario e in alcune parti del SNC (62). Poiché a seguito dell'attivazione della microglia si osserva una sovraespressione del recettore CB2 nel SNC, questo è stato proposto come possibile target per la neuroinfiammazione.

L'aumento dell'espressione di CB2 in condizione di neuroinfiammazione potrebbe essere dovuto alla risposta neuroprotettiva precoce contro il danno (63;64;65).

Attualmente il tracciante di riferimento è il 2-oxo-7-[11C]-methoxy-8-butyloxy-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid cyclohexylamide (NE40). Il NE40 è stato valutato nell'uomo in uno studio su volontari sani in cui è stato dimostrato che il tracciante è caratterizzato da rapidi uptake e wash out cerebrali e che può essere utile per l'imaging della neuroinfiammazione (66).

Il prossimo passaggio è la valutazione di questo tracciante in pazienti con patologie neuroinfiammatorie come la SM, per capire quanto il CB2 debba essere espresso per ottenere un'immagine PET.

1.6.3 IMAGING MOLECOLARE DELL'ASTROGLIA

Un aspetto caratteristico dell'istopatologia della SM è dato dalla proliferazione degli astrociti e dalla formazione di un denso network di cellule ipertrofiche. Gli astrociti pur non essendo cellule del SI, possono avere ruolo pro o anti-infiammatorio nei confronti della microglia (67;68).

Nel SNC l'attività metabolica lipidica degli astrociti si basa principalmente sul consumo di acetato attraverso il trasportatore monocarbossilato, che risulta aumentato soprattutto nel setting della SM (69). Sulla base di queste considerazioni la [11C]Acetate-PET è stata proposta per studiare l'attività dell'astroglia relativa alla SM in vivo.

Il SUV del [11C]acetate nei pazienti con SM risulta aumentato sia nella WM che nella GM rispetto ai controlli sani. Inoltre, è stata dimostrata la correlazione tra la captazione del tracciante e il numero delle lesioni all'RM (T1 e T2 pesate). L'elemento più significativo è la relazione tra il SUV della WM e il numero delle Black Holes nelle immagini T2 pesate. Questo suggerisce che il SUV sia correlato al danno assonale (70).

Infine, sono stati proposti l'enzima monoaminossidasi B e il recettore imidazolinico I2 come possibili target dell'attività astrocitaria nel campo dell'imaging molecolare.

1.6.4 TRACCIANTI DEL RECETTORE ADENOSINICO

L'adenosina è un modulatore coinvolto nella risposta della microglia, che lega un recettore associato a proteina G. I traccianti PET per il recettore adenosinico A1 sono: [11C]DPCPX, [11C]KF15372, [11C]MPDX.

Ad oggi sono stati pubblicati solo studi su radioligandi A2A-selettivi in pazienti SM. In particolare, con la [11C]TMSX-PET è stata dimostrata un'aumentata espressione del recettore A2AR nella NAWM nei pazienti con SPMS (SM secondariamente progressiva) (71).

Recentemente sono stati proposti come possibile target della microglia in vivo, i recettori purinergici P2X7R e P2Y12R che sono espressi nelle lesioni SM attive (72). Nel modello animale sulla neuroinfiammazione sono stati testati due radioligandi che hanno come target il recettore purinergico P2X7R: il [11C]GSK1482160 e il [18F]EFB (73;74).

Questi ultimi, a differenza del tracciante per il TSPO, sono in grado di distinguere il fenotipo pro-infiammatorio della microglia da quello anti-infiammatorio.

1.6.5 TRACCIANTI DEL RECETTORE DELLA SFINGOSINA-1-FOSFATO

La sfingosina-1-fosfato (S1P) è uno sfingolipide della membrana cellulare in grado di legare cinque diversi sottotipi di recettore associati a proteine G (S1PR1-5), che svolgono un ruolo nella fisiopatologia della SM.

Infatti è stata dimostrata un'aumentata espressione del S1PR1 nelle lesioni SM post mortem. Inoltre nell'encefalomielite autoimmune il legame S1P-S1PR1 determina il differenziamento delle cellule T (mediato da IL17), che risulta il meccanismo chiave nel determinare la severità della malattia.

Il Fingolimod ha un effetto S1PR1-dipendente ed è il primo farmaco modificante la malattia approvato per la forma RRMS. Infatti, nella sperimentazione murina sull'encefalomielite autoimmune questo farmaco ha dimostrato di ridurre l'infiltrazione di cellule T dipendente dall'IL17 nel midollo spinale (75).

Dato il coinvolgimento del segnale S1P-S1PR nella risposta infiammatoria evidenziata nella SM, sono stati studiati diversi traccianti che hanno come target il recettore di SP1, quali il BZM055, il W146, il FTY720 (76;77;78). Tuttavia, questi ligandi sono poco fosforilati o mostrano una veloce defluorizzazione in vivo, e ostacolano l'S1PR imaging.

Più recentemente è stato ottimizzato il [11C]TZ3321 che è caratterizzato da una fosforilazione più stabile e lega con maggiore specificità il S1PR1 senza legare S1PR2 e S1PR3 (79). Questo tracciante si è dimostrato capace di rilevare un' aumentata espressione del recettore S1PR1 nel midollo spinale del topo in un modello sperimentale di encefalomielite autoimmune dalla SM. ¹

L'aumento dell'uptake del tracciante risulta proporzionale alle cellule gliali e all'infiltrazione di cellule T dipendente da IL17 (80).

Date le limitazioni dei traccianti marcati ¹¹C sono stati studiati anche dei traccianti contenenti ¹⁸F per S1PR1.

Recentemente è stato proposto il ((1-(4-(5-(4-(2-Fluoroethoxy)-3-(trifluoromethyl)phenyl)-1,2,4-oxadiol)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)met-hanol), che attraverso l'uso dell'autoradiografia ex vivo nei roditori, ha mostrato buona penetrazione della BEE, ritenzione a livello cerebrale e no defluorizzazione (81).

Sono stati identificati altri possibili traccianti fluorati che attraversano la BEE e mostrano elevato uptake cerebrale. Tuttavia è necessario identificare il radioligando PET più idoneo a quantificare l'espressione in vivo di S1PR1 come parametro della risposta infiammatoria prima di utilizzarlo nell'indagine clinica.

Altri target, come l'ossido nitrico sintasi e il recettore β -folato, sono stati proposti nel campo della neuroinfiammazione (82;83).

Recentemente è stato dimostrato il potenziale di un nuovo tracciante che ha come target l'antiporto cisteina-glutammato, coinvolto nella risposta proinfiammatoria della Sclerosi Multipla. Questo tracciante, il (4S)-4-(3[18F]fluoropropyl)-l-glutamate (FSPG), è risultato più sensibile rispetto al FDG nel rilevare le alterazioni patologiche nel midollo spinale e nel cervello dei topi affetti da encefalomielite autoimmune sperimentale. Tuttavia questi studi sono rimasti allo stadio preliminare.

¹ L'encefalite autoimmune sperimentale è un modello animale di SM in cui la demielinizzazione e l'infiammazione si verificano in seguito all'immunizzazione degli animali con proteine mieliniche. Molti dei concetti sulla patogenesi della SM derivano da studi compiuti su questo modello (1).

1.7 L'USO DELLA PET NELLA DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLE PLACCHE TUMEFATTIVE DA SCLEROSI MULTIPLA

La Sclerosi Multipla Tumefattiva (TMS) è caratterizzata da lesioni che mimano clinicamente e radiologicamente un tumore cerebrale, definite anche pseudotumori demielinizzanti o lesioni demielinizzanti simil-tumorali. In pazienti che non hanno precedente diagnosi di SM può essere difficile distinguere queste lesioni da neoplasie o da altre lesioni del SNC.

I risultati clinici così come i dati radiologici e di laboratorio possono essere inconclusivi, spesso serve comunque la biopsia per la diagnosi definitiva (84).

Sebbene non ci siano segni radiologici patognomonici per identificare le lesioni TMS, ci sono delle caratteristiche che possono aiutare nella diagnosi differenziale con neoplasie o ascessi.

Le Lesioni Tumefattive Demielinizzanti (TDLs) di solito si presentano come lesioni ben circoscritte sovratentoriali, localizzate principalmente nei lobi frontale e parietale, anche se possono interessare corpo calloso, gangli della base fino al midollo spinale e nel SNC si presentano con edema, effetto massa e presa di contrasto ad anello (85;86).

La grande maggioranza delle TMS prende contrasto con Gadolinio, ma possono avere diversi pattern: omogeneo, eterogeneo, nodulare, puntato, ad anello (87).

L'effetto di massa e l'edema perilesionale aumentano se la lesione è ampia e recente, ma sembrerebbero meno evidenti in confronto alle lesioni maligne.

In particolare, un anello aperto, che abbraccia la GM della corteccia o dei nuclei della base, suggerisce un'eziologia demielinizzante, così come un bordo ipointenso in T2, la restrizione periferica in immagini pesate in diffusione e l'enhancement venoso.

Le TMS hanno coefficiente di diffusione maggiore alla risonanza magnetica di diffusione rispetto a quello degli ascessi, che presentano un coefficiente ridotto. Tuttavia, questo aspetto non aiuta nella diagnosi differenziale con le neoplasie (88).

La risonanza magnetica di perfusione può non essere conclusiva perché si riscontra variabilità nel volume di sangue cerebrale che caratterizza i vari tipi di tumori.

Ad esempio il Linfoma Primitivo del SNC (PCNSL) presenta un volume di sangue ridotto e può mimare la TMS. Questo è preceduto spesso da lesioni demielinizzanti pseudotumorali che retrocedono spontaneamente o dopo somministrazione di corticosteroidi e per questo motivo è opportuno considerare il PCNSL nei pazienti che presentano lesioni occupanti spazio anche con precedente conferma di demielinizzazione (84; 89).

Si è valutato anche l'utilizzo potenziale di traccianti PET per la diagnosi differenziale tra TMS e lesioni neoplastiche. La PET con [18F]FDG e con traccianti amminoacidici marcati (AA-PET) come [18F]-fluoroetil-L-tirosina (18F-FET) e [11C]-metionina (11C-MET), potrebbe essere utile nella diagnosi differenziale tra TDLs e le altre lesioni occupanti spazio (SOLs).

Il tracciante più utilizzato in campo oncologico è il FDG, ma questo non vale in ambito neurologico, in quanto tutto il cervello (soprattutto la GM) capta tanto tracciante (15) e il tracciante accumulato nei macrofagi rende difficile la distinzione tra un glioma e i processi infiammatori. Inoltre l'aumentata captazione di FDG da parte delle lesioni TMS (con ipometabolismo centrale) conferma che la FDG-PET non può supportare la diagnosi differenziale (90).

Questi risultati da una parte sottolineano la mancanza di specificità della FDG-PET per la diagnosi differenziale dei TMS, dall'altra sono coerenti con il fatto che il ridotto uptake di FDG corrisponda a una riduzione del numero delle sinapsi o una riduzione nell'attività metabolica sinaptica (91). Le lesioni della WM e il danno dei tratti cortico-talamici sono stati correlati al "Disconnection Model" che è probabilmente alla base dell'indebolimento cognitivo nel paziente con SM (92).

Altra esperienza rilevante nella diagnosi differenziale delle lesioni TMS è l'Amino-acid Imaging, in quanto si riscontra una maggiore captazione di amminoacidi da parte delle cellule tumorali in un contesto di basso uptake dal resto del SNC.

L'uso di traccianti amminoacidici radiomarcanti si è diffuso nella neuro-oncologia e la AA-PET è stata proposta in molti case report (15).

In letteratura, nella maggior parte dei casi, è stata utilizzata la [11C]Methionine (MET-PET). In questi studi preliminari, la MET-PET si è rivelata in grado di diagnosticare la TMS in maniera non invasiva, dimostrando l'assenza o la moderata captazione del tracciante da parte delle lesioni che all'RM mimano il Glioblastoma Multiforme (93;94).

Nella diagnosi differenziale tra gliomi e TMS è stata proposta anche la Spettroscopia Protonica di Risonanza Magnetica (MRS) in uno dei più grandi case series.

In questo studio 4 pazienti con lesioni tumefattive (TDLs) e 11 pazienti con gliomi di alto o basso grado sono stati sottoposti a MRS e MET-PET.

La spettroscopia protonica consente di rilevare i livelli di metaboliti presenti nel SNC e, dato che l'alterazione metabolica precede quella strutturale, questa tecnica rappresenta uno strumento diagnostico in grado di individuare precocemente patologie come SM, demenze e neoplasie. La spettroscopia in questi casi ha rilevato un picco ridotto di N-AA e un picco

aumentato di colina. Una riduzione della NAA (presente esclusivamente nei neuroni) è indicativa di danno assonale, mentre un aumento della colina (marker del turnover dei fosfolipidi di membrana) suggerisce un danno alla guaina mielinica (2).

Ikeguchi e colleghi hanno valutato la correlazione tra il target-to-normal-tissue ratio (TNR) alla MET-PET e il metabolite-ratio alla MRS. Questi autori hanno evidenziato una relazione tra il rapporto medio Colina/N-acetilaspargato, che è alto nei gliomi rispetto alle lesioni tumefattive (TDLs), e il valore TNR alla MET-PET, questo supporta la validità di entrambe le metodiche in questo studio clinico (95).

Precedenti studi su patologie demielinizzanti hanno suggerito un' aumentata captazione della colina causata da reattività dell'astroglia, da ischemia locale e da disfunzione mitocondriale neuronale.

L'uso della PET con colina radiomarcata con ^{11}C e ^{18}F è stata proposta nella diagnosi differenziale delle lesioni cerebrali e sono stati pubblicati casi con TMS che si presentano come lesioni pseudotumorali, con anello di enhancement incompleto, restrizione della diffusione periferica, aumento di colina e picchi di lattato alla MRS.

Poiché si riscontra un incremento del turn-over della colina nelle patologie demielinizzanti, dovrebbe essere visibile alla PET un aumentato uptake della colina. Tuttavia in pazienti con provata TMS l'uptake del tracciante $[^{18}\text{F}]$ colina è risultato debole e gli autori hanno ipotizzato la presenza di una placca con un tasso relativamente diminuito di demielinizzazione (96).

In un altro studio, mediante MET e PK11195 è stata identificata una lesione neoplastica, definita come Glioma di secondo grado, su un paziente con storia clinica di SM che presentava altre nuove lesioni demielinizzanti più piccole (iperintense in T2) nella corticale fronto-basale e nel midollo spinale. Le lesioni neoplastiche sospette risultavano ipointense in T1 e iperintense in T2 senza gadolinio, più larghe rispetto alle altre e localizzate nel lobo frontale destro. Queste erano caratterizzate da un significativo uptake di MET, con un SUV ratio di 2.4 in confronto al tessuto normale controlaterale, mentre le altre lesioni SM erano negative alla PET.

Al contrario, la lesione più grande, valutata con il tracciante il PK11195, risultava poco captante e questo ha confermato la natura diversa rispetto ad una lesione infiammatoria-demielinizzante (90).

Infine, nel caso di un paziente con una lesione cerebrale frontale che prendeva contrasto, inizialmente definita come TMS, l'uso di un altro tracciante alla AA-PET, il $[^{18}\text{F}]$ fluoroethyl-L-tyrosine (FET), ha dimostrato la natura neoplastica della lesione (uptake

elevato paragonabile al glioma) confermata in seguito a biopsia come Oligoastrocitoma Anaplastico (97).

Infine un moderato uptake di tracciante alla AA-PET è stato riportato in caso di lesioni non tumorali del SNC (come ascesso, ematoma, necrosi) probabilmente dovuto ad alterazione della permeabilità della BEE o al metabolismo delle cellule infiammatorie (98;94).

Sono necessari ulteriori studi che coinvolgano tanti pazienti, per identificare i cut-off del SUV ratio al fine di distinguere le lesioni TMS dai tumori attraverso la PET e senza ricorrere alla biopsia.

2 METODOLOGIE

2.1 PET CON TRACCIANTI AMMINOACIDICI

La tomografia a emissione di positroni (PET) è una tecnica di medicina nucleare che rileva i fotoni γ emessi dall'annichilazione dei positroni prodotti dal decadimento dei radioisotopi somministrati.

Quando un radiofarmaco decade, questo emette un positrone (stessa massa dell'elettrone ma carica opposta) che si sposta nel mezzo (corpo del paziente) in relazione all'energia di emissione, alla densità del mezzo e al suo numero atomico. In seguito annichilisce con uno degli elettroni del mezzo, convertendo la massa in energia e determinando la formazione di due fotoni gamma di energia pari a 511keV con direzione di emissione opposta (180°) che sono rilevati dal tomografo.

La PET è in grado di dedurre la densità di positroni annichiliti in un certo punto del corpo e ricostruisce un'immagine che mostra dove e quanto si è concentrato il radiofarmaco.

La "finestra temporale" è l'intervallo di tempo entro cui i due fotoni devono colpire il rivelatore e il percorso dei due fotoni è definito "linea di risposta" (LOR).

Alla PET ormai sono sempre abbinati TC o RM, in modo da ottenere immagini ibride che permettono la valutazione del paziente in senso sia funzionale che morfologico e migliorano la qualità dell'immagine.

Nella neuro-oncologia si è diffuso l'uso di traccianti amminoacidici radiomarcanti, in particolare è stata dimostrata una maggiore captazione di amminoacidi da parte delle cellule tumorali in un contesto di basso uptake dal resto del SNC.

Il tracciante [18F]DOPA è un amminoacido marcato con l'isotopo radioattivo ^{18}F che risulta ampiamente utilizzato per lo studio della malattia di Parkinson e delle neoplasie del SNC.

2.1.1 PREPARAZIONE DEL PAZIENTE

Durante l'esame il paziente deve essere in grado di rimanere sdraiato per 30-40 minuti e, se necessario, dovrebbe essere sedato 20-60 minuti prima.

Il paziente deve essere ben idratato e a digiuno per un minimo di 4 ore in modo da garantire delle condizioni metaboliche stabili. Prima dell'esame il paziente dovrebbe svuotare la vescica sia per una questione di comfort che per ridurre l'assorbimento da parte della vescica stessa. Nella paziente gravida devo sempre commisurare rischi e benefici.

Non è necessaria la premedicazione con Carbidopa per migliorare la qualità dell'immagine. Infatti, in molti studi pubblicati sull'uso della [18F]DOPA in pazienti con tumori cerebrali, non sono stati usati né Carbidopa né altri inibitori del metabolismo periferico del fluoro-dopa.

L'RM dovrebbe essere disponibile per la fusione delle immagini. Inoltre, l'altezza e il peso del paziente devono essere documentati per misurare il SUV.

Il radiofarmaco utilizzato /di riferimento è il 3,4-Dihydroxy[18F]fluoro-L-phenylalanina o 18F-fluorodopa. Questo viene iniettato in bolo, alla dose di 185-200MBq per l'imaging cerebrale dell'adulto, mentre nel bambino viene calcolata una frazione di dose in base al peso (99;100).

2.1.2 PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE DELL'IMMAGINE PET

Si deve posizionare il paziente con la testa su un apposito supporto e le braccia lungo il corpo, in modo che l'intero encefalo compreso il cervelletto sia nel campo visivo della macchina. Il paziente deve evitare di posizionare il collo in estrema flessione o estensione e di muovere la testa in tutte le fasi dell'esame. Durante l'esame il soggetto viene controllato da un monitor, questo è importante soprattutto per i pazienti che soffrono di epilessia (secondaria al tumore).

L'acquisizione dell'immagine prevede: TC per set-up campo (acquisizione veloce di una immagine di riferimento), correzione dell'attenuazione e acquisizione immagine PET statica o dinamica.

Avendo un'immagine morfologica dei tessuti dove si muove il radiofarmaco si può sfruttare l'RM anche per correggere via software vari artefatti presenti tipicamente nell'immagine PET. Sono state sviluppate varie strategie per la correzione dell'attenuazione alla RM/PET e alcune permettono di calcolare parametri semi-quantitativi, che dovrebbero essere considerati nell'interpretazione dell'immagine.

Le immagini sono acquisite in 3D e l'attenuazione dovrebbe basarsi su: TC a bassa dose oppure correzione all'RM o 511keV transmission scan.

Dovrebbe essere usata l'ultima versione del software per la correzione dell'attenuazione all'RM, che include l'ultrashort echo time (UTE) e sequenze zero TE (ZTE) (101;102;103;104;105).

Gli artefatti dipendono dai difetti di segmentazione tra tessuto cerebrale, adipe e osso e da impianti metallici (protesi ai denti, stent, clip). Molti artefatti sono rilevati nell'immagine corretta all'RM e così le regioni dove la quantificazione alla PET potrebbe essere inaccurata sono indicate.

Dove risulta possibile, per ridurre l'impatto degli artefatti metallici all'esame PET/RM cerebrale, dovrebbe essere usata la correzione per "Time of Flight" (TOF). Questa correzione tiene conto di quale fotone colpisce per primo il rivelatore per determinare in maniera più precisa il punto dell'annichilazione.

In studi longitudinali, il paziente dovrebbe sempre essere sottoposto allo stesso sistema usando le stesse procedure per evitare cambiamenti dell'immagine dovuti all'uso di diverse metodiche. In studi incrociati se ne possono usare anche diverse (106;107;108;109;110).

2.1.3 RICOSTRUZIONE DELL'IMMAGINE PET

Secondo il protocollo, a 10-30 minuti dall'iniezione del radiofarmaco, si acquisisce l'immagine in 10-20 minuti. Dovrei seguire anche un protocollo di lettura e delle tempistiche fisse a partire dall'inizio dell'acquisizione dell'immagine.

L'insieme dei dati rilevati costituisce il sinogramma, questi devono essere corretti prima di ottenere le immagini definitive. È necessario controllare i sinogrammi e usare solo quelli acquisiti liberi dal movimento per la ricostruzione dell'immagine.

Nella 2D PET gli eventi sono ricostruiti su due dimensioni, l'immagine è una fetta senza spessore e gli elementi sono i pixel, mentre nella 3D-Multi-slice PET si ottiene un'immagine tridimensionale dalla sovrapposizione di varie immagini planari. Invece nella 3D Positron Volume Imaging (3D-PVI) si acquisiscono dati in 3D considerando le emissioni di

radiazione in tutte le direzioni, per cui l'immagine è la rappresentazione di un volume e i pixel sono sostituiti dai voxel.

Per eliminare gli artefatti di movimento, può essere utile acquisire nella finestra di tempo con frame di 5 minuti o in list-mode.

Tutte le correzioni sono utili per una valutazione quantitativa. Quelle abituali sono per lo scatter², per il tempo morto, per l'uniformità ed eventualmente per l'attenuazione fotonica³. La ricostruzione iterativa⁴ è lo standard, ma in alternativa può essere usata la retroproiezione filtrata (FBP)⁵.

L'uso del modellamento della risoluzione durante la ricostruzione con la PET, noto anche come modellamento della funzione di diffusione del punto ("Point Spread Function" PSF), che descrive la risposta di un sistema di imaging ad una sorgente o oggetto punto, può dare artefatti di Gibbs ed errori quantitativi, per cui questo metodo non è raccomandato.

Quando ho un sistema PET che permette una ricostruzione multipla e devo studiare un tumore devo prediligere una tecnica ad alta risoluzione: Voxel 1-2 mm, ma <3mm in ogni direzione; risoluzione spaziale <6 mm, calcolata come larghezza a metà altezza della funzione ("full-width at half maximum") della PSF (111).

2.1.4 INTERPRETAZIONE DELL'IMMAGINE PET

Le immagini PET dovrebbero avere pixel di almeno 16 bit per fornire una quantità di dati adeguata e dovrebbe essere usata una scala per interpretare l'immagine.

² Lo scatter è un evento in cui uno o entrambi i fotoni di annichilazione subiscono un processo di diffusione Compton, questo genera un segnale che si sovrappone a quello reale e riduce il contrasto dell'immagine.

³ Un fotone che attraversa la materia subisce l'attenuazione fotonica che riduce il numero di fotoni che raggiungono il sistema di rilevazione (minore numero di fotoni misurati per ogni LOR).

⁴ Mentre convenzionalmente la ricostruzione delle immagini e il calcolo delle immagini parametriche vengono eseguiti in sequenza combinando i due processi, con un algoritmo di ricostruzione parametrica si ottengono immagini parametriche a basso rumore (127).

⁵ Retroproiezione filtrata: si tratta di un metodo TC per ricostruire un'immagine tridimensionale di un oggetto da una pluralità di viste bidimensionali (2D) dell'oggetto, comprendente le fasi di filtraggio della pluralità in 2D e l'ordine basato su statistiche retroproiezione delle viste 2D filtrate nell'immagine 3D dell'oggetto (128).

Le immagini PET devono essere visualizzate in orientamento trans-assiale e correlate con le immagini morfologiche in piani coronale e sagittale. Per orientarsi e ottenere immagini standardizzate possono essere usati dei punti di riferimento interni.

Si può utilizzare una scala di colori, in modo che la radioattività di fondo del tessuto cerebrale sano sia nel terzo basso del range (colore blu nella scala di Skoloff ampiamente utilizzata), in modo da creare delle condizioni standard per visualizzare l'aumentata captazione del tracciante rispetto al background (112;113;114).

Si definisce "acquisizione statica" la singola acquisizione in un tempo predeterminato, questa viene utilizzata nella pratica clinica per studiare un segmento corporeo o un singolo organo.

Nella [18F]DOPA-PET statica il calcolo del SUV è opzionale e può essere fatto dividendo la concentrazione della radioattività nel tessuto (kilobecquerels/ml) per la radioattività (megabecquerels) iniettata per il peso corporeo (Kg), o la superficie corporea o la massa magra corporea, in base al volume di distribuzione per ogni tracciante.

Per la lettura clinica standard le immagini PET vengono coregistrate e fuse con immagini RM, con contrasto in T1, T2 e FLAIR (la fusione con altre sequenze è opzionale).

In una prima analisi visiva si può fare una valutazione quantitativa e la lesione d'interesse può essere classificata come positiva quando la captazione del tracciante è eccessiva rispetto all'attività di background nella corteccia controlaterale o negativa quando non presenta aumentata captazione.

Possono essere calcolate misurazioni semiquantitative dell'uptake tumorale medio e massimo in rapporto allo striato sano controlaterale al tumore ("Tumour to striatum ratios" TSR medio e TSR max). Lo striato è la regione di riferimento usata più comunemente, altre regioni non sono state investigate.

Il cut off [18F]DOPA di riferimento per definire il volume biologico del tumore: SUV maggiore del valore medio che si rileva nello striato sano.

L'acquisizione dinamica permette di studiare come il radiofarmaco si accumula nel tempo in uno specifico distretto corporeo e viene usata soprattutto in campo sperimentale. Le immagini finali saranno dei fotogrammi in 3D che mostrano come la situazione si evolve nel tempo. Il fine è quello di calcolare parametri quantitativi relativi al metabolismo di un certo substrato o la perfusione o la densità recettoriale di un tessuto (115;116).

3 DISEGNO SPERIMENTALE

3.1 BACKGROUND DELLO STUDIO

Le Lesioni Demielinizzanti Tumefattive (TDLs) possono essere correlate a diversa eziopatogenesi: demielinizzante (Sclerosi Multipla, NMOSD, MOGAD, ADEM), infettiva (HIV, HCV, HHV6), autoimmune (SLE, Sindrome di Sjogren, Malattia di Bechet), paraneoplastica e indotta da farmaci.

Nella SM le lesioni tumefattive sono più frequenti nel sesso femminile e hanno una prevalenza del 1,4-8,2%. Nel 50-90% dei casi si ha un'evoluzione in SM conclamata (117;118).

Le TDLs presentano la tendenza a simulare clinicamente e radiologicamente dei tumori cerebrali. Di solito si ha la predominanza di segni corticali, eventualmente segni e sintomi dovuti all'ipertensione endocranica e all'erniazione cerebrale, più raramente encefalopatia, stato stuporoso e coma. Può presentarsi anche demielinizzazione periferica (84;119;120).

All'RM le TDLs sono definite come lesioni acute, larghe (>2 cm), simil-tumorali che si manifestano nel SNC con edema, effetto massa, presa di contrasto ad anello (nel bordo ipointenso in T2), restrizione periferica all'immagine di diffusione (DWI) e contrasto venoso.

L'edema circostante e l'effetto massa sono di solito meno intensi rispetto ai tumori primitivi cerebrali (PBTs).

La presa di contrasto ad anello, se presente, è di solito incompleta e aperta verso la corteccia, con la porzione che prende contrasto che si ritiene rappresenti il margine principale dell'area demielinizzata, ossia la lesione della WM.

Le immagini pesate in diffusione (DWI) evidenziano le variazioni dei protoni dell'acqua in un tessuto biologico. Con la DWI si ottiene il coefficiente di diffusione apparente dell'acqua (ADC), i cui valori sono alti se la diffusività è alta (acqua e liquor) e bassi quando si ha un ostacolo che impedisce all'acqua di muoversi liberamente (GM e WM).

Nelle lesioni tumefattive la DWI, di solito, mostra un incremento della diffusione con un lieve aumento del valore ADC, sebbene irregolare, e nelle lesioni più ampie può evidenziare la restrizione del bordo o raramente del core centrale.

Si possono osservare altri pattern: omogeneo, eterogeneo, irregolare, cotton-ball, anello chiuso e nodulare.

All'imaging di perfusione (PWI) si rileva di solito un basso flusso sanguigno cerebrale regionale (rCBF) e un basso volume sanguigno cerebrale regionale (rCBV), dato che le lesioni tumefattive non mostrano chiaramente la neovascolarizzazione.

La spettroscopia in questi casi ha rilevato un picco ridotto di N-AA (relativa al danno assonale) e un picco aumentato di colina (danno guaina mielinica) (121;122).

In base alle caratteristiche rilevate all'RM sono stati descritti quattro tipi di TDLs: ad anello, megacistico, ampiamente infiltrativo e Balò-like (123).

Dal punto di vista clinico e radiologico sono state descritte tre forme di SM, la sclerosi multipla acuta di Marburg, la malattia di Schilder e la sclerosi concentrica di Balò.

La sclerosi multipla acuta di Marburg presenta lesioni emisferiche cerebrali ampie e decorso progressivo fulminante.

La malattia di Schilder è molto rara, colpisce soggetti in età infantile, ha una prognosi sfavorevole ed è caratterizzata da placche di grandi dimensioni (almeno 3x2 cm) in ciascun emisfero, bilaterali e simmetriche, situate prevalentemente nel centro semiovale.

La sclerosi concentrica di Balò presenta anelli concentrici alternati di iso-iperintensità in T2, che rappresentano zone di demielinizzazione alternate a zone di normale mielinizzazione (118).

3.2 OBIETTIVI DI STUDIO

Dato che sia gli aspetti clinici che quelli radiologici delle lesioni TDLs mimano le altre lesioni occupanti spazio (SOLs), è stata suggerita come possibile strumento di diagnosi differenziale la PET.

Le neoplasie ad alto grado si riconoscono bene con la risonanza mentre è più complessa la diagnosi differenziale tra TDLs e i gliomi a basso grado (LGGs) o i linfomi cerebrali primitivi (PBLs), i quali richiedono la biopsia.

Ci siamo chiesti se una valutazione metabolica-funzionale possa essere d'aiuto per caratterizzare le TDLs e quindi risparmiare la biopsia al paziente.

Tuttavia a questo scopo la PET con FDG non è da considerarsi la tecnica d'imaging ideale.

Infatti:

- la FDG-PET è limitata nel campo della neuro-oncologia, data l'elevata captazione di glucosio fisiologica nel tessuto cerebrale normale (GM);
- il FDG si accumula nei macrofagi rendendo difficile la distinzione tra glioma e processi infiammatori;

- l'aumentata captazione del FDG nelle lesioni TMS (con ipometabolismo centrale), già riportata in precedenza, conferma che la FDG-PET non possa effettivamente supportare la diagnosi differenziale tra lesioni neoplastiche e TMS.

Per contro la PET con traccianti amminoacidici, in grado di sfruttare l'incrementato uptake degli amminoacidi da parte delle lesioni tumorali, appare, in questo senso, lo strumento ottimale per supportare la diagnosi differenziale tra placche tumefattive e lesioni neoplastiche primitive cerebrali.

La AA-PET permette infatti di discriminare meglio il tessuto patologico cerebrale da quello normale, perché si ha un segnale minore nella corteccia normale (GM e WM) e la captazione è poco o per nulla influenzata dalla permeabilità della barriera emato-encefalica (BEE).

Come riportato nei metodi esistono diversi traccianti per AA-PET.

Presso il nostro centro nell'Ospedale Policlinico San Martino si esegue la PET con [18F]3,4-diidrossifenilalanina (18F-DOPA) (strutturalmente simile alla fenilalanina).

Lo scopo della tesi è identificare le caratteristiche delle placche tumefattive alla [18F]DOPA-PET e confrontarle con l'aspetto PET delle lesioni neoplastiche primitive e secondarie per supportare la diagnosi differenziale (10;11;124;125;126).

3.3 MATERIALI E METODI

Abbiamo effettuato un'analisi retrospettiva dei pazienti afferenti al nostro centro, che abbiano effettuato la [18F]DOPA-PET tra Febbraio 2018 e Marzo 2019 per la definizione di lesioni cerebrali che includessero nella diagnosi differenziale anche lesioni tumefattive demielinizzanti (TDLs), lesioni tumefattive da SM e che avessero effettuato presso il nostro centro sia la Risonanza Magnetica (1.5 o 3 T) che la [18F]DOPA-PET.

La diagnosi definitiva è stata stabilita in base all'istologia o al follow-up clinico/radiologico a 1 anno.

4 RISULTATI

4.1 PAZIENTI

Abbiamo identificato 8 pazienti, in 3 la diagnosi definitiva era TDLs mentre degli altri 5 pazienti con PBTs, 4 presentavano LLGs (uno con pattern gliomatosis cerebri⁶) e uno il linfoma primitivo cerebrale a cellule B (PBBCL), tutti confermati all'istologia.

La tabella 1 riporta le caratteristiche principali dei pazienti inclusi nel case series.

⁶ Il pattern gliomatosis cerebri è un tumore cerebrale primario raro, caratterizzato da diffusa infiltrazione di cellule gliali neoplastiche in più di due lobi contigui del cervello.

TABELLA 1

Pazienti	Età alla diagnosi	Sesso	Diagnosi di base	Gd+	Terapia steroidea	Risposta alla terapia steroidea	Biopsia	Diagnosi finale	Vivo/morto	Note
C.G	43	M	Nessuna	Si	Si	Si	No	SM	Vivo	tp: Tysabri
R.A	71	F	SM	Si	Si	Si	No	SM	Vivo	tp: Rituximab
F.P	20	M	SM	Si	Si	Si	No	SM	Vivo	tp: aHSCT
D.L.O	52	F	Nessuna	Si	Non noto	Non noto	Si	PBBCL	Vivo	tp: aHSCT, FGD negativo al FU
P.R	57	M	LGG	Si	Non noto	Non noto	Si	LGG	Vivo	Nessuna
I.G	61	M	LGG	No	Si	Si	Si	LGG con aggressività focale	Vivo	tp: Temozolomide, RM stabile al FU
J.Y	26	F	LGG	Si	Non noto	Non noto	Si	LGG	Vivo	Nessuna
B.A	73	F	Nessuna	Si	Si	No	Si	Gliomatosis cerebri	Morto	tp: Temozolomide, RM stabile al FU; non chiara causa morte

4.2 ANALISI DELLE [18F]DOPA-PET DEI PAZIENTI

La SUVmax media delle TDLs è risultata 2,02 (deviazione standard 0,48; range 1,31-2,42) mentre la SUVmax media per i PBTs è 4,48 (deviazione standard 0,86; range 3,19-5,53).

Il paziente con il linfoma cerebrale primitivo ha dimostrato i valori più bassi di SUVmax tra i pazienti con lesioni evolutive.

Il valore di captazione rapportato allo striato è risultato 0,7 per le TDLs (deviazione standard 0,17; range 0,6-0,9) e 1,5 per i PBTs (deviazione standard 0,44; range 0,9-2,1), nuovamente con un valore più basso per il paziente con il linfoma (0,9), parzialmente sovrapposto al gruppo dei pazienti con TDLs.

Il rapporto con il background è stato di 1,46 per le TDLs (deviazione standard 0,25; range 1,2-1,7) e 2,6 per i PBTs (deviazione standard 0,74; range 1,7-3,5).

La figura 1 e la tabella 2 mostrano i valori di SUVmax, SUVmean, Ratio con lo striato e con il background dei singoli pazienti.

FIGURA 1

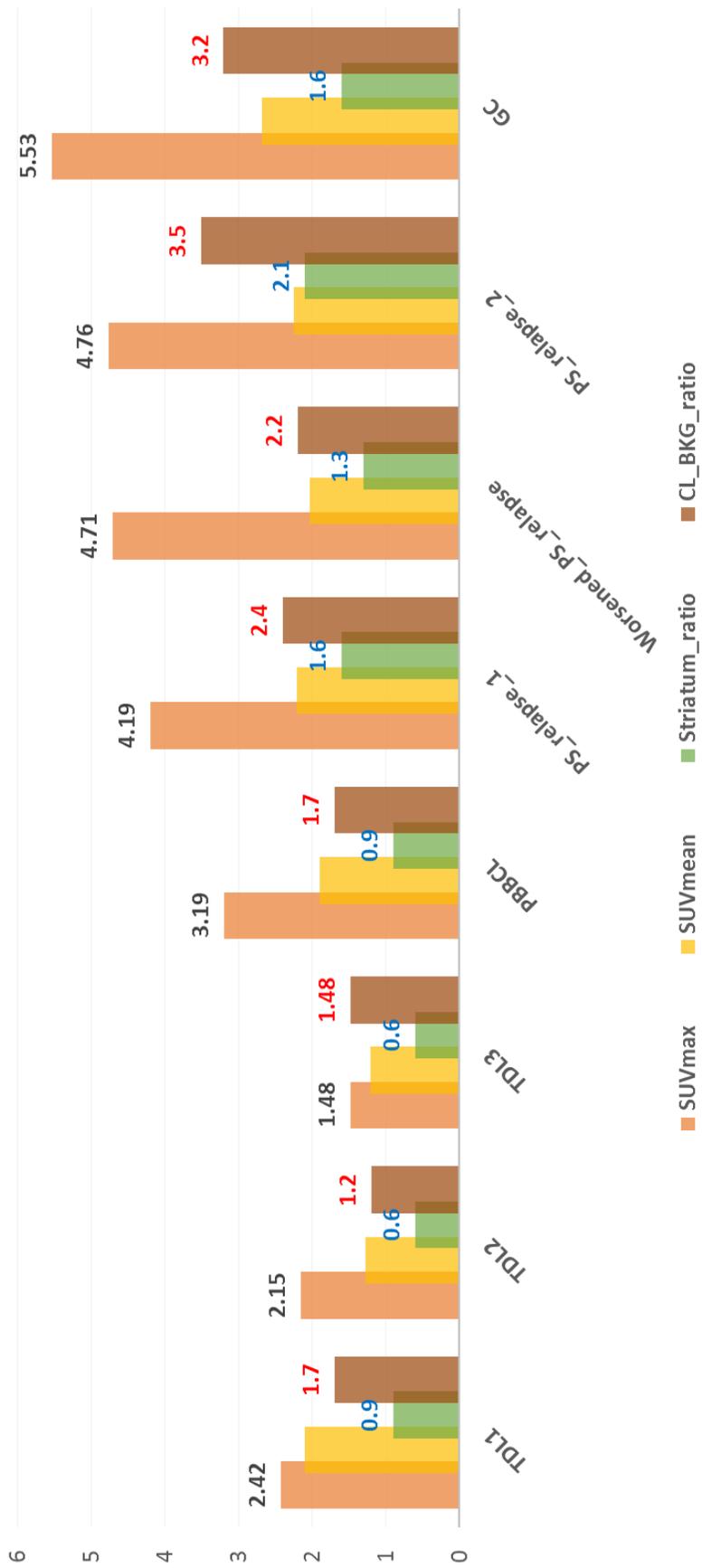


TABELLA 2

Lesione	SUVmax	SUVmean	Striatum-ratio	CL-BKG-ratio
TDL1	2,42	2,1	0,9	1,7
TDL2	2,15	1,27	0,6	1,2
TDL3	1,48	1,21	0,6	1,48
PBBCL	3,19	1,9	0,9	1,7
LGG	4,19	2,21	1,6	2,4
LGG	4,71	2,03	1,3	2,2
LGG	4,76	2,25	2,1	3,5
GC	5,53	2,68	1,6	3,2

La tabella 3 mostra i valori di SUVmax, SUVmean, Ratio con lo striato e con il background dei pazienti divisi in due gruppi: pazienti con lesioni neoplastiche e pazienti con placche tumefattive.

TABELLA 3

Lesione	SUVmax	SUVmean	Striatum- ratio	CL-BKG- ratio
TDLs	2,02	1,53	0,7	1,46
PBTs	4,28	2,21	1,5	2,6

La figura 2 mostra un esempio rappresentativo di paziente con placca tumefattiva captante in maniera modesta alla [18F]DOPA-PET. La successiva RM, eseguita dopo la terapia specifica, dimostra una riduzione delle lesioni a conferma della loro natura benigna.

Per confronto, la figura 3 mostra un paziente con una neoplasia gliale alla [18F]DOPA-PET.

FIGURA 2

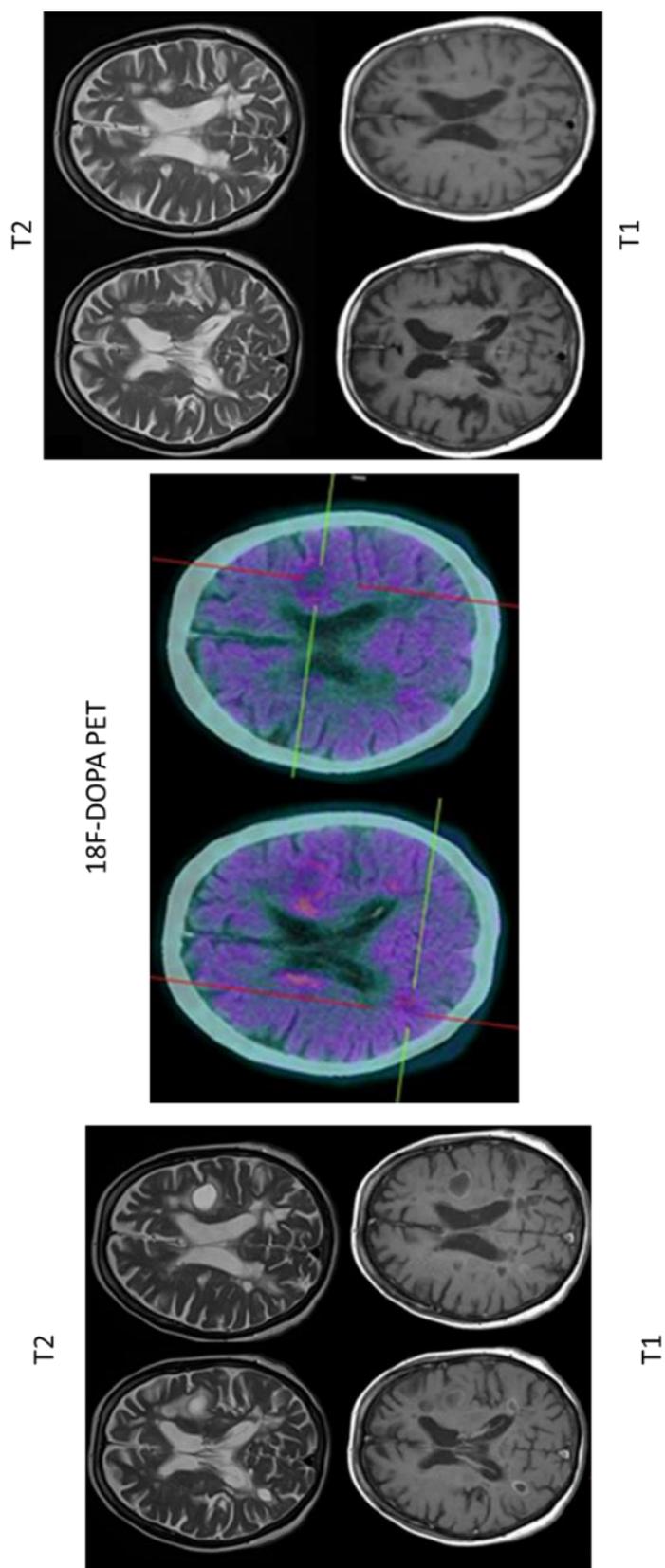
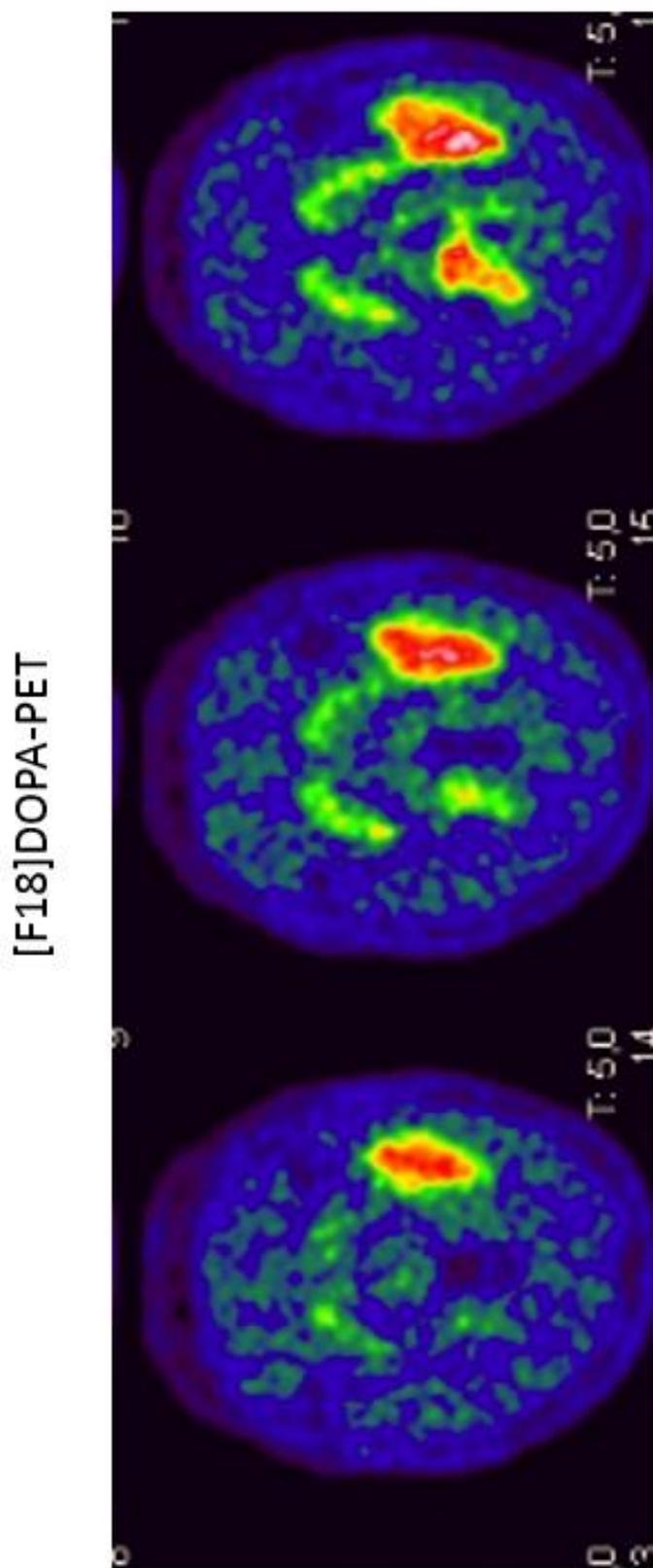


FIGURA 3



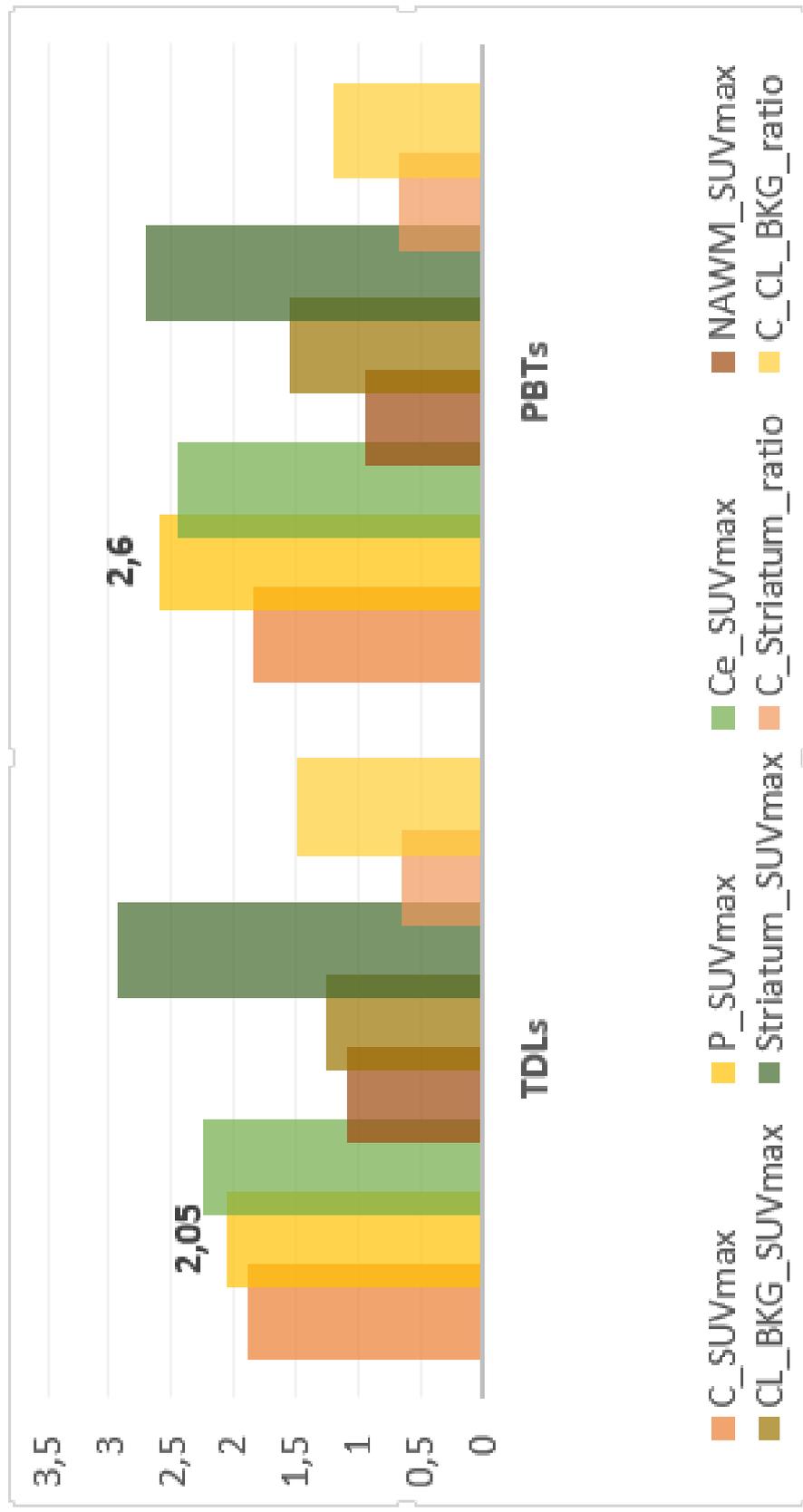
Visto l'overlap tra il dato di captazione della paziente con linfoma ed il gruppo di pazienti con placche tumefattive, abbiamo tentato una sottoanalisi della captazione delle diverse componenti della lesione. Per questo abbiamo valutato il SUVmax di core e periferia ed il rapporto con la sostanza bianca apparentemente normale (NAWM), lo striato ed il background.

La tabella 4 e la figura 4 mostrano il risultato di questa analisi.

TABELLA 4

Lesione	C- SUVmax	P-SUVmax	Ce- SUVmax	NAWM- SUVmax	CL-BKG- SUVmax	Striatum- SUVmax	C- Striatum- ratio	C-CL- BKG-ratio
TDLs	1,9	2,17	2,25	1,1	1,27	2,93	0,65	1,50
PBTs	1,85	2,6	2,45	0,95	1,55	2,7	0,69	1,19

FIGURA 4



5 DISCUSSIONE

Le Lesioni Demielinizzanti Tumefattive (TDLs) possono essere difficili da diagnosticare solo attraverso la risonanza e una corretta diagnosi differenziale è fondamentale al fine di risparmiare al paziente esami inutili e invasivi, come la biopsia cerebrale.

Il nostro case series mostra il ruolo potenziale della [18F]DOPA-PET nella diagnosi delle TDLs.

I valori più bassi di SUVmax e i rispettivi ratio con lo striato e il background controlaterale ottenuti dagli studi sulla [18F]DOPA-PET possono essere utili per distinguere le TDLs dai gliomi a basso grado (LLGs).

Non si è osservato infatti un overlap del SUVratio tra i pazienti con TDLs e i pazienti con LLGs, tuttavia è stata evidenziata una zona grigia tra le TDLs e i linfomi.

Il presente case series conferma l'utilità potenziale della [18F]DOPA-PET nella diagnosi differenziale delle TDLs, ciononostante sono necessari ulteriori studi.

Un'integrazione della [18F]DOPA-PET con le caratteristiche rilevate all'RM può essere interessante per dimostrare meglio il ruolo potenziale della PET nella diagnosi differenziale delle TDLs e risolvere la sovrapposizione tra le patologie demielinizzanti e i linfomi.

6 BIBLIOGRAFIA

1. Le basi patologiche delle malattie, Robbins and Cotran
2. Neurologia di Fazio Loeb, C.Loeb e E. Favele
3. Leray et al. Rev Neurol Epidemiology od Multiple Sclerosis 2016 Jan; 172(1):3-13.
4. Ascherio and Munger, Epidemiology of multiple sclerosis: from risk factrors to prevention 2016 Apr; 36(2):103-14.
5. Ascherio, Enviromental Factors in Multiple Sclerosis, Expert Rev Neurother 2013 Dec; 13(12 Suppl):3-9.
6. Kurtze JF, Epidemiology of Multiple Sclerosis, hendbook of clinical neurology, revised series, Elsevier, 1985
7. Canal N, Ghezzi A, Zaffaroni M et al. , Sclerosi Multipla: attualità e prospettive. Masson 2001
8. Morbelli S.D. 2018, In vivo assessment of demyelination and remyelination in patients with Multiple Sclerosis: computational approach to brain and spinal cord amyloid-PET.
9. Reich et al. 2018 Multiple Sclerosis, N engl Med 2018
10. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. Lancet Neurol. 2018;17:162–73.
11. Traboulsee et el. 2016, Revised recommendations of the consortium of MS centers for a standardized MRI protocol and clinical guidelines for the diagnosis and follow-up of Multiple Sclerosis, AJNR Am J Neuroradiol.
12. Magistretti PJ. Cellular bases of functional brain imaging: insights from neuron-glia metabolic coupling. Brain Res. 2000;886:108–12.
13. Morbelli S, Bauckneht M, Scheltens P. Imaging biomarkers in Alzheimer's disease: added value in the clinical setting. Q J Nucl Med Mol Imaging. 2017;61:360–71.
14. Bauckneht M, Arnaldi D, Nobili F, Aarsland D, Morbelli S. New tracers and new perspectives for molecular imaging in Lewy body diseases. Curr Med Chem. 2018;25:3105–30.
15. Law I, Albert NL, Arbizu J, Boellaard R, Drzezga A, Galldiks N, la Fougère C, et al. Joint EANM/EANO/RANO practice guidelines/ SNMMI procedure standards for imaging of gliomas using PET with radiolabelled amino acids and [18F]FDG: version 1.0. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2019;46:540–57.
16. De Paula FD, Copray S, Buchpiguel C, Dierckx R, de Vries E. PET imaging in multiple sclerosis. J NeuroImmune Pharmacol. 2014c; 9:468–82.
17. Major EO, Yousry TA, Clifford DB. Pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy and risks associated with treatments for multiple sclerosis: a decade of lessons learned. Lancet Neurol. 2018;17:467–80.
18. Río J, Auger C, Rovira A. MR imaging in monitoring and predicting treatment response in multiple sclerosis. Neuroimaging Clin N Am. 2017; 27:277–87.
19. Sormani et al. 2011 Combined MRI lesions and relapse sas a surrogate for disability in multiple sclerosis, Mult Scler Relat Disord: 1(3):109-10

20. Montalban X, Hauser SL, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Comi G, et al. Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2017;376:209–20.
21. Pardini and Sormani 2017, valutazione della riparazione nella sclerosi multipla: esiti per studi clinici di fase II, *Neuroterapici*, 14(4):924-933.
22. Filippi et al. 2019, Assessment of lesions on magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: practical guidelines. *Brain* 142 (7), 1858-1875.
23. Van Waesberghe JH, Kamphorst W, De Groot CJ, van Walderveen MA, Castelijns JA, Ravid R, et al. Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability. *Ann Neurol.* 1999;46:747–54.
24. Laule et al. 2018 Myelin Water Imaging to detect demyelination and remyelination and its validation in pathology 28(5):750-764).
25. MacKay A, Whittall K, Adler J, Li D, Paty D, Graeb D, et al. In vivo visualization of myelin water in brain by magnetic resonance. *Magn Reson Med.* 1994;31:673–7.
26. NguyenTD,DehK,MonohanE,PandyaS,SpincemailleP,RajA,etal. Feasibility and reproducibility of whole brain myelin water mapping in 4 minute using fast acquisition with spiral trajectory and a diabatic T2 prep (FAST-T2) at 3T. *Magn Reson Med.* 2015; 76:456–65.
27. Chen JT, Collins DL, Atkins HL, Freedman MS, Arnold DL, Canadian MS/BMT study group. Magnetization transfer ratio evolution with demyelination and remyelination in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol.* 2008;63:254–62.
28. Datta G, Colasanti A, Rabiner EA, Gunn RN, Malik O, Ciccarelli O, et al. Neuroinflammation and its relationship to changes in brain volume and white matter lesions in multiple sclerosis. *Brain.* 2017a;140 :2927–38.
29. Kieseier BC, Wiendl H. Multiple sclerosis: advances, excitements, disenchantments. *Lancet Neurol.* 2006;5:2–3
30. Patrikios et al. 2006 Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients, *Brain* 130 (Pt3): 879
31. Katz SI. Classification, diagnosis, and differential diagnosis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 2015;28:193–205.
32. Doshi and Chataway 2017, Multiple sclerosis, a treatable disease, *Clin Med* 17(6):530-536.
33. Mallik et al. 2014, Imaging outcomes for trials of remyelination in multiple sclerosis, *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*
34. Stankoff et al. 2006, Imaging of CNS myelin by positron emission tomography, *Proc Natl Acad Sci USA*, 103(24): 9304-9.
35. De Paula FD, Copray S, Sijbesma JW, Willemsen AT, Buchpiguel CA, Dierckx RA, et al. PET imaging of focal demyelination and remyelination in a rat model of multiple sclerosis: comparison of [11C] MeDAS, [11C] CIC and [11C]PIB. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014d;41: 995–1003.
36. Wu C, Zhu J, Baeslack J, Zaremba A, Hecker J, Kraso J, et al. Longitudinal positron emission tomography imaging for monitoring myelin repair in the spinal cord. *Ann Neurol.* 2013;74:688–98.
37. Chandra 2015, Role of amyloid from multiple sclerosis perspective: a literature review, *Neuroimmunomodulation*, 22(6): 346-6.

38. Morbelli S, Bauckneht M, Capitanio S, Pardini M, Roccatagliata L, Nobili F. A new frontier for amyloid PET imaging: multiple sclerosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2019;46:276–9.
39. Garibotto V, Morbelli S, Pagani M. Dual-phase amyloid PET: hitting two birds with one stone. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016;43:1747.
40. Bodini et al. 2016, Dynamic imaging of individual remyelination profiles in multiple sclerosis, *Ann Neurol*; 79(5):726-738.
41. Stankoff 2011, Imaging central nervous system myelin by positron emission tomography in multiple sclerosis using [methyl-C11]-2-(4-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole, *Ann Neurol*, 69(4): 673-80.
42. Zeydan B, Lowe VJ, Schwarz CG, Przybelski SA, Tosakulwong N, Zuk SM, et al. Pittsburgh compound-B PET white matter imaging and cognitive function in late multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2018;24:739–49.
43. Matias Guiu et al. 2015, Amyloid PET imaging in multiple sclerosis: an 18F-florbetaben study, *BMC Neurol* 15:243.
44. Pietroboni et al. 2019, Amyloid PET as a marker of normal-appearing white matter early damage in multiple sclerosis: correlation with CSF beta-amyloid levels and brain volumes, *Eur J Nucl Med Mol Imaging*; 46(2):280-287.
45. Brugarolas P, Sánchez-Rodríguez JE, Tsai HM, Basuli F, Cheng SH, Zhang X, et al. Development of a PET radioligand for potassium channels to image CNS demyelination. *Sci Rep*. 2018; 8:607.
46. Coman I, Aigrot MS, Seilhean D, Reynolds R, Girault JA, Zalc B, et al. Nodal, paranodal and juxtaparanodal axonal proteins during demyelination and remyelination in multiple sclerosis. *Brain*. 2006;129:3186–95.
47. Bever Jr et al. 1994, The effect of 4-aminopyridine in multiple sclerosis patients: results of a randomized, placebo controlled, double blind, concentration controlled, crossover trials; *neurologia* 44(6):1054-9.
48. Singhal G, Jaehne EJ, Corrigan F, Toben C, Baune BT. Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: a focused review. *Front Neurosci*. 2014;8:315.
49. Kiferle L, Politis M, Muraro PA, Piccini P. Positron emission tomography imaging in multiple sclerosis-current status and future applications. *Eur J Neurol*. 2011;18:226–31.
50. Schiepers C, Van Hecke P, Vandenberghe R, Van Oostende S, Dupont P, Demaerel P, et al. Positron emission tomography, magnetic resonance imaging and proton NMR spectroscopy of white matter in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 1997;3:8–17.
51. Buck D, Förchler A, Lapa C, Schuster T, Vollmar P, Korn T, et al. 18F-FDG PET detects inflammatory infiltrates in spinal cord experimental autoimmune encephalomyelitis lesions. *J Nucl Med*. 2012;53:1269–76.
52. Paulesu E, Perani D, Fazio F, Comi G, Pozzilli C, Martinelli V, et al. Functional basis of memory impairment in multiple sclerosis: a [18F] FDG PET study. *Neuroimage*. 1996;4:87–96.
53. Marini C, Morbelli S, Cistaro A, Campi C, Caponnetto C, Bauckneht M, et al. Interplay between spinal cord and cerebral cortex metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*. 2018;141:2272–9.
54. Ransohoff RM. A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist? *Nat Neurosci*. 2016;19:987–91.
55. Colasanti A, Guo Q, Muhlert N, Giannetti P, Onega M, Newbould RD, et al. In vivo assessment of brain white matter inflammation in multiple sclerosis with (18) F-PBR111 PET. *J Nucl Med*. 2014;55:1112–8.

56. Politis M, Giannetti P, Su P, Turkheimer F, Keihaninejad S, Wu K, et al. Increased PK11195 PET binding in the cortex of patients with MS correlates with disability. *Neurology*. 2012;79:523–30.
57. Kaunzner UW, Kang Y, Monohan E, Kothari PJ, Nealon N, Perumal J, et al. Reduction of PK11195 uptake observed in multiple sclerosis lesions after natalizumab initiation. *Mult Scler Relat Disord*. 2017;15:27–33.
58. Kaunzner UW, Kang Y, Zhang S, Morris E, Yao Y, Pandya S, et al. Quantitative susceptibility mapping identifies inflammation in a subset of chronic multiple sclerosis lesions. *Brain*. 2019;142:133–45.
59. Schuitemaker A, Van Berckel BNM, Kropholler MA, Kloet RW, Jonker C, Scheltens P, et al. Evaluation of methods for generating parametric (R)-[11C] PK11195 binding images. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27:1603–15.
60. Owen DR, Yeo AJ, Gunn RN, Song K, Wadsworth G, Lewis A, et al. An 18-kDa translocator protein (TSPO) polymorphism explains differences in binding affinity of the PET radioligand PBR28. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32:1–5.
61. Colasanti A, Guo Q, Giannetti P, Wall MB, Newbould RD, Bishop C, et al. Hippocampal neuroinflammation, functional connectivity, and depressive symptoms in multiple sclerosis. *Biol Psychiatry*. 2016;80:62–72.
62. Chiurchiù V, van der Stelt M, Centonze D, Maccarrone M. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation in multiple sclerosis: clues for other neuroinflammatory diseases. *Prog Neurobiol*. 2018;160:82–100.
63. Fernández-Suárez D, Celorrio M, Riezu-Boj JI, Ugarte A, Pacheco R, González H, et al. Monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 is neuroprotective and alters glial cell phenotype in the chronic MPTP mouse model. *Neurobiol Aging*. 2014;35:2603–16.
64. Lourbopoulos A, Grigoriadis N, Lagoudaki R, Touloumi O, Polyzoidou E, Mavromatis I, et al. Administration of 2-arachidonoylglycerol ameliorates both acute and chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res*. 2011;1390:126–41.
65. Savonenko AV, Melnikova T, Wang Y, Ravert H, Gao Y, Koppel J, et al. Cannabinoid CB2 receptors in a mouse model of A β amyloidosis: Immunohistochemical analysis and suitability as a PET biomarker of neuroinflammation. *PLoS One*. 2015;10: e0129618.
66. Ahmad R, Koole M, Evens N, Serdons K, Verbruggen A, Bormans G, et al. Whole-body biodistribution and radiation dosimetry of the cannabinoid type 2 receptor ligand [11C]-NE40 in healthy subjects. *Mol Imaging Biol*. 2013;15:384–90.
67. Brosnan CF, Raine CS. The astrocyte in multiple sclerosis revisited. *Glia*. 2013;61:453–65.
68. Min KJ, Yang MS, Kim SU, Jou I, Joe EH. Astrocytes induce hemeoxygenase-1 expression in microglia: a feasible mechanism for preventing excessive brain inflammation. *J Neurosci*. 2006;26:1880–7.
69. Nijland PG, Michailidou I, Witte ME, Mizze MR, van der Pol SM, van Het Hof B, et al. Cellular distribution of glucose and monocarboxylate transporters in human brain white matter and multiple sclerosis lesions. *Glia*. 2014;62:1125–41.
70. Takata K, Kato H, Shimosegawa E, Okuno T, Koda T, Sugimoto T, et al. 11C-acetate PET imaging in patients with multiple sclerosis. *PLoS One*. 2014;9:e111598.

71. Rissanen E, Virta JR, Paavilainen T, Tuisku J, Helin S, Luoto P, et al. Adenosine A2A receptors in secondary progressive multiple sclerosis: a [(11) C] TMSX brain PET study. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013;33:1394–401.
72. Beaino et al. 2017, Purinergic Receptors P2Y12R and P2X7R potential targets for PET imaging of microglia phenotypes in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*;14-259.
73. Han J, Liu H, Liu C, Jin H, Perlmutter JS, Egan TM, et al. Pharmacologic characterizations of a P2X7 receptor-specific radioligand, [11C]GSK1482160 for neuroinflammatory response. *Nucl Med Commun.* 2017;38:372–82.
74. Fantoni ER, Dal Ben D, Falzoni S, Di Virgilio F, Lovestone S, Gee A. Design, synthesis and evaluation in an LPS rodent model of neuroinflammation of a novel 18F-labelled PET tracer targeting P2X7. *EJNMMI Res.* 2017;7:31.
75. Chiba K, Kataoka H, Seki N, Shimano K, Koyama M, Fukunari A, Sugahara K, Sugita T. Fingolimod (FTY720), sphingosine 1-phosphate receptor modulator, shows superior efficacy as compared with interferon-beta in mouse experimental autoimmune encephalomyelitis. *Int Immunopharmacol.* 2011;11:366–72.
76. Briard E, Orain D, Beerli C, Billich A, Streiff M, Bigaud M, Auberson YP. BZM055, an iodinated radiotracer candidate for PET and SPECT imaging of myelin and FTY720 brain distribution. *ChemMedChem.* 2011;6:667–77.
77. Prasad VP, Wagner S, Keul P, Hermann S, Levkau B, Schäfers M, Haufe G. Synthesis of fluorinated analogues of sphingosine-1-phosphate antagonists as potential radiotracers for molecular imaging using positron emission tomography. *Bioorg Med Chem.* 2014;22:5168–81.
78. Shaikh RS, Schilson SS, Wagner S, Hermann S, Keul P, Levkau B, Schäfers M, Haufe G. Synthesis and evaluation of fluorinated Fingolimod (FTY720) analogues for sphingosine-1-phosphate receptor molecular imaging by positron emission tomography. *J Med Chem.* 2015;58:3471–84.
79. Jin H, Yang H, Liu H, Zhang Y, Zhang X, Rosenberg AJ, Liu Y, Lapi SE, Tu Z. A promising carbon-11 labeled sphingosine-1-phosphate receptor 1 specific PET tracer for imaging vascular injury. *J Nucl Cardiol.* 2017;24:558–70.
80. Liu H, Jin H, Yue X, Luo Z, Liu C, Rosenberg AJ, Tu Z. PET imaging study of S1PR1 expression in a rat model of multiple sclerosis. *Mol Imaging Biol.* 2016;18:724–32.
81. Luo Z, Han J, Liu H, Rosenberg AJ, Chen DL, Gropler RJ, Perlmutter JS, Tu Z. Syntheses and in vitro biological evaluation of S1PR1 ligands and PET studies of four F-18 labeled radiotracers in the brain of nonhuman primates. *Org Biomol Chem.* 2018b; 16:9171–84.
82. Herrero P, Laforest R, Shoghi K, Zhou D, Ewald G, Pfeifer J, et al. Feasibility and dosimetry studies for 18F-NOS as a potential PET radiopharmaceutical for inducible nitric oxide synthase in humans. *J Nucl Med.* 2012;53:994–1001.
83. Gent YY, Weijers K, Molthoff CF, Windhorst AD, Huisman MC, Smith DE, et al. Evaluation of the novel folate receptor ligand [18F]fluoro-PEG-folate for macrophage targeting in a rat model of arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2013; 15:R37.
84. Algahtani H, Shirah B, Alassiri A. Tumefactive demyelinating lesions: a comprehensive review. *Mult Scler Relat Disord.* 2017; 14:72–9.

85. Lin X, Yu WY, Liauw L, Chander RJ, Soon WE, Lee HY, et al. Clinicoradiologic features distinguish tumefactive multiple sclerosis from CNS neoplasms. *Neurol Clin Pract.* 2017; 7:53–64.
86. Qi W, Jia GE, Wang X, Zhang M, Ma Z. Cerebral tumefactive demyelinating lesions. *Oncol Lett.* 2015; 10:1763–8.
87. Kobayashi M, Shimizu Y, Shibata N, Uchiyama S. Gadolinium enhancement patterns of tumefactive demyelinating lesions: correlations with brain biopsy findings and pathophysiology. *J Neurol.* 2014; 261:1902–10.
88. Hardy TA, Chataway J. Tumefactive demyelination: an approach to diagnosis and management. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013; 84:1047–53.
89. Ng S, Butzkueven H, Kalnins R, Rowe C. Prolonged interval between sentinel pseudotumoral demyelination and development of primary CNS lymphoma. *J Clin Neurosci.* 2007;14:1126–9.
90. Tarkkonen A, Rissanen E, Tuokkola T, Airas L. Utilization of PET imaging in differential diagnostics between a tumefactive multiple sclerosis lesion and low-grade glioma. *Mult Scler Relat Disord.* 2016;9:147–9.
91. Pagani M, Giuliani A, Öberg J, De Carli F, Morbelli S, Girtler N, et al. Progressive disintegration of brain networking from Normal aging to Alzheimer disease: analysis of independent components of 18F-FDG PET data. *J Nucl Med.* 2017;58:1132–9.
92. Patti F, De Stefano M, Lavorgna L, Messina S, Chisari CG, Ippolito D, et al. Lesion load may predict long-term cognitive dysfunction in multiple sclerosis patients. *PLoS One.* 2015; 10: e0120754.
93. Ninomiya S, Hara M, Morita A, Teramoto H, Momose M, Takahashi T, et al. Tumefactive demyelinating lesion differentiated from a brain tumor using a combination of magnetic resonance imaging and (11) C-methionine positron emission tomography. *Intern Med.* 2015; 54:1411–4.
94. Yasuda S, Yano H, Kimura A, Suzui N, Nakayama N, Shinoda J, et al. Frontal Tumefactive demyelinating lesion mimicking glioblastoma differentiated by methionine positron emission tomography. *World Neurosurg.* 2018;119: 244–8.
95. Ikeguchi R, Shimizu Y, Abe K, Shimizu S, Maruyama T, Nitta M, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy differentiates tumefactive demyelinating lesions from gliomas. *Mult Scler Relat Disord.* 2018; 26:77–84.
96. Bolcaen J, Acou M, Mertens K, Hallaert G, Van den Broecke C, Achten E, et al. Structural and metabolic features of two different variants of multiple sclerosis: a PET/MRI study. *J Neuroimaging.* 2013; 23:431–6.
97. Kebir S, Gaertner FC, Mueller M, Nelles M, Simon M, Schäfer N, et al. 18F-fluoroethyl-L-tyrosine positron emission tomography for the differential diagnosis of tumefactive multiple sclerosis versus glioma: a case report. *Oncol Lett.* 2016; 11:2195–8.
98. Hutterer M, Nowosielski M, Putzer D, Jansen NL, Seiz M, Schocke M et al. [18F]-fluoro-ethyl-L-tyrosine PET: a valuable diagnostic tool in neuro-oncology, but not all that glitters is glioma. *Neuro-Oncology.* 2013; 15:341–51.
99. Boellaard R, Delgado-Bolton R, Oyen WJ, Giammarile F, Tatsch K, Eschner W, et al. FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2015; 42:328–54.

100. Lassmann M, Biassoni L, Monsieurs M, Franzius C, Jacobs F, EANM Dosimetry and Paediatrics Committees. The new EANM paediatric dosage card. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007; 34: 796–8.
101. Koesters T, Friedman KP, Fenchel M, Zhan Y, Hermosillo G, Babb J, et al. Dixon sequence with superimposed model-based bone compartment provides highly accurate PET/MR attenuation correction of the brain. *J Nucl Med*. 2016; 57:918–24.
102. Bailey DL, Pichler BJ, Gückel B, Antoch G, Barthel H, Bhujwala ZM, et al. Combined PET/MRI: global warming—summary report of the 6th International Workshop on PET/MRI, March 27–29, 2017, Tübingen, Germany. *Mol Imaging Biol*. 2018; 20:4–20.
103. Ladefoged CN, Andersen FL, Kjær A, Højgaard L, Law I. RESOLUTE PET/MRI attenuation correction for O-(2-¹⁸F-fluoroethyl)-L-tyrosine (FET) in brain tumor patients with metal implants. *Front Neurosci*. 2017; 11:453.
104. Andersen FL, Ladefoged CN, Beyer T, Keller SH, Hansen AE, Højgaard L, et al. Combined PET/MR imaging in neurology: MR-based attenuation correction implies a strong spatial bias when ignoring bone. *Neuroimage*. 2014; 84:206–16.
105. Ladefoged CN, Law I, Anazodo U, St Lawrence K, Izquierdo Garcia D, Catana C, et al. A multi-centre evaluation of eleven clinically feasible brain PET/MRI attenuation correction techniques using a large cohort of patients. *Neuroimage*. 2017; 147:346–59.
106. Ladefoged CN, Hansen AE, Keller SH, Holm S, Law I, Beyer T, et al. Impact of incorrect tissue classification in Dixon-based MRAC: fat-water tissue inversion. *EJNMMI Phys*. 2014; 1:101.
107. Ladefoged CN, Hansen AE, Keller SH, Fischer BM, Rasmussen JH, Law I, et al. Dental artifacts in the head and neck region: implications for Dixon-based attenuation correction in PET/MR. *EJNMMI Phys*. 2015; 2:8.
108. Brendle C, Schmidt H, Oergel A, Bezrukov I, Mueller M, Schraml C, et al. Segmentation-based attenuation correction in positron emission tomography/magnetic resonance: erroneous tissue identification and its impact on positron emission tomography interpretation. *Invest Radiol*. 2015; 50:339–46.
109. Fuin N, Pedemonte S, Catalano OA, Izquierdo-Garcia D, Soricelli A, Salvatore M, et al. PET/MRI in the presence of metal implants: completion of the attenuation map from PET emission data. *J Nucl Med*. 2017; 58:840–5.
110. Ter Voert EEGW, Veit-Haibach P, Ahn S, Wiesinger F, Khalighi MM, Levin CS, et al. Clinical evaluation of TOF versus non-TOF on PET artifacts in simultaneous PET/MR: a dual centre experience. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017; 44:1223–33.
111. Munk OL, Tolbod LP, Hansen SB, Bogsrud TV. Point-spread function reconstructed PET images of sub-centimeter lesions are not quantitative. *EJNMMI Phys*. 2017; 4:5.
112. Minoshima S, Koeppe RA, Mintun MA, Berger KL, Taylor SF, Frey KA, et al. Automated detection of the intercommissural line for stereotactic localization of functional brain images. *J Nucl Med*. 1993; 34:322–9.
113. Unterrainer M, Vettermann F, Brendel M, Holzgreve A, Lifschitz M, Zähringer M, et al. Towards standardization of (¹⁸F)-FET PET imaging: do we need a consistent method of background activity assessment. *EJNMMI Res*. 2017; 7:48.

114. Schwarzenberg J, Czernin J, Cloughesy TF, Ellingson BM, Pope WB, Grogan T, et al. Treatment response evaluation using 18FFDOPA PET in patients with recurrent malignant glioma on bevacizumab therapy. *Clin Cancer Res.* 2014;20:3550–9
115. Graham MM, Muzi M, Spence AM, O'Sullivan F, Lewellen TK, Link JM, et al. The FDG lumped constant in normal human brain. *J Nucl Med.* 2002;43:1157–66.
116. Lucignani G, Schmidt KC, Moresco RM, Striano G, Colombo F, Sokoloff L, et al. Measurement of regional cerebral glucose utilization with fluorine-18-FDG and PET in heterogeneous tissues: theoretical considerations and practical procedure. *J Nucl Med.* 1993;34:360–9.
117. Lucchinetti et al. Clinical and Radiographic Spectrum of pathologically confirmed tumefactive multiple sclerosis. *Brain* 2008, 131: 1759-1775.
118. Frederick MC, Cameron MH, Tumefactive demyelinating Lesions in Multiple Sclerosis and associated disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2016; 16(3):26.
119. Hardy TA, Pseudotumoral demyelinating lesions: diagnostic approach and long term outcome. *Curr Opin Neurol* 2019; 32:467-474.
120. Comi G, Multiple Sclerosis: Pseudotumoral forms. *Neurol Sci.* 2004;25 Suppl 4: S374-9.
121. Such CH et al. MRI Findings in Tumefactive Demyelinating Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis. *AJNR Am J Neuroradiol* 39:1643-49.
122. Lin X et al. Clinicoradiologic features distinguish tumefactive multiple sclerosis from CNS neoplasms. *Neurol Clin Pract* 2017; 7:1-12.
123. Seewan A et al. MAGNIMS network. MRI characteristics of atypical idiopathic inflammatory Demyelinating lesions of the brain: a review of reported findings. *J Neurol* 2008; 255:1-10.
124. Maffione AM et al. 18-FDG PET/CT in Tumefactive Multiple Sclerosis. *Clin Nucl Med* 2014;8 :750-751.
125. Barbagallo M et al. Value of 18-FET PET in patients with suspected tumefactive demyelinating disease- Preliminary experience from a retrospective analysis. *Clin Nucl Med* 2018; 43 (11): e385-e391.
126. Ji-hoan J et al. Current Radiopharmaceuticals for PET of brain tumors. *Brain tumors Res Treat.*
127. Matthews et al. 1997, The direct calculation of parametric images from dynamic PET data using maximum-likelihood iterative reconstruction, *Physics in Medicine and Biology* 42(6),1155
128. Claus and Eberhard 2004, Ricostruzione generalizzata filtrata: retroproiezione nella tomosintesi digitale, Brevetto USA 6.707.878

Ringraziamenti

Un sentito grazie alla Dott.ssa Morbelli per il suo supporto in questa fase del mio percorso accademico e per avermi guidato nella realizzazione di questa tesi.

Ringrazio infinitamente i miei genitori che mi hanno permesso di realizzare il sogno di diventare medico.