

Imagem Molecular

Molecular Imaging

Carlos Jorge Rodrigues Simal¹

RESUMO

Imagem molecular é denominação relativamente recente para procedimentos diagnósticos por imagem que envolvem reações entre agentes de imagem e moléculas-alvo específicas, como enzimas e receptores celulares. Essencialmente, um agente de imagem se constitui de uma porção que interage com um alvo específico, enzima ou receptor celular e uma porção que permite a sua detecção, como, por exemplo, um elemento radioativo, uma partícula magnética ou uma molécula fluorescente. A imagem molecular permite abordar processos biológicos nos níveis celular e subcelular, em organismos vivos intactos. Embora a Medicina Nuclear seja o método, de longe, mais utilizado na área do diagnóstico por imagem que se enquadra na imagem molecular, novas abordagens envolvendo a fluorescência, a ressonância magnética e a ultrassonografia, entre outros, despontam com grande potencial para emprego clínico e pré-clínico. São apresentados exemplos de abordagens pelos diversos métodos de imagem.

Palavras-chave: Medicina Nuclear; Imagem Molecular; Diagnóstico por Imagem; Fluorescência; Ultrassonografia; Imagem por Ressonância Magnética; Tomografia por Emissão de Pósitrons; Tomografia Computadorizada de Emissão de Fóton Único; Compostos Radiofarmacêuticos.

ABSTRACT

Molecular imaging is a relatively recent term used to name diagnosis procedures involving reactions between imaging agents and specific target molecules, such as enzymes and cell receptors. Basically, an imaging agent (or tracer) is constituted of a portion that interacts with the target (enzyme or cell receptor) and a portion that enables its own detection, such as a radioactive element, a magnetic particle, or a fluorescent molecule. Molecular imaging enables researchers and physicians to approach biological procedures at both cell and subcell levels in intact living organisms. Although Nuclear Medicine is by far the most used method in the image diagnosis framework, new approaches involving fluorescence, magnetic resonance, and ultrasonography, among others, have great potential for clinical and pre-clinical use. Some examples of these approaches are herein presented

Key words: : Nuclear Medicine; Molecular Imaging; Image Diagnosis; Fluorescence; Ultrasonography; Magnetic Resonance Imaging; Positron Emission Tomography; Single-Photon Emission Computed Tomography; Radiopharmaceutical Compound..

¹Médico Nuclear, Professor Associado do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, (UFMG) Belo Horizonte, MG – Brasil.

Recebido em: 06/05/2011
Aprovado em: 01/06/2011

Instituição
Faculdade de Medicina da UFMG
Belo Horizonte, MG – Brasil.

Endereço para correspondência:
Carlos Jorge Rodrigues Simal
Depto de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG.
Av. Alfredo Balena, 190 – 4º andar
CEP: 30130-100
Belo Horizonte, MG – Brasil
Email: simal@feliciochocho.org.br

INTRODUÇÃO

O conceito de imagem molecular (IM) é relativamente recente e ainda pouco compreendido. O objetivo desta revisão é ajudar no esclarecimento de dúvidas ainda existentes e contribuir para a difusão da IM no nosso meio.

Os métodos para diagnóstico por imagem, fundamentalmente, registram a transferência de energia pelos tecidos biológicos e sua distribuição no tempo e no espaço. Cada forma de energia, como as radiações eletromagnéticas e o ultrassom, interage com o meio de um modo característico, o que define, genericamente, o tipo de informação a ser obtida.

Nos primeiros passos do diagnóstico por imagem houve predomínio da Física e da Anatomia. Os avanços na Física nas áreas de fontes de energia, detecção e registro de radiações ionizantes e não ionizantes permitiram o desenvolvimento de equipamentos para o diagnóstico por imagem com resolução espacial na faixa de centímetros a milímetros. Nessa fase teve-se como foco principal os “sinais radiológicos” e a correlação anatomopatológica.

Nos passos seguintes do diagnóstico por imagem já se verifica predomínio da Química e da Biologia. Tem-se o surgimento de meios de contrastes e agentes moleculares tecido-receptor específicos, permitindo abordar a incorporação metabólica desses agentes. Com os progressos na tecnologia dos equipamentos, atingem-se resoluções espaciais na faixa de micrômetros a nanômetros. A incorporação dos recursos da informática ao diagnóstico por imagem permitiu a aplicação de processamentos que levam aos estudos tomográficos e imagens tridimensionais, sem falar das análises quantitativas e temporais.

Avançou-se de uma abordagem eminentemente anatômica para abordagem funcional das células e órgãos. Hoje se pode abordar a distribuição e a função de moléculas orgânicas que, em última análise, refletem a expressão de genes.¹ A partir da farmacogenética e da farmacogenômica permitindo a identificação do melhor medicamento para determinado processo patogênico em um indivíduo, alcança-se o estado da arte, levando à Medicina personalizada, em que cada tratamento será realmente individualizado levando em consideração o padrão genético que define o fenótipo daquela doença naquele indivíduo.²

Mais recentemente, adotou-se a denominação de IM para procedimentos diagnósticos por imagem

que envolvem reações entre os agentes de imagem e moléculas específicas, como enzimas e receptores celulares. Fazendo livre adaptação da definição de IM proposta pela Comissão de Imagem Molecular do Colégio Americano de Radiologia, pode-se definir imagem molecular como a percepção de processos moleculares e celulares *in vivo* localizados no espaço e/ou analisados temporalmente.³ Do mesmo modo, de acordo com o Centro de Excelência em Imagem Molecular (MICoE) e pela Sociedade de Medicina Nuclear dos Estados Unidos, pode-se definir imagem molecular como a visualização, caracterização e medição, espacial e temporalmente, de processos biológicos nos níveis molecular e celular, *in vivo*.⁴ Pode-se, ainda, considerar a IM como a representação visual, caracterização e quantificação de processos biológicos nos níveis celular e subcelular em organismos vivos intactos.^{5,6}

As metas da IM incluem o avanço no entendimento da biologia tumoral, a avaliação da presença e do *status* biológico (ativo-inativo) de receptores e vias envolvidas no desenvolvimento tumoral, o estudo farmacocinético e farmacodinâmico de drogas anti-tumorais, bem como a avaliação e a predição da resposta terapêutica a essas drogas.⁷

A importância da IM relaciona-se ao fato de que as interações moleculares estão na base dos processos vitais normais e patogênicos. Deste modo, as alterações moleculares e celulares precedem as alterações anatômicas. Como a IM pode retratar os processos moleculares envolvidos nos processos vitais, ela permite dar diagnósticos cada vez mais exatos e precoces, como a presença de metástases de poucos milímetros de diâmetro.

É importante ressaltar que a IM é um termo novo para um conceito antigo.^{1,8} A primeira aplicação de importância clínica da IM foi a utilização, há mais de 50 anos, do ¹³¹Iodo pela Medicina Nuclear na avaliação da captação desse radioisótopo pela glândula tireoide e na cintilografia da tireoide ou tireograma.¹ Deste modo, a Medicina Nuclear inaugurou a era da IM. Grande parte dos seus procedimentos enquadra-se na definição de IM e ainda hoje predomina com larga margem de vantagem entre os diversos métodos de IM de aplicação clínica, a partir da tomografia por emissão de fóton único (SPECT) e da tomografia por emissão de pósitrons (PET).

Não obstante o atual predomínio da Medicina Nuclear, pode-se antever grande expansão dos hori-

zontes da IM, com a contribuição de outros métodos de imagem, como a ressonância magnética, a ultrassonografia e outros.

Nem todos os procedimentos de imagem na Medicina Nuclear se enquadram no conceito de IM.⁹ Na cintilografia de perfusão pulmonar são utilizadas partículas de macroagregado de albumina (MAA) marcadas com ^{99m}Tecnécio. Essas partículas têm diâmetros na faixa de 10 a 100 µm e, após uma injeção intravenosa, embolizam pequenas arteríolas e capilares pulmonares, permitindo a “visualização” da árvore arterial pulmonar. O mecanismo de visualização é, em última análise, mecânico. A embolização poderia ser obtida com outros materiais, como microesferas de albumina ou de plástico ou cerâmica. Não há ligação específica entre a molécula utilizada, o MAA, e receptores ou enzimas localizados nas paredes dos vasos pulmonares.

Por outro lado, quando se utilizam isótopos radioativos do iodo (¹²³Iodo e ¹³¹Iodo) para estudos de captação pela glândula tireoide, para realização de tireogramas ou quando se emprega o ¹³¹Iodo para tratamentos de hipertireoidismo e de carcinomas diferenciados da tireoide, está-se usando receptores e enzimas específicos das células tireoidianas envolvidos no mecanismo de captação e organificação do iodo. Quando se utiliza a metaiodobenzilguanidina (MIBG), que é molécula análoga da guanetidina e norepinefrina, marcada com ¹²³Iodo ou ¹³¹Iodo para estudos cintilográficos de receptores adrenérgicos e para cintilografia ou tratamentos de tumores neuroendócrinos, está-se envolvendo mecanismos enzimáticos e receptores que permitirão a captação e armazenamento da MIBG nas vesículas pré-sinápticas dos nervos adrenérgicos. Quando se utiliza a glicose marcada com ¹⁸Flúor (¹⁸F-FDG, ¹⁸Flúor-desoxiglicose) para detecção de tumores e metástases para estudos de viabilidade miocárdica ou para estudos neurológicos, está-se envolvendo o mecanismo de difusão facilitada para a glicose na superfície celular e a ação enzimática da hexoquinase. Deste modo, as cintilografias e tratamentos com iodo radioativo, com a MIBG marcada com radioiodo e a ¹⁸F-FDG envolvem enzimas e receptores, portanto, alvos específicos, de modo que esses métodos se enquadram no conceito de IM. Esses exemplos com o isótopo do iodo com número de massa 131 são conhecidos como agentes “teranósticos”, uma vez que um mesmo agente pode ser usado para obter imagens ou para tratar lesões.¹⁰

AGENTES DE IMAGEM

Para a formação de imagens diagnósticas pode-se ter ou não a necessidade de administrar substâncias aos pacientes. Essas substâncias são conhecidas como agentes de imagem molecular, agentes de imagem, sondas de imagem, traçadores, radiotraçadores, radiofármacos, sondas ativáveis ou inteligentes. Esses métodos podem requerer a ou não a administração de agentes de imagem, como se dá, respectivamente, com a Medicina Nuclear em todas as suas modalidades, incluindo a PET, a fluorescência no infravermelho próximo, a bioluminescência, a ressonância magnética e a ultrassonografia; ou a espectroscopia por ressonância magnética, como a tomografia óptica por difusão e a ressonância magnética (RM) funcional.

Usualmente, os agentes de imagem são constituídos de três partes: um componente específico, que interage com o alvo (v.g., uma proteína) e permite sua localização a partir de interações moleculares; um componente sinalizador, que permite a sua detecção (v.g., um radioisótopo); e um componente de ligação entre eles.^{1,10} Esses agentes podem ser primariamente ativos, como os agentes radioativos, que emitem radiação mesmo que não estejam ligados ou tenham sofrido qualquer ação do seu alvo específico, ou ativáveis, quando o agente não é detectável enquanto não interagir com o seu alvo específico. Estes últimos têm a vantagem de fornecer um sinal com menos ruído de fundo, o que melhora a qualidade da imagem.

As interações moleculares que permitem a localização dos agentes de imagem são de diversas naturezas¹¹ (Figura 1). Pode ser desde a simples ligação de uma molécula a um alvo específico, como nas reações antígeno-anticorpo e ligações entre microbolhas - peptídeo receptor GpIIb/IIIa. Pode ser pelo acúmulo de uma substância no interior das células pela ação de receptores ou enzimas celulares, como na captação celular de ¹⁸F-FDG, na captação de radioiodo pelas células tireoidianas ou na fagocitose das partículas de CLIO-Tat por células-tronco ou linfócitos. Pode, ainda, ser decorrente da transformação de moléculas por enzimas-alvo, levando a uma forma detectável do agente de imagem, como no caso dos agentes inteligentes utilizados na fluorescência no infravermelho próximo.

O tipo de interação influencia na qualidade das imagens e na sensibilidade dos diferentes métodos.

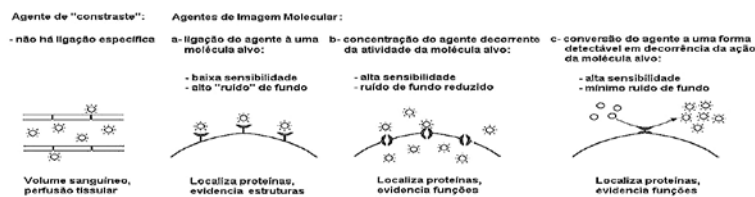


Figura 1 - Classes de "contraste" e agentes de imagem molecular. Agentes de contraste em geral apresentam distribuição por compartimentos e não apresentam ligação específica. Agentes de imagem molecular podem: A – apresentar ligação a uma molécula alvo (v.g., anticorpo); B – acumular no interior da célula por atividade de receptores ou enzimas; c- sofrer ação de suas moléculas alvo e serem ativados, permitindo a sua detecção. Este grupo é chamado de "agentes inteligentes".¹¹ (adaptado)

No caso de uma interação unitária, como nas reações antígeno-anticorpo, tem-se menor número de moléculas ligadas ao alvo específico e maior número de agentes de imagem circulando livremente, elevando o sinal de fundo e reduzindo a relação sinal-ruído, deste modo levando à redução da sensibilidade do método. Nas interações em que ocorre concentração do agente de imagem na célula, podem-se ter milhares de agentes de imagem, sendo concentrados pela ação de um único alvo. Isto leva a significativa redução do ruído de fundo, com melhora da relação sinal-ruído e elevação da sensibilidade do método. Nas interações do alvo com os agentes inteligentes tem-se que o nível de ruído de fundo é mínimo, em decorrência do agente de imagem não emitir sinal antes de sofrer a ação do alvo. Deste modo, a relação sinal-ruído tende a se elevar, aumentando a sensibilidade do método.¹¹

MODALIDADES DE IMAGEM MOLECULAR

Embora a maioria dos procedimentos de IM pertença à seara da MN, alguns métodos começam a despontar. Cada método apresenta as suas vantagens e desvantagens. Por vezes um método possui excelente resolução espacial, mas carece de sensibilidade, como acontece com a RM, enquanto outro não apresenta boa resolução espacial, mas tem alta sensibilidade, como os métodos de MN. Como será visto adiante, a fusão de imagens moleculares-funcionais com imagens anatômicas tem sido a solução para aproveitar o melhor de cada método e propiciar diagnósticos mais precoces e mais acurados. Apresentam-se, a seguir, alguns dos métodos de IM que já deram demonstração de seu potencial, seja para uso clínico ou experimental.

IMAGEM ÓPTICA

Nessa modalidade podem-se considerar a bioluminescência, a fluorescência proteica e a fluorescência no infravermelho próximo (FIVP).

Na bioluminescência, devem ser incorporados ao animal os genes que levarão à produção da enzima luciferase. Esta enzima está envolvida em processos naturais de fluorescência, como observado em insetos (v.g., vaga-lumes), água-vivas (medusas) e bactérias.¹² Havendo interação do substrato adequado (v.g., D-luciferina) com a luciferase, levando à oxiluciferina será emitida luz visível (na faixa de 400 a 700 nm). A penetração tecidual dessa faixa de comprimento de onda do espectro eletromagnético é relativamente baixa e esse sistema é útil em pequenos animais, uma vez que os diferentes órgãos estarão situados em profundidades de 1 a 2 centímetros.

A bioluminescência e a fluorescência proteica, por requererem manipulação genética, não são adequadas para uso em humanos.

A FIVP tem grande potencial para estudos em animais e humanos. A faixa do espectro eletromagnético conhecida como infravermelho próximo vai de 600 a 900 nm e permite mais penetração nos tecidos.¹³

Agentes de imagem foram desenvolvidos para diferentes enzimas-alvo que tendem a ser superexpressas em processos patogênicos. Os agentes de imagem são compostos de uma molécula fluorescente e uma proteína que será quebrada (clivada) por uma enzima específica.

A molécula dos agentes de imagem intacta apresenta interferência entre as moléculas fluorescentes e isto impede que elas fluoresçam antes da ação enzimática. Após a clivagem desses agentes de imagem as moléculas fluorescentes são liberadas e, se excitadas, podem emitir luz, ou seja, são ativadas (Figura 2). Daí o termo de agentes de imagem inteligentes.

Os equipamentos utilizados para a formação das imagens da FIVP basicamente são constituídos de uma fonte de luz excitadora que ilumina o objeto, usualmente um animal de experimentação, e recolhe a luz emitida pela fluorescência. Como os comprimentos de onda da luz excitadora e da luz emitida pela fluorescência são diferentes, através de um filtro é permitida apenas a passagem da luz produzida pela fluorescência até o detector CCD, como os presentes em câmaras fotográficas digitais (Figura 3).¹⁴

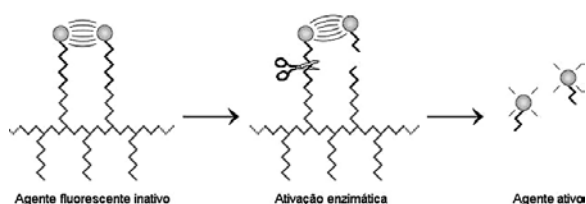


Figura 2 - Representação esquemática dos chamados agentes de imagem “inteligentes” para fluorescência no infravermelho próximo. O agente só é detectável após a ativação pela molécula alvo.^{17(adaptado)}



Figura 3 - Representação esquemática de equipamento para fluorescência no infravermelho próximo. O animal é iluminado com luz na faixa de 610 a 650 nm e os agentes de imagem emitem luz no comprimento de onda de 700 nm. Através de um filtro é permitida apenas a passagem da luz produzida pela fluorescência até o detector CCD, como os presentes em câmaras fotográficas digitais, permitindo a formação de imagens das áreas onde se concentram os agentes de imagem.¹⁴

Têm-se como exemplos de aplicação desse método os agentes de imagem que sofrem a ação da catepsina-B, uma enzima proteolítica presente em concentrações elevadas em processos inflamatórios, infecciosos e tumorais.^{1,15-18} A Figura 4 mostra lesão tumoral de 2 mm na mama de um camundongo e a Figura 5 exhibe atividade inflamatória na pata de um camundongo em um modelo experimental de artrite reumatoide.

A FIVP poderá vir a ser utilizada na clínica no diagnóstico de tumores epiteliais. Por meio de exames endoscópicos poderá ser útil no diagnóstico de processos tumorais em cavidades e vísceras ocas. Avaliação de margens cirúrgicas nas cirurgias para remoção de tumores pode ser feita com o emprego de óculos especiais. Placas ateroscleróticas instáveis poderão ser detectadas via cateterismo.^{1,19}



Figura 4 - Fluorescência no infravermelho próximo de uma lesão tumoral de 2 mm na mama direita de camundongo após a administração intravenosa de agente de imagem direcionado à catepsina B. A imagem da esquerda feita com luz visível, apenas para referência anatômica.¹⁵

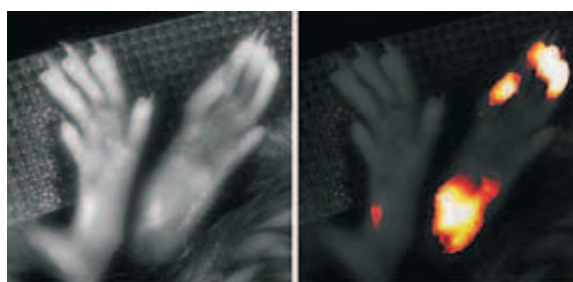


Figura 5 - Fluorescência no infravermelho próximo de lesão inflamatória em pata de camundongo em um modelo experimental de artrite reumatoide após a administração intravenosa de agente de imagem direcionado à catepsina B. Em ambas as fotos, a pata da esquerda é de animal do grupo controle e a pata da direita do modelo de artrite reumatoide. A imagem da esquerda feita com luz visível, apenas para referência anatômica.¹⁶

MEDICINA NUCLEAR

Como mencionado anteriormente, grande parte dos procedimentos de MN se enquadram na definição de IM e respondem por cerca de 90% dos procedimentos clínicos da IM. Fornece informação predominantemente bioquímico-funcional, sendo o dado anatômico oriundo do dado funcional. A PET é a técnica de IM mais utilizada atualmente.⁷ Em relação à RM, a MN apresenta como desvantagens o emprego de material radioativo e a resolução espacial de 1 a 4 mm para o SPECT e de 1 a 3 mm para o PET. Sua principal vantagem está na sua grande sensibilidade na detecção dos agentes de imagem, com a massa requerida variando de 1 a 1.000 ng para o SPECT e de 1 a 100 ng para o PET, correspondendo a sensibilidades na faixa de 10^{-10} – 10^{-11} mol/L para o SPECT e de 10^{-11} – 10^{-12} mol/L para o PET (Tabela 1).⁹ Com quantidades tão pequenas de agentes de imagem, praticamente não há preocupação com efeitos tóxicos

ou reações adversas ao emprego desses materiais. Para se ter um termo de comparação, em estudo de PET com ¹⁸F-FDG se utiliza quantidade aproximada de 200 µg de glicose ou aproximadamente 1 µmol.⁹

O emprego de um equipamento de tomografia computadorizada acoplado aos equipamentos de SPECT e PET tem se mostrado uma razoável solução para contornar o problema da baixa resolução espacial dos métodos de MN. Mais recentemente estão disponíveis equipamentos, para uso clínico, com acoplamento de equipamento de RM aos PETs, melhorando a resolução espacial e reduzindo a dose de irradiação aos pacientes. A partir da fusão das imagens cintilográficas, ricas em dados bioquímico-funcionais, com os dados da TC ou RM, ricas em dados anatômicos, é possível precisar a localização das lesões, com grande repercussão na sensibilidade para detecção de metástases, melhorando o estadiamento e a abordagem terapêutica em oncologia.

Como exemplo de estudo experimental utilizando o método nuclear, tem-se a detecção de ^{99m}Tc-HYNIC-bAla-Bombesina em animais com tumor mama (MDA-MB-231). A bombesina é um peptídeo isolado da pele do sapo *Bombina bombina*, semelhante ao peptídeo liberador de gastrina, que está presente nos mamíferos, apresentando, deste modo, elevada afinidade pelos seus receptores.²⁰ Aproximadamente 62% dos carcinomas de mama e 100% de suas metástases apresentam elevada expressão genética para os receptores do peptídeo liberador de gastrina e, em consequência, para a bombesina.²¹ Outros tumores, como os carcinomas de pulmão, pâncreas, cólon e próstata, também apresentam elevada expressão genética

para os receptores do peptídeo liberador de gastrina.²²⁻²⁴ Deste modo, a bombesina marcada com radioisótopos pode ser interessante agente de imagem para a detecção desses tumores e de suas metástases.

A Figura 6 mostra imagens após 1 hora de administração intravenosa do radiofármaco ^{99m}Tc-HYNIC-βAla-Bombesina⁷⁻¹⁴ em camundongo inoculado na pata posterior direita com células do tumor de mama (MDA-MB-231).

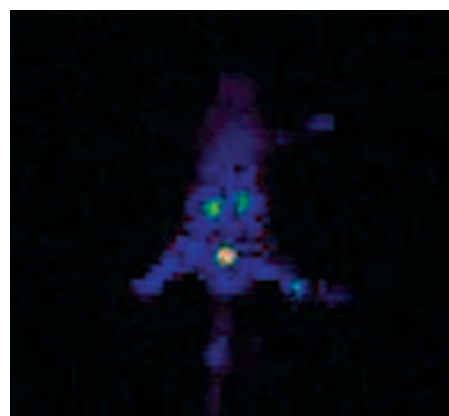


Figura 6 - Imagem cintilográfica adquirida após uma hora de administração intravenosa do radiofármaco ^{99m}Tc-HYNIC-βAla-Bombesina^(7,14) em camundongo inoculado na pata posterior direita com células do tumor de mama MDA-MB-231

Fonte: imagem cedida pelos Drs. Barros ALB e Cardoso VN.

Tabela 1 – Síntese das características principais das principais modalidades de Imagem Molecular não invasiva.^{9(adaptado)}

modalidade de imagem	forma de energia	resolução espacial (mm)		tempo de aquisição por imagem (s)	massa de agente de imagem requerida (ng)	Sensibilidade mol/l	Profundidade (mm)
		clínica	animal				
PET	fótons 511keV	3-8	1-3	1-300	1-100	10 ⁻¹¹ -10 ⁻¹²	>300
SPECT	raios γ	5-12	1-4	60-2000	1-1000	10 ⁻¹⁰ -10 ⁻¹¹	>300
CT	raios X	0,5-1	0,03-0,4	1-300	–	–	>300
RM	ondas de radio-frequência	0,2-0,1	0,025-0,1	50-3000	10 ³ -10 ⁶	10 ⁻³ -10 ⁻⁵	>300
US	ultrassom	0,1-1	0,05-0,1	0,1-100	10 ³ -10 ⁶	–	1-200
BIOLUMIN.	luz visível a infravermelho	–	3-10	10-300	10 ³ -10 ⁶	10 ⁻¹³ -10 ⁻¹⁶	1-10
FLUORESC.	luz visível a infravermelho	–	2-10	10-2000	10 ³ -10 ⁶	10 ⁻⁹ -10 ⁻¹¹	1-20

A cintilografia com a metaiodobenzilguanidina, marcada com ^{123}I odo ou ^{131}I odo, é de emprego corrente na MN. Molécula análoga da guanetidina e norepinefrina é captada e armazenada nas vesículas pré-sinápticas dos nervos adrenérgicos. É utilizada no diagnóstico e acompanhamento de pacientes com tumores neuroendócrinos, como os paragangliomas (feocromocitomas), neuroblastomas, gânglio-neuroblastomas e gânglio-neuromas. A Figura 7 mostra um caso de extensa massa abdominal e duas metástases de paraganglioma.

As lesões são facilmente detectáveis pela cintilografia, plana e tomográfica (SPECT). Mas a fusão das imagens com a TC, realizada no equipamento gama-câmara acoplada a um tomógrafo (SPECT/CT), propiciou a localização exata das lesões metastáticas no corpo de L3 e na articulação sacroilíaca esquerda. Este é um exemplo interessante da utilização da fusão das imagens de MN com a TC, como mencionado.

A tomografia por emissão de pósitrons (PET) é modalidade recente na área do diagnóstico por imagem. É tecnologia em franca expansão no Brasil e no restante do mundo. Pode-se dizer que ela é uma cintilografia em que os radioisótopos são emissores de pósitrons. Os pósitrons são a antimatéria dos elétrons, ou seja, são elétrons com carga positiva. Quando os pósitrons se encontram com os elétrons (matéria e antimatéria) eles sofrem a chamada reação de aniquilação, em que as massas das duas partículas são integralmente transformadas em energia. Deste modo, dois fótons de energia igual a 511 keV são emitidos em direções opostas e, para serem considerados válidos na formação das imagens, os equipamentos precisam detectar os dois fótons quase que simultaneamente.

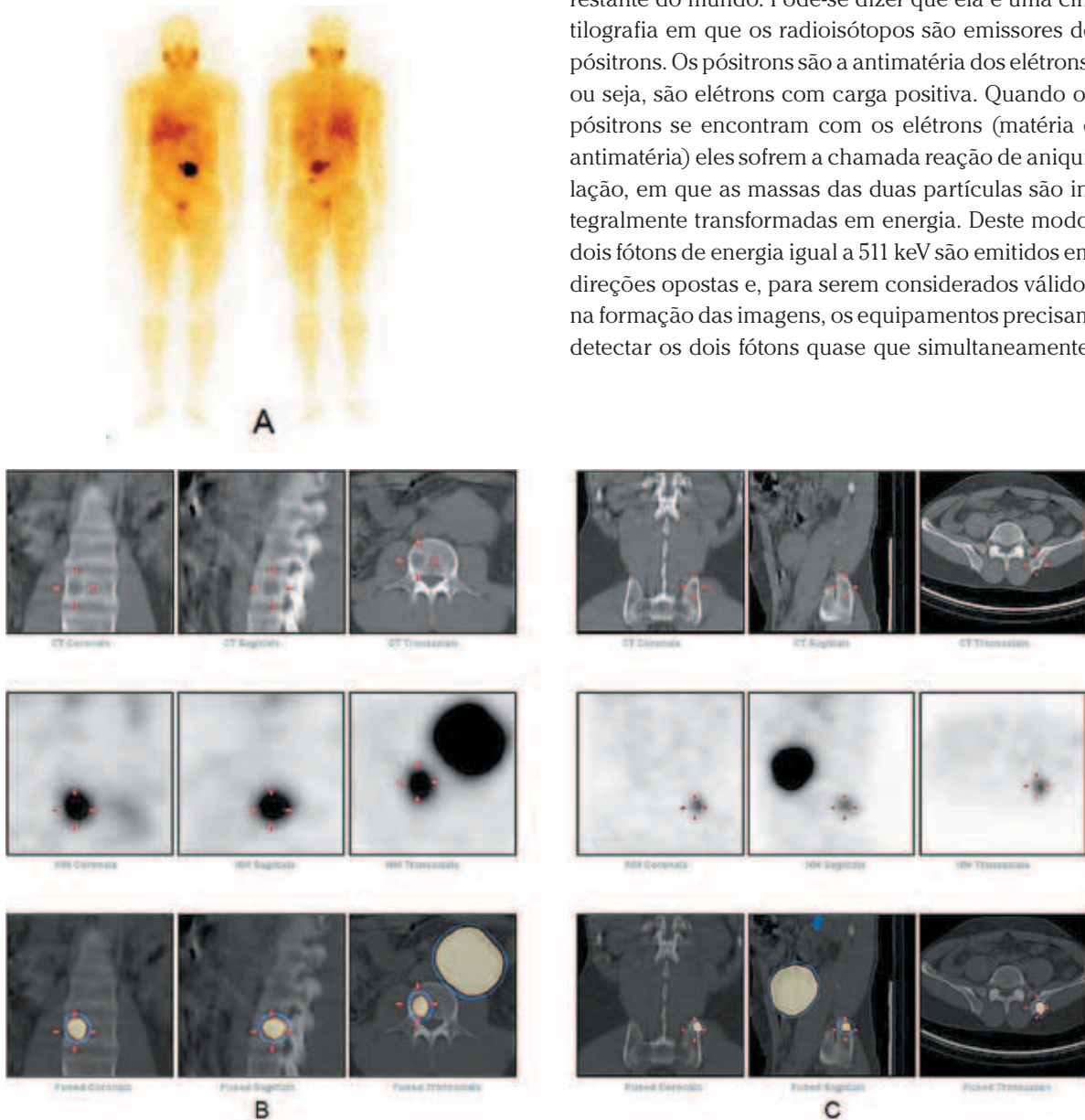


Figura 7 - A: cintilografia com a ^{131}I odo-metaiodobenzilguanidina, em paciente com extensa massa abdominal e duas metástases de paraganglioma. B e C: fusão da imagem cintilográfica com imagem de tomografia computadorizada identificando o corpo vertebral de L3 e a articulação sacroilíaca esquerda como sítios das metástases.

A tecnologia SPECT (tomografia por emissão de fóton único) é realizada nos equipamentos de gama-câmara e lida com Raios-gama emitidos pelos núcleos dos radioisótopos, enquanto a tecnologia PET lida com fótons emitidos nas reações de aniquilação.

Os radioisótopos mais utilizados atualmente são o ^{11}C ($T_{1/2} = 20$ min), o ^{18}F ($T_{1/2} = 110$ min), o ^{13}N ($T_{1/2} = 10$ min), o ^{15}O ($T_{1/2} = 2$ min) e o ^{82}Rb ($T_{1/2} = 75$ seg). Destes, o ^{18}F é, com larga margem, o mais utilizado. A quase totalidade dos exames de PET realizados em todo o mundo utiliza o ^{18}F -FDG (^{18}F Flúor-desoxiglicose). O ^{18}F -FDG é uma molécula de glicose que tem a sua hidroxila no carbono 2 substituída por um átomo de ^{18}F (Figura 8). O ^{18}F -FDG penetra nas células pelo mesmo mecanismo utilizado pela glicose e sofre a ação da enzima hexoquinase, dando origem ao ^{18}F -FDG-6- PO_4 , em lugar da glicose-6-fosfato. Esta prossegue no metabolismo, produzindo ATP ou sendo armazenada na forma de glicogênio. O ^{18}F -FDG-6- PO_4 não é reconhecido pelas enzimas e acumula-se nas células (Figura 9), podendo, assim, ser detectado.²⁵ A Figura 10 mostra o padrão de biodistribuição normal do ^{18}F -FDG.

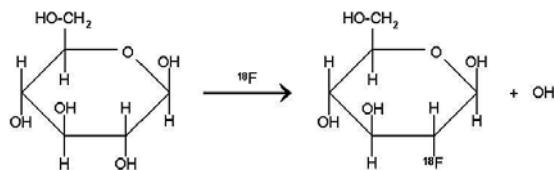


Figura 8 - ^{18}F -FDG (^{18}F Flúor-desoxiglicose). O ^{18}F -FDG é uma molécula de glicose que tem a sua hidroxila no carbono dois substituída por um átomo de ^{18}F .

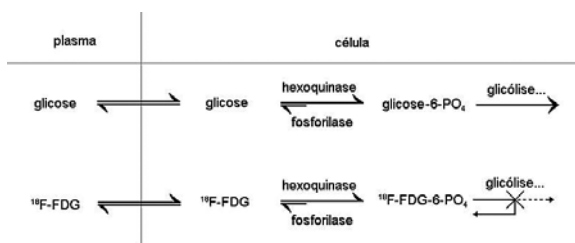


Figura 9 - Representação esquemática da penetração e acúmulo do ^{18}F -FDG (^{18}F Flúor-desoxiglicose) nas células. A glicose e o ^{18}F -FDG penetram na célula pela ação de proteínas transportadoras de glicose e são fosforiladas pela ação da enzima hexoquinase. Diferentemente da glicose-6-fosfato, o ^{18}F -FDG-6-fosfato não prossegue na via metabólica e se acumula no interior das células, permitindo a sua detecção.²⁵



Figura 10 - Padrão de biodistribuição do ^{18}F -FDG (^{18}F Flúor-desoxiglicose) em um indivíduo normal. Verifica-se um grande acúmulo do material no tecido cerebral e coração e grande eliminação urinária.

Os tumores tendem a apresentar metabolismo glicolítico mais acentuado que as células normais. Como regra geral tem-se que quanto mais agressivo o tumor, mais alta a taxa de captação do ^{18}F -FDG. Deste modo, há tendência a se acumular o ^{18}F -FDG-6- PO_4 nas células tumorais, permitindo a sua detecção e a formação de imagens. Tumores com alta taxa de glicólise, como os melanomas, permitem a visualização de metástases de aproximadamente 5 mm de diâmetro.

Hoje os equipamentos de PET são acoplados a tomógrafos computadorizados e, mais recentemente, a equipamentos de RM. Deste modo, pode-se fazer fusão das imagens, o que permite mais precisão na localização das lesões e na identificação de artefatos, levando a maior acurácia diagnóstica (Figura 11). Isto leva a diagnósticos mais precoces, estadiamentos mais precisos, além de permitir melhor abordagem cirúrgica ou radioterápica.

A utilização cada vez mais frequente do método é a avaliação precoce da resposta ao tratamento quimioterápico. Estudos de PET/CT são realizados antes do início e após um a dois ciclos de quimioterápicos. A comparação das intensidades das captações das lesões (SUV – valor de captação padronizado) antes e após o início da quimioterapia permite prever a resposta final ao tratamento.

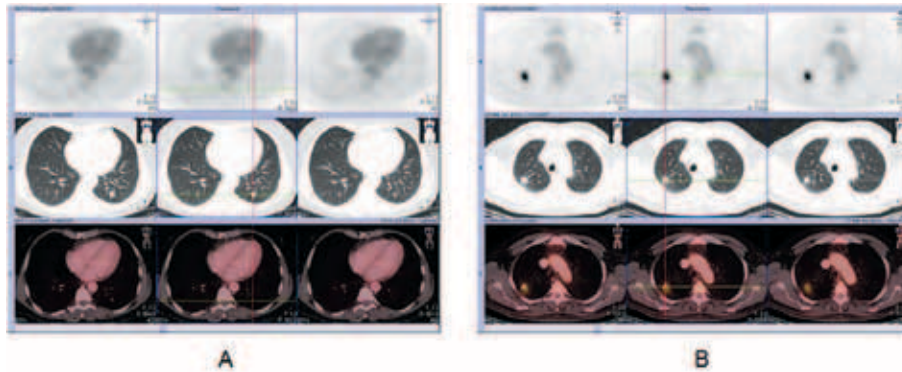


Figura 11 - A: nódulo pulmonar detectado pela tomografia computadorizada (TC) sem captação significativa do ^{18}F -FDG (^{18}F Flúor-desoxiglicose), sugerindo lesão pulmonar benigna. B: nódulo pulmonar detectado pela TC com captação significativa do ^{18}F -FDG (^{18}F Flúor-desoxiglicose), sugerindo lesão pulmonar maligna. Em ambas as imagens: imagens de PET na linha superior, imagens de tomografia computadorizada na linha do meio e imagens de fusão do PET com a TC na linha de baixo (imagens cedidas pelos Drs. Abuhid I e Vilella JR).

RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

A RM possui como grandes vantagens a sua elevada resolução espacial (<1 mm), a possibilidade de fornecer informação anatômica, fisiológica e funcional, além de não utilizar radiação ionizante. Sua principal desvantagem, como método de IM, é a sua baixa sensibilidade para a detecção de agentes moleculares, na faixa de 10^{-3} – 10^{-5} mol/L, requerendo massa de agente molecular da ordem de 10^3 – 10^6 ng (Tabela 1).⁹

Entre as estratégias propostas para contornar essa baixa sensibilidade, pode-se citar a concentração intracelular de CLIO-tat, uma nanopartícula de óxido de ferro ligada ao peptídeo Tat, um tipo de peptídeo penetrador celular encontrado no vírus da imunodeficiência humana²⁶ (Figura 12).

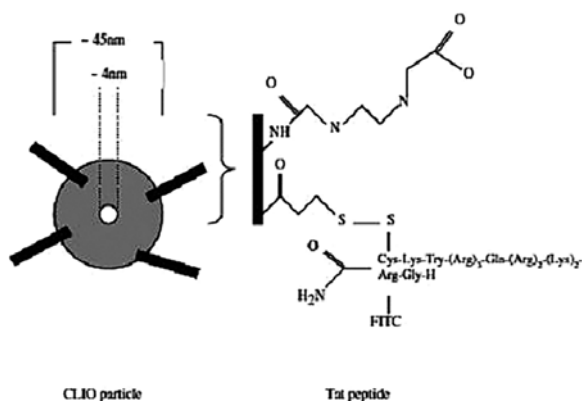


Figura 12 - CLIO-Tat (*crosslinked iron oxide nanoparticle – transactivator of transcription*). Nanopartícula de óxido de ferro ligada ao peptídeo Tat, um tipo de peptídeo penetrador celular encontrado no vírus da imunodeficiência humana, utilizada como agente molecular em ressonância magnética.²⁶

O peptídeo Tat promove a concentração das nanopartículas de óxido de ferro no interior de células de modo a permitir a sua detecção e localização pela RM. Na Figura 13 têm-se imagens de RM de um camundongo inoculado na coxa direita com células da linhagem B16-OVA de melanoma e na coxa esquerda células da linhagem B16F0 de melanoma. Linfócitos T citotóxicos CD8^+ sensibilizados contra a linhagem B16-OVA foram incubados com as partículas CLIO-Tat. Após a injeção desse material, as imagens seriadas de RM mostraram o ataque dos linfócitos marcados apenas ao tumor da coxa direita, da linhagem B16-OVA.²⁷

A espectroscopia por RM é modalidade de IM que não demanda administração de agentes de imagem e já é utilizada há alguns anos. O espectro reflete a distribuição de moléculas normalmente presentes no tecido em estudo. A comparação entre espectros de um tecido normal e um patológico permite a identificação do tipo de anomalia presente. Para o sistema nervoso central, o N-acetilaspártato (NAA) é considerado um marcador neuronal, a creatinina (Cr) permite a estimativa do estoque energético e a colina (Col) favorece a estimativa da taxa de renovação celular, que tende a se apresentar elevada em tumores e processos inflamatórios. A Figura 14 mostra espectro cerebral de um indivíduo normal e de um caso de tumor cerebral (glioblastoma multiforme) em que se pode verificar redução do pico da NAA (neurônios) e elevação no pico da colina, refletindo a elevada taxa de renovação celular intratumoral.²⁸

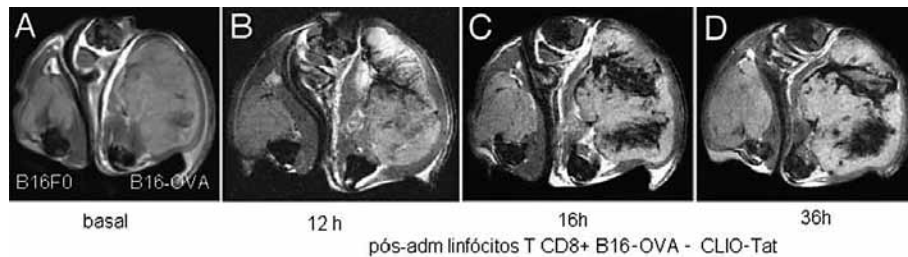


Figura 13 - Imagens de RM de um camundongo inoculado na coxa direita com células da linhagem B16-OVA de melanoma e na coxa esquerda células da linhagem B16F0 de melanoma. Linfócitos T citotóxicos CD8+ sensibilizados contra a linhagem B16-OVA foram incubados com as partículas CLIO-Tat. Após a injeção deste material, as imagens seriadas mostraram o ataque dos linfócitos marcados apenas ao tumor da coxa direita, da linhagem B16-OVA.²⁷

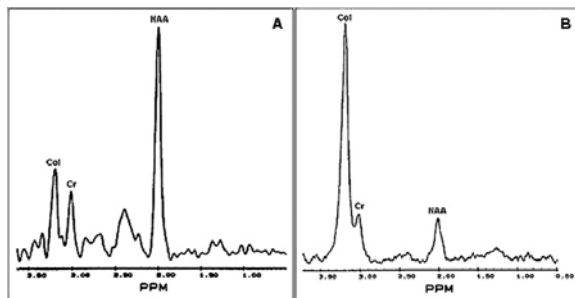


Figura 14 - A: espectro cerebral de um indivíduo normal e B: espectro cerebral de um paciente com glioblastoma multiforme evidenciando, em relação ao cérebro normal, uma redução do pico da N-acetil-partato (NAA) que reflete uma redução na população de neurônios e uma elevação no pico da colina, que indica uma elevada taxa de renovação celular intratumoral.²⁸

ULTRASSONOGRAFIA

A presença de ar em tecidos moles causa intensa reflexão das ondas sonoras utilizadas na ultrassonografia. Esse fenômeno pode ser explorado para a criação de “meios de contraste” ultrassonográfico como microbolhas contendo gases em seu interior. Estas microbolhas podem ter uma parede de fosfolípidos, como no caso dos lipossomas, ou de materiais como emulsões de perfluor-carbono. Com diâmetros variando de 100 nm a 2 µm, as microbolhas normalmente não saem dos vasos sanguíneos e, portanto, são adequadas para alvos intravasculares, endotélio ou outras células que estejam expostas ao sangue circulante. A incorporação de moléculas alvo-específicas na superfície das microbolhas permite a sua ligação a alvos definidos. A Figura 15A mostra visão artística de uma microbolha com bioconjugados incorporados à sua membrana e a Figura 15B mostra como estes bioconjugados podem ser acoplados e estabilizados na membrana.²⁹ Um exemplo interessante é a utilização de bioconjugados

direcionados aos receptores GPIIb/IIIa que são expostos na superfície das plaquetas ativadas. Estes receptores, pertencente ao grupo das integrinas, estão envolvidos na promoção da agregação plaquetária e na transformação do fibrinogênio a fibrina com a consequente formação dos coágulos sanguíneos.³⁰

A utilização de microbolhas revestidas de bioconjugados específicos para o receptor GPIIb/IIIa permite o direcionamento das partículas ao alvo, as plaquetas ativadas e, em última análise, ao coágulo. A Figura 16 mostra microfotografias de coágulos expostos a microbolhas sem e com os bioconjugados direcionados aos receptores GPIIb/IIIa, onde se pode verificar a intensa fixação das partículas revestidas de bioconjugados alvo-específicos.²⁹ A Figura 17 mostra um trombo na aurícula de um cão. A utilização de microbolhas direcionadas ao receptor GPIIb/IIIa aumenta a capacidade de visualização do mesmo pela Ultrassonografia.³¹ Esta capacidade de fixação das microbolhas direcionadas aos coágulos pode prenunciar o emprego terapêutico do ultrassom, na dissolução de coágulos.³²

Um outro exemplo de microbolhas direcionadas aos receptores GPIIb/IIIa envolve o sistema biotina-avidina. É feita a administração intravenosa de um anticorpo ligado à biotina direcionado aos receptores GPIIb/IIIa. Alguns minutos após é feita a injeção intravenosa de microbolhas revestidas com avidina. Deste modo as microbolhas se ligam ao coágulo permitindo a sua visualização pela Ultrassonografia. A Figura 18 mostra a diferença na visualização de coágulos pela Ultrassonografia em animais injetados com anticorpos ligados à biotina e animais que receberam salina, portanto sem o direcionamento das microbolhas.³³

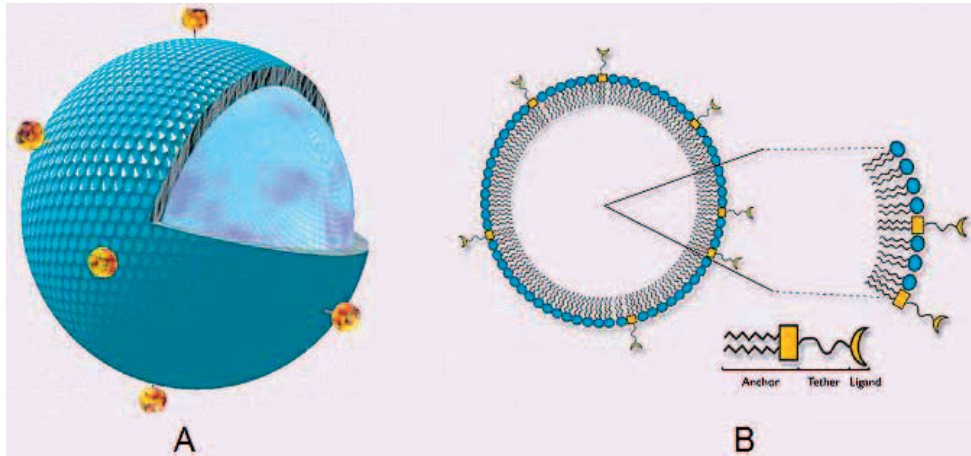


Figura 15 - A: representação de uma microbolha gasosa com bioconjugados incorporados à sua membrana na lipídica, utilizadas em ultrassonografia. B: detalhe da ligação do bioconjugado à membrana da microbolha.²⁹

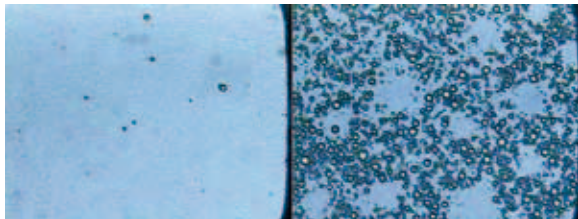


Figura 16 - Microfotografias de coágulos expostos a microbolhas sem (esquerda) e com bioconjugados direcionados aos receptores GPIIb/IIIa (direita), onde se pode verificar a intensa fixação das partículas revestidas de bioconjugados alvo-específicos.²⁹

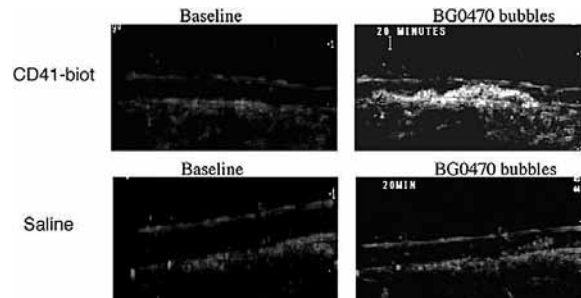


Figura 18 - Microbolhas direcionadas aos receptores GPIIb/IIIa envolvendo o sistema biotina-avidina. A injeção intravenosa de microbolhas revestidas com avidina, quando precedida da administração de um anticorpo, ligado à biotina, direcionado aos receptores GPIIb/IIIa facilita a visualização de coágulos pela Ultrassonografia.³³

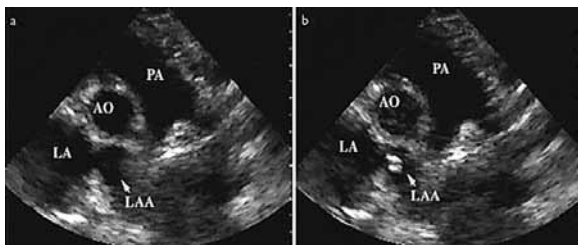


Figura 17 - Trombo na aurícula de um cão. A utilização de microbolhas direcionadas ao receptor GPIIb/IIIa (imagem à direita) aumenta a capacidade de visualização do trombo pela Ultrassonografia.³¹

PERSPECTIVAS

O futuro do diagnóstico por imagem é a IM. O diagnóstico mais precoce e preciso, cada vez menos invasivo é a tendência geral. A união das abordagens anatômica e molecular traz inúmeros benefícios à pesquisa e à prática médica.

Para se ter noção da evolução da IM para a clínica e a pesquisa com animais, é interessante observar a quase vertiginosa oferta de novos agentes de imagem. Há um banco de dados de agentes de Imagem Molecular e contrastes (MICAD) do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América, onde constam, apenas, agentes para uso *in vivo* em animais ou humanos. O MICAD apresentava, na atualização de 28 de abril de 2011, 4194 agentes catalogados, sendo 1002 já aprovados.³⁴

REFERÊNCIAS

1. Miller JC, Thrall JH. Clinical molecular imaging. *J Am Coll Radiol.* 2004; 1:4-23.
2. Shastry BS. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. *Pharmacogenomics J.* 2006; 6:16-21.
3. Piwnica-Worms DR. Introduction to molecular imaging. *J Am Coll Radiol.* 2004; 1(supl):2-3.
4. Molecular Imaging Center of Excellence Standard Definitions Task Force – MICOE - SNM. A Definition of molecular imaging. *J Nucl Med.* 2007; 48:18N.
5. Massoud TF, Gambhir SS. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological process in a new light. *Genes Dev.* 2003; 17:545-80.
6. Singh A, Massoud TF, Deroose C, Gambhir SS. Molecular imaging of reporter gene expression in prostate cancer: an overview. *Semin Nucl Med.* 2008; 38:9-19.
7. Schöder H, Ong SC. Fundamentals of molecular imaging: rationale and applications with relevance for radiation oncology. *Semin Nucl Med.* 2008; 38:119-28.
8. Weissleder R, Mahmood U. Molecular imaging. *Radiology.* 2001; 219:316-33.
9. Vallabhajosula S. Molecular imaging: introduction. In: Vallabhajosula S. *Molecular imaging: radiopharmaceuticals for PET and SPECT.* Berlin Heidelberg: Springer Verlag; 2009. p. 1-9.
10. Gambhir SS. General principles of molecular imaging. In: Weissleder R, Ross BD, Rehemtulla A, Gambhir SS, editors. *Molecular Imaging: principles and practice.* Shelton: People's Medical Publishing House – USA; 2010. p. 1-9.
11. Weissleder R. Scaling down imaging: molecular mapping of cancer in mice. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2:1-8.
12. Bhaumik S, Gambhir SS. Optical imaging of renilla luciferase reporter gene expression in living mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99:377-82.
13. Yodh A, Chance B. Spectroscopy and imaging with diffusing light. *Phys Today.* 1995; 48:34-40.
14. Mahmood U, Tung CH, Bogdanov A, Weissleder R. Near infrared optical imaging of protease activity for cancer detection. *Radiology.* 1999; 213:866-70.
15. Weissleder R, Tung C, Mahmood U, Bogdanov A. In vivo imaging of tumors with protease-activated near infra-red fluorescent probes. *Nat Biotechnol.* 1999; 17:375-8.
16. Weissleder R, Ntziachristos V. Shedding light onto live molecular targets. *Nat Med.* 2003; 9:123-8.
17. Tung CH, Mahmood U, Bredow S, Weissleder R. In vivo imaging of proteolytic enzyme activity using a novel molecular reporter. *Cancer Res.* 2000; 60:4953-8.
18. Bremer C, Tung CH, Weissleder R. In vivo molecular target assessment of matrix metalloproteinase inhibition. *Nat Med.* 2001; 7:743-8.
19. Chen J, Tung CH, Mahmood U, *et al.* In vivo imaging of proteolytic activity in atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 105:2766-71.
20. Patel O, Shulkes A, Baldwin GS. Gastrin-releasing peptide and cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1766:23-41.
21. Gugger M, Reubi JC. Gastrin-releasing peptide receptors in non-neoplastic and neoplastic human breast. *Am J Pathol.* 1999; 155:2067-76.
22. Markwalder R, Reubi JC. Gastrin-releasing peptide receptors in the human prostate: relation to neoplastic transformation. *Cancer Res.* 1999; 59:1152-9.
23. Zhang X, Cai W, Cao F, *et al.* ¹⁸F-labeled bombesin analogs for targeting GRP receptor-expressing prostate cancer. *J Nucl Med.* 2006; 47:492-501.
24. Zhang X, Schumacher J, Waser B, *et al.* DOTA-PESIN, a DOTA-conjugated bombesin derivative designed for the imaging and targeted radionuclide treatment of bombesin receptor-positive tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2007; 34:1198-208.
25. Phelps ME, Hoffman EJ, Selin, C, *et al.* Investigation of [¹⁸F]2-fluoro-2-deoxyglucose for the measure of myocardial glucose metabolism. *J Nucl Med.* 1978; 19:1311-9.
26. Allport JR, Weissleder R. *In vivo* imaging of gene and cell therapies. *Exp Hematol.* 2001; 29: 1237-46.
27. Kircher MF, Allport JR, Graves EE, *et al.* In vivo high resolution three-dimensional imaging of antigen-specific cytotoxic T lymphocyte trafficking to tumors. *Cancer Res.* 2003; 63:6838-46.
28. Castillo M, Kwock L, Mukherji SK. Clinical applications of Proton MR Spectroscopy. *Am J Neuroradiol.* 1996; 17: 1-15.
29. Unger EC, Matsunaga TO, McCreery T, Schumann PA, Sweitzer R, Quigley R. Therapeutics applications of microbubbles. *Eur J Radiol.* 2002; 42:160-8.
30. Gomes MEW, Fabris C, B Filho JL, Dreher R, Rosito GA. Antagonistas do receptor plaquetário GPIIb/IIIa. *Rev Assoc Med Bras.* 2000; 46:255-64.
31. Unger EC, *et al.* In *Ultrasound Contrast Agents.* 2nd ed. Goldberg BB, Raichlen JS, Forsberg F, editors. Martin Dunitz Ltd; 2001. Chapter 31. Apud Unger EC, Matsunaga TO, Schumann PA, Zutshi R. Microbubbles in molecular imaging and therapy. *Medica Mundi.* 2003; 47:58-65.
32. Unger EC, Matsunaga TO, Schumann PA, Zutshi R. Microbubbles in molecular imaging and therapy. *Medica Mundi.* 2003; 47:58-65.
33. Tardy I, Pochon S, Theraulaz M, Nanjappan P, Schneider M. In vivo ultrasound imaging of trombi using a target-specific contrast agent. *Acad Radiol.* 2002; 9(suppl 2):S294-6.
34. Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD). Atualização de 28 de abril de 2011. [Cited 2011 May 5]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5330/>.