

# INTEGRAZIONE DELL'IMAGING MOLECOLARE

# IMAGING MOLECOLARE

Def. Commissione di Imaging Molecolare di ACR:

Visualizzazione *in vivo* della localizzazione nello spazio e nel tempo di processi cellulari molecolari

Mappa la distribuzione anatomica nel tempo di *molecole* di interesse nei tessuti vivi



Diagnosi e monitoraggio malattia

# IMAGING MOLECOLARE

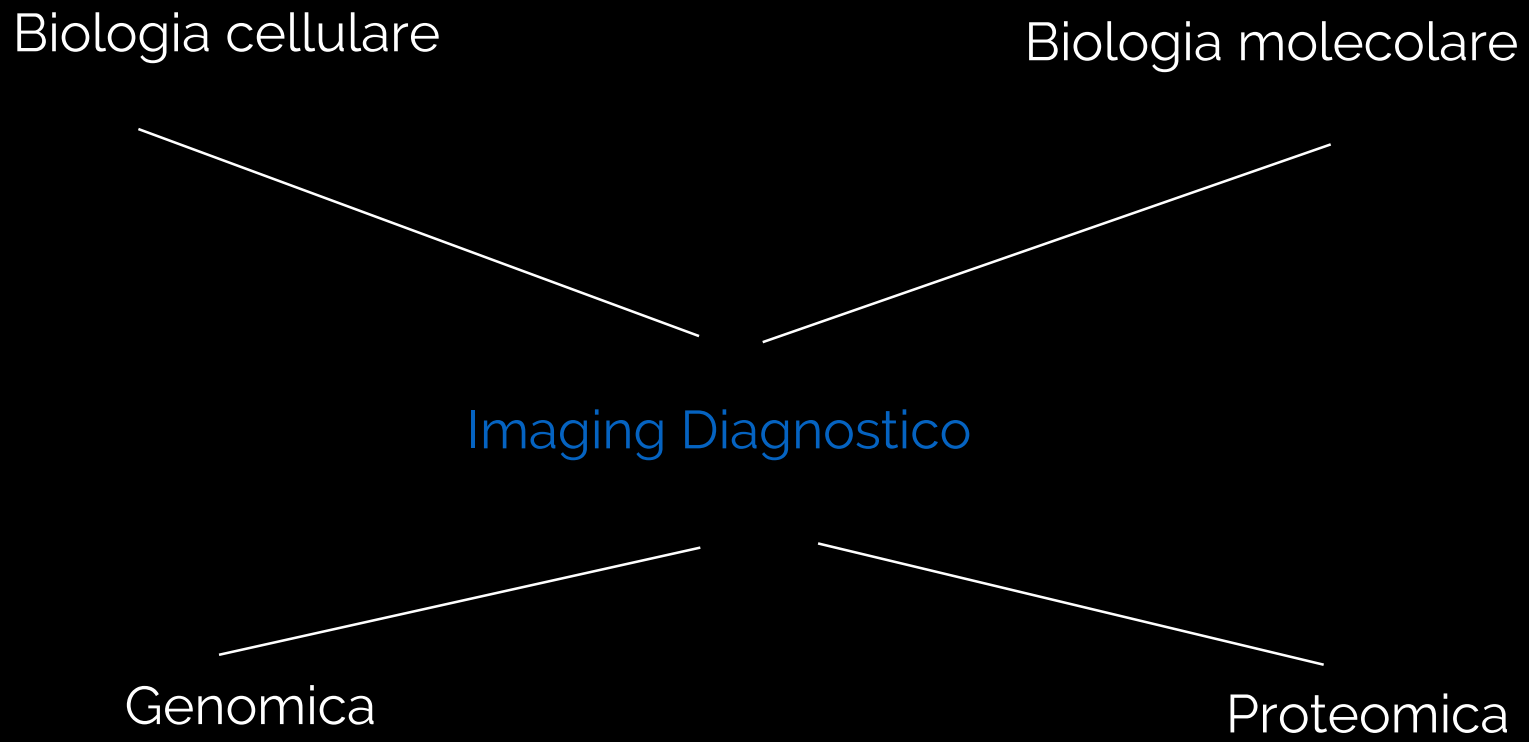
Biologia cellulare

Biologia molecolare

Imaging Diagnostico

Genomica

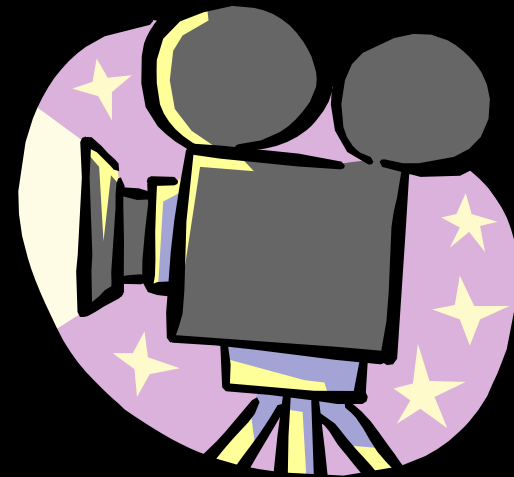
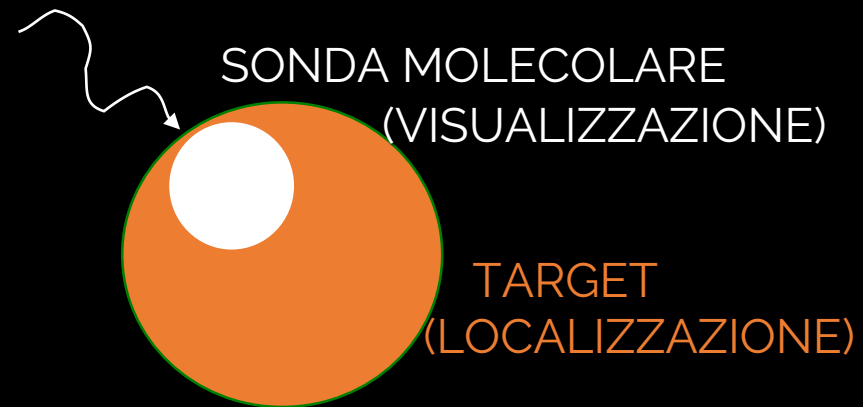
Proteomica



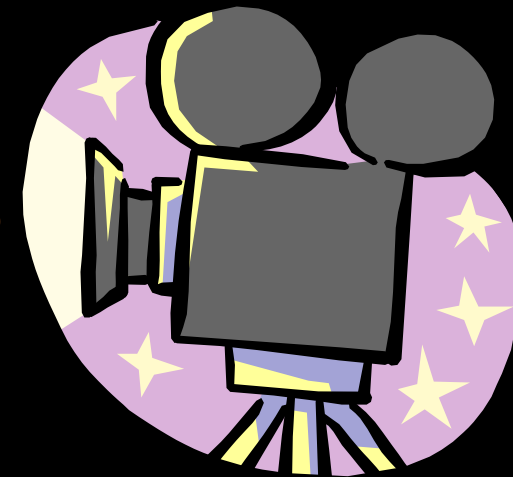
# IMAGING MOLECOLARE

- IMAGING Radionuclidi
- IMAGING risonanza magnetica
- IMAGING ottico
- IMAGING ultrasuoni

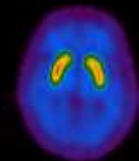
# AGENTE IMAGING MOLECOLARE

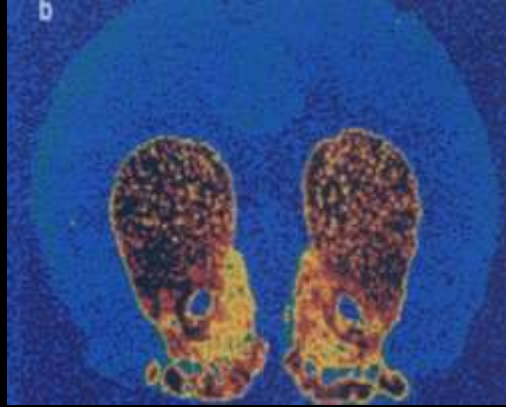


METODO DI  
VISUALIZZAZIONE



TOMOGRAFIA AD  
EMISSIONE DI  
POSITRONI (PET)

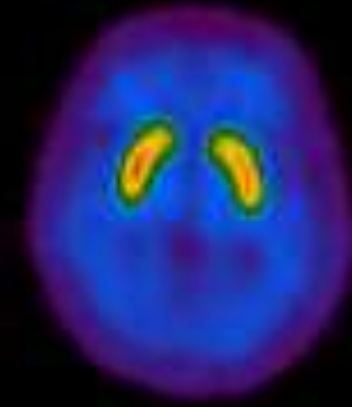




## ISTOPATOLOGIA EX-VIVO

COLORANTE

MICROSCOPIO



## ISTOPATOLOGIA IN-VIVO

AGENTE RADIOATTIVO

TOMOGRAFIA AD EMISSIONE  
DI POSITRONI (PET)

NON-INVASIVA

# AGENTI IMAGING MOLECOLARE: requisiti

SPECIFICITA'

- sicuri
- biocompatibili
- non alteranti il processo patologico sotto studio
- non devono accumularsi in altri tessuti
- abili a raggiungere la molecola in quantita' sufficiente per essere visualizzati
- nel sito per un tempo sufficiente ad essere visualizzati
- visibili con un sistema di imaging disponibile

DISEGNO



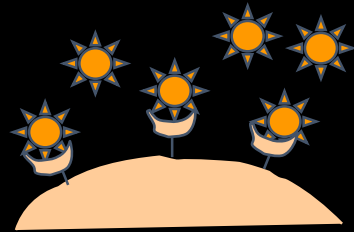
# AGENTI IMAGING MOLECOLARE

TIPO A legato alla molecola target 1:1

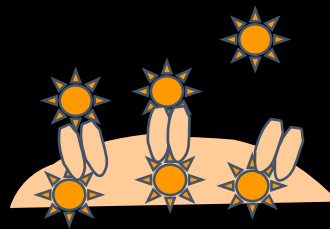
TIPO B accumulato dalla molecola target 1:1000

TIPO C: attivato dalla attività enzimatica della molecola target 1:1000s

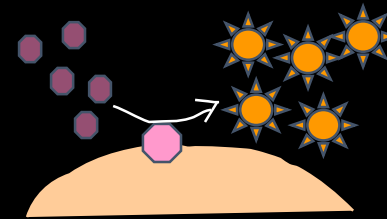
A. Bassa sensibilità,  
alto rumore



A. B. Alta sensibilità,  
alto rumore

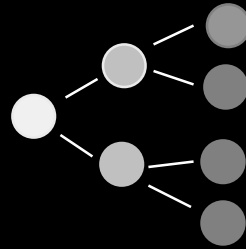
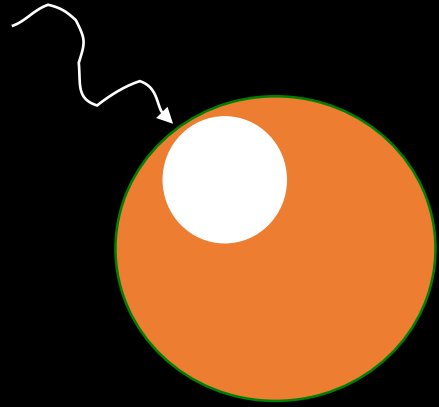


C. Alta sensibilità, basso  
rumore

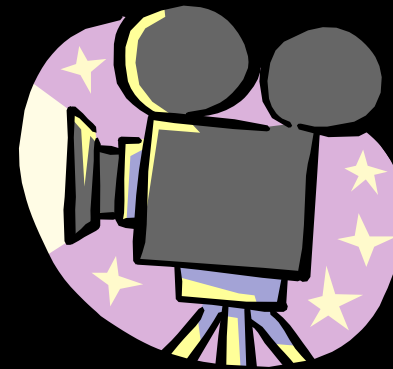


# IMAGING MOLECOLARE: strategie

Concentrazione biomolecole: picomole ( $10^{-9}$ ), nanomole ( $10^{-12}$ )



Amplificazione  
segnale

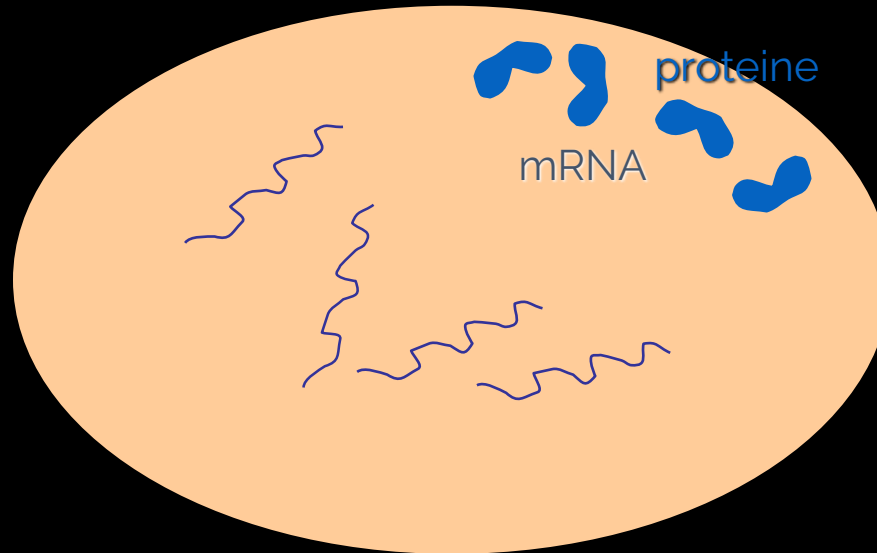


# TARGET IMAGING MOLECOLARE

Prodotti espressione genica

Prodotti trascritti DNA: mRNA (genomic imaging)

Prodotti trascritti mRNA : proteina (molecular imaging)



## IMAGING radionuclidi: SPET e PET

Agenti: radiofarmaci

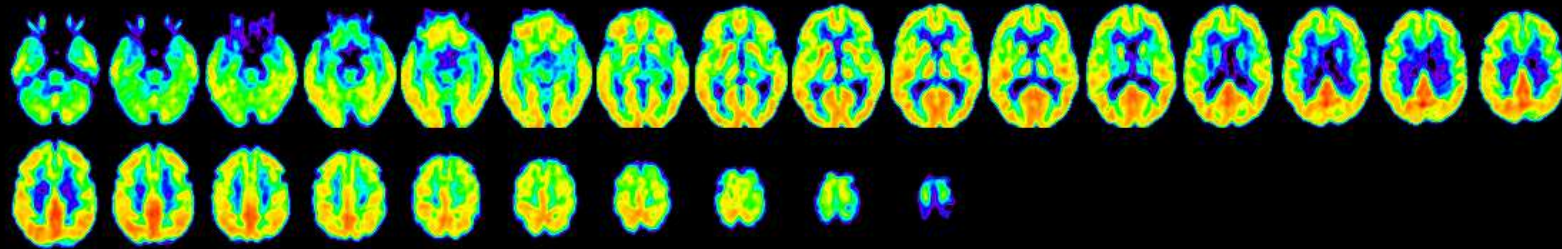
biomolecole marcate con radioisotopi emittenti positroni/ fotoni singoli

### *Fronto–Temporal Dementia*

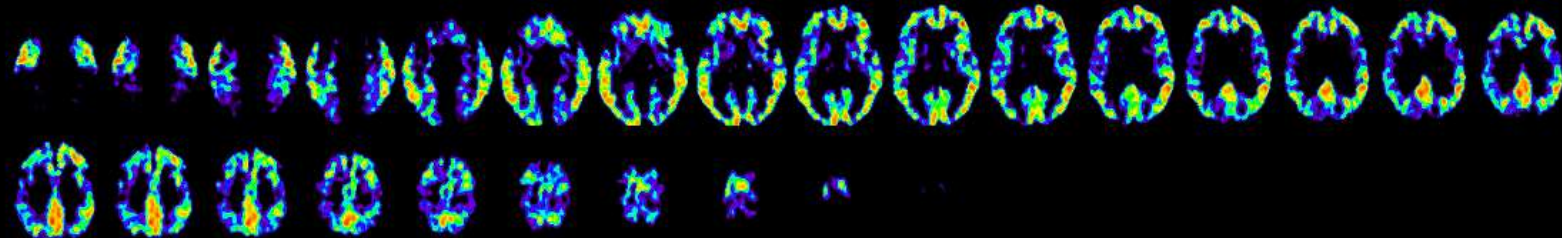
(<sup>18</sup>F) FDG (cerebral glucose metabolism)

P02026

R



(<sup>11</sup>C) MDL (5HT<sub>2A</sub> receptor density)

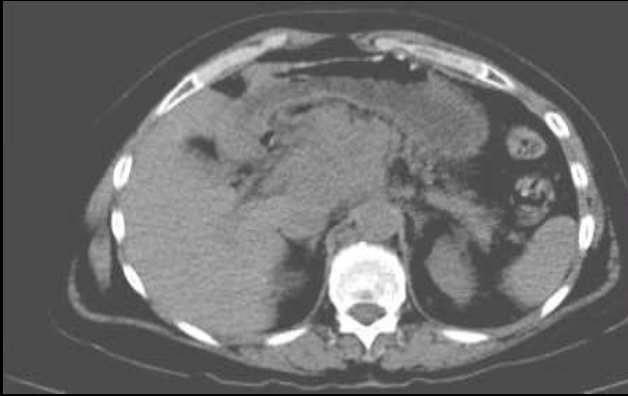


HSR Milano

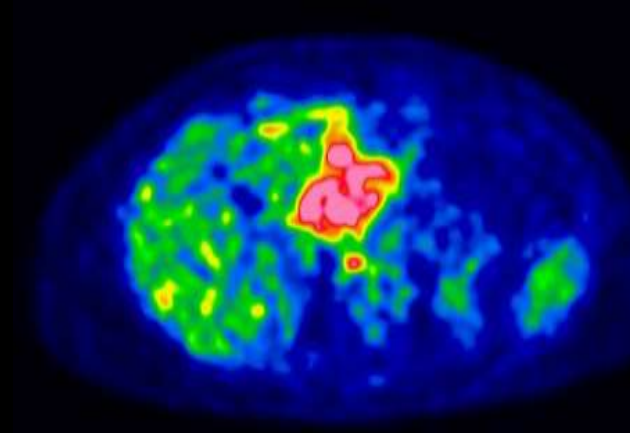
PET (nmole)

## IMAGING radionuclidi: SPET-CT/MRI e PET-CT/MRI

localizzazione precisa radioattività molecolare selezionata



TC



FDG-PET



Fase arteriosa

TC con MDC



Fase venosa

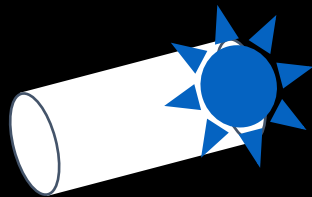
## IMAGING radionuclidi: PET

### Agenti PET in studio

$^{18}\text{F}$ -FDG : oncologia



*HSR, Milan*



Macromolecole radiofluorinate: peptidi, proteine, oligonucleotidi e nanooggetti (nanotubi, nanoantenne)

## IMAGING radionuclidi: autoradiografia quantitativa

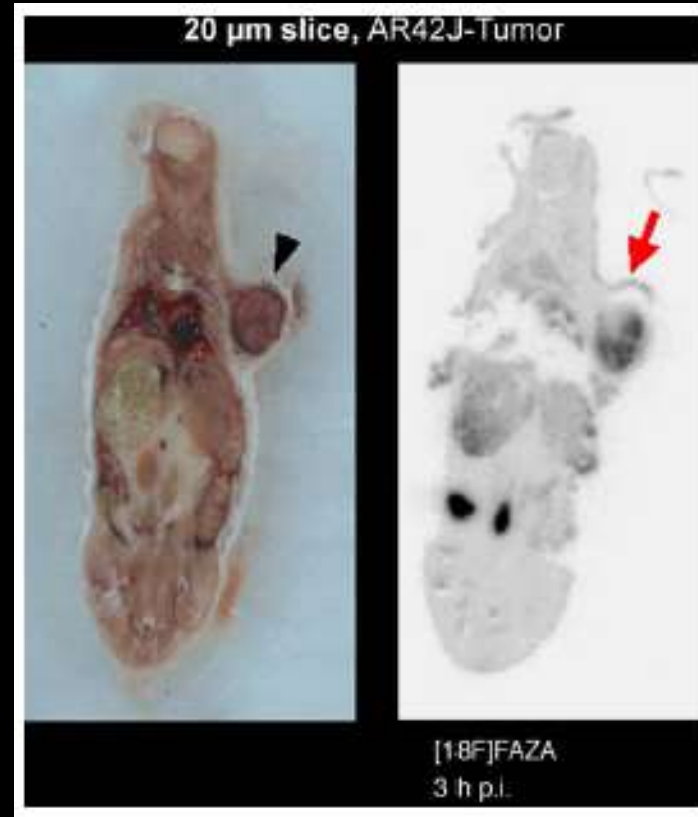


immagine autoradiografica  $^{18}\text{F}$ -FAZA (marker ipossia)

## IMAGING a risonanza magnetica

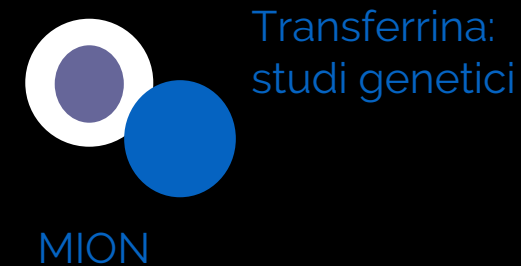
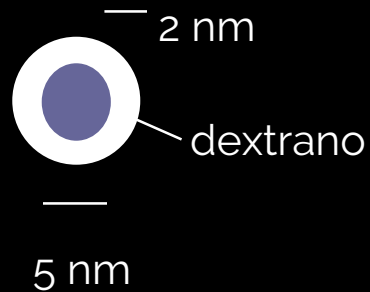
**Agenti:** paramagnetici che alterano il rilassamento dei nuclei paramagnetici delle sostanze vicine



amplificazione segnale (mmole → nano mole)

Agenti superparamagnetici (ossidi di ferro e nanocomposti di monocristallini di ossido di ferro) (MION): facilita uscita sistema vascolare

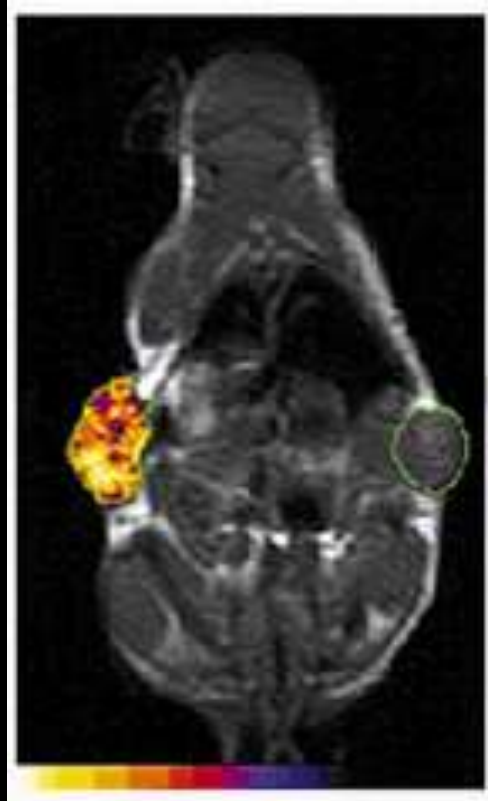
### Agenti in studio:



**Applicazioni:** Patologie oncologiche (angiogenesi e apoptosi)



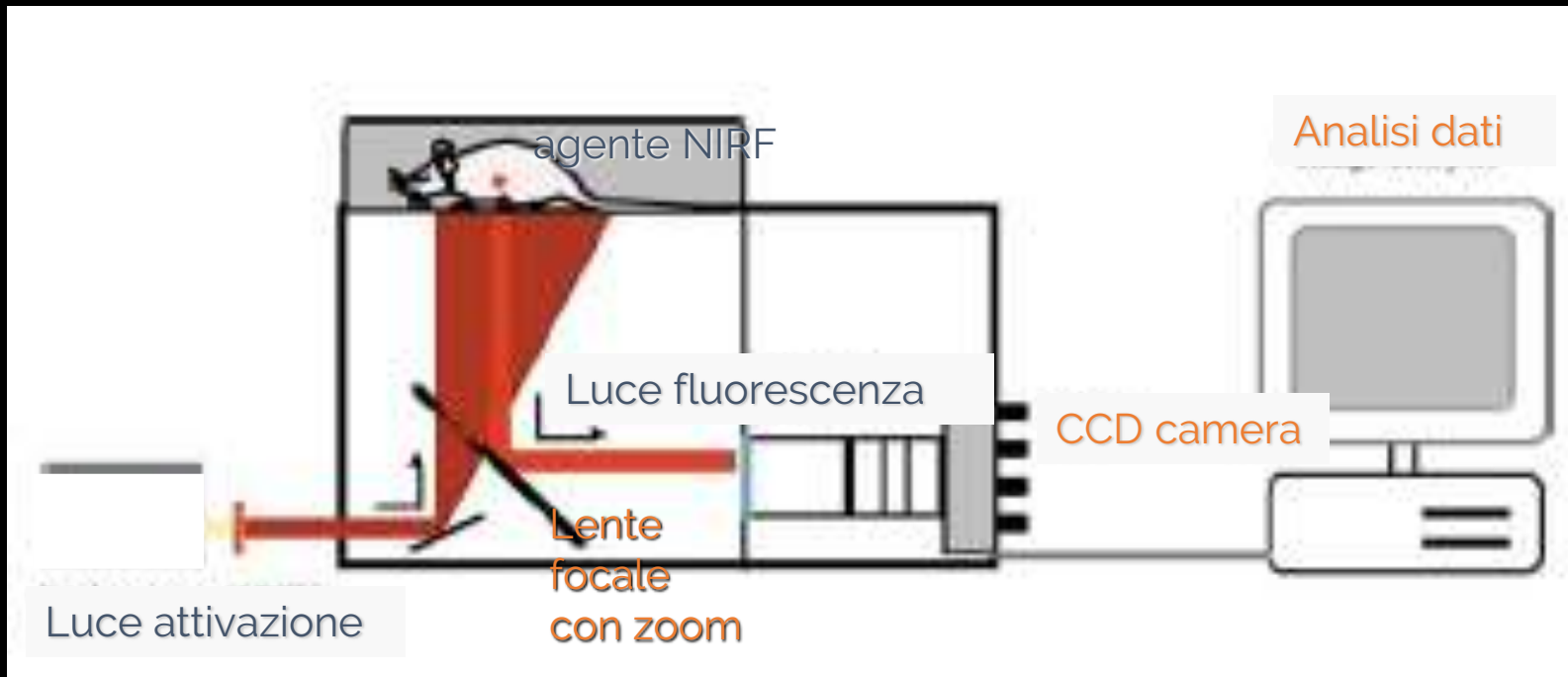
## IMAGING a risonanza magnetica



*Weissleder et al, 2000, nature Med 6:351-4*

T1 + T2 (colorata). Transferrina legata con MION.

## IMAGING OTTICO (NIRF)



Profondità tessuti: fino a 7 mm

Concentrazione biomolecole: < picomole

- cancro pelle, mammella, piccoli animale anche con procedure endoscopiche (colonscopia, broncoscopia, endoscopia, laparoscopia), valutazione contorni durante chirurgia

## Agenti NIRF:

- molecola fluorescente (es. fluorocromo verde indocianino)
- protein fluorescence gene (GFP)
- particelle fluorescenti (si legano a siti specifici in vivo)

## Agenti NIRF in studio:

-Particelle fluorescenti:

Nanocristalli semiconduttori (Semiconductor Quantum Dots (QDs) Dye Doped silica nanoparticles (DDNs) , Nano Carbon QDs

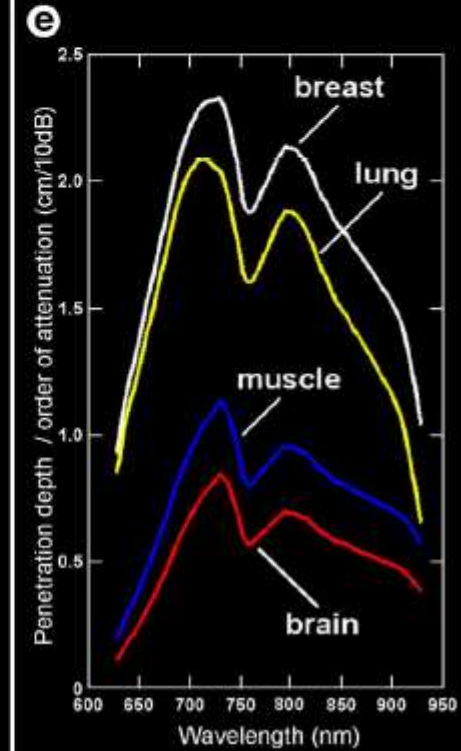
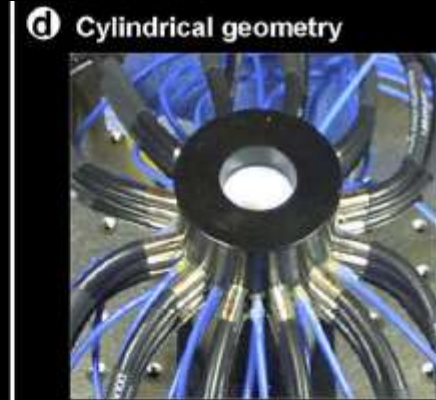
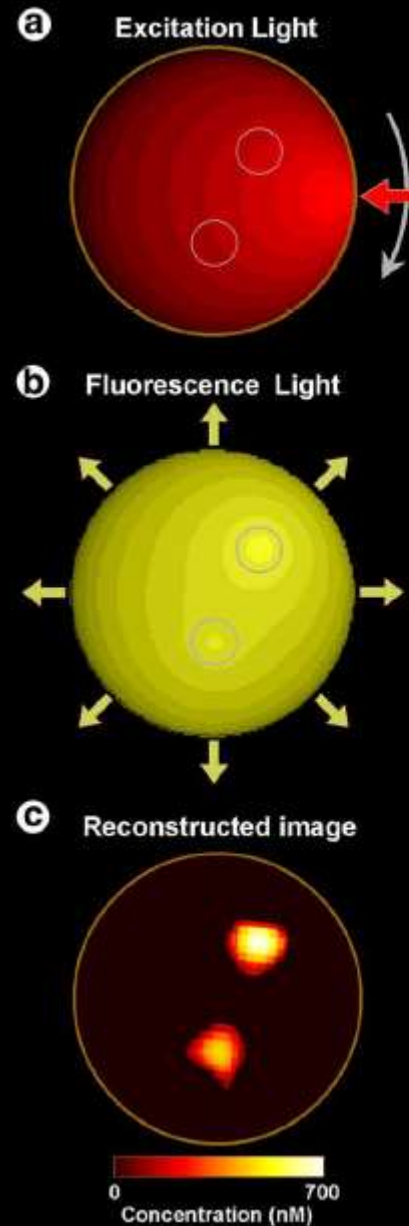
-Proteine fluorescenti (GFP):

Photo- activable protein (EosFP)

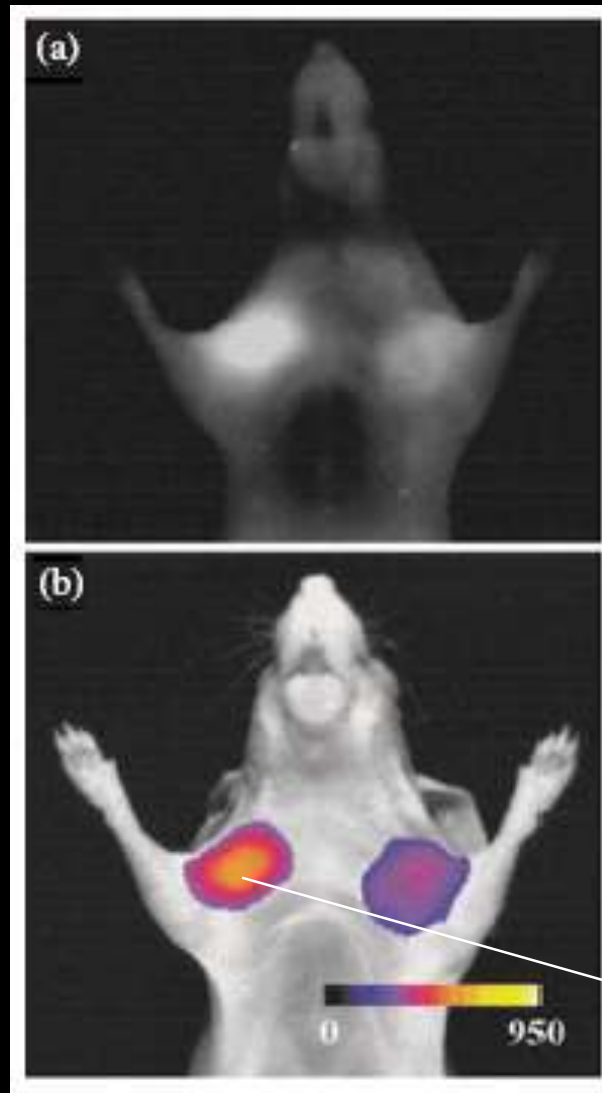
## IMAGING OTTICO 3D (NIRF)

Tomografia molecolare a fluorescenza (FMT)

- Basse concentrazioni di fluorocromi (nanomoli)
- tumori (fino a 14cm)
- caso tumore mammella (2000)



## IMAGING ottico: NIRF



a) Immagine di fluorescenza, attivazione da catepsina-B (enzima)

a) Immagine di fluorescenza dopo segmentazione a soglia

Adenocarcinoma altamente invasivo

Adenocarcinoma ben differenziato

## IMAGING ottico: bioluminescenza

Energia chimica → Energia luminosa.

### Agenti bioluminescenza:

Geni reporter per codificare enzimi che fungono da catalizzatori di reazioni di produzione di luce

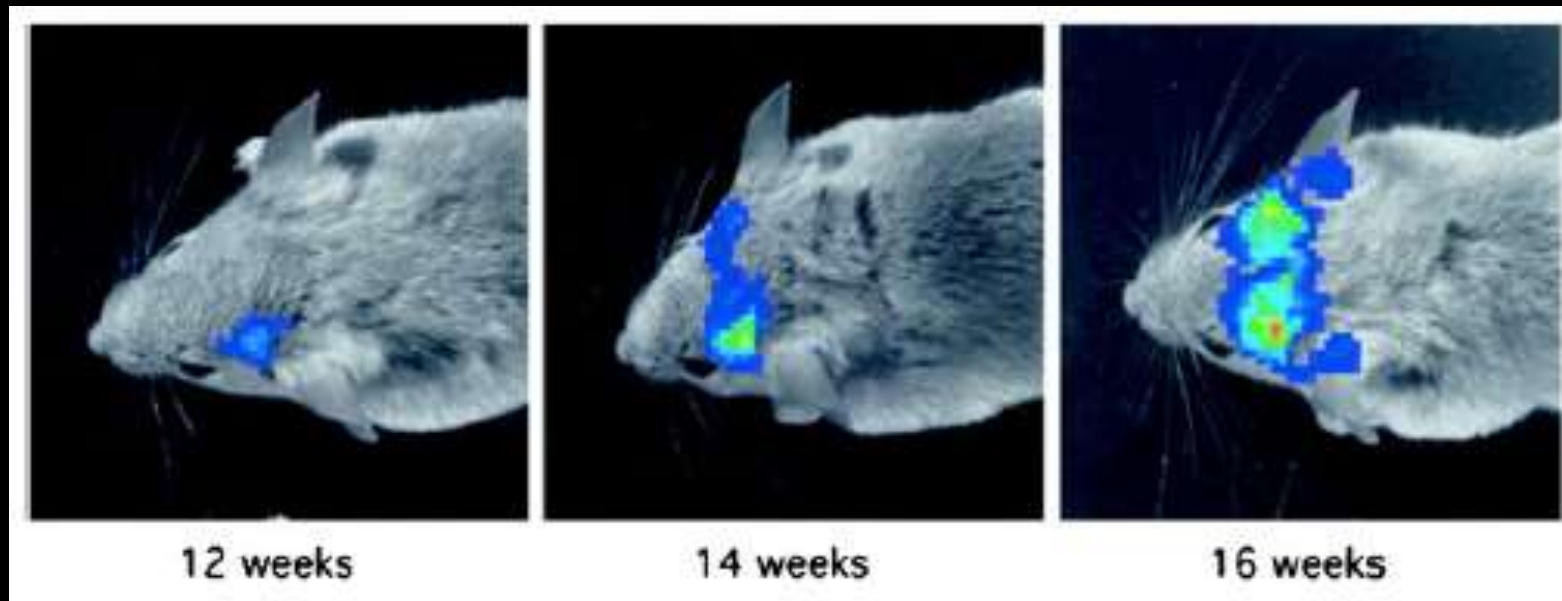
Somministrazione di luciferina, in presenza di ossigeno conversione in ossiluciferina, emissione di luce (560 nm) Enzima luciferase catalizza la reazione.

### VANTAGGI

Nessuna stimolazione tramite luce esterna

Nessun problema di profondità

Nessuna autofluorescenza



Bioluminescenza mediante gene reporter luciferase

*Vooijs et al (Cancer Res 62:1862-7 2002)*

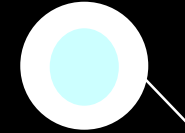
# IMAGING ultrasuoni alta frequenza

## Agenti US

microsfere riempite gas (1-10  $\mu\text{m}$ )

compressibilità e densità diversa dai tessuti adiacenti

gusci lipidi, proteine, polimeri



proteina

vibrazione per alte frequenze onde sonore

produzione di echi US

riflessività amplificata di centinaia di volte



Elevata sensibilità

Visualizza scarse quantità di agenti (picogrammi)



## IMAGING ultrasuoni alta frequenza

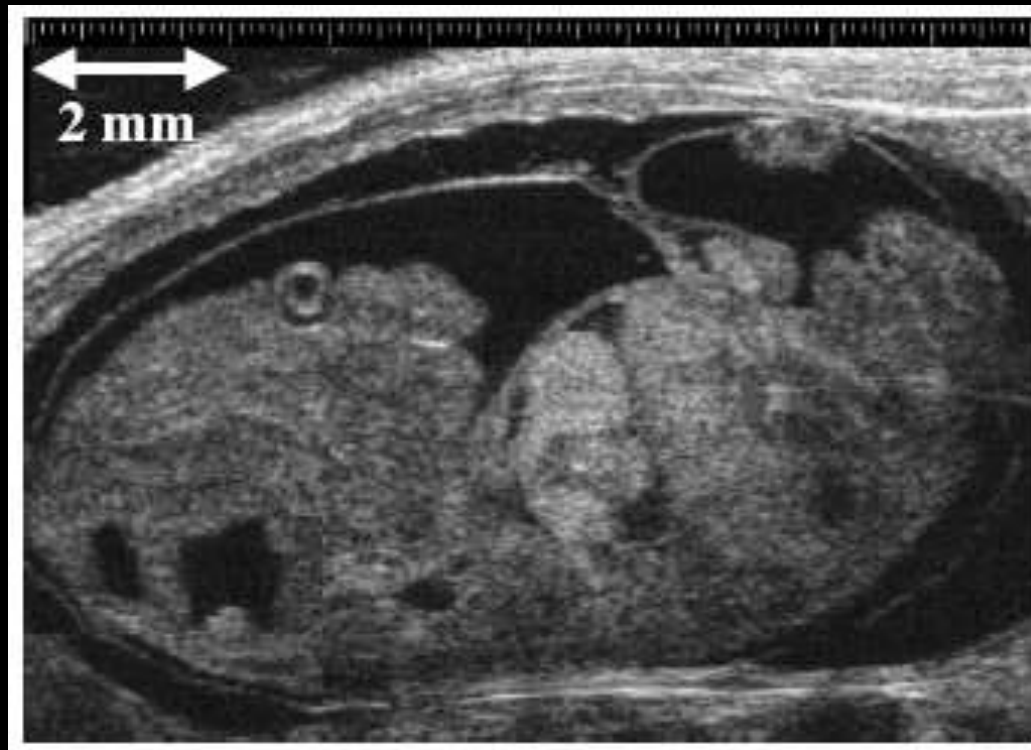
- animali
- studi infiammazione vascolare (arteriosclerosi) (microsfere non escono dai vasi sanguigni), trombi, cellule endoteliali, cellule sangue
- Studi oncologici epatici (microsfere captate per fagocitosi nelle cellule normali)
- Studi pre-natali

## Agenti US in studio

Microsfere chimicamente modificate per essere inseriti in agenti che si leghino a specifiche biomolecole (es. tramite recettori)

Nanoparticelle accoppiate con anticorpi di antigeni sovraespressi

## IMAGING ultrasuoni alta frequenza



*Foster et al. 2002 Ultrasound Med biol 28: 1165-72*

Immagine US (40Mhz) di un feto di ratto (13 giorni)

# TECNICHE IMAGING MOLECOLARE

	Sensibilità	Ris Spaz	Ris Temp	Contrasto
MRI	+	10-100 $\mu\text{m}$	msec	+++
MRS	+	1 cm	min/h	+
PET	+++	3-4 mm	min	++
SPECT	++	8-12 mm	min	+
NIRF	+++	1-2 mm	msec	+++
US	+++	50 $\mu\text{m}$	msec	++

# IMAGING MOLECOLARE: RICERCA & SVILUPPO

- IMAGING DIAGNOSTICO

Localizzazione e estensione di molecole marcate ad hoc per le patologie da studiare

- RADIOTERAPIA

Trattamento di molecole marcate specificatamente per la patologia aggiungendo un agente terapeutico sulla sonda

# AREE DI SVILUPPO

- biologia, farmacologia (nuove sonde e target molecolari)
- fisica, ingegneria (nuovi sistemi imaging molecolare)
- bionformatica (gestione e analisi dati)
- medicina (dalla ricerca alla clinica applicata)
- ambiente didattico (formazione di nuovi specialisti interdisciplinari)

# IMAGING MOLECOLARE: RICERCA & SVILUPPO

- comprensione funzionalità molecole, cellule, sistemi organici
- studio natura biologica e modificazioni patologie , valutazione interventi terapeutici
- estrazione informazioni biologiche per terapie
- studio nuovi farmaci per :      caratterizzare patologia e risposta trattamento  
  studio comportamento uomo verso animale
- misura espressione geni per efficacia di terapia genica

ASPETTATIVE

Imaging Diagnostico

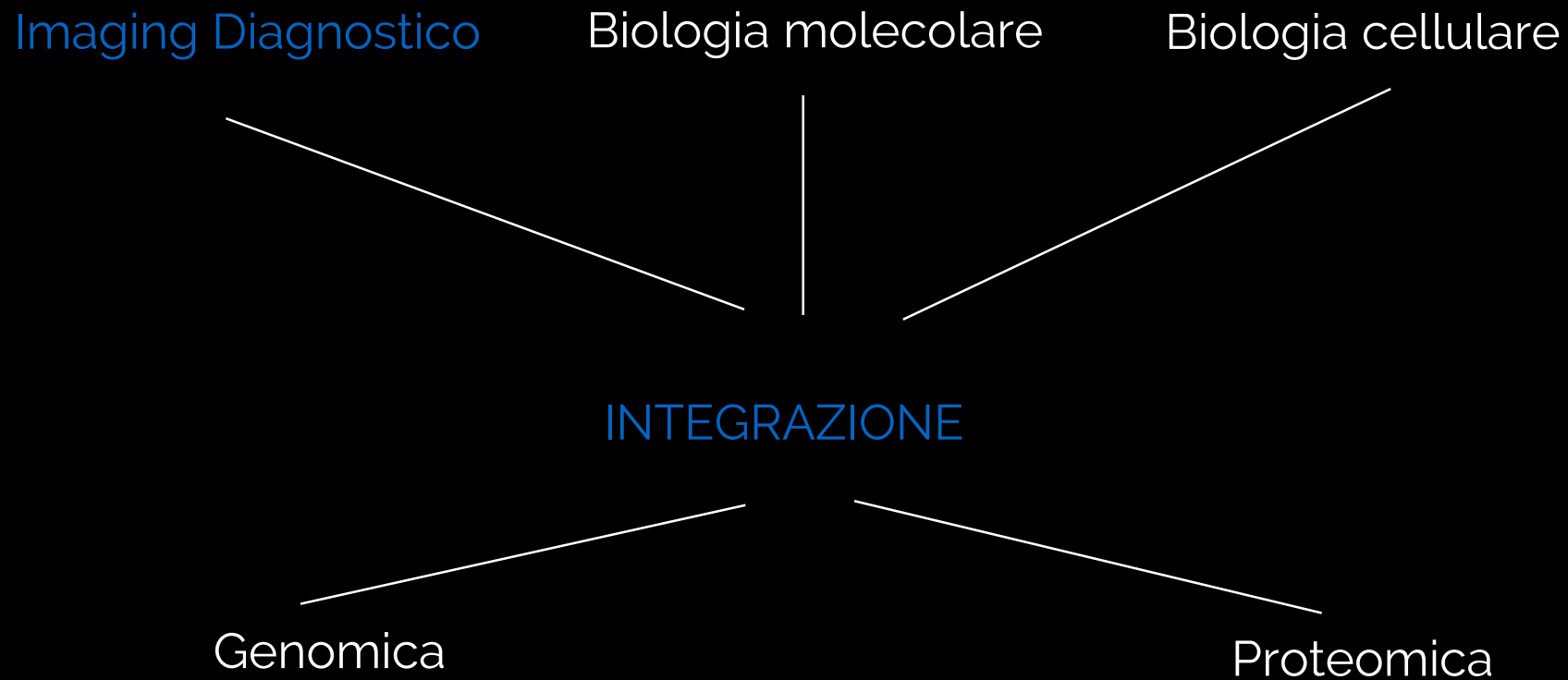
Biologia molecolare

Biologia cellulare

INTEGRAZIONE

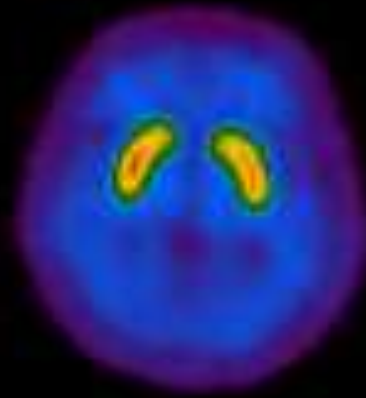
Genomica

Proteomica

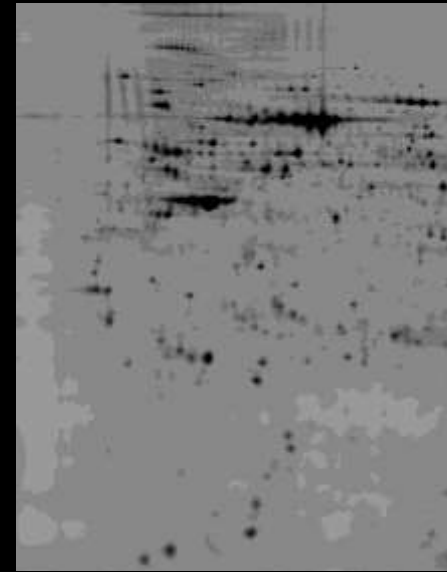




ISTOPATOLOGIA EX-  
VIVO



ISTOPATOLOGIA IN-  
VIVO



ISTOPATOLOGIA IN-  
VITRO



Genomica  
Proteomica



Nuove molecole per l'imaging

Biologia cellulare  
Biologia molecolare



Migliore interpretazione  
processi molecole

Imaging Diagnostico



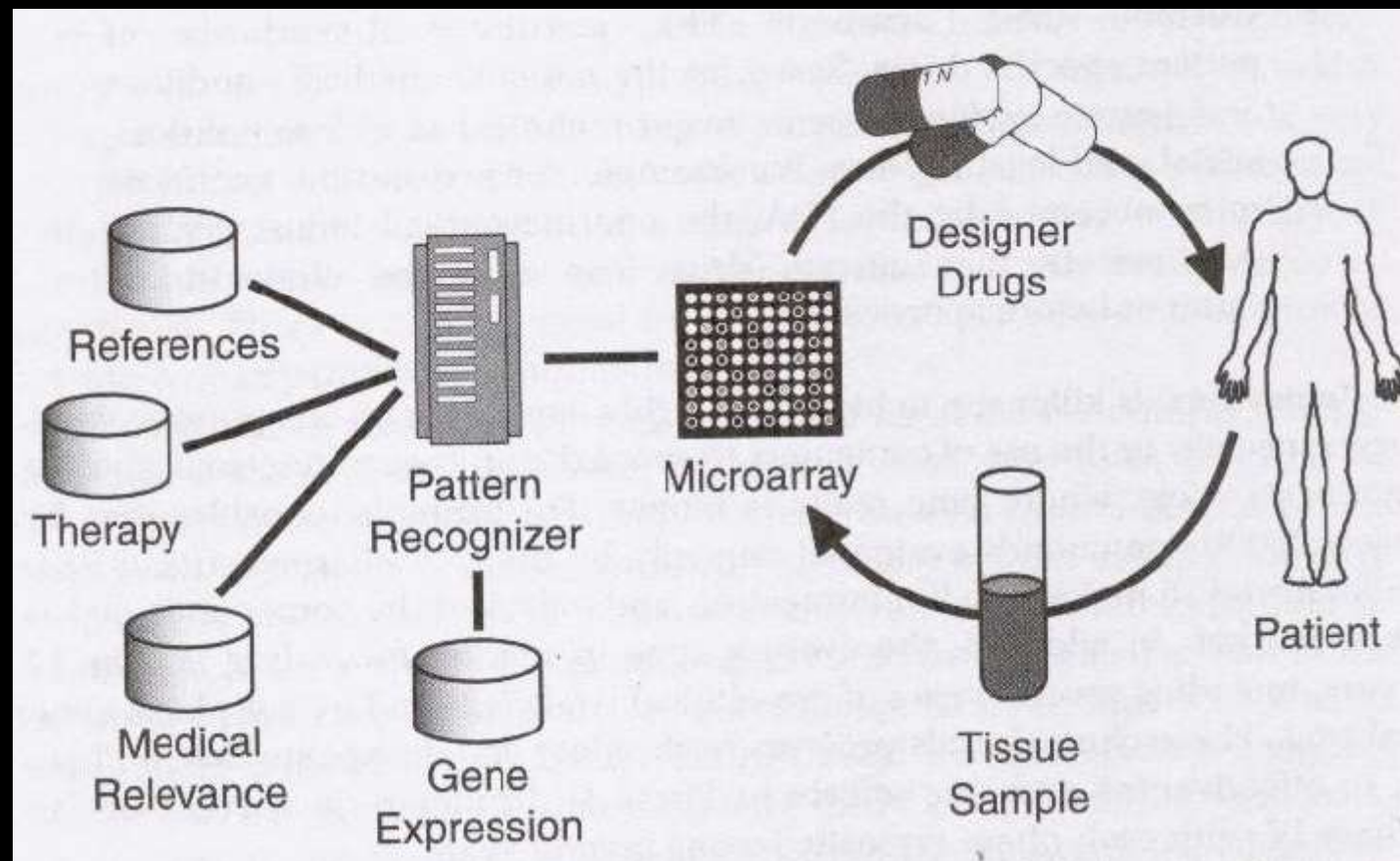
Sistemi di visualizzazione piu'  
sostanziosi

# APPROCCI ALLA LOTTA CONTRO IL CANCRO

Medicina convenzionale: terapia  
generalizzata/beneficio di pochi

Medicina innovativo: terapia  
personalizzata/beneficio di tutti

# MEDICINA PERSONALIZZATA



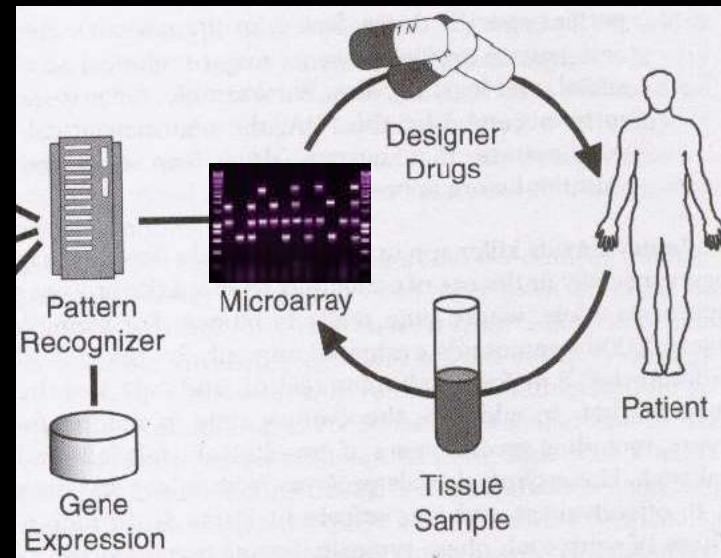
# GENOMICA

**Ipotesi:** tumore altera geni che diventano incapaci di compiere la loro normale funzione

Le alterazioni sono graduali con la malignità della malattia (geni accesi/geni spenti)

**Geni coinvolti nel cancro:**

Oncogeni, oncosoppressori, riparazione DNA



RISULTATI: elevato livello di individualita' dei profili di espressione genica



Caratterizzazione molecolare singolo  
tumore



Gestione clinica malattia



Malattia non  
disseminata (terapia)

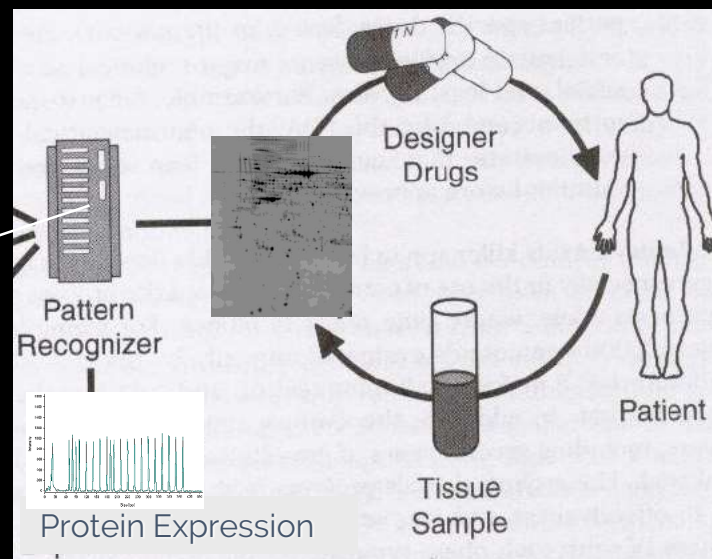


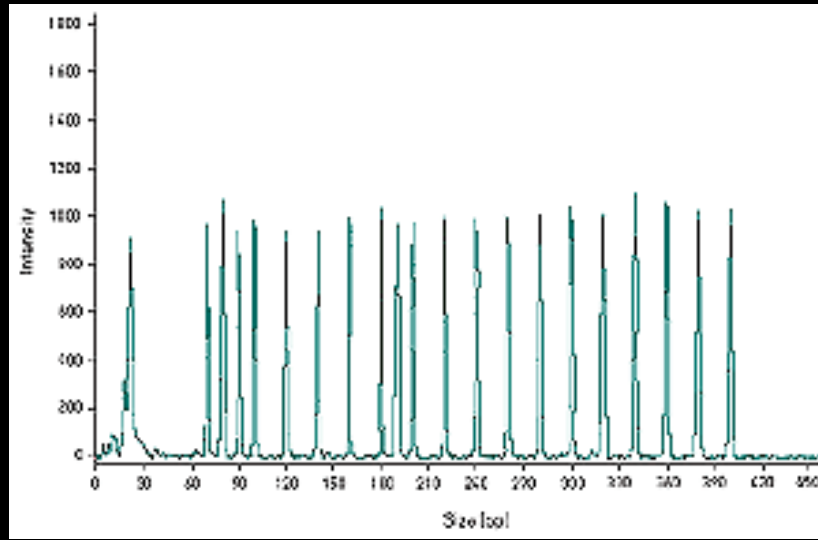
Malattia già disseminata  
(terapia adiuvante)

# PROTEOMICA

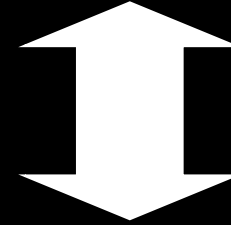
Ipotesi: tumore rilascia specifiche proteine nel corpo

Spettrofotometro: profilo proteico (proteoma): proteine presenti nel siero da sangue venoso

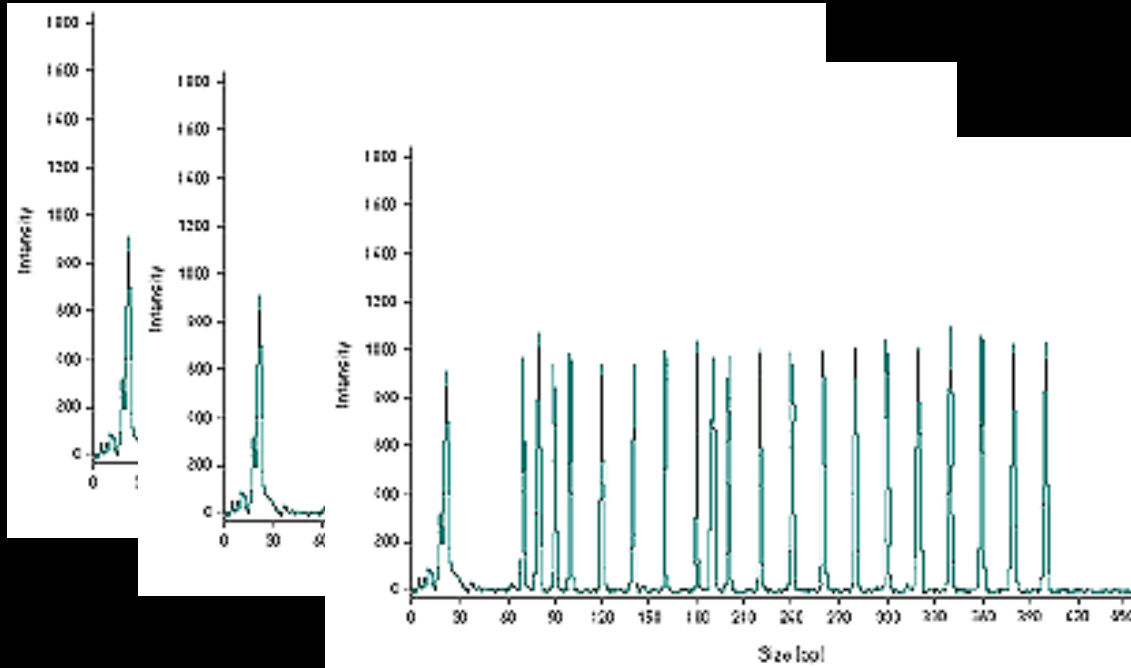




Proteoma di donna malata



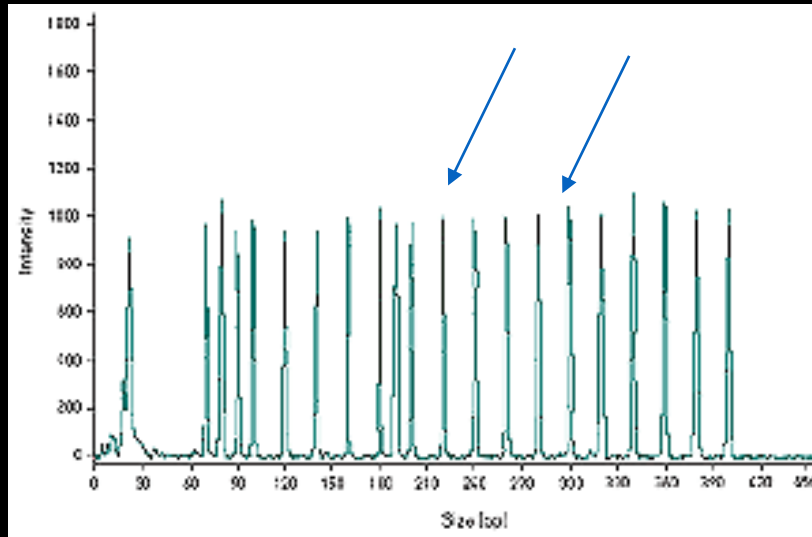
Confronto  
statistico



Proteoma di donne  
sane

## RISULTATI:

proteine caratterizzanti: marker  
proteici



Belluco et al.

Profilo siero proteico: tumore mammella sotto centimetro e senza metastasi

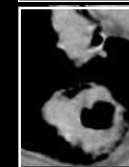
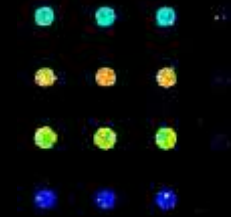
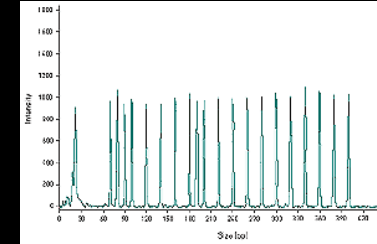
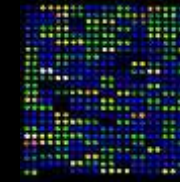
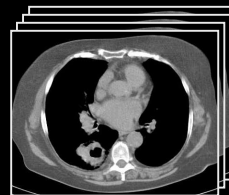
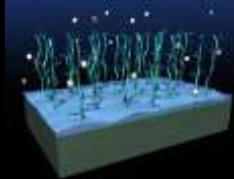
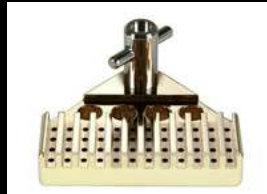
Rimozione: sopravvivenza al 98% a 10 anni



LA SFIDA: Determinare caratteristiche genetiche/ biochimiche dei tessuti viventi in modo non invasivo

Correlazione sistematica?

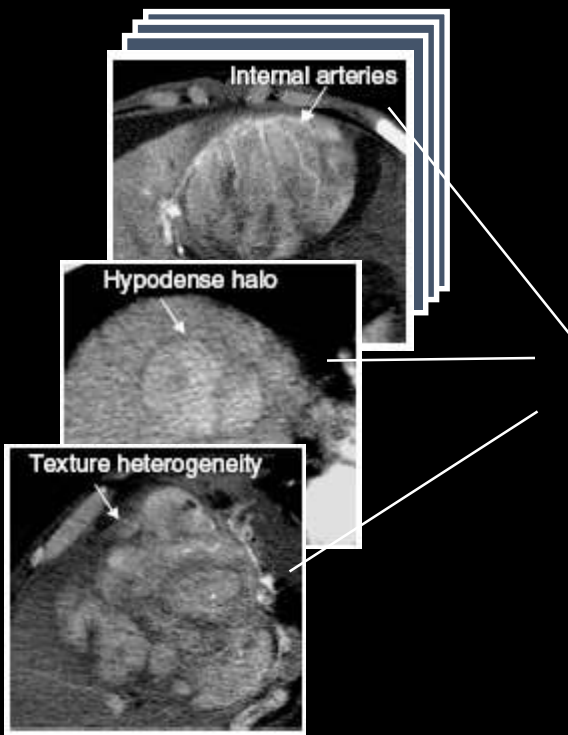
*In vivo* dynamic imaging



Combinazione di 28 tratti di immagini CT di HCC ha ricostruito 78% dei profili di espressione genica



Proliferazione cellule, funzioni sintetiche del fegato, valori prognostici

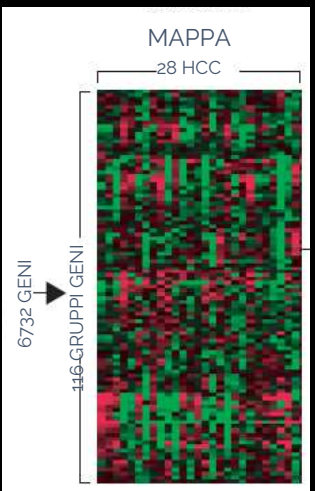


138 "tratti" CT

Combinazioni, relazioni logiche



6732 geni

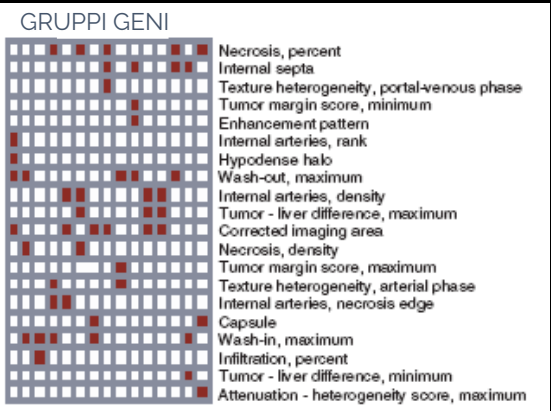


RISULTATI

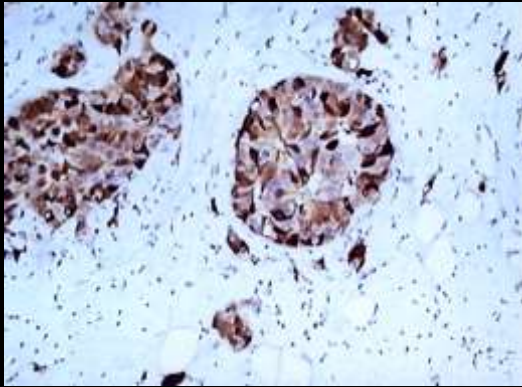
28 tratti informativi HCC

116 gruppi di geni con variazioni coerenti

Ogni gruppo di gene associato con combinazioni di tratti



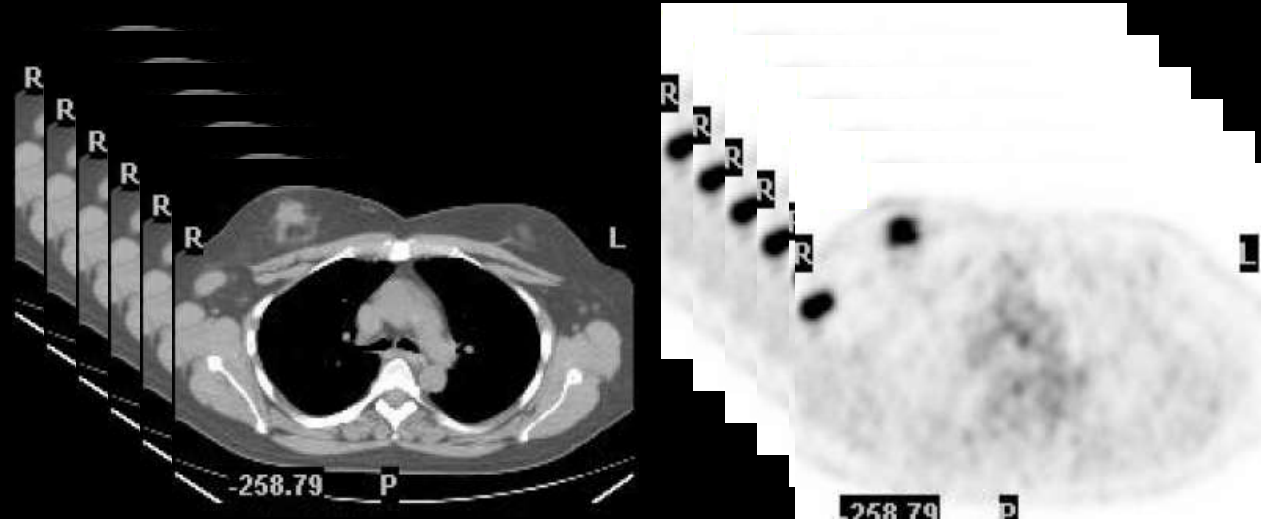
# INTEGRATION OF PROTEOMIC, GENOMIC and IMAGING data



IHC carcinoma  
mammella



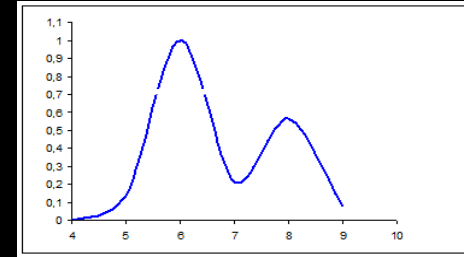
Proteine espresse  
carcinoma mammella



$^{18}\text{F}$ -PET/CT metabolismo  
glucosio carcinoma mammella

# QUANTIFICAZIONE PET

ROI

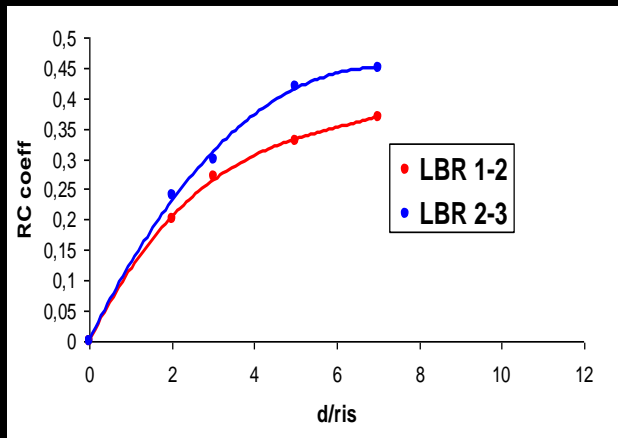


Parametri quantitativi: SUV

Accuratezza quantificazione: PVE

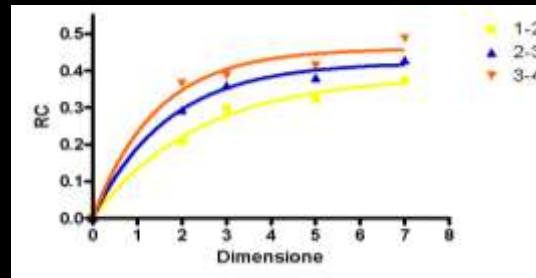
# PVE correction

Metodo sperimentale



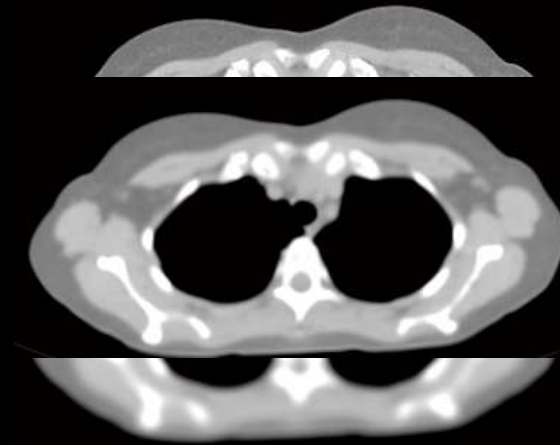
Soret M. et al., Journal Nuc.Med.,2007

Metodo Monte Carlo



Castiglioni et al., IEEE MIC 2006

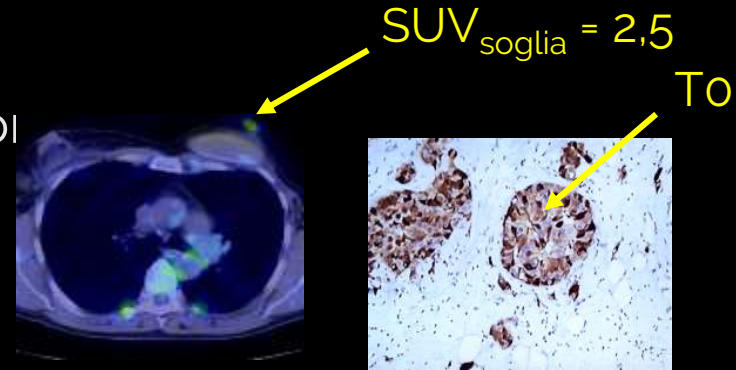
Metodo multirisoluzione



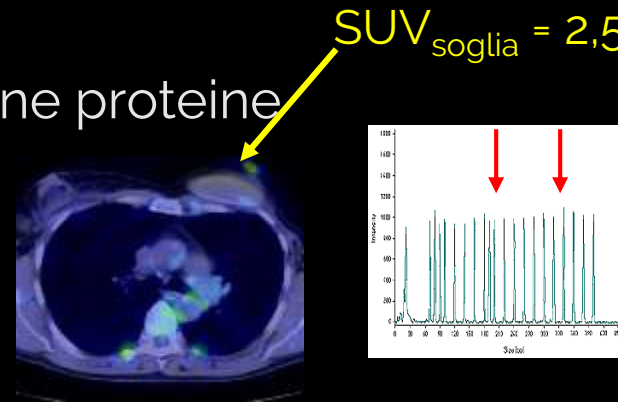
Bouisson N. et al., Phys. Med Biol., 2006

# INTEGRAZIONE

Positività PET vs Aggressività Tumori



Positività PET vs Livelli di espressione proteina



Sviluppo protocolli clinici per terapia personalizzata

## IMPATTO DIAGNOSTICA:

estrazione routinaria pattern profili genici /  
estratti proteici



Eziologia, prognosi, risposta terapia del tumore



Terapia personalizzata