

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

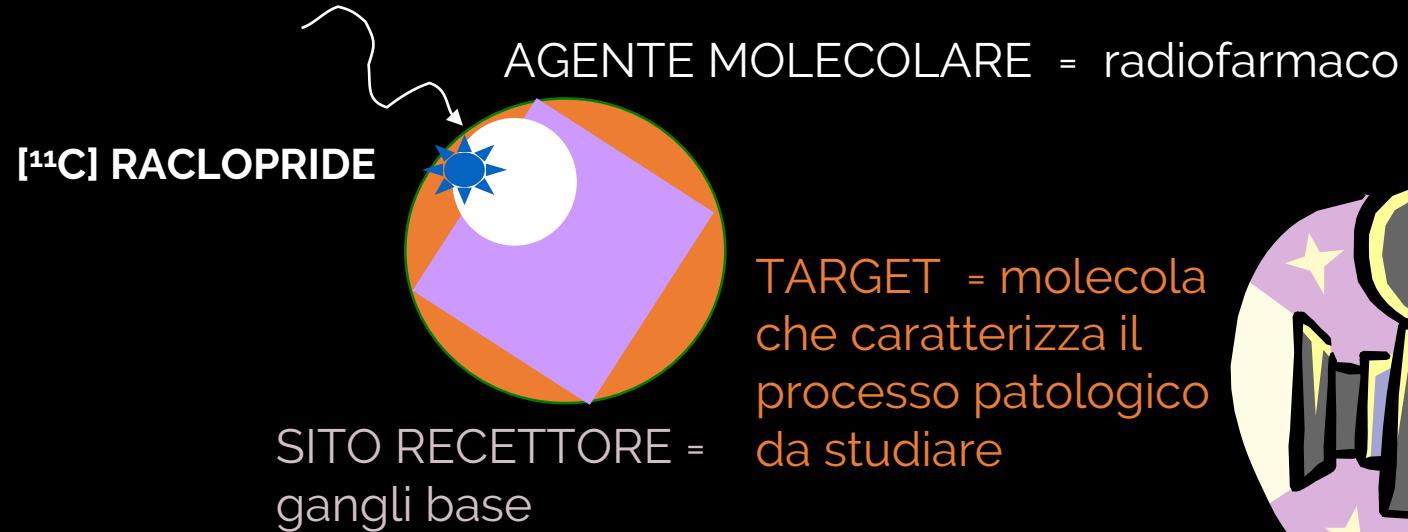
IMAGING MOLECOLARE

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

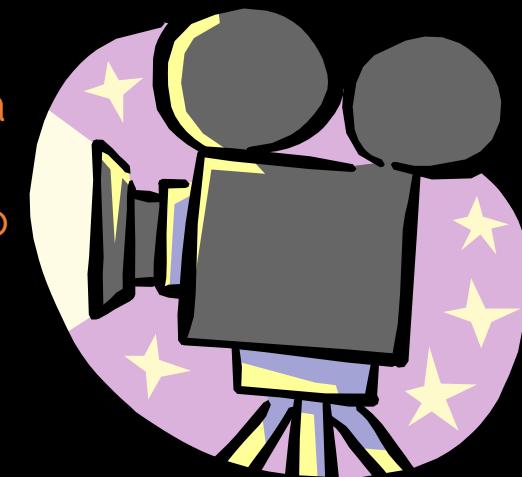
AGENTE IMAGING MOLECOLARE



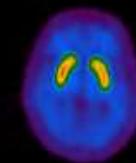
METODO DI
VISUALIZZAZIONE



TARGET = molecola
che caratterizza il
processo patologico
da studiare



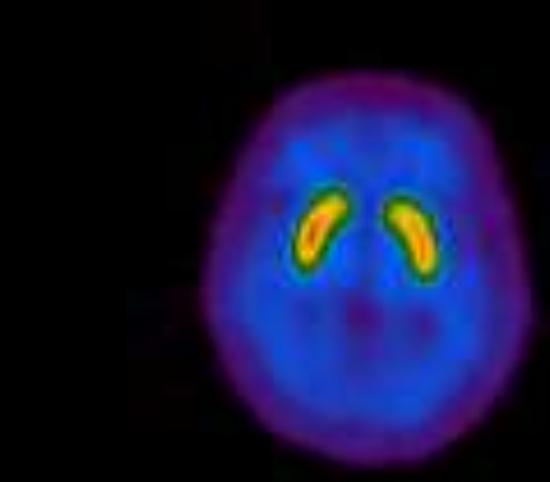
TOMOGRAFIA AD
EMISSIONE DI
POSITRONI (PET)





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

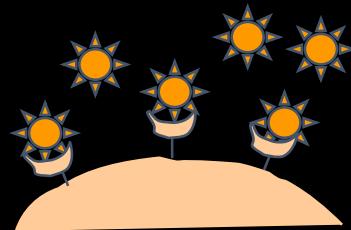
AGENTI IMAGING MOLECOLARE

TIPO A legato alla molecola target 1:1

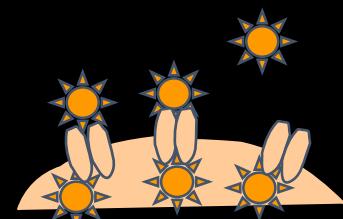
TIPO B accumulato dalla molecola target 1:1000

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

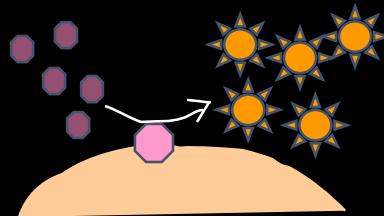
A. Bassa sensibilità,
alto rumore



A. Alta sensibilità,
alto rumore

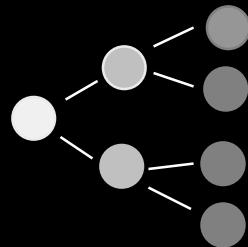
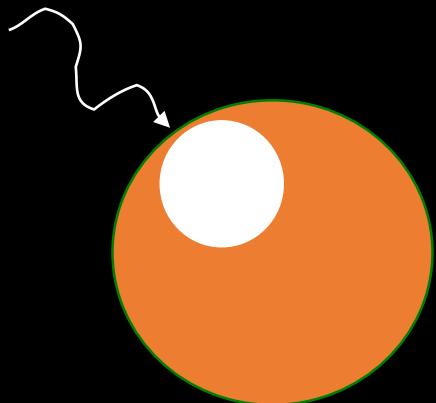


C. Alta sensibilità, basso
rumore



IMAGING MOLECOLARE: strategie

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



Amplificazione
segnaile

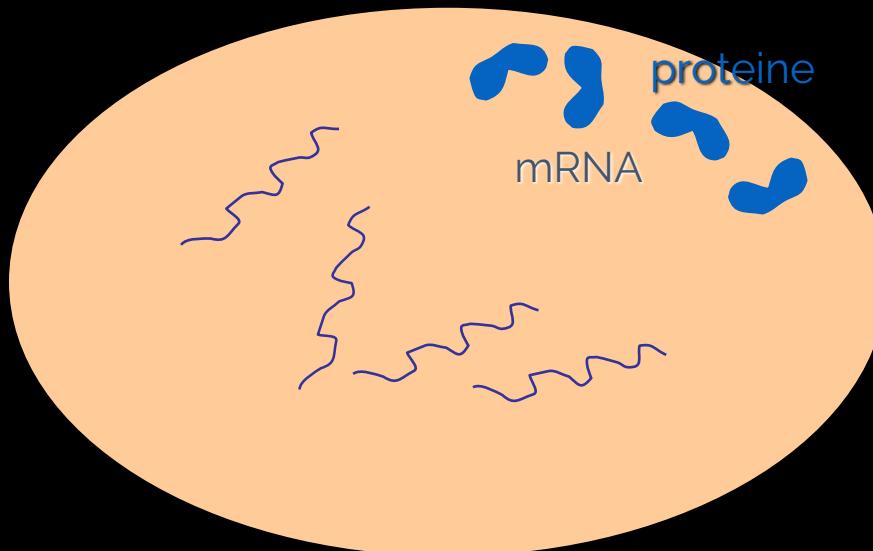


TARGET IMAGING MOLECOLARE

Prodotti espressione genica

Prodotti trascritti DNA: mRNA (genomic imaging)

Prodotti trascritti mRNA : proteina (molecular imaging)



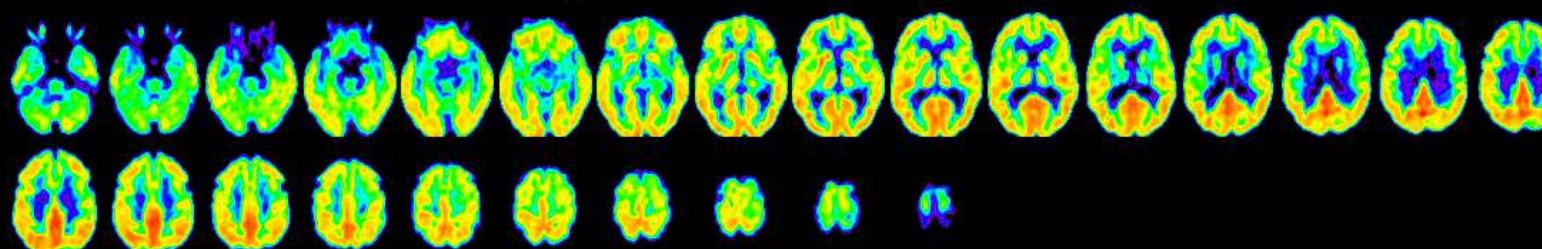
IMAGING radionuclidi: SPET e PET

Agenti: radiofarmaci

biomolecole marcate con radioisotopi emittenti positroni/ fotoni singoli

Fronto-Temporal Dementia

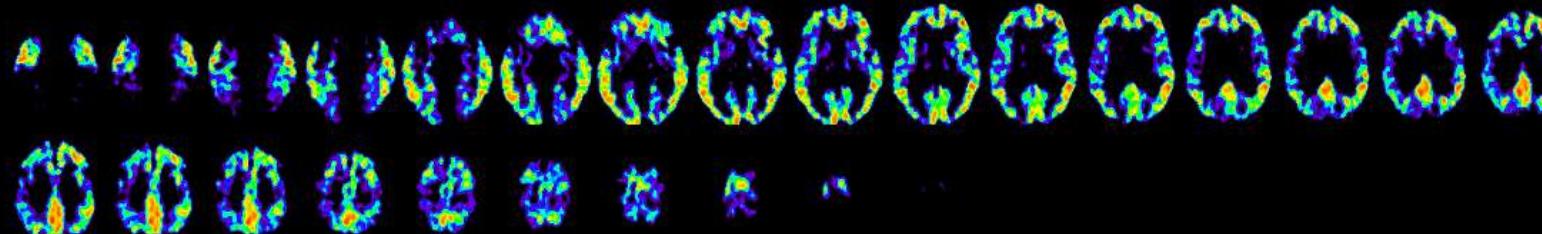
(18F) FDG (cerebral glucose metabolism)



P02026

R

(11C) MDL (5HT_{2A} receptor density)

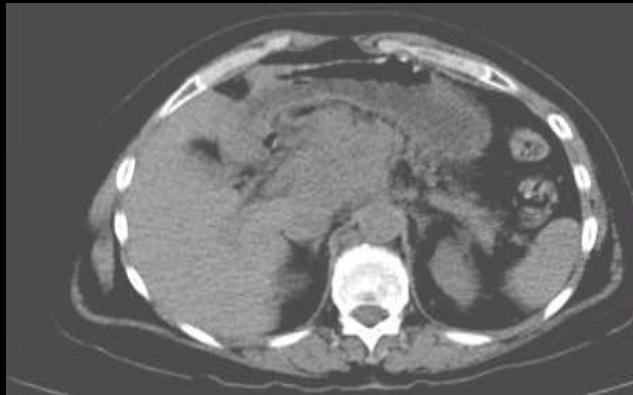


HSR Milano

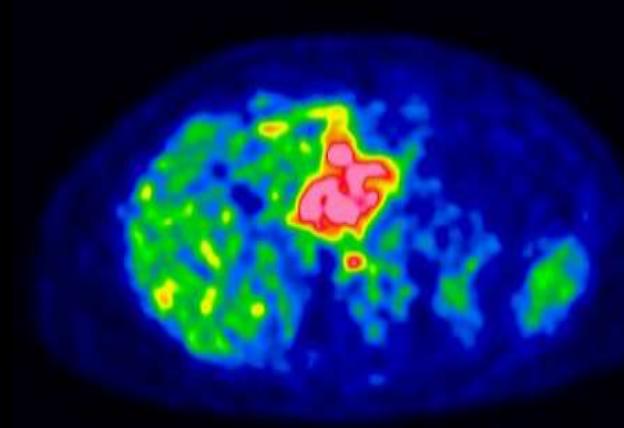
PET (nmole)

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

localizzazione precisa radioattività molecolare selezionata



TC



FDG-PET



TC con MDC

Fase arteriosa



Fase venosa

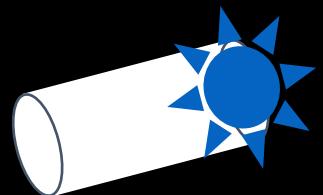
IMAGING radionuclidi: PET

Agenti PET in studio

^{18}F -FDG : oncologia



HSR, Milan



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

IMAGING radionuclidi: autoradiografia quantitativa

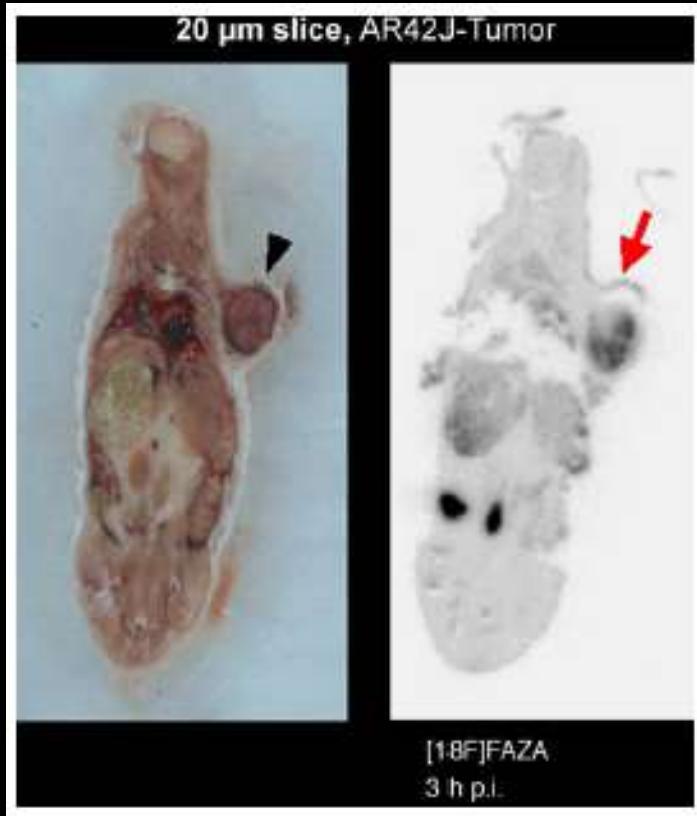


immagine autoradiografica ¹⁸F-FAZA (marker ipossia)

IMAGING a risonanza magnetica

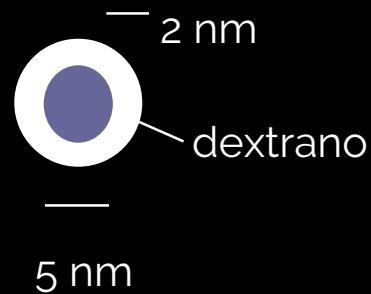
Agenti: paramagnetici che alterano il rilassamento dei nuclei paramagnetici delle sostanze vicine



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:



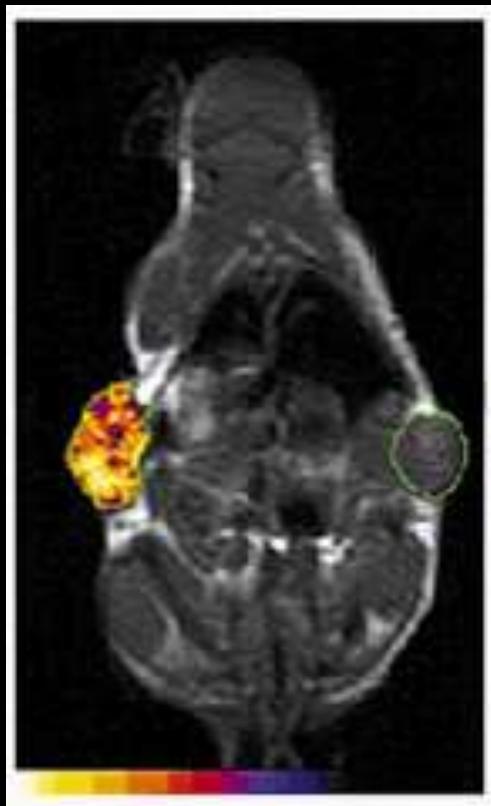
Peptide TAT:
studi staminali



Transferrina:
studi genetici

Applicazioni: Patologie oncologiche (angiogenesi e apoptosis)

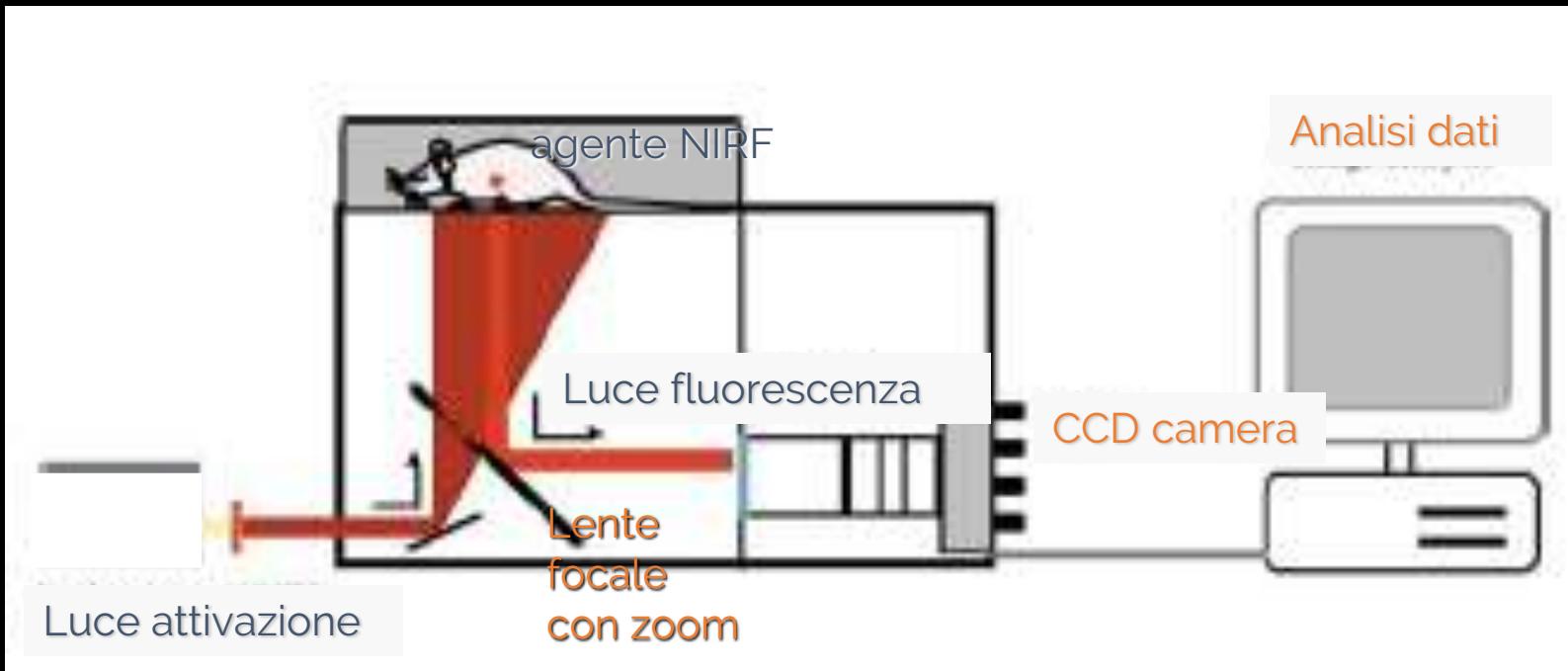
IMAGING a risonanza magnetica



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 animali anche con procedure endoscopiche (colonoscopia, 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

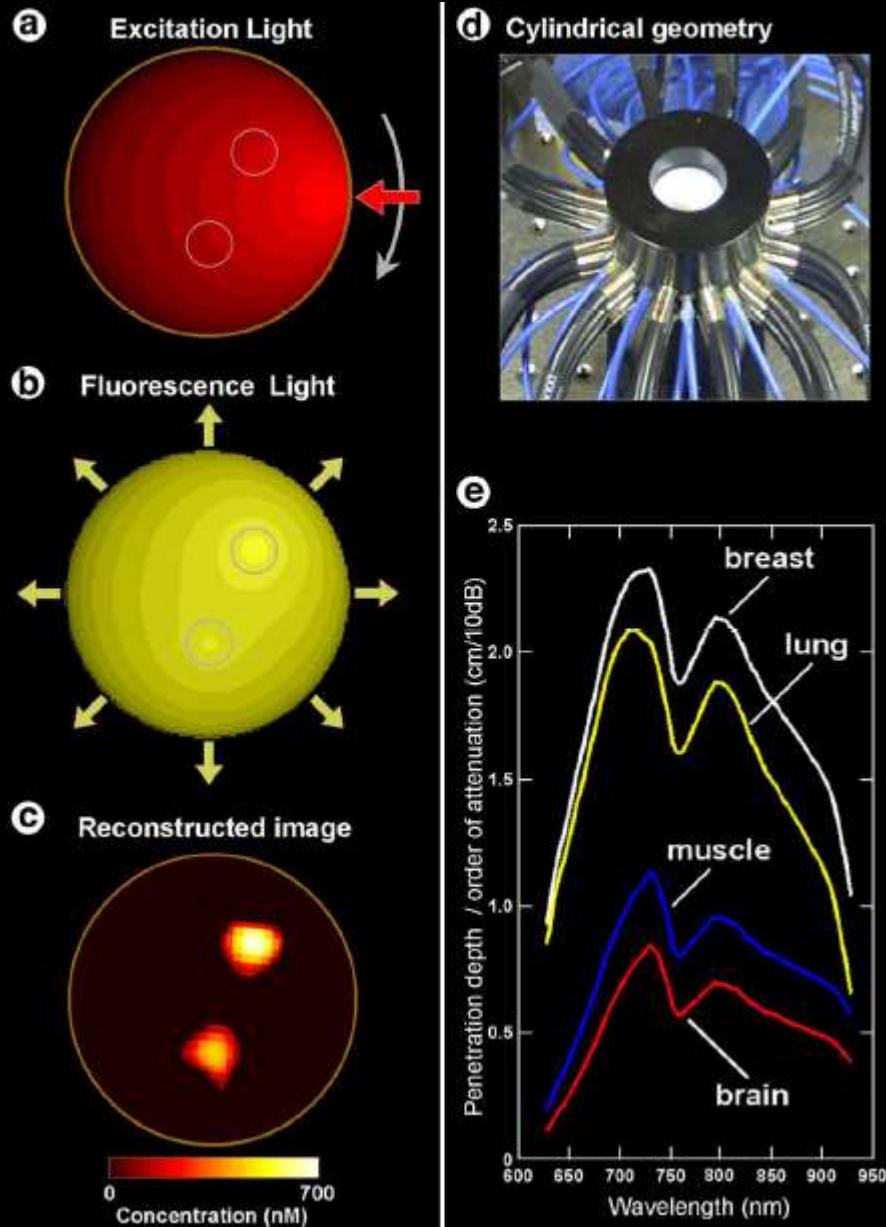
-Proteine fluorescenti (GFP):

Photo- activable protein (EosFP)

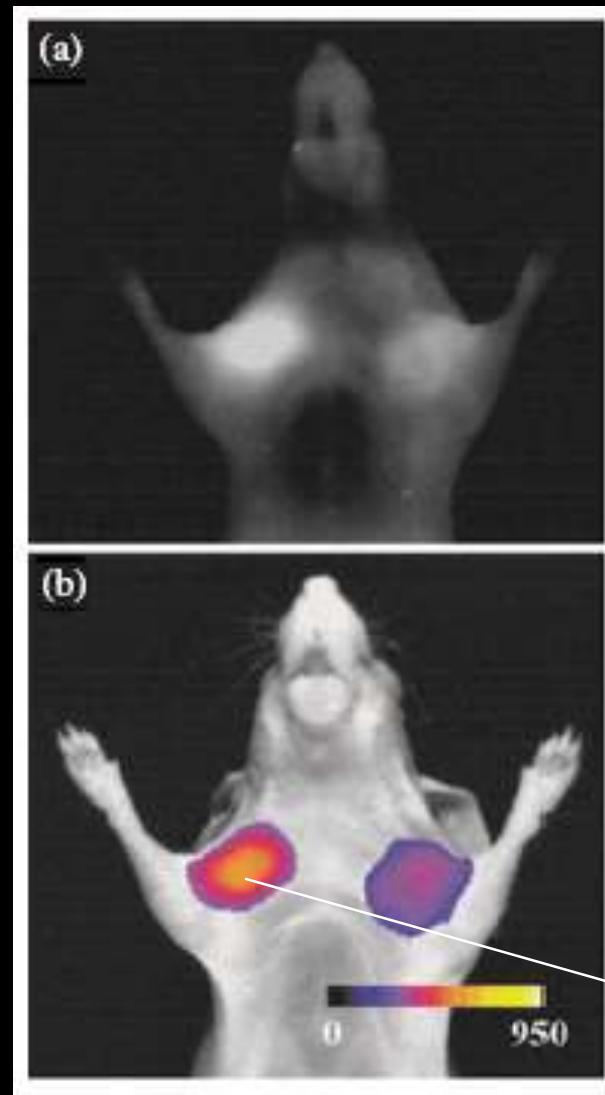
IMAGING OTTICO 3D (NIRF)

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

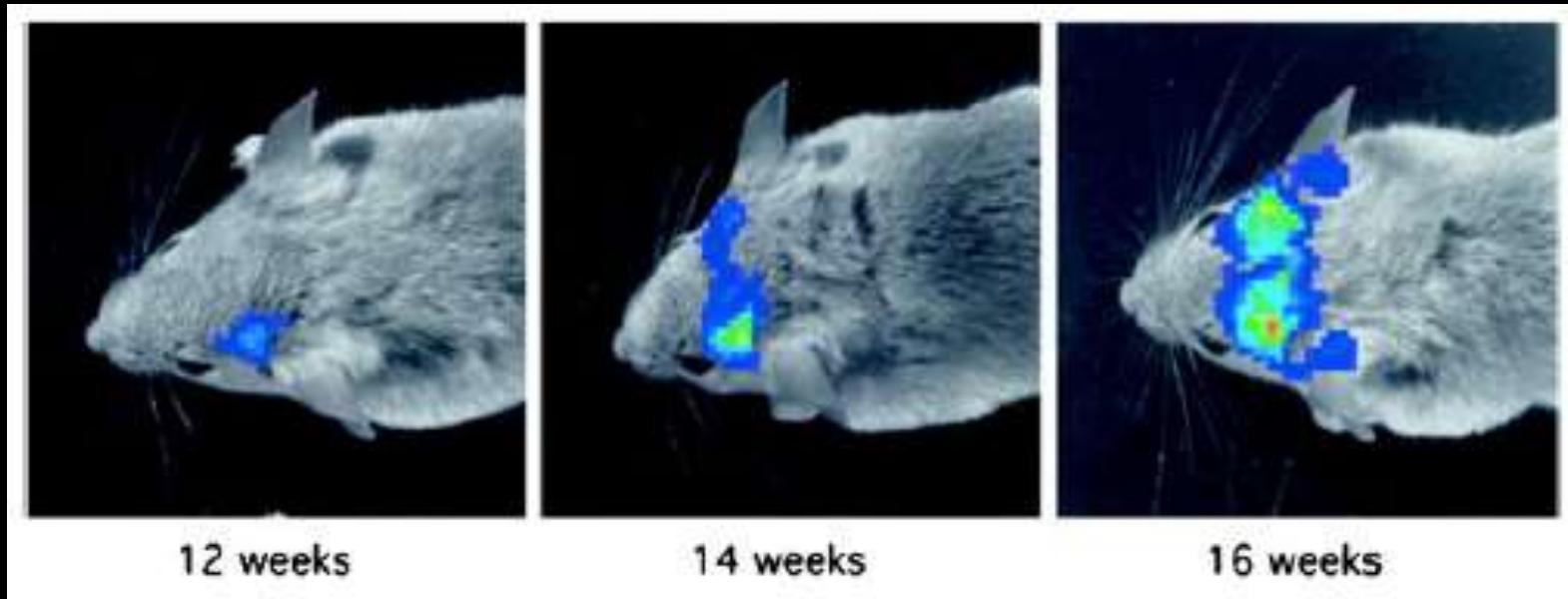
Somministrazione di luciferina, in presenza di ossigeno conversione in ossiluciferina, emissione di luce (560 nm) Enzima luciferase catalizza la reazione.

VANTAGGI

Nessuna stimolazione tramite luce esterna

Nessun problema di profondità

Nessuna autofluorescenza



Bioluminescenza mediante gene reporter luciferase

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

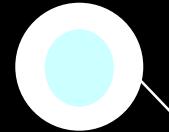
IMAGING ultrasuoni alta frequenza

Agenti US

microsfere riempite gas (1-10 μm)

compressibilità e densità diversa dai tessuti adiacenti

gusci lipidici, 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

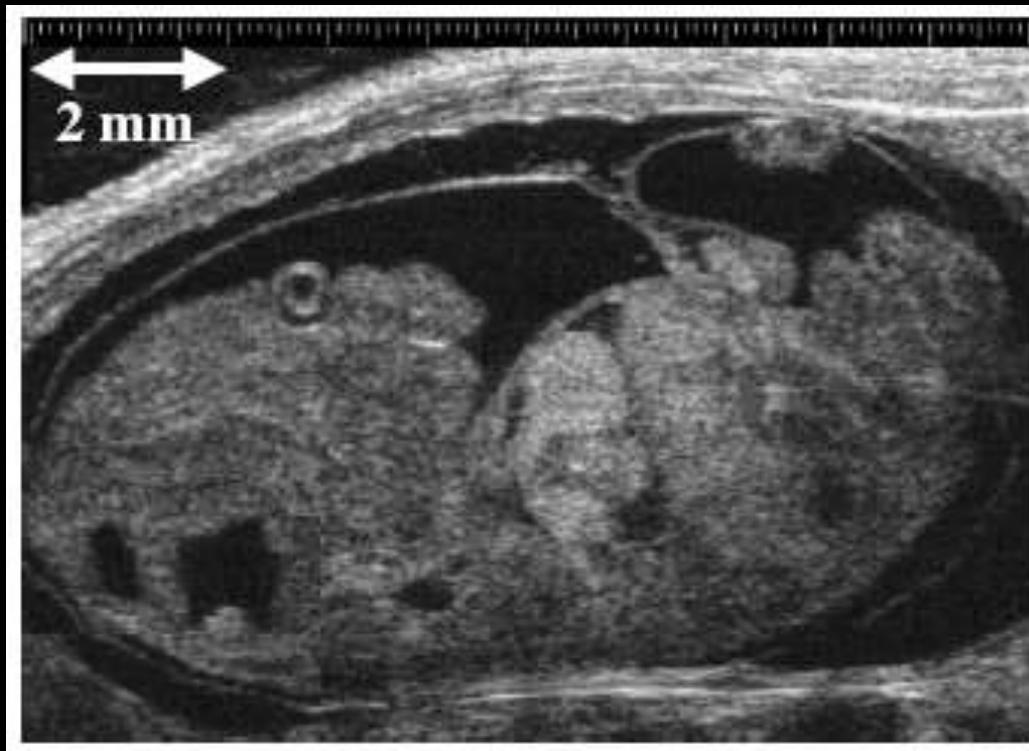
- animali
- studi infiammazione vascolare (arteriosclerosi) (microsfere non escono dai vasi sanguigni), trombi, cellule endoteliali, cellule sangue
- Studi oncologici epatici (microsfere captate per fagocitosi nelle cellule normali)
- Studi pre-natali

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 µm	msec	+++
MRS	+	1 cm	min/h	+
PET	+++	3-4 mm	min	++
SPECT	++	8-12 mm	min	+
NIRF	+++	1-2 mm	msec	+++
US	+++	50 µm	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

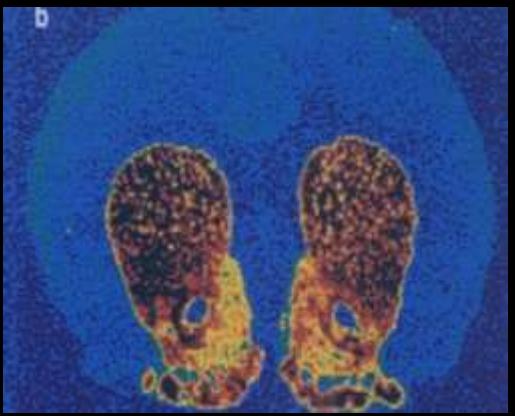
Biologia molecolare

Biologia cellulare

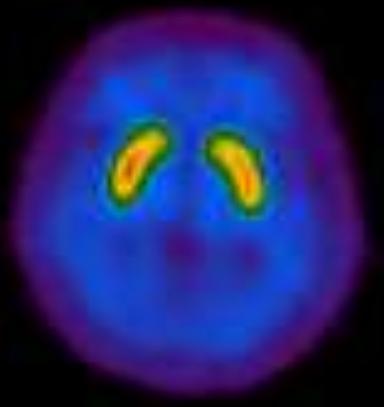
INTEGRAZIONE

Genomica

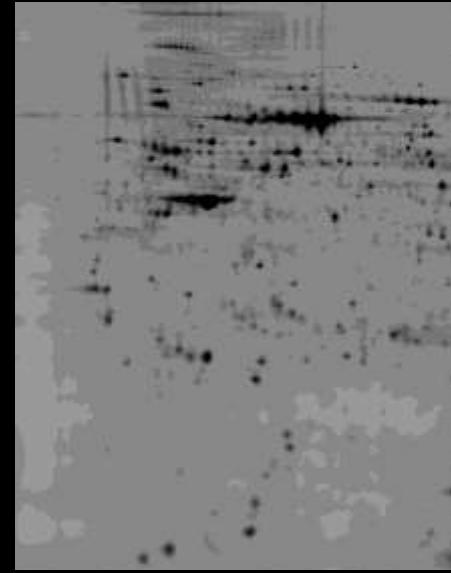
Proteomica



ISTOPATOLOGIA EX-
VIVO



ISTOPATOLOGIA IN-
VIVO



ISTOPATOLOGIA IN-
VITRO

Genomica



Nuove molecole per l'imaging

Proteomica

Biologia cellulare



Migliore interpretazione
processi molecole

Biologia molecolare

Imaging Diagnostico



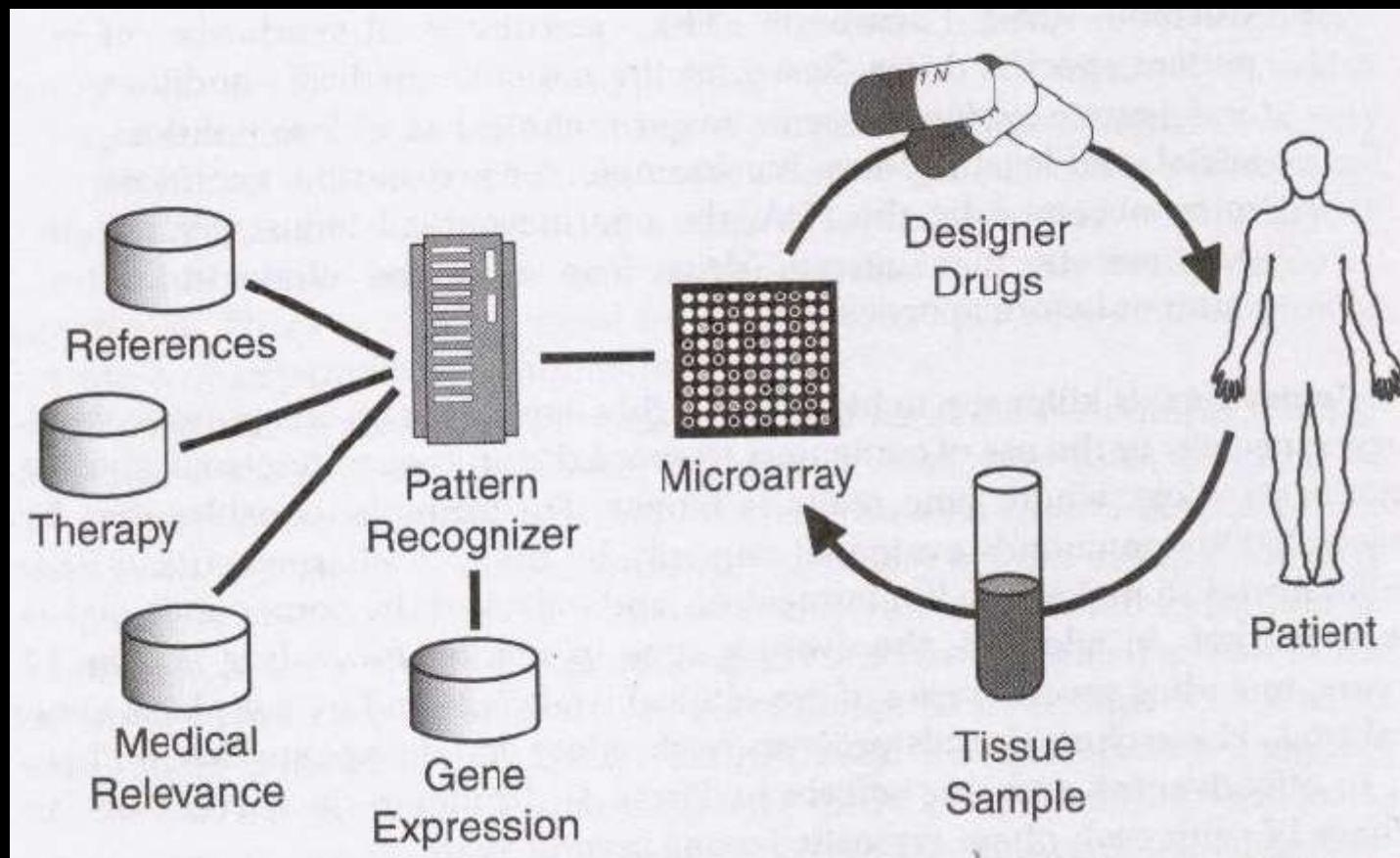
Sistemi di visualizzazione piu'
sofisticati

APPROCCI ALLA LOTTA CONTRO IL CANCRO

Medicina convenzionale: terapia generalizzata/beneficio di pochi

Medicina innovativo: terapia personalizzata/beneficio di tutti

MEDICINA PERSONALIZZATA

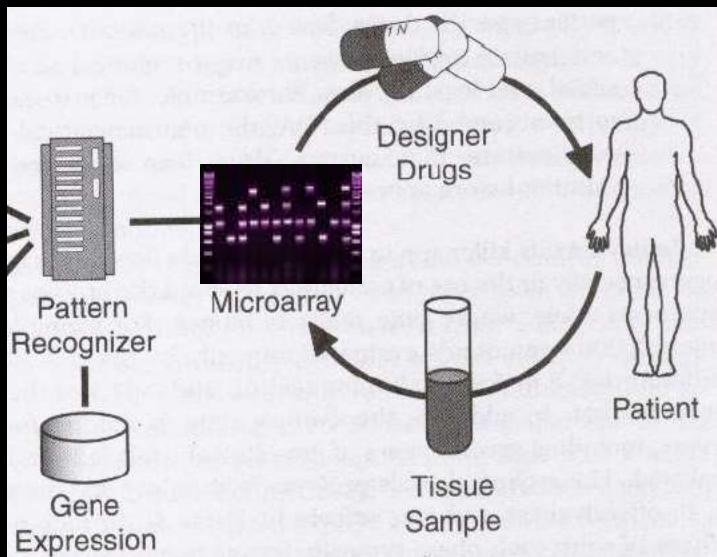


GENOMICA

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



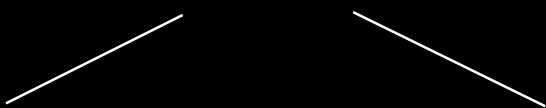
RISULTATI: elevato livello di individualita' dei profili di espressione genica



Caratterizzazione molecolare singolo
tumore



Gestione clinica malattia



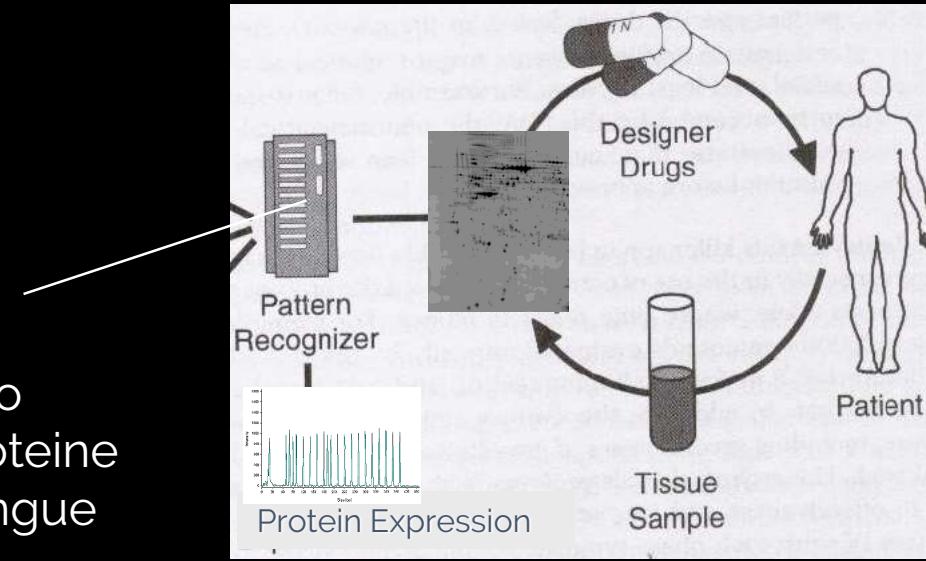
Malattia non
disseminata (terapia)

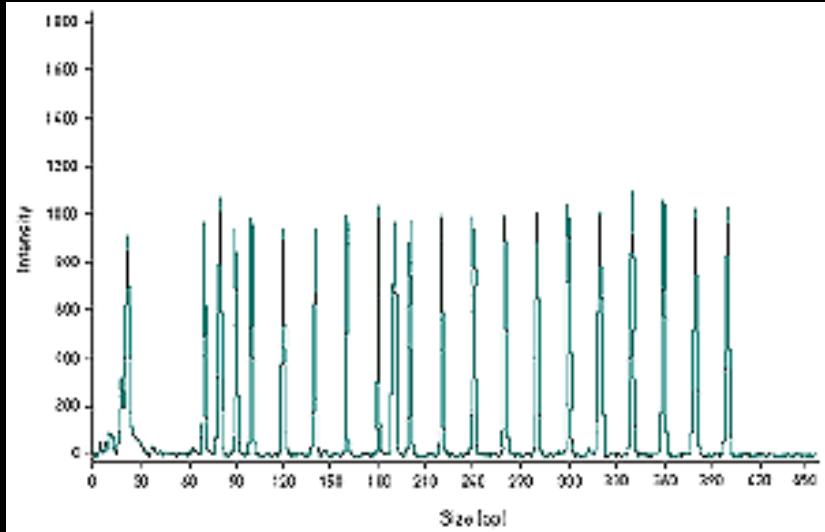
Malattia già disseminata
(terapia adiuvante)

PROTEOMICA

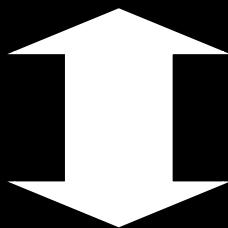
Ipotesi: tumore rilascia specifiche proteine nel corpo

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

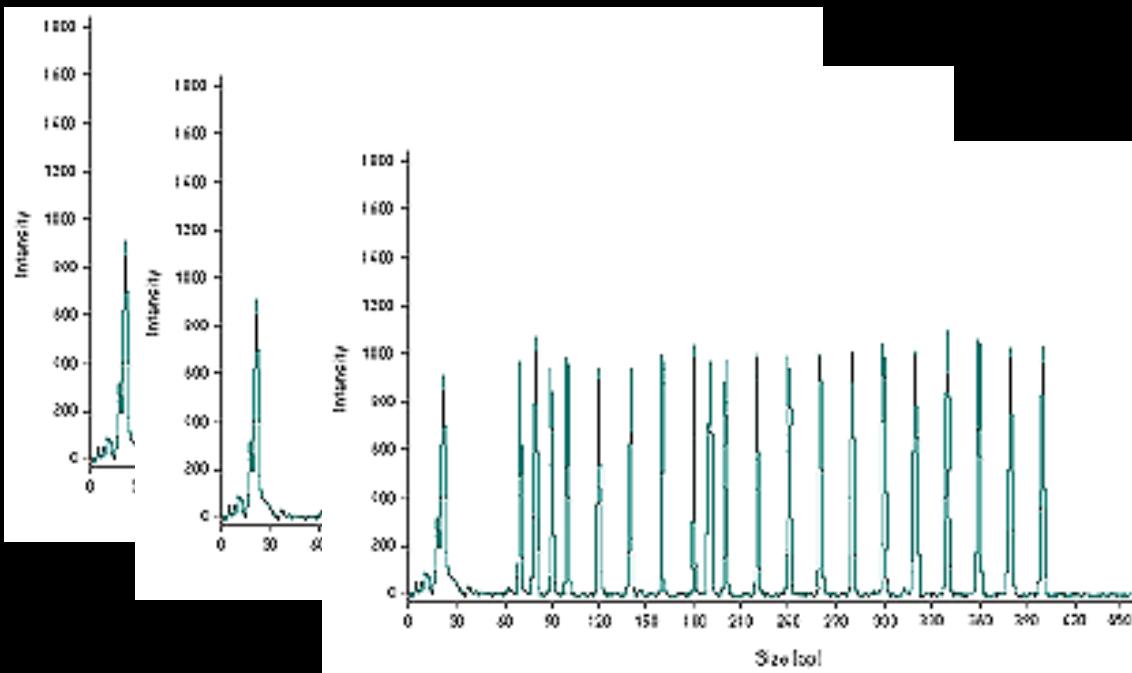




Proteoma di donna malata



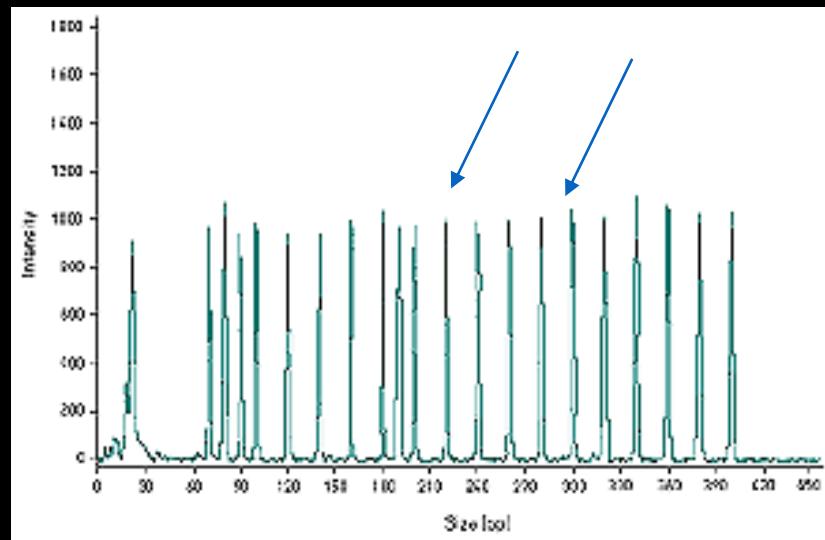
Confronto
statistico



Proteoma di donne
sane

RISULTATI:

proteine caratterizzanti: marker proteici



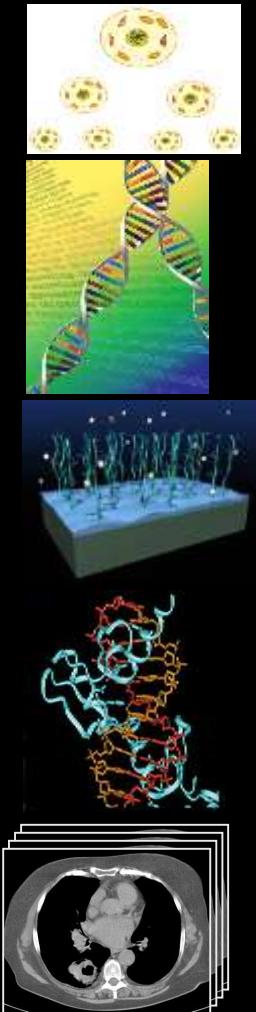
Belluco et al.

Profilo siero proteico: tumore mammella sotto centimetro e senza metastasi

Rimozione: sopravvivenza al 98% a 10 anni

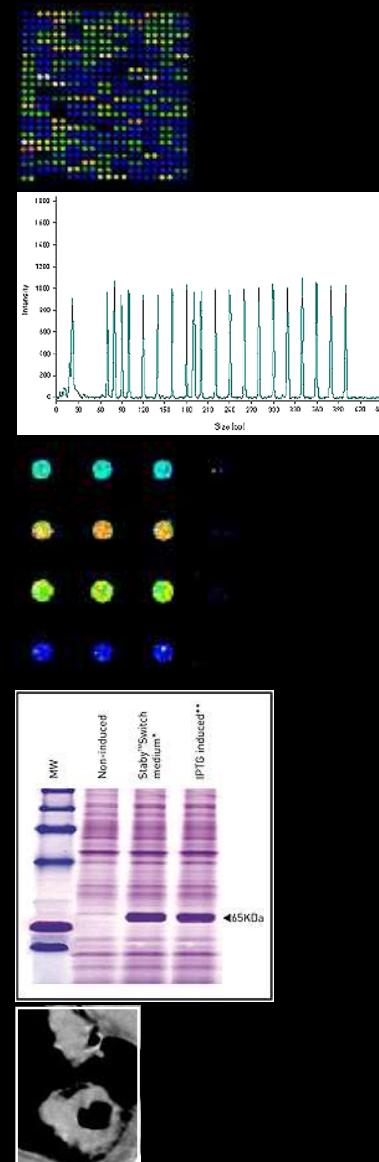
LA SFIDA:

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



Correlazione sistematica?

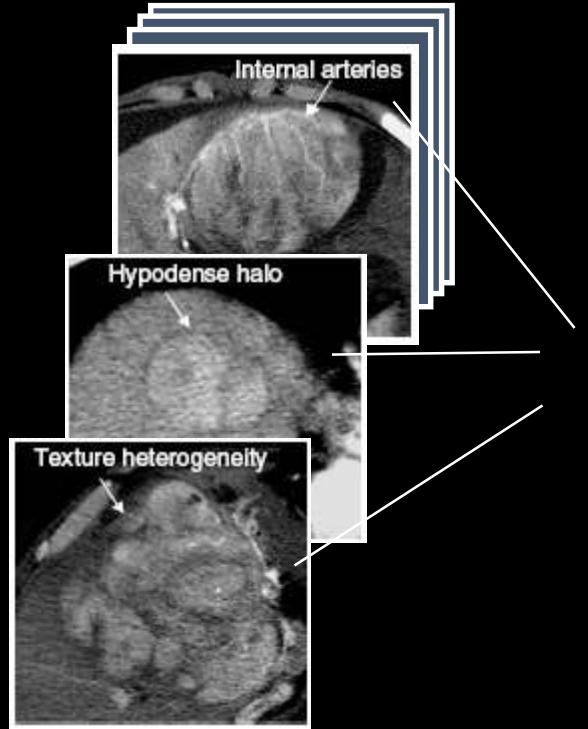
In vivo dynamic imaging



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

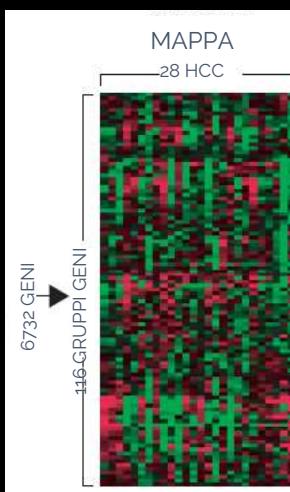


138 "tratti" CT

RISULTATI

28 tratti informativi HCC

116 gruppi di geni con variazioni coerenti



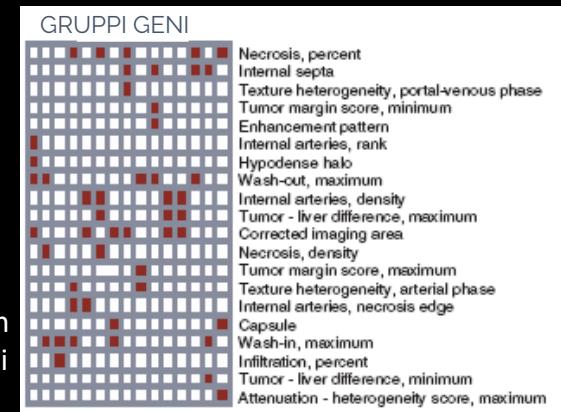
Combinazioni, relazioni logiche

AND OR

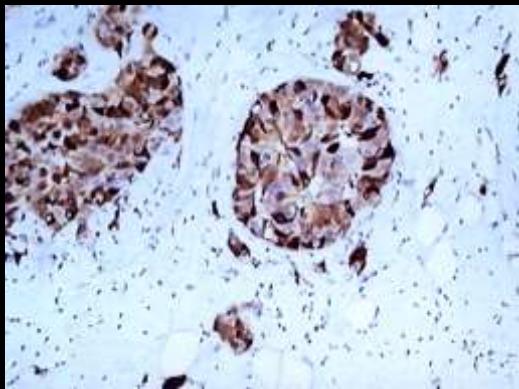


6732 geni

Ogni gruppo di gene associato con combinazioni di tratti



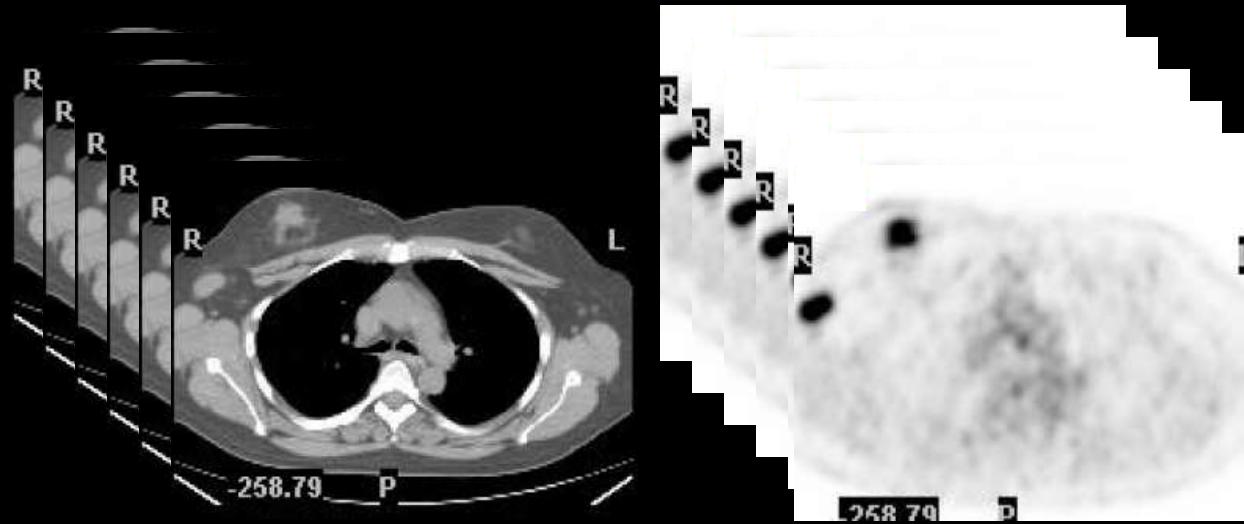
INTEGRATION OF PROTEOMIC, GENOMIC and IMAGING data



IHC carcinoma
mammella



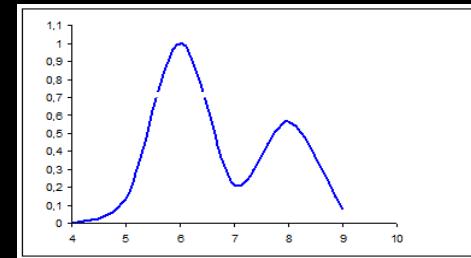
Proteine espresse
carcinoma mammella



¹⁸F-PET/CT metabolismo
glucosio carcinoma mammella

QUANTIFICAZIONE PET

ROI

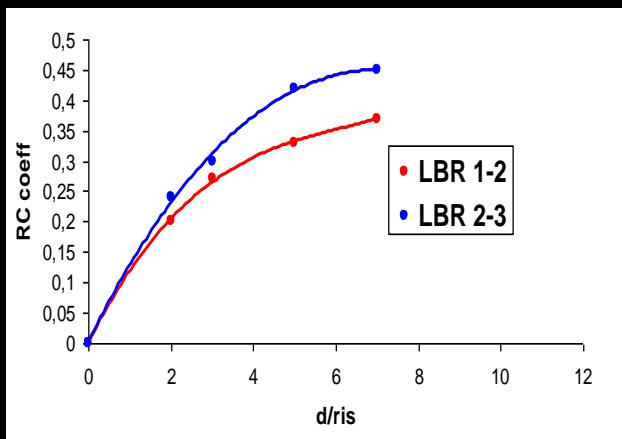


Parametri quantitativi: SUV

Accuratezza quantificazione: PVE

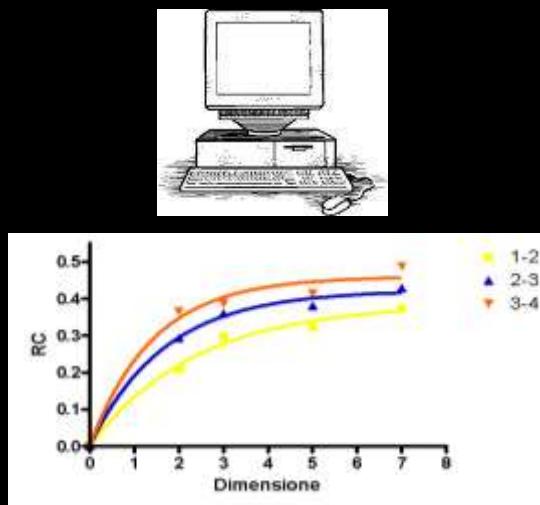
PVE correction

Metodo sperimentale



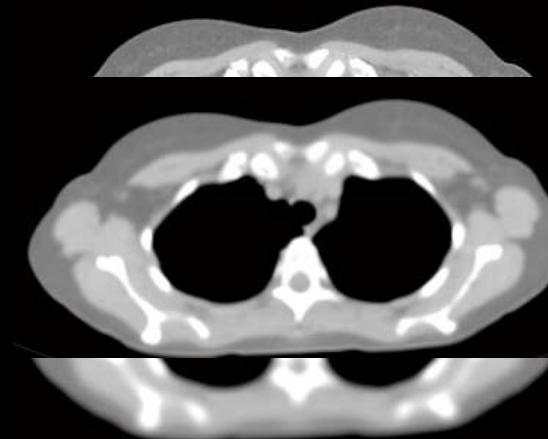
Soret M. et al., Journal Nuc.Med., 2007

Metodo Monte Carlo



Castiglioni et al., IEEE MIC 2006

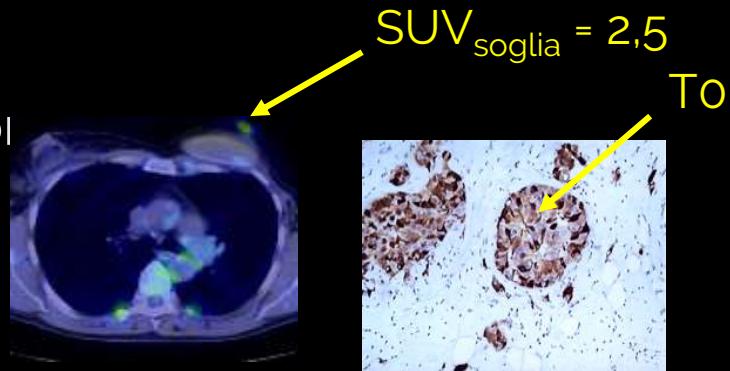
Metodo multirisoluzione



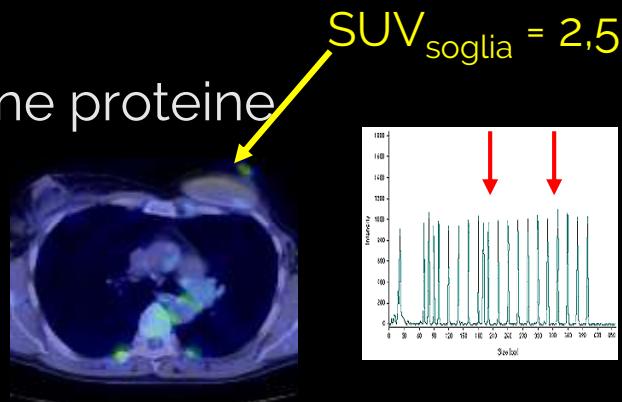
Bouisson N. et al., Phys. Med Biol., 2006

INTEGRAZIONE

Positività PET vs Aggressività Tumore



Positività PET vs Livelli di espressione proteine



Sviluppo protocolli clinici per terapia personalizzata

IMPATTO DIAGNOSTICA:

estrazione routinaria pattern profili genici /
estratti proteici



Eziologia, prognosi, risposta terapia del tumore



Terapia personalizzata