

# TURUN YLIOPISTO

Terveiden biotieteiden koulutusohjelma

MERISAARI, JONI: Adenosiini  $2_A$ -reseptoreiden PET-kuvantaminen neuroinflammaatiossa [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX-merkkiaineella

Pro Gradu -tutkielma, s. 75

Lääkekehitys

Marraskuu 2015

**Johdanto:** Neuroinflammaatiota ilmenee useissa neurologisissa sairauksissa, kuten multippeliskleroosissa, Parkinsonin taudissa ja Alzheimerin taudissa. Adenosiini  $2_A$ -reseptorin ( $A_{2A}R$ ) rooli neuroinflammaatiossa on vielä osittain tuntematon, mutta sen on todettu aiheuttavan mikroglia-solujen aktivaatiota, mikä on keskeinen osa neuroinflammaatiota. Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää neuroinflammaatiossa ilmenevää  $A_{2A}R$ :n esiintymistä eläinmalleissa.  $A_{2A}R$ -ilmenemistä voidaan tutkia käyttäen positroniemissiotomografiaa (PET) ja autoradiografiaa käyttäen PET-merkkiaineena [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX:ää. Toisena PET-merkkiaineena käytettiin [ $^{11}\text{C}$ ]PK11195:a, joka sitoutuu neuroinflammaatiossa aktivoituvaa translokaatioproteiiniin (TSPO).  $A_{2A}R$ -sitoutumista tutkittiin akuutissa neuroinflammaatiossa. Viivästyneen yliherkkyysoireyksen (eng. focal delayed-type hypersensitivity,  $\mathcal{J}DTH$ ) aiheuttavassa fokaalisessa kokeellisessa autoimmuunienkefalomyeliitissä (EAE) -eläinmallissa tutkittiin sekä neuroinflammaatiota että  $A_{2A}R$ :n ilmentymistä.

**Menetelmät:** Eläinmalleihin käytettiin Lewis-rottia ( $n = 40$ ). Akuutti neuroinflammaatio ( $n = 16$ ) indusoiettiin annostelemalla lipopolysakkaridia (LPS) eläinten vasempaan aivojuovioon. Kontrollieläimille annosteltiin fysiologista suolaliuosta. Eläimet tutkittiin *in vivo* -PET-kuvauksella ( $n = 8$ ) ja *ex vivo* -autoradiografialla ( $n = 8$ ) 16 – 24 h injektion jälkeen käyttäen [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX:ää PET-merkkiaineena.  $\mathcal{J}DTH$ -EAE-eläinmalli ( $n = 24$ ) indusoiettiin annostelemalla Bacillus Calmette-Guerin (BCG) -suspensiota vasempaan talamukseen. Eläin immunisoiettiin 28 päivän kuluttua ihonalaisella injeksiolla tuberkuloosimykobakteeria (TB), joka oli emulsifioitu täydelliseen Freundin adjuvanttiin. Kontrollieläimiin käytettiin fysiologista suolaliuosta. *In vivo* -kuvaukset suoritettiin [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX:llä ( $n = 12$ , päivinä 0 ja 21) ja [ $^{11}\text{C}$ ]PK11195:lla ( $n = 4$ , päivinä 1 ja 22) immunisaation jälkeen ja *ex vivo* -autoradiografia tehtiin [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX:llä ( $n = 12$ , päivinä 0 ja 21). [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX-merkkiaineen jakaumatutkimus tehtiin terveillä Sprague Dawley -rotilla ( $n = 5$ ). Immunohistokemia suoritettiin anti-OX-42 ja anti-Iba-1 värjäyksillä, jotka ilmentävät mikroglia-aktiivisuutta.

**Tulokset:** Akuutin neuroinflammaation eläinmallissa ( $n = 4 + 4$ ) saatiin *in vivo* -PET-kuvantamisella merkitsevä ero ( $p = 0,04$ ) [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX:n sitoutumisessa verrattuna kontrollieläimiin. Myös *ex vivo* -autoradiografia osoitti [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX-sitoutumisen nousseen merkittävästi LPS-eläimillä ( $n = 4 + 4$ ,  $p = 0,002$ ). *In vivo* -[ $^{11}\text{C}$ ]TMSX ( $n = 4 + 4$ ,  $p = 0,42$ ,  $d = 21$ ) tai [ $^{11}\text{C}$ ]PK11195 -kuvantamisella ( $n = 2 + 2$ ,  $p = 0,25$ ,  $d = 22$ ) ei havaittu eroa  $\mathcal{J}DTH$ -EAE-eläinten ja kontrollieläinten välillä. *Ex vivo* -autoradiografia vahvisti tuloksen ( $n = 4 + 4$ ,  $p = 0,20$ ,  $d = 21$ ). Lähtötilannekuvauksissa ei havaittu spontaaneja leesioita.

**Yhteenveto:** Akuutin neuroinflammaation eläinmallissa [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX-sitoutuminen näytti lisääntyvän neuroinflammaatioalueella.  $\mathcal{J}DTH$ -EAE-eläinmallilla [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX-sitoutumista ei havaittu. Tämä voi johtua eläinmallin indusoinnin epäonnistumisesta tai  $A_{2A}R$ -ilmentymisen vähäisestä aktivaatiosta tässä neuroinflammaation eläinmallissa.

**Avainsanat:** Positroniemissiotomografia (PET), adenosiini  $2_A$ -reseptori ( $A_{2A}R$ ), neuroinflammaatio, viivästyneen yliherkkyysoireyksen kokeellinen autoimmuuni enkefalomyeliitti ( $\mathcal{J}DTH$ -EAE), [ $^{11}\text{C}$ ]TMSX, [ $^{11}\text{C}$ ]PK11195