

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 268**

51 Int. Cl.:

**A61B 6/00**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99945495 .2**

96 Fecha de presentación: **31.08.1999**

97 Número de publicación de la solicitud: **1126788**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.08.2001**

54 Título: **SISTEMA DE OBTENCIÓN DE IMÁGENES RADIOGRÁFICAS DE TEJIDO.**

30 Prioridad:  
**08.09.1998 US 149734**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**17.01.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**17.01.2012**

73 Titular/es:  
**Veritas Pharmaceuticals  
10430 Wilshire Boulevard  
Los Angeles, CA 90024, US**

72 Inventor/es:  
**SALB, Jesse**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

**ES 2 372 268 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Sistema de la obtención de imágenes radiográficas de tejido

### Antecedentes de la invención

#### A. Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a la obtención de imágenes médicas y específicamente a un sistema y agente de obtención de imágenes para la localización de ciertos tipos de tejido anormal, tal como tejido maligno, usando radiografía.

#### B. Descripción de la técnica relacionada

- 10 La radiografía implica el examen de órganos internos del cuerpo por transiluminación con rayos X. El receptor de imágenes puede ser película radiográfica, una combinación de película/pantalla intensificadora, una placa de almacenamiento de fósforo estimulable, un intensificador de imágenes fluoroscópicas, una matriz de sensores de silicio amorfo, una combinación de CCD/centelleador u otro tipo de receptor sensible a rayos X. En la radiografía digital, un ordenador digitaliza la imagen adquirida y puede potenciarla usando algoritmos de procesamiento de imágenes. Los procedimientos radiográficos más comúnmente realizados incluyen mamografía, en la que las imágenes de la mama se generan para detectar cáncer de mama, y radiografía torácica, en la que las imágenes de los pulmones y el corazón se generan para detectar una variedad de enfermedades, que incluyen cáncer de pulmón.

- 15 Un fin principal de la radiografía es la detección fidedigna de tejido maligno y su diferenciación precisa de tejido no maligno. En la práctica habitual, el radiólogo decide si el tejido es maligno, benigno o normal únicamente por la inspección visual de la radiografía. El aspecto del tejido en una radiografía depende principalmente del grado al que el haz de rayos X de transiluminación es atenuado durante su recorrido de las diferentes áreas del tejido que se examina. Sin embargo, se ha demostrado repetidamente que el aspecto visual del tejido en la radiografía no es un criterio fidedigno para el diagnóstico definitivo de tumores malignos.

- 20 Estudios confirman una alta tasa de error en el diagnóstico radiológico del cáncer. Estos errores se clasifican en dos categorías: positivos falsos y negativos falsos. Un positivo falso, también llamado un error en especificidad, se produce cuando se juzga que una radiografía muestra tejido maligno que a la larga demuestra ser benigno. Un negativo falso, también llamado un error en sensibilidad, se produce cuando el tejido maligno en realidad presente no se detecta en la radiografía.

- 25 Uno de los procedimientos radiográficos más comúnmente realizados es la mamografía en la que las mamas se examinan para pruebas de cáncer. Anualmente se realizan aproximadamente 25 millones de mamografías de cribado primario en los Estados Unidos. Sin embargo, la alta incidencia de positivos falsos y negativos falsos reduce la fiabilidad de la mamografía como herramienta de diagnóstico.

- 30 Las fuentes principales de positivos falsos en mamografías son quistes y fibroadenomas. Los quistes son estructuras de tejido benigno llenas de fluido que frecuentemente pueden estar presentes en una mama por lo demás normal. Los fibroadenomas son crecimientos benignos de tejido que también pueden estar presentes en una mama normal. Ambos tipos de estructuras pueden sentirse grumosas durante la palpación por el paciente o un médico y, por tanto, pueden parecerse a tumores malignos en un examen físico. Además, tanto los quistes como los fibroadenomas aparecen como áreas de densidad radiográfica disminuida en mamografías. Su aspecto radiográfico puede parecerse mucho al de tumores malignos, que también aparecen como áreas de densidad disminuida.

- 35 Según diversos estudios publicados, entre el 6% y el 13% de las mamografías de cribado primario manifiestan pruebas radiográficas de un posible tumor maligno, pero de estos resultados positivos o sospechosos, aproximadamente el 80% se diagnostican a la larga como benignos [Elmore JG y col.: N. Eng. J. Med. 338: 1089-1096 (1998)]. Sin embargo, como se ha observado previamente, actualmente es imposible diferenciar de forma fidedigna tejido maligno de benigno únicamente por inspección visual de la mamografía. Por consiguiente, la mayoría de los pacientes con resultados primarios positivos requieren adicionalmente procedimientos de diagnóstico que incluyen mamografías adicionales y biopsias excisionales (quirúrgicas) o con aguja. Los tratamientos de diagnóstico secundario que incluyen biopsias normalmente cuestan entre 1500-3000\$. Además del elevado coste, las biopsias conllevan el riesgo de infección, cicatrización, dolor y ansiedad.

- 40 Por tanto, un procedimiento para la diferenciación más precisa de tejido maligno de tejido benigno y normal en las mamografías eliminaría la necesidad de muchas de las biopsias ahora realizadas, disminuyendo el coste de procedimiento y la morbilidad de pacientes.

- 45 Un problema más grave en la mamografía de diagnóstico es la alta incidencia de negativos falsos, en la que tumores malignos que están en realidad presentes no se detectan en la mamografía. Los tumores pasados por alto pueden detectarse meses o años después en una mamografía posterior o por palpación. Durante este intervalo, el tumor puede crecer más y, en el peor caso, metastatizar. Diversos estudios publicados sobre la exactitud del diagnóstico en la mamografía informan de una tasa de negativos falsos de entre el 8% y el 24% [van Dijk JA y col.: Cancer 72:

- 1933-1938 (1993); Bird RE y col.: Radiol. 184: 613-617 (1992); Wallis MG y col.: Clin. Radiol. 44: 13-15 (1991)]. Particularmente en sus fases tempranas de desarrollo, los tumores malignos pueden no notarse incluso tras una inspección minuciosa de la mamografía por un radiólogo con experiencia. Los tumores pueden ser demasiado pequeños para ser detectados, o su aspecto puede ocultarse por tumores benignos o quistes. La visibilidad de los tumores malignos pueden ocultarse adicionalmente en mujeres más jóvenes cuyo tejido de la mama es frecuentemente denso. Como consecuencia, la tasa de negativos falsos en estas mujeres es incluso mayor que en la población general.
- 5
- Se ha demostrado de forma fidedigna que la fase en la que los tumores de mama malignos se detectan es un factor determinante importante de la eficacia de la terapia y del tiempo de supervivencia del paciente. [Ries LAG y col. (eds): SEER Cancer Statistics Review, 1973-1995, National Cancer Institute (1998)].
- 10
- La alta incidencia de tumores pasados por alto en mamografías sugiere que hay un umbral de tamaño mínimo para la detección de tumores malignos usando procedimientos radiográficos habituales, y que estos tumores pueden estar presentes en el cuerpo mucho antes de ser detectados.
- Por tanto, un procedimiento mejorado para la visualización de tumores malignos pequeños en mamografías permitiría su detección más temprana, potenciaría la eficacia de la terapia y prolongaría el tiempo de supervivencia del paciente.
- 15
- Problemas de diagnóstico similares son comunes en radiografía torácica, en la que la obtención de imágenes radiográficas de los pulmones y el corazón se realiza para detectar tejido anormal, particularmente tumores malignos. Anualmente se realizan más de 16 millones de radiografías torácicas en los Estados Unidos. Aproximadamente 3 de cada 100 radiografías torácicas muestran pruebas de masas aisladas pequeñas en el pulmón. Aproximadamente el 50% de estas masas, conocidas como nódulos pulmonares solitarios, son benignas. Sin embargo, es imposible diferenciar de forma fidedigna nódulos malignos de nódulos benignos únicamente por la inspección de la radiografía. El diagnóstico definitivo de estos nódulos requiere actualmente resección quirúrgica o biopsia invasiva. Como en el caso de biopsias de mama, estos procedimientos son caros y añaden el riesgo de morbilidad de pacientes.
- 20
- 25
- Por tanto, un procedimiento mejorado para la diferenciación de tejido maligno de tejido benigno y normal en radiografías torácicas reduciría el gran número de procedimientos de seguimiento innecesarios actualmente realizados, disminuyendo el coste y la morbilidad.
- Como en el caso de la mamografía, los negativos falsos en la radiografía torácica conducen a terapia menos eficaz y a tiempo de supervivencia del paciente más corto. Particularmente en sus fases tempranas de desarrollo, los tumores de pulmón malignos no pueden detectarse incluso tras la inspección minuciosa de la radiografía. La detección temprana de cáncer de pulmón es de particular importancia debido a que la tasa de supervivencia global de la enfermedad es muy baja. Se ha mostrado repetidamente que el tiempo de supervivencia de pacientes cuyos tumores pulmonares se detectan en una fase temprana en su desarrollo es mucho más largo que el de pacientes cuyos tumores se detectan en fases más tardías [Ries LAG y col. (eds): SEER Cancer Statistics Review, 1973-1995, National Cancer Institute (1998)].
- 30
- 35
- Por tanto, un procedimiento mejorado para la visualización de pequeños tumores de pulmón malignos en radiografías torácicas permitiría la detección más temprana de estos tumores y prolongaría el tiempo de supervivencia del paciente.
- 40
- El reconocimiento de las actuales deficiencias de la técnica radiográfica ha conducido a intentos por desarrollar procedimientos más precisos para la obtención de imágenes de diagnóstico de cáncer.
- Un enfoque comúnmente perseguido para mejorar la exactitud del diagnóstico ha sido aumentar la resolución espacial de dispositivos de obtención de imágenes radiográficas. Las radiografías con mayor resolución espacial mejoran la capacidad del radiólogo para visualizar muy bien detalles anatómicos. Sin embargo, este enfoque falla fundamentalmente debido a que la detección de tejido maligno, incluso en imágenes de alta resolución, todavía depende en gran parte de variaciones en la densidad radiográfica. Pero, como se ha observado previamente, la densidad radiográfica sola no es un criterio fidedigno para la detección de tejido maligno. Por tanto, la resolución espacial mejorada sólo puede producir una modesta mejora en la exactitud del diagnóstico.
- 45
- Un enfoque más satisfactorio para la mejora de la exactitud del diagnóstico se basa en generar imágenes del metabolismo de la glucosa en tejido usando tomografía por emisión de positrones (PET). Estas imágenes, que miden la función fisiológica, se denominan en lo sucesivo imágenes funcionales, a diferencia de las imágenes anatómicas generadas por la mayoría de las otras modalidades de obtención de imágenes comúnmente usadas. La obtención de imágenes funcionales por PET explota el hecho de que la tasa metabólica de la glucosa de tejido maligno es considerablemente elevada con respecto a la de tejido benigno y normal en el mismo órgano. En un barrido por PET, un análogo de glucosa radiactivo emisor de positrones, normalmente  $^{18}\text{F}$ -2-fluoro-2-desoxiglucosa, se administra al paciente. Después de un intervalo de aproximadamente una hora, las imágenes de la distribución del análogo de glucosa radiactivo en tejido corporal son adquiridas por una matriz de detectores de fotones que rodea al paciente. En comparaciones directas con modalidades de obtención de imágenes anatómicas, que incluyen
- 50
- 55

tomografía computarizada, resonancia magnética nuclear y ultrasonidos, las imágenes funcionales por PET de metabolismo de la glucosa en tejido han demostrado ser repetidamente más sensibles y específicas en la detección de tumores malignos, particularmente aquellos mayores de 1 cm. [Hoh CK y col.: Semin. Nuc. Med. 27: 94-106 (1997); Conti PS y col.: Nuc. Med. Biol. 23: 717-735 (1996)]

5 La barrera más imponente al uso de PET es su coste. Se requiere un ciclotrón para generar los radiofármacos emisores de positrones requeridos en el procedimiento de obtención de imágenes, y se requiere una matriz de detectores compleja para detectar la emisión de fotones. Los costes de capital en equipos del dispositivo de obtención de imágenes y el ciclotrón son muy altos. Además, se necesitan radioquímicos para realizar complejas síntesis de radiofármacos cuyas semividas son normalmente 2 horas. Debido a los altos costes de capital en  
10 equipos, materiales y laboratorio, el coste de un barrido por PET al paciente es aproximadamente 2500\$. Debido a su coste prohibitivo, la obtención de imágenes por PET no está ampliamente disponible, y no es probable que vaya a usarse en el futuro previsible para el diagnóstico rutinario del cáncer.

Una segunda desventaja de la PET es la menor resolución espacial de las imágenes de PET en comparación con aquellas generadas por radiografía. La resolución espacial relativamente baja es una limitación común a las  
15 modalidades de obtención de imágenes que dependen de matrices de detectores para la medición de partículas de alta energía emitidas a partir de radiofármacos. Debido a su baja resolución espacial, la PET presenta una alta tasa de negativos falsos en la detección de tumores malignos pequeños.

Una tercera desventaja de la PET es la duración del procedimiento de obtención de imágenes. El tiempo requerido para que un paciente esté inmóvil durante un barrido por PET puede ser de media hora a una hora, mientras que las  
20 imágenes radiográficas pueden adquirirse en unos pocos minutos.

Otro enfoque para la detección mejorada de tejido maligno ha sido el desarrollo de tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT). En esta modalidad de obtención de imágenes, un radiofármaco emisor de fotones se administra al paciente. Después de un intervalo durante el que el agente de obtención de imágenes radiactivo se acumula en el tejido corporal, las imágenes se adquieren usando una gammacámara. La gammacámara detecta  
25 fotones emitidos por el agente de obtención de imágenes.

El radiofármaco más común usado en la obtención de imágenes por SPECT de tejido maligno es Tc-99m-Sestamibi. Los resultados de varios estudios han mostrado la captación selectiva de Tc-99m-Sestamibi en tumores malignos de diversos tipos.

Sin embargo, la obtención de imágenes por SPECT tiene limitaciones que reducen su utilidad en el diagnóstico de tumores malignos. En el diagnóstico de cáncer de mama, una limitación principal de la técnica es la baja resolución espacial de las imágenes, que produce una fuerte disminución en la sensibilidad para tumores de mama inferiores a  
30 1,5 cm. Por el tiempo en el que los tumores han crecido a este tamaño, casi siempre son palpables en el examen físico por el paciente o el médico, y pueden haber avanzado a un estado posterior en su desarrollo.

Una segunda desventaja de SPECT en la obtención de imágenes de cáncer de mama es la especificidad relativamente baja. En particular, Tc-99m-Sestamibi produce un número significativo de positivos falsos en pacientes con fibroadenomas benignos. Como los fibroadenomas constituyen la fuente más frecuente de positivos falsos, y frecuentemente producen biopsias innecesarias, el gran número de positivos falsos producido por Tc-99m-Sestamibi reduce su valor en la obtención de imágenes de cáncer de mama. En la obtención de imágenes de diagnóstico del pulmón, la SPECT genera positivos falsos en afecciones tales como tuberculosis, neumonía y granulomas. Por tanto  
35 es inadecuada para el diagnóstico fidedigno de cáncer de pulmón.

También se usan otras modalidades de obtención de imágenes que incluyen tomografía computarizada (CT), resonancia magnética nuclear (RMN) y ultrasonidos para diagnosticar tumores malignos con grados de éxito variables. Sin embargo, durante los últimos 15 años, los estudios clínicos han demostrado repetidamente que la obtención de imágenes funcionales por PET del metabolismo de la glucosa en tejido es la modalidad más precisa  
45 ahora disponible para la detección de tejido maligno.

El documento US 4.887.604 desvela un sistema de obtención de imágenes médicas por resta de energía que se usa para la obtención de imágenes de una parte del cuerpo impregnada con un colorante radiopaco tal como yodo. El documento US 4.455.292 desvela una composición de contraste radiológica para mielografía cerebroespinal que combina un agente de contraste de yodo-benzamido-glucopiranososa y glucosa. El documento US 4.716.225 desvela  
50 un procedimiento de mapear metabólicamente uno o más componentes del sistema nervioso central de un cuerpo de mamífero por barrido con tomografía axial computarizada que implica inyectar una cantidad eficaz de una hexosa sustituida con 2-, 5- o 6-yodo como medio de contraste en el cuerpo del mamífero y escanear el cuerpo del mamífero por tomografía axial computarizada, visualizándose así el flujo de concentración de dicha hexosa en el componente o componentes del sistema nervioso central.

También se ha desarrollado una amplia variedad de agentes de contraste para potenciar la delineación de tejido en imágenes radiográficas [Torsten y col.: patente de EE.UU. nº 3.701.771; Speck y col.: patente de EE.UU. nº 4.364.921; Nordal y col.: patente de EE.UU. nº 4.250.113; Sovak y col.: patente de EE.UU. nº 4.243.653]. Sin embargo, casi todos los agentes de contraste radiográficos comúnmente usados funcionan perfilando pasivamente

órganos y estructuras del cuerpo, potenciando así el contraste anatómico en la radiografía. Estos agentes de obtención de imágenes se acumulan generalmente en el espacio extracelular. Los agentes de contraste radiográficos comúnmente usados son hidrófilos y, por tanto, no son permeables a una membrana celular [Speck U: Contrast Media, pág. 1-23. Churchill Livingstone, Nueva York (1988)]. Los estudios de distribución en tejido al nivel celular confirman que los agentes de contraste radiográficos comúnmente usados tales como metrizamida, iohexol y meglumina-metrizoato de calcio no infiltran la membrana celular ni entran en el citosol intracelular. [Golman K: Acta Radiol. Suppl. S335: 300-311 (1973); Ekholm SE y col.: Acta Radiol. [Diagn] (Stockh) 26: 331-336 (1985); Gjedde A: Acta Neurol. Scandinav. 66: 392-395 (1982); Korman M, Frey H: Invest. Radiol. 15: 68-71 (1980)]. Debido a que estos agentes de contraste no entran en el citosol, no interactúan específicamente con dianas intracelulares y, por tanto, no pueden usarse para proporcionar imágenes que contienen información sobre la función o fisiología intracelular. Por tanto, se limita la utilidad de estos agentes de contraste radiográficos en la detección de tejido funcionalmente anormal.

Se han desarrollado ciertos agentes de contraste radiográficos que entran y salen de las células. Sin embargo, en cada caso, las desventajas asociadas a los mecanismos de entrada y salida celular de las moléculas excluyen su uso en las aplicaciones de obtención de imágenes de diagnóstico tratadas por la presente invención.

Jung y col. (patente de EE.UU. nº 5.141.739) desvelaron un procedimiento de elección como diana de agentes de contraste de rayos X para una población de células particular usando un complejo de una marca radiopaca y un polisacárido. Estos agentes de contraste, cuya aplicación principal es en el potenciamiento de imágenes de CT del hígado, entran en las células por el mecanismo de endocitosis mediada por receptor (RME). En este modo de administración, las moléculas del agente de contraste se unen a receptores sobre la superficie celular y se internalizan en la célula mediante pellizcado de la membrana celular para formar vesículas intracelulares. Aunque estas moléculas del agente de contraste basadas en RME están físicamente localizadas dentro de la célula, están separadas del citosol por la membrana celular que rodea la vesícula. Como las moléculas del agente de contraste no son permeables a una membrana celular, no pueden salir de las vesículas que las rodean. Por tanto, no tienen acceso directo al citosol y, por consiguiente, no interactúan específicamente con, o se unen a, dianas intracelulares. Se han diseñado agentes de contraste similares para potenciar imágenes radiográficas del hígado entrando en hepatocitos. Como en el ejemplo citado anteriormente, las moléculas de estos agentes de contraste están físicamente localizadas dentro de la célula, pero están compartimentadas dentro de liposomas o vesículas intracelulares. Por tanto, están separadas del citosol por la barrera de membrana que rodea el liposoma o vesícula. Como las moléculas no son permeables a una membrana, no tienen acceso directo al citosol y no interactúan específicamente con dianas intracelulares.

Ledley y Gersten (patente de EE.UU. nº 4.716.225) desvelaron un procedimiento de mapeo metabólico del sistema nervioso central usando derivados de azúcar yodados. Los derivados de azúcar son hexosas sustituidas con átomos de yodo en tanto las posiciones C-2, C-5 como C-6. Los patrones de metabolismo son mapeados usando barridos por CT para generar imágenes del flujo de concentración de los azúcares radiopacos en diferentes áreas de tejido en el sistema nervioso central. El flujo de concentración es una medición que refleja la tasa de captación de los compuestos por células.

Los derivados de azúcar radiopacos desvelados son hidrófilos y entran en las células sólo por transporte facilitado por las proteínas de transporte de glucosa (GLUT). Debido a que los derivados de azúcar radiopacos están sustituidos con yodo en diferentes posiciones del anillo, su interacción con las proteínas GLUT se diferencian de la interacción de hexosas nativas con estas proteínas. Los requisitos de unión de las proteínas GLUT son asimétricos y dependen de en qué lado de la membrana celular se localice el ligando de azúcar. [Mueckler M: Eur. J. Biochem. 219: 713-725 (1994); Barnett JEG y col.: Biochem. J. 131: 211-221 (1973); Barnett JEG y col.: Biochem. J. 145: 417-429 (1975); Colville CA y col.: Biochem. J. 294: 753-760 (1993)]. Por tanto, se informó de que las moléculas desveladas podían entrar en las células, pero una vez dentro no podían salir libremente. Se mostró que los compuestos estaban presentes en tejido a mayores concentraciones 9 días después de la administración que 1 hora después de la administración. Estas cifras indican que las moléculas desveladas tenían tasas muy lentas de captación y eliminación celular. Las tasas muy lentas de entrada y salida celular convierten a estas moléculas de valor limitado en procedimientos de obtención de imágenes de diagnóstico. Es evidente que estas moléculas no son bidireccionalmente permeables a una membrana celular.

Además, se ha demostrado que la tasa de transporte y expresión de glucosa de proteínas GLUT en tejido maligno no son coherentemente anormales con respecto a tejido normal. La falta de coherencia minimiza la utilidad del transporte de glucosa como criterio de diagnóstico para la detección de tejido maligno. [Nelson CA y col.: J. Nucl. Med 37: 1031-1037 (1996); Binder C y col.: Anticancer Res 17: 4299-4304 (1997)].

Con el fin de mejorar la utilidad diagnóstica de agentes de contraste radiográficos que llenan el espacio se han desarrollado procedimientos para potenciar su visualización en el cuerpo. Mistretta y col. (patente de EE.UU. nº 3.854.049; patente de EE.UU. nº 3.974.386) describieron el uso de múltiples haces de rayos X para potenciar la visualización de agentes de contraste yodados en la obtención de imágenes fluoroscópicas y para cancelar la contribución de densidad radiográfica de tejido blando y hueso a la imagen. Otro procedimiento aisló imágenes de un agente de contraste yodado en presencia de tejido usando frecuencia espacial que codifica una imagen radiográfica [Macovski A y col.: Med. Phys 6: 53-58 (1979)]. Estos procedimientos se refirieron únicamente a la

5 visualización de agentes de contraste radiográficos extracelulares que llenan el espacio. No se sugirió que pudieran obtenerse imágenes de agentes de contraste radiográficos permeables a una membrana celular intracelularmente localizados usando estos procedimientos, ya que ningún agente de obtención de imágenes tal estaba disponible o era conocido en ese momento. Además, estos procedimientos no proporcionaron la capacidad de generación de imágenes fisiológicas funcionales de tejido corporal, ni de presentación de una combinación visualmente alineada de una imagen funcional y una anatómica del mismo tejido.

10 Un agente de obtención de imágenes radiográficas que facilitó la generación de imágenes fisiológicas funcionales, además de las imágenes anatómicas ahora proporcionadas por radiografías, y que podría usarse con dispositivos de obtención de imágenes radiográficas ampliamente disponibles, sería de gran valor en la práctica de la radiografía, particularmente en la obtención de imágenes de diagnóstico de cáncer. Esta capacidad no se proporciona actualmente por ningún agente de contraste radiográfico.

15 Además, la visualización simultánea de imágenes funcionales e imágenes anatómicas de alta resolución, con ambas imágenes superpuestas en el registro, es altamente deseable para fines de diagnóstico y de investigación en la obtención de imágenes médicas. El registro se refiere al alineamiento visual exacto, o superposición, de dos o más imágenes desde el punto de vista del usuario. Además, la capacidad de variar interactivamente las proporciones de la información funcional y anatómica visualizada en una única imagen con registro completo también sería de gran valor. Con esta capacidad, por ejemplo, áreas de actividad (fisiológica) funcional anormal podrían guardar relación con hitos anatómicos cercanos, y podría enfatizarse tanto la imagen anatómica como funcional. Estas capacidades potenciarían la capacidad del médico para localizar con precisión áreas de tejido anormal tales como tumores malignos. Estas capacidades no se proporcionan por ninguna modalidad de obtención de imágenes individuales actualmente disponible.

25 Se han desarrollado muchos enfoques para la necesidad de la visualización y el registro simultáneos de imágenes funcionales y anatómicas [Woods y col.: J. Computer Assisted Tomogr. 22: 139-152 (1998); Alpert NM y col.: Neuroimage 3: 10-18 (1996); Friston y col.: Hum Brain Map. 2: 165-189 (1995); Woods y col.: J. Comput. Assisted Tomogr. 17: 536-546 (1993)]. Todos estos procedimientos de visualización y registro de imágenes requieren el uso de dispositivos de obtención de imágenes anatómicas y funcionales separados tales como PET y RMN para adquirir secuencialmente imágenes del paciente durante procedimientos de obtención de imágenes separados. Las matrices de datos de imágenes adquiridas se combinan posteriormente usando algoritmos de software. Estos cálculos de software requieren generalmente mucho tiempo y requieren un hardware computacional considerable.

30 Wang (patente de EE.UU. nº 5.729.620) desveló un sistema para superponer imágenes digitalizadas que representaban datos de rayos X en el registro con un mapa de anotación. El mapa de anotación puede construirse por un sistema de diagnóstico ayudado por ordenador (CAD). La invención no sugiere un procedimiento de superposición de imágenes anatómicas en el registro con imágenes de tejido (fisiológico) funcionales, ya que los sistemas CAD no proporcionan imágenes funcionales.

35 Por tanto, es evidente que el presente estado de la técnica de la obtención de imágenes de diagnóstico no proporciona una modalidad suficientemente precisa, económica y ampliamente disponible para la detección y la localización de ciertos tipos de tejido tales como tejido maligno. Una modalidad de obtención de imágenes ideal debería combinar la exactitud del diagnóstico demostrada de la obtención de imágenes funcionales de fisiología de tejido con la alta resolución anatómica de la radiografía. También podría proporcionar la capacidad de mostrar información funcional y anatómica sobre una única imagen con registro completo. Una modalidad de obtención de imágenes con estas características debería mejorar la detección de tumores pequeños en una fase más temprana en su desarrollo, y mejorar la diferenciación de tejido maligno de no maligno. Así deberían reducirse los errores de negativos falsos y de positivos falsos. También debería mejorarse la obtención de imágenes de diagnóstico de otros tipos de tejido anormal. La modalidad de obtención de imágenes ideal también debería proporcionar imágenes a bajo coste, mejorar la exactitud de los dispositivos de obtención de imágenes radiográficas actualmente instalados y no requerir el uso de radiofármacos. Una modalidad de obtención de imágenes que proporciona estas ventajas debería satisfacer una necesidad urgente en la práctica de la obtención de imágenes de diagnóstico.

**Resumen de la invención**

50 La presente invención es un sistema y un agente de obtención de imágenes para la detección y la localización mejorada de tejido anormal o enfermo tal como tejido maligno usando radiografía. Se describe la capacidad de generación de una imagen radiográfica del tejido que combina tanto información funcional (fisiológica) como anatómica en una única imagen con los dos tipos de información en el registro espacial completo. El procedimiento descrito también permite que el visualizador controle interactivamente las proporciones relativas de información funcional y anatómica presentadas en la imagen visualizada. Esta capacidad facilita la localización precisa de ciertos tipos de tejido, tal como en tejido maligno funcionalmente anormal, en relación con estructuras anatómicas.

55 La presente invención será particularmente útil en mamografía y radiografía torácica, modalidades de obtención de imágenes que actualmente demuestran altas tasas de error de sensibilidad y especificidad de diagnóstico. Sin embargo, también puede mejorarse la exactitud de una amplia gama de procedimientos de obtención de imágenes radiográficas usados para la detección de tejido anormal o enfermo.

En su forma general, la presente invención es un sistema para la obtención de imágenes radiográficas de tejido corporal como se define en la reivindicación 1.

Este sistema puede usarse en un procedimiento descrito en el presente documento que comprende:

- 5
- a) administrar un agente de obtención de imágenes radiopaco permeable a una membrana celular a un organismo vivo;
  - b) generar un haz de rayos X;
  - c) iluminar el tejido que se examina con el haz de rayos X; y
  - d) adquirir una imagen radiográfica del tejido durante la iluminación por el haz.

Otro procedimiento descrito en el presente documento incluye:

- 10
- a) generar dos o más haces de rayos X con espectros de energía diferentes predeterminados;
  - b) iluminar el tejido con cada uno de los haces de rayos X;
  - c) adquirir una imagen radiográfica del tejido durante la iluminación por cada uno de los haces de rayos X; y
  - d) realizar una combinación ponderada de las imágenes radiográficas adquiridas para producir una única imagen.

- 15
- Los haces de rayos X usados en este procedimiento puede ser cuasi-monoenergéticos o monoenergéticos.

El procedimiento puede incluir adicionalmente visualizar proporciones variables de densidad radiográfica contribuidas por el agente de obtención de imágenes, por tejido blando y por hueso a la imagen visualizada.

- 20
- En el procedimiento descrito en el presente documento, además de en el sistema de la invención, el agente de obtención de imágenes radiopaco permeable a una membrana celular puede unirse selectivamente, tanto covalentemente como no covalentemente, a una diana celular. La diana celular puede ser una estructura celular tal como un orgánulo, o una molécula celular. La diana celular puede ser una enzima, una proteína no enzimática, una coenzima, un ácido nucleico o un lípido.

- 25
- La diana celular puede ser hexocinasa. El agente de obtención de imágenes puede acumularse en tejido maligno a una tasa diferente que en tejido no maligno. El agente de obtención de imágenes puede acumularse en tejido miocárdico anormal a una tasa diferente que en tejido miocárdico normal.

También se describe un procedimiento para generar una imagen funcional y una imagen anatómica de tejido en el registro que comprende:

- 30
- a) administrar un agente de obtención de imágenes radiopaco a un organismo vivo;
  - b) generar al menos dos haces de rayos X con espectros de energía diferentes predeterminados;
  - c) iluminar el tejido que se examina con cada uno de los haces de rayos X;
  - d) adquirir una imagen radiográfica del tejido durante la iluminación por cada uno de los haces;
  - e) generar la imagen funcional a partir de al menos dos de las imágenes radiográficas adquiridas.

El agente de obtención de imágenes radiopaco puede comprender una composición permeable a una membrana celular que tiene una fórmula general S-L-X en la que:

- 35
- S es un resto de unión que se une selectivamente a una molécula celular;
  - X es un resto radiopaco; y
  - L es un resto de enlace que enlaza el resto S con el resto X.

En un aspecto, la invención se refiere a una composición como se define en la reivindicación 19.

- 40
- La invención, según una realización, se basa en el principio bien establecido de que el tejido maligno puede distinguirse de forma fidedigna del tejido benigno y normal por su tasa característicamente elevada del metabolismo de la glucosa. Específicamente, casi todos los tipos de tejido maligno metabolizan glucosa a tasas considerablemente mayores que el tejido benigno y normal del mismo órgano del cuerpo. También se ha establecido que el tejido maligno contiene niveles elevados de varias enzimas activas en el metabolismo de la glucosa.

- 45
- La hexocinasa es una enzima que se expresa particularmente en exceso en células malignas. La hexocinasa cataliza la primera etapa en el metabolismo de la glucosa, que es la fosforilación de glucosa en glucosa-6-fosfato. Estudios cuantitativos han demostrado coherentemente niveles elevados de hexocinasa en tejido maligno, siendo el elevado nivel de enzimas aproximadamente proporcional a la elevada tasa metabólica de la glucosa en tejido. Por tanto, la hexocinasa es una enzima diana apropiada para la detección y la localización de tejido maligno.

- 50
- Por consiguiente, un procedimiento descrito en el presente documento usa un agente de obtención de imágenes funcionales que comprende un ligando de alta afinidad radiopaco permeable a una membrana celular para hexocinasa intracelular. En esta realización, un sustrato o inhibidor de hexocinasa está enlazado con un resto radiopaco no radiactivo de un modo tal que facilita el paso eficiente del agente de obtención de imágenes a través de la membrana celular externa (membrana plasmática), la entrada directa en el citosol y la unión selectiva con alta

afinidad al sitio de unión del sustrato de moléculas de hexocinasa intracelulares. La propiedad de permeable a una membrana celular de las moléculas de agente de obtención de imágenes asegura su entrada directa en el citosol y la salida de las moléculas de agente de obtención de imágenes sin unir a través de la membrana celular. Por tanto, las moléculas de agente de obtención de imágenes que se han unido a hexocinasa son retenidas dentro de la célula durante al menos algunas horas. Las moléculas de agente de obtención de imágenes sin unir salen de la célula a una velocidad relativamente rápida, disminuyendo la radiopacidad de fondo y aumentando el contraste en la imagen radiográfica. Debido a la concentración mucho mayor de hexocinasa en células malignas con respecto a células benignas y normales, el agente de obtención de imágenes se acumula en tejido maligno a un nivel elevado con respecto a tejido benigno y normal.

En un ejemplo de un sistema y procedimiento descrito en el presente documento, un procedimiento radiográfico se inicia administrando el agente de obtención de imágenes a un paciente vivo. Después de acumularse el agente de obtención de imágenes en todo el tejido corporal durante un intervalo predeterminado, el paciente se posiciona apropiadamente en relación con la fuente de rayos X y el receptor de imágenes, y las imágenes radiográficas son adquiridas. El tejido que metaboliza la glucosa a una tasa alta, particularmente el tejido maligno, habrá acumulado mayores niveles intracelulares del agente de obtención de imágenes que el tejido que metaboliza la glucosa a una tasa menor, tal como tejido benigno y normal. Debido a que el agente de obtención de imágenes es radiopaco, su acumulación diferencial produce diferencias correspondientes en la absorción del haz de rayos X de iluminación, que se manifiestan como niveles diferentes de densidad radiográfica en la radiografía.

En un procedimiento descrito en el presente documento, la densidad radiográfica contribuida por el agente de obtención de imágenes acumulado se aísla de la densidad radiográfica contribuida por el tejido blando y el hueso. En este procedimiento, el tejido que se examina se transilumina secuencialmente por haces de rayos X con espectros de energía media diferentes predeterminados, y una imagen radiográfica separada se adquiere durante la transiluminación por cada haz. Usando un coeficiente de ponderación predeterminado para cada imagen, el sistema de procesamiento de imágenes realiza una combinación ponderada de las imágenes adquiridas para producir una única imagen visualizada. El uso de haces de rayos X de transiluminación con espectros de energía media apropiados junto con coeficientes de ponderación apropiados en el procedimiento de procesamiento de imágenes permite la cancelación en las imágenes visualizadas de la densidad radiográfica contribuida por el tejido blando y el hueso. La densidad radiográfica restante presente en las imágenes visualizadas es contribuida únicamente por la acumulación intracelular diferencial del agente de obtención de imágenes radiopaco en tejido maligno, benigno y normal. Aunque esta imagen del agente de obtención de imágenes acumulado es una imagen funcional de la fisiología del tejido, se visualiza con la alta resolución espacial de una imagen radiográfica.

El visualizador puede variar interactivamente la proporción de densidad radiográfica contribuida a las imágenes visualizadas por el agente de obtención de imágenes acumulado, por el tejido blando y por el hueso. Así puede visualizarse una imagen funcional de tejido combinada con un grado variable de una imagen anatómica superpuesta en el registro. La combinación de información funcional y anatómica en una única imagen o, si se desea, en una serie de imágenes, facilita la localización precisa de tejido maligno en relación con hitos anatómicos cercanos.

Las ventajas del procedimiento descrito en el presente documento incluyen visibilidad potenciada de pequeñas áreas de tejido funcionalmente anormal en la imagen radiográfica y diferenciación mejorada de tejido maligno de benigno de radiopacidad elevada. Ejemplos de tejido benigno de radiopacidad elevada incluyen quistes y fibroadenomas en la mama y granulomas en el pulmón. Aunque los quistes y los fibroadenomas son las fuentes principales de positivos falsos en mamografía, su tasa de metabolismo de la glucosa no es elevada con respecto a la de tejido normal. Asimismo, la tasa de metabolismo de la glucosa en granulomas, que son una fuente principal de positivos falsos en radiografía torácica, no es elevada. Debido a que la radiopacidad de quistes, fibroadenomas y granulomas no es contribuida por un aumento de la acumulación de agente de obtención de imágenes, se cancela por el procedimiento de obtención de imágenes de la presente invención. Por tanto, la invención será particularmente ventajosa en la eliminación de estas fuentes ubicuas de positivos falsos.

La invención puede usarse para la obtención de imágenes de órganos del cuerpo particulares tales como la mama, pulmones, hígado y colon, en imágenes individuales o múltiples, o para la obtención de imágenes de grandes áreas del cuerpo o el cuerpo entero en imágenes individuales o múltiples. Además, será evidente para un experto en la materia que con las modificaciones apropiadas al procedimiento de obtención de imágenes y a los agentes de obtención de imágenes la presente invención puede usarse en tomografía computarizada y otras modalidades radiográficas, además de en procedimientos de obtención de imágenes radiográficas convencionales tales como mamografía y radiografía torácica.

Por tanto, el procedimiento descrito en el presente documento es capaz de generar imágenes que combinan la exactitud del diagnóstico proporcionado por la obtención de imágenes funcionales de fisiología del tejido con el alto detalle anatómico y la resolución espacial proporcionada por la radiografía.

### **Breve descripción de los dibujos**

La FIG. 1 es un diagrama de bloques de una realización del sistema de obtención de imágenes usando un único haz de transiluminación de rayos X polienergético.



La FIG. 1A es un diagrama de bloques del sistema de procesamiento de imágenes.

La FIG. 2 es un diagrama de bloques de una realización del sistema de obtención de imágenes usando múltiples haces de transiluminación de rayos X con espectros de energía media diferentes.

5 Las FIGS. 3A y 3B muestran vistas en sección y en planta respectivamente del aparato de filtración de rayos X y su relación con la fuente de rayos X.

La FIG. 4 es un diagrama de bloques de una realización del sistema de obtención de imágenes usando un único haz de transiluminación de rayos X polienergético y filtrando el haz entre el paciente y el receptor de imágenes.

10 La FIG. 5A muestra el coeficiente de atenuación másico del yodo en función de la energía fotónica.

La FIG. 5B muestra los espectros de energía de haces de rayos X sin filtrar y filtrados con yodo.

La FIG. 6A muestra el coeficiente de atenuación másico del cerio en función de la energía fotónica.

La FIG. 6B muestra los espectros de energía de haces de rayos X sin filtrar y filtrados con cerio.

La FIG. 7A muestra el coeficiente de atenuación másico del latón en función de la energía fotónica.

15 La FIG. 7B muestra los espectros de energía de haces de rayos X sin filtrar y filtrados con latón.

La FIG. 8 es un diagrama de flujo de la adquisición de imágenes por múltiples haces y procedimiento de procesamiento.

La FIG. 9 es un diagrama de flujo del procedimiento de control y de visualización de imágenes.

### **Descripción detallada de las realizaciones**

#### **A. Agentes de obtención de imágenes funcionales radiopacos**

20 Con el fin de ser óptimamente eficaz, un agente de obtención de imágenes radiográficas debería potenciar la relación de señal con respecto a ruido de tejido anormal o enfermo con respecto a tejido normal en la imagen radiográfica. En las realizaciones de la presente invención, agentes de obtención de imágenes radiopacos bidireccionalmente permeables a una membrana celular entran rápidamente en células y se unen selectivamente a dianas celulares cuyas concentraciones o actividad es significativamente diferente en tejido anormal o enfermo que

25 en tejido normal. Por tanto, los niveles de acumulación de los agentes de obtención de imágenes son diferentes en tejido anormal que en tejido normal. Los agentes de obtención de imágenes también salen eficientemente de las células de manera que la concentración intracelular de agente de obtención de imágenes no unido o sin incorporar disminuye a un nivel residual suficientemente bajo para disminuir el ruido de fondo y potenciar el contraste en la imagen radiográfica.

#### 30 1. Obtención de imágenes de enzimas

Una de las anomalías más destacadas y características del tejido maligno es su elevada tasa de metabolismo de la glucosa con respecto a tejido normal. Se sabe desde hace tiempo que esta elevada tasa metabólica va acompañada de un aumento correspondiente en la concentración y la actividad intracelular de las enzimas activas en el metabolismo de la glucosa.

35 En particular, los estudios han demostrado repetidamente que la considerable elevación de la tasa metabólica de la glucosa en tejido maligno va acompañada de niveles elevados de actividad de hexocinasa. La hexocinasa cataliza la primera etapa en el metabolismo de la glucosa, que es la fosforilación de glucosa en glucosa-6-fosfato. Las células malignas expresan notablemente en exceso la hexocinasa con respecto a células benignas y normales del mismo órgano [Weber G: Gann Monogr. Cancer Res. 13: 47-77 (1972); Weinhouse S: Cancer Res. 32: 2007-2016]. Una

40 parte de la hexocinasa intracelular se localiza en el citosol en forma soluble, y otra porción se localiza en el citosol y está unida a la membrana mitocondrial externa [Arora KK, Pedersen PL: J. Biol. Chem. 263: 17422-17428 (1988)]. La actividad de hexocinasa de tejido normal, benigno y maligno es aproximadamente proporcional a sus tasas respectivas de metabolismo de la glucosa. El análisis cinético de los compartimentos k en los estudios de obtención de imágenes de glucosa por PET indica que el aumento en la tasa metabólica de la glucosa en tejido maligno puede

45 representar en gran parte un aumento de la actividad de hexocinasa en el compartimento  $k_3$  (fosforilación). Por tanto, la detección y la cuantificación de la hexocinasa es un procedimiento particularmente útil para la identificación de tejido maligno.

Por consiguiente, una realización del agente de obtención de imágenes funcionales radiopaco de la presente invención es un ligando de alta afinidad permeable a una membrana celular para la hexocinasa intracelular. En esta

50 realización, un sustrato o inhibidor de la hexocinasa está enlazado con un resto radiopaco no radiactivo de un modo tal que permite la eficiente difusión del agente de obtención de imágenes a través de la membrana celular en el citosol y la unión con alta afinidad al sitio de unión del sustrato de moléculas de hexocinasa intracelulares. En una realización, la molécula puede comprender un aminoazúcar, en forma de piranosa o furanosa, unido por medio de un brazo de enlace covalente a un resto que contiene uno o más átomos de un elemento radiopaco que puede ser

55 yodo.

Las estructuras proteicas de levadura y hexocinasas humanas se han determinado usando tanto cristalografía de rayos X como las secuencias de aminoácidos conocidas de las enzimas [Willson M y col.: J Enz Inhib. 12: 101-121 (1997); St. Charles R y col.: Diabetes 43: 784-791 (1994); Aleshin AE y col.: Structure 6: 39-50 (1998)], y la actividad relativa de muchos de sus sustratos e inhibidores se ha determinado experimentalmente [Sols A, Crane RK: J. Biol.

Chem. 210: 581-595 (1954); Maley F, Lardy HA: J Biol Chem. 214: 765-773 (1955); Cavena EA y col.: J Enz Inhib. 6: 271-282 (1993)]. Estos resultados publicados, en combinación con estudios de modelación molecular originales, proporcionan los datos necesarios para el diseño de ligandos de alta afinidad radiopacos permeables a una célula para la hexocinasa descrita en la presente invención.

5 Se han caracterizado bien las interacciones estructurales de hexocinasa con sus sustratos e inhibidores. Tanto las estructuras de anillo de piranosas como de furanosas pueden unirse al sitio de unión del sustrato de la enzima con alta afinidad. Basándose en los datos publicados y los presentes estudios de modelado, la estrategia óptima para la unión de restos al azúcar produciendo el menor impedimento estérico del sitio de unión del sustrato de la enzima es la sustitución del grupo hidroxilo en la posición C-2 del anillo de piranosas o furanosas. Además, estos estudios sugieren  
10 que un brazo de enlace de diseño apropiado insertado entre el resto de unión de enzima y el resto radiopacificante puede mejorar significativamente la afinidad del agente de obtención de imágenes para hexocinasa. La mejora en la afinidad por la enzima se proporciona por las dos funciones del brazo de enlace. Una función es minimizar el impedimento estérico del sitio de unión del sustrato por el resto radiopaco del agente de obtención de imágenes. La segunda función es potenciar la unión de la molécula del agente de obtención de imágenes a la enzima mediante  
15 interacciones beneficiosas, que incluyen enlaces de hidrógeno y contactos de van der Waals, con residuos de aminoácidos en la proximidad del sitio de unión.

En los presentes estudios se usaron búsquedas conformacionales y análisis de QSAR para determinar características óptimas del brazo de enlace y para identificar conformeros energéticamente viables. Se encontró que las características más importantes del brazo de enlace eran su longitud, su masa y su interacción con residuos de  
20 aminoácidos en la proximidad de la cavidad de unión del sustrato de la enzima. Se ha determinado que para evitar interacciones estéricas no deseadas entre el resto radiopaco y el sitio de unión de la enzima, la longitud de cadena del brazo de enlace que separa el anillo de piranosas o furanosas del resto radiopaco, como se mide desde el átomo C-2 del anillo hasta el átomo proximal del resto radiopaco, debería tener un mínimo de aproximadamente 8 Å. Longitudes de cadena más cortas pueden permitir interacciones no deseadas entre el resto radiopaco y residuos  
25 locales al sitio de unión del sustrato. Longitudes de cadena más largas pueden producir interacciones no específicas no deseadas con otros componentes intracelulares, aunque con la presente invención pueden usarse longitudes de cadena más largas.

Además, los sustituyentes pueden insertarse en el brazo de enlace para mejorar adicionalmente la afinidad de unión del agente de obtención de imágenes por la enzima. Un brazo de enlace particularmente eficaz comprende un resto de ácido benzoico que contiene un sustituyente polar tal como un grupo nitrógeno o amino en la posición orto o meta. Sin embargo, las características de los sustituyentes deberían controlarse cuidadosamente. Por ejemplo, la masa del sustituyente por encima de un cierto tamaño puede producir impedimento estérico y una disminución brusca en la  
30 afinidad de unión.

Además del requisito de alta afinidad por la hexocinasa, el agente de obtención de imágenes de una realización debería infiltrar fácilmente la membrana celular y entrar en el citosol con el fin de unir moléculas de enzima intracelular. Además, las moléculas de agente de obtención de imágenes que no se han unido a las moléculas de enzima deberían salir eficientemente de la célula para reducir eficazmente la radiopacidad de fondo. La glucosa se transporta normalmente bidireccionalmente a través de la membrana celular por medio de una o más de las proteínas de transporte GLUT. Los sustituyentes en, o restos ligados a, el anillo básico de piranosas o furanosas  
40 pueden inhibir el transporte por estas proteínas. El diseño del agente de obtención de imágenes de manera que sea lipófilo asegura su difusión bidireccional eficiente a través de la membrana celular sin la necesidad de transporte facilitado por las proteínas GLUT.

En estos estudios, la lipofilia de agentes de obtención de imágenes se caracterizó por el logP calculado. La lipofilia se define como el reparto de un compuesto entre una fase acuosa y una no acuosa, eligiéndose la fase no acuosa normalmente para que sea n-octanol. El logP es el logaritmo del coeficiente de reparto de un compuesto entre las dos fases, y es una medición estándar de la lipofilia en sistemas biológicos. Para una amplia gama de pequeñas moléculas no iónicas se han verificado experimentalmente las fuertes correlaciones entre logP y la distribución de la molécula entre el medio acuoso y la membrana celular [Hansch y col.: J. Pharm Sci. 61: 1-19 (1972)]. Usando modelos apropiados, los valores calculados de logP pueden establecer una estrecha correlación con valores  
50 medidos [Ghose AK y col.: J. Comp. Chem. 9: 80-90 (1988); Rekker RF, Mannhold R: Calculation of Drug Lipophilicity, VCH, Weinheim, (1992); Meilan WM, Howard PH: J. Pharm. Sci. 84: 83-92 (1995)]. Los agentes de contraste radiográficos comúnmente usados tienen generalmente pesos moleculares inferiores a 1000 dalton. Para moléculas de este tamaño, el logP debe ser superior a 0,0 y debe estar preferentemente en el intervalo de aproximadamente 0,0 a aproximadamente 6,0 para permitir la difusión pasiva óptima a través de la membrana celular. La Tabla 1 muestra valores de logP experimentales y pesos moleculares de algunos agentes de contraste radiográficos no iónicos comúnmente usados [Hansch y col.: Exploring QSAR, Amer. Chem Soc., Washington DC (1995)]. La tabla también muestra valores de logP calculados y pesos moleculares de glucosa y de agentes de obtención de imágenes de hexosa sustituida con yodo representativos desvelados por Ledley y Gersten (patente de EE.UU. n° 4.716.225). También se muestran los valores de logP calculados y los pesos moleculares de los Ejemplos  
60 1-3 de la presente invención.

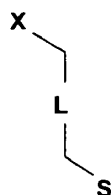
TABLA 1

Compuesto	logP	MW	Patente de EE.UU. nº
Iohexol	- 3,05	821,14	4.250.113
Iopromida	- 2,05	791,12	4.364.921
Metrizamida	- 1,86	789,10	3.701.771
Glucosa	-2,89	180,16	-
6-Yodo-galactosa	-1,73	290,06	4.716.225
2-Yodo-galactosa	-2,08	290,06	4.716.225
Ejemplo 1	+ 4,64	752,08	presente
Ejemplo 2	+ 5,31	779,13	presente
Ejemplo 3	+2,65	866,19	presente

Los pesos moleculares de los compuestos en la Tabla 1 están todos por debajo de 1000 dalton. Los valores de logP de los tres primeros agentes de contraste están por debajo de 0,0 y están de acuerdo con su hidrofiliía demostrada e incapacidad para infiltrar membranas celulares. Los valores de logP de todos los compuestos de hexosa sustituidos con yodo desvelados por Ledley y Gersten, dos ejemplos representativos de los cuales están enumerados en la Tabla 1, también están por debajo de 0,0. A diferencia, los Ejemplos 1-3 de la presente invención tienen valores de logP superiores a 0,0 y su lipofilia relativamente alta potencia su difusión pasiva a través de la membrana celular y la entrada en el citosol.

El resto radiopaco del agente de obtención de imágenes contiene uno o más átomos de un elemento que puede ser yodo que presenta radiopacidad adecuada en el espectro de energía fotónica emitido por una fuente de rayos X de diagnóstico típica que funciona a aproximadamente 50 keV a aproximadamente 80 keV. Aunque el yodo es el elemento radiopaco más común usado para el potenciamiento de contraste radiográfico, otros elementos seleccionados pueden usarse en el resto radiopaco en realizaciones alternativas del agente de obtención de imágenes. La idoneidad de un elemento para su uso en el resto radiopaco dependerá de la energía fotónica del borde de absorción K del elemento, una propiedad explicada en detalle en la sección E. También se apreciará que con la invención también pueden usarse fuentes de rayos X de menor o mayor energía. Los elementos radiopacos con mayores bordes de absorción K pueden usarse generalmente con haces de rayos X de mayor energía fotónica y los elementos con menores bordes de absorción K pueden usarse generalmente con haces de rayos X de menor energía fotónica.

La forma general de una realización del agente de obtención de imágenes radiopaco es



en la que:

- el resto S es una piranosa o una furanosa;
  - el resto X es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi, alquiltio, alquenoilo, alquilarilo, alquilamino, alquilamido, amido o arilamido sin sustituir o sustituido en el que al menos un átomo está sustituido por un átomo radiopacificante de un elemento con un número atómico de entre aproximadamente Z = 35 y aproximadamente Z = 74; y
  - el resto L es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi, alquiltio, alquenoilo, alquilarilo, alquilamino, alquilamido, amido o arilamido sin sustituir o sustituido unido al resto S y al resto X.
- Los grupos funcionalizados, que incluyen grupos hidrófilos que contienen uno o más hidroxilos o carbamoilos, también pueden estar opcionalmente sustituidos en una o más posiciones del resto X para proteger el átomo o los átomos radiopacificantes de producir respuestas quimiotóxicas *in vivo*.

En una realización, el resto S es una piranosa o furanosa que se une al sitio de unión de una enzima intracelular; el

resto X es radiopaco en la porción del espectro de energía normalmente usado en la obtención de imágenes radiográficas de diagnóstico; y el resto L está unido al resto S y al resto X. El resto L posiciona el resto X a una distancia suficiente del anillo de piranosa o furanosa para evitar el impedimento estérico del sitio de unión, y potencia la afinidad de la molécula por la enzima mediante enlaces de hidrógeno e interacciones de Van der Waals con residuos en la proximidad del sitio de unión del sustrato, e interacciones amida-amida con el esqueleto de la proteína.

5

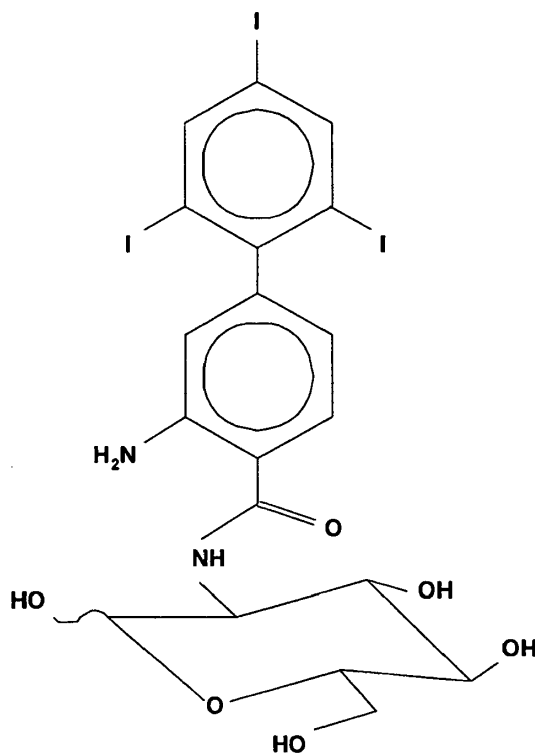
10

Se entenderá que el uso de los términos anteriores en el caso de residuos que pueden estar sustituidos o sin sustituir incluirá las formas razonablemente sustituidas de tales residuos, además de sus formas sin sustituir. Sustituciones razonables que producirán compuestos útiles serán evidentes para un experto en la materia e incluirán tales sustituyentes, sin limitación, como amino, nitro, hidroxilo, carboxilo, carbamoilo, sólo por nombrar algunos.

Los procedimientos de síntesis para los Ejemplos 1-3 emplean reacciones comúnmente usadas en la química de síntesis y serán muy conocidos para aquellos expertos en la materia.

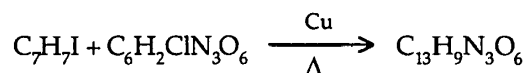
### Ejemplo 1

2-Amino-4-(2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-D-glucosamina (11)



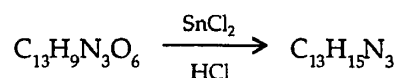
15

Se hace reaccionar 4-yodotolueno con cloruro de picrilo en presencia de bronce de cobre a 215°C dando 2',4',6'-trinitro-4-metilbifenilo (1).

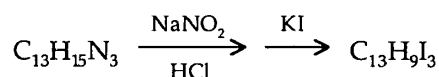


20

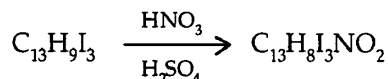
Se hace reaccionar 2',4',6'-trinitro-4-metilbifenilo (1) con cloruro estannoso y ácido clorhídrico dando 2',4',6'-triamino-4-metilbifenilo (2).



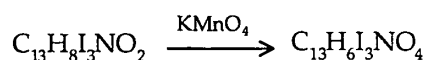
Se hace reaccionar 2',4',6'-triamino-4-metilbifenilo (2) con nitrito de sodio y ácido clorhídrico para convertir los grupos amino en grupos diazonio. Los grupos diazonio reaccionan con yoduro de potasio dando 2',4',6'-triyodo-4-metilbifenilo (3).



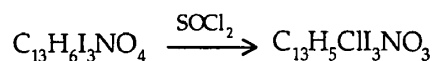
La nitración aromática de 2',4',6'-triyodo-4-metilbifenilo (3) se realiza con ácido nítrico y ácido sulfúrico dando una mezcla de 2',4',6'-triyodo-2-nitro-4-metilbifenilo (4) y 2',4',6'-triyodo-3-nitro-4-metilbifenilo (5). Los productos se separan usando cromatografía en columna.



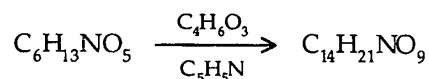
- 5 El grupo metilo del 2',4',6'-triyodo-3-nitro-4-metilbifenilo (5) se oxida por permanganato de potasio dando ácido 2',4',6'-triyodo-3-nitrobifenil-4-carboxílico (6).



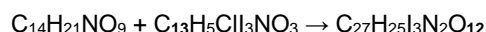
- 10 Se hace reaccionar ácido 2',4',6'-triyodo-3-nitrobifenil-4-carboxílico (6) con cloruro de tionilo dando cloruro de 2',4',6'-triyodo-3-nitrobifenil-4-carbonilo (7).



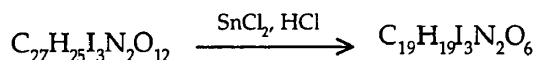
Los grupos hidroxilo de la D-glucosamina (8) se protegen mediante reacción con anhídrido acético en presencia de piridina dando 1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (9).



- 15 Se hace reaccionar 1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (9) con cloruro de 2',4',6'-triyodo-3-nitrobifenil-4-carbonilo (7) dando 2-nitro-4-(2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (10).



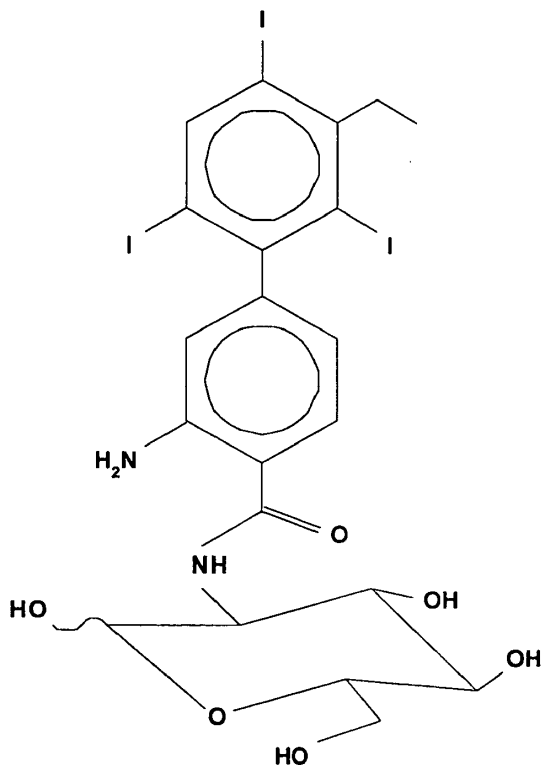
Se trata 2-nitro-4-(2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (10) con cloruro estannoso en presencia de ácido clorhídrico dando 2-amino-4-(2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-D-glucosamina (11).



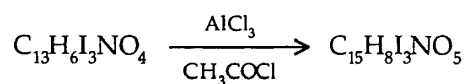
- 20 En el Ejemplo 1, la 2-desoxi-D-glucosa está 2-hidroxi-sustituída con un brazo de enlace de o-aminobenzamida que enlaza la piranosa con un resto de tri-yodofenilo. El anillo de piranosa se une al sitio de unión del sustrato de hexocinasa. El brazo de enlace de o-aminobenzamida potencia la unión de la piranosa al sitio de unión, y también separa el resto de tri-yodofenilo radiopaco una distancia suficiente de la piranosa para evitar el impedimento estérico del sitio de unión. La configuración del triyodofenilo proporciona fuertes enlaces carbono-yodo y así asegura la resistencia a la desyodación *in vivo*. La lipofilia potencia la difusión bidireccional de la molécula a través de la membrana celular, y es contribuida por tanto el brazo de enlace como el resto radiopaco. El logP calculado del Ejemplo 1 es 4,64.
- 25

**Ejemplo 2**

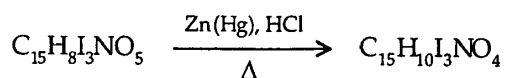
2-Amino-4-(3'-etil-2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-D-glucosamina (16)



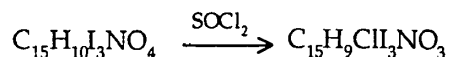
5 La acilación de Feidel-Crafts se realiza en ácido 2',4',6'-triyodo-3-nitrobifenil-4-carboxílico (6) en presencia de  $\text{AlCl}_3$  y  $\text{CH}_3\text{COCl}$  dando ácido 2',4',6'-triyodo-3'-acetil-3-nitrobifenil-4-carboxílico (12).



Entonces se hace reaccionar ácido 2',4',6'-triyodo-3'-acetil-3-nitrobifenil-4-carboxílico (12) con una amalgama de cinc y mercurio y ácido clorhídrico y se calienta dando ácido 2',4',6'-triyodo-3'-etil-3-nitrobifenil-4-carboxílico (13).



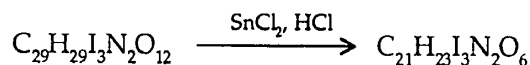
10 Se hace reaccionar ácido 2',4',6'-triyodo-3'-etil-3-nitrobifenil-4-carboxílico (13) con cloruro de tionilo dando cloruro de 2',4',6'-triyodo-3'-etil-3-nitrobifenil-4-carbonilo (14).



Se hace reaccionar 1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (9) con cloruro de 2',4',6'-triyodo-3'-etil-3-nitrobifenil-4-carbonilo (14) dando 2-nitro-4-(3'-etil-2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (15).

15  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_9 + \text{C}_{15}\text{H}_9\text{ClI}_3\text{NO}_3 \rightarrow \text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{I}_3\text{N}_2\text{O}_{12}$

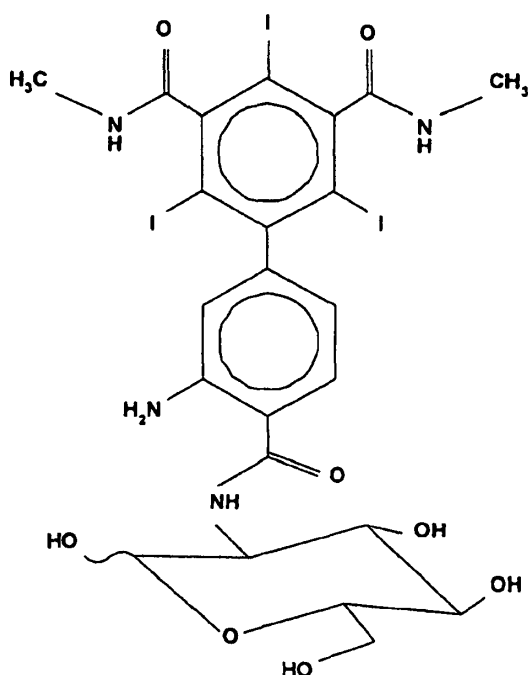
Se trata 2-nitro-4-(3'-etil-2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (15) con cloruro estannoso y ácido clorhídrico dando 2-amino-4-(3'-etil-2',4',6'-triyodofenil)-benzoil-D-glucosamina (16).



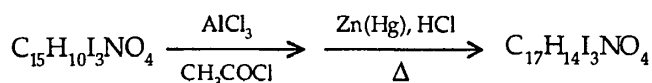
El Ejemplo 2 es similar en la estructura general al Ejemplo 1, con la presencia adicional de una cadena de alquilo corta unida al resto de tri-yodofenilo radiopaco en la posición C-3' para aumentar adicionalmente la lipofilia de la molécula y potenciar la permeabilidad de la membrana celular. El logP calculado del Ejemplo 2 es 5,31.

5 **Ejemplo 3**

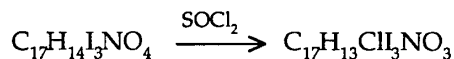
**2-Amino-4-[3'5'-bis(N-metilcarboxamida)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-D-glucosamina (24)**



10 La acilación de Friedel-Crafts se realiza en ácido 2',4',6'-triyodo-3'-etil-3-nitrobifenil-4-carboxílico (13) en presencia de  $AlCl_3$  y  $CH_3COCl$  dando ácido 2',4',6'-triyodo-3'-etil-5'-acetil-3-nitrobifenil-4-carboxílico (17). Entonces, el ácido 2',4',6'-triyodo-3'-etil-5'-acetil-3-nitrobifenil-4-carboxílico (17) se hace reaccionar con una amalgama de cinc y mercurio y ácido clorhídrico y se calienta dando ácido 2',4',6'-triyodo-3',5'-bis(etil)-3-nitrobifenil-4-carboxílico (18).



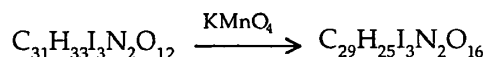
Se hace reaccionar ácido 2',4',6'-triyodo-3',5'-bis(etil)-3-nitrobifenil-4-carboxílico (18) con cloruro de tionilo dando cloruro de 2',4',6'-triyodo-3',5'-bis(etil)-3-nitrobifenil-4-carbonilo (19).



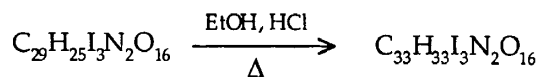
15 Se hace reaccionar 1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (9) con cloruro de 2',4',6'-triyodo-3',5'-bis(etil)-3-nitrobifenil-4-carbonilo (19) dando 2-nitro-4-[3',5'-bis(etil)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (20).



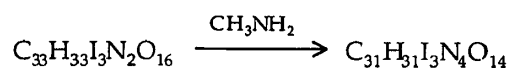
20 Se oxida 2-nitro-4-[3',5'-bis(etil)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (20) con permanganato de potasio dando 2-nitro-4-[3',5'-bis(ácido carboxílico)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (21).



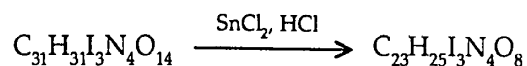
Se hace reaccionar 2-nitro-4-[3',5'-bis(ácido carboxílico)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (21) con etanol y ácido clorhídrico débil y se calienta dando 2-nitro-4-[3',5'-bis(etoxicarbonil)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (22).



5 Se hace reaccionar 2-nitro-4-[3',5'-bis(etoxicarbonil)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (22) con metilamina dando 2-nitro-4-[3',5'-bis(N-metilcarboxamida)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (23).



10 Se trata 2-nitro-4-[3',5'-bis(N-metilcarboxamida)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosamina (23) con cloruro estannoso y ácido clorhídrico dando 2-amino-4-[3',5'-bis(N-metilcarboxamida)-2',4',6'-triyodofenil]-benzoil-D-glucosamina (24).



15 El Ejemplo 3 es similar en la estructura global al Ejemplo 1, con la adición de grupos hidrófilos añadidos en las posiciones C-3' y C-5' del anillo aromático radiopaco para ayudar a proteger los átomos de yodo de la producción de efectos quimiotóxicos *in vivo*. El logP calculado del Ejemplo 3 es 2,65.

Otros grupos funcionalizados, que incluyen grupos hidrófilos que contienen uno o más hidroxilos o carbamoilos, también pueden estar opcionalmente sustituidos en las posiciones 3' y 5' para ayudar a proteger los átomos de yodo de la producción de respuestas quimiotóxicas *in vivo*.

20 Los ejemplos mostrados anteriormente están dirigidos a la obtención de imágenes radiográficas de la elevada tasa metabólica de la glucosa de tejido maligno. Sin embargo, será evidente para un experto en la materia que los agentes de obtención de imágenes para otras enzimas diana pueden sintetizarse combinando un sustrato o inhibidor de la enzima con un resto radiopaco de un modo que permita la difusión del agente de obtención de imágenes a través de membranas celulares y la unión selectiva a la enzima diana. Agentes de obtención de imágenes de esta  
25 forma general pueden usarse para la detección radiográfica de una amplia variedad de enzimas normales y anormales expresadas a niveles variables en tejido corporal normal y anormal.

## 2. Obtención de imágenes de ácidos nucleicos

La hibridación *in situ* es una técnica para la detección de secuencias de ADN o ARN específicas dentro de células. La técnica puede implementarse con un oligonucleótido que consiste en una secuencia predefinida monocatenaria de nucleótidos que es complementaria a una secuencia de nucleótidos seleccionada en una molécula de ADN o ARN diana intracelular. Tales oligonucleótidos se obtienen generalmente por síntesis química o por polimerización enzimática.

35 Se han descrito varios procedimientos para la hibridación *in situ* de oligonucleótidos marcados en células vivas. Singer y col. (patente de EE.UU. nº 5.728.527) desvelaron un procedimiento de detección de sondas de nucleótidos hibridadas marcadas *in situ*. En el procedimiento desvelado, los oligonucleótidos se marcaron con un fluoróforo o con un isótopo radiactivo. Las células se incubaron en presencia de oligonucleótido marcado durante una duración predeterminada de tiempo para permitir que el oligonucleótido entrara en las células y se hibridara con las moléculas diana intracelulares. Entonces, las células se lavaron para eliminar los oligonucleótidos sin hibridar. Entonces, el nivel intracelular de los oligonucleótidos hibridados restantes se determinó por medición de la fluorescencia o la  
40 radiactividad.

La técnica se ha extendido a la obtención de imágenes de secuencias de nucleótidos *in vivo*. Se han obtenido imágenes de tumores pequeños con oligonucleótidos marcados con <sup>111</sup>In usando una gammacámara en un modelo de tumor mamario de ratón [Dewanjee MK y col.: J. Nuc. Med. 35: 1054-1063 (1994)]. También se ha informado de la obtención de imágenes de oligonucleótidos *in vivo* usando tomografía de emisión de positrones [Tavitian y col.:



Nature Medicine 4: 467-471 (1998)]. En el estudio por PET, el emisor de positrones  $^{18}\text{F}$  se usó para marcar oligonucleótidos en el extremo 3' del oligómero.

5 Los oligonucleótidos se han sintetizado normalmente con los enlaces internucleotídicos de fosfodiéster nativo. Se ha mostrado que los oligonucleótidos unidos por fosfodiéster entran en células por medio de endocitosis mediada por receptor [Loke SL y col.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 3474-3478 (1989)]. En este modo de entrada celular, las moléculas de oligonucleótidos se unen a receptores sobre la superficie celular y son internalizadas en la célula pellizcando la membrana celular para formar vesículas intracelulares. Aunque los oligonucleótidos están físicamente localizados dentro de la célula, están separados del citosol por la membrana que rodea las vesículas. Por tanto, no tienen acceso directo al citosol y debido a esto interactúan supuestamente con moléculas de ARN y ADN intracelular a una tasa relativamente ineficiente.

También se han hecho alteraciones al esqueleto de fosfodiéster de oligonucleótidos para disminuir su carga negativa y aumentar su lipofilia. [Bischofberger y col.: patente de EE.UU. nº 5.763.208; Matteucci M: Ciba Found. Symp. 209: 5-18 (1997); Cook y col.: patente de EE.UU. nº 5.610.289]. También se han hecho alteraciones a oligonucleótidos para aumentar su resistencia a nucleasas [Agrawal S, Zhang R: Ciba Found. Symp. 209: 60-75 (1997)].

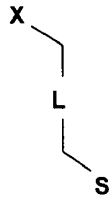
15 Los requisitos para un agente de obtención de imágenes radiográficas funcionales para la obtención de imágenes de secuencias de ADN y ARN diana *in vivo* deberían incluir el uso de una secuencia de oligonucleótidos complementaria a una secuencia de ácidos nucleicos intracelular diana. El agente de obtención de imágenes debería poder infiltrar bidireccionalmente la membrana celular y entrar en la célula con alta eficiencia. La permeabilidad de la membrana celular debería aumentar la eficiencia con la que los oligonucleótidos pueden hibridarse con moléculas de ADN y ARN diana intracelulares. El agente de obtención de imágenes debería ser radiopaco en la región del espectro de energía fotónica usada en la obtención de imágenes radiográficas de diagnóstico. El agente de obtención de imágenes también debería ser resistente a la degradación por nucleasas.

25 Por consiguiente, una realización del agente de obtención de imágenes funcionales de la presente invención es un oligonucleótido radiopaco permeable a una membrana celular que puede unirse a las moléculas de ADN o ARN diana intracelulares. Una realización del agente de obtención de imágenes puede usar un oligonucleótido con una secuencia de nucleótidos predeterminada que puede hibridarse con una secuencia de nucleótidos complementaria presente en tejido corporal anormal o enfermo. En una realización, el oligonucleótido seleccionado puede tener una secuencia complementaria a una secuencia diana de ARN o ADN expresada sólo en tejido maligno, sólo en tejido normal, o expresada a un nivel diferente en tejido maligno que en tejido no maligno. Por tanto, la radiopacidad del agente de obtención de imágenes y su acumulación en células que contienen la secuencia de ácidos nucleicos elegida como diana permite la detección de una secuencia de ácidos nucleicos predeterminada *in vivo* en un procedimiento radiográfico de obtención de imágenes usando los procedimientos de obtención de imágenes de la presente invención.

35 En una realización, un resto radiopaco está unido mediante un brazo de enlace covalente al oligonucleótido en su extremo 5'. En otra realización, el resto radiopaco y el brazo de enlace pueden unirse al oligonucleótido en su extremo 3'. El brazo de enlace está hecho suficientemente largo de manera que el resto radiopaco no impida la hibridación del oligonucleótido con la molécula diana. En estudios de modelado molecular se determinó que un brazo de enlace de aproximadamente 5-6 carbonos, o aproximadamente 5 - 6 Å de longitud, sitúa al resto radiopaco a una distancia suficiente de un nucleótido del extremo 5' para evitar la interferencia de hibridación del oligonucleótido con una secuencia diana. Un brazo de enlace largo también puede aumentar la lipofilia del agente de obtención de imágenes y potenciar su entrada en células. En una realización, un anillo aromático unido a átomos de yodo puede usarse como resto radiopaco para proporcionar enlaces carbono-yodo fuertes y la consiguiente resistencia a la desyodación *in vivo*.

45 En una realización, el agente de obtención de imágenes puede entrar y salir de la célula mediante difusión pasiva a través de la membrana celular. Para potenciar la difusión pasiva, la molécula de agente de obtención de imágenes puede hacerse lipófila por cualquiera o ambas de las dos modificaciones del oligonucleótido nativo. Primero, los enlaces fosfodiéster negativamente cargados en el esqueleto del oligonucleótido pueden sustituirse parcialmente o completamente por formacetal, aminohidroxi u otros enlaces internucleotídicos no iónicos. Segundo, el oligonucleótido puede hacerse adicionalmente lipófilo. Los procedimientos para aumentar la lipofilia incluyen la adición de restos hidrófobos tales como una cadena de alquilo superior al extremo 3' ó 5' del oligómero. Las adiciones lipófilas también pueden hacerse a uno o más de los nucleótidos con sustituciones en purinas, pirimidinas o azúcares.

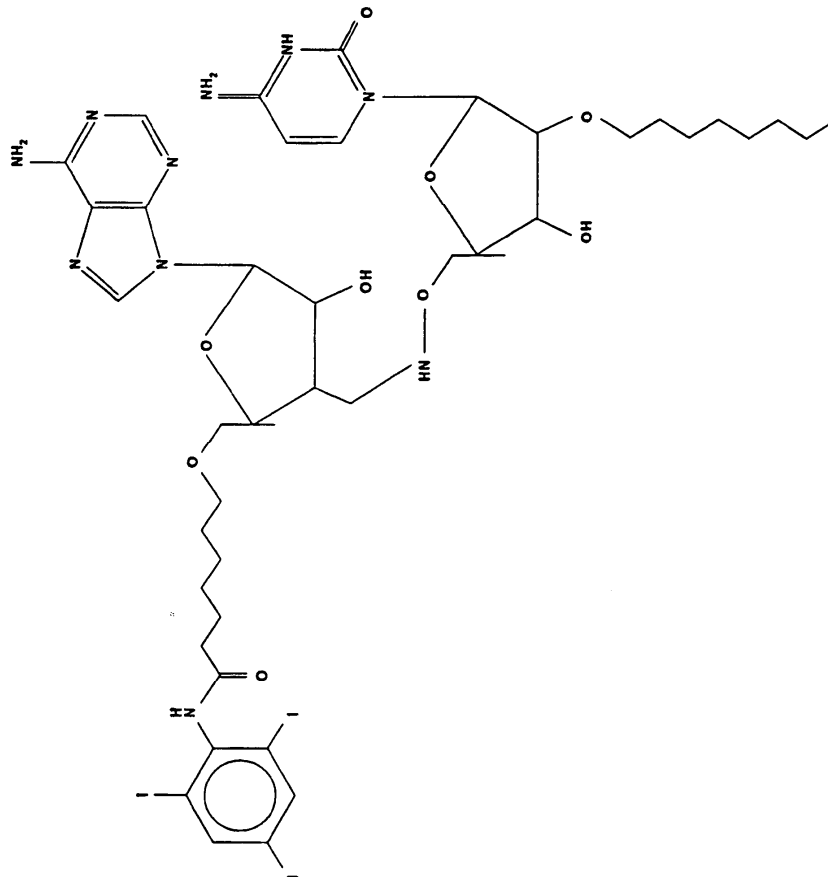
50 La forma general de una realización del agente de obtención de imágenes radiopaco es



en la que:

- 5 el resto S es un oligonucleótido en el que la secuencia de nucleótidos comprende al menos dos residuos; el resto X es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi, alquiltio, alquilarilo, alquilamino, alquilamido, amido o arilamido sin sustituir o sustituido en el que al menos un átomo está sustituido por un átomo radiopacificante de un elemento con un número atómico de Z = 35 a Z = 74; y el resto L es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi, alquiltio, alquilarilo, alquilamino, alquilamido, amido o arilamido sin sustituir o sustituido unido al resto S y al resto X como se ha definido adicionalmente en la reivindicación 19.
- 10 En una realización, los enlaces internucleotídicos del resto S pueden comprender enlaces no iónicos que incluyen, pero no se limitan a, enlaces de formacetal o aminohidroxi entre la posición C-5' del azúcar nucleotídico y la posición C-3' del azúcar nucleotídico adyacente.
- En una realización, uno o más grupos lipófilos que incluyen, pero no se limitan a, cadenas de alquilo C<sub>6</sub>-C<sub>30</sub> pueden unirse en una o más localizaciones en el resto S, el resto X y el resto L.
- 15 Los grupos funcionalizados que incluyen grupos hidrófilos que contienen uno o más hidroxilos o carbamoilos también pueden estar opcionalmente sustituidos en una o más posiciones del resto X para proteger el átomo o los átomos radiopacificantes de la producción de respuestas quimiotóxicas *in vivo*.

**Ejemplo 4**



En el Ejemplo 4, un dímero de oligonucleótido está sustituido con un enlace internucleotídico de aminohidroxi para el enlace de fosfodiéster nativo y una cadena de alquilo C<sub>8</sub> está sustituida en una posición 2' del azúcar del oligómero. El oligómero está ligado a un resto radiopaco por medio de un brazo de enlace de alquilamido C<sub>6</sub>. Un extremo del brazo de enlace está unido al extremo 5' del oligómero, y el otro extremo está unido a un resto triyodofenilo. La configuración del triyodofenilo del resto radiopaco proporciona enlaces carbono-yodo fuertes y resistencia a la desyodación *in vivo*.

Los procedimientos para la síntesis de las realizaciones descritas anteriormente serán muy conocidos para un experto en la materia. Específicamente, los procedimientos para la síntesis de oligonucleótidos y para la conjugación de una amplia variedad de grupos con el extremo 3' y el extremo 5' son muy conocidos [Crooke y col., eds: Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton FL (1993)]. Se han descrito procedimientos para la síntesis de esqueletos internucleotídicos no iónicos [Bischofberger y col.: patente de EE.UU. n.º 5.763.208; Cook y col.: patente de EE.UU. n.º 5.610.289]. También se ha descrito la síntesis de oligonucleótidos que contienen modificaciones a las posiciones 2' de azúcar [Keller TH, Häner R: Nucl. Acids Res. 21: 4499-4505 (1993); Buhr y col., patente de EE.UU. n.º 5.466.786].

Aunque las realizaciones descritas en la presente invención están dirigidas a la detección de ácidos nucleicos expresados en tejido maligno, será evidente para un experto en la materia que el procedimiento puede adaptarse para la detección radiográfica de ácidos nucleicos presentes en tejido anormal en una amplia variedad de enfermedades. El procedimiento también puede usarse adicionalmente para detectar la presencia de cualquier secuencia de ácidos nucleicos presente en tejido tanto si el ácido nucleico se origina en el propio tejido como en organismos extraños tales como bacterias o virus presentes en el tejido. En cada caso, la secuencia de oligonucleótidos específica que va a usarse se determinará por la secuencia de ADN o ARN complementaria que va a detectarse.

### 3. Obtención de imágenes de ácidos grasos

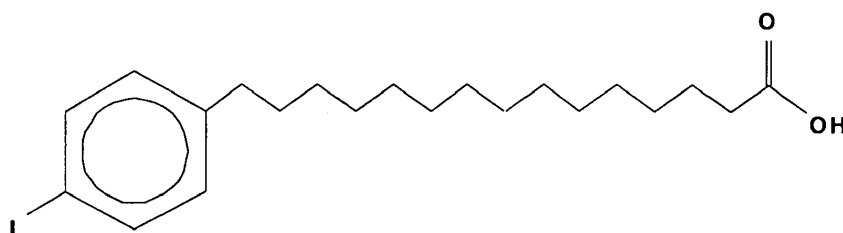
Muchos trastornos cardíacos comunes producen alteraciones del metabolismo miocárdico. Debido a que la oxidación de ácidos grasos de cadena larga es la principal ruta de energía en tejido miocárdico, la obtención de imágenes del metabolismo de los ácidos grasos se ha convertido en una modalidad importante para diagnosticar trastornos de tejido miocárdico. Las tasas anormales de captación, síntesis y rotura celular de ácidos grasos de cadena larga se ha demostrado en una serie de anomalías cardíacas que incluyen enfermedad de las arterias coronarias, infarto de miocardio, cardiomiopatías y tejido isquémico. [Railton R y col.: Euro. J. Nucl. Med 13: 63-67 (1987); Van Eenige MJ y col.: Eur Heart J. 11: 258-268 (1990)].

Los ácidos grasos entran generalmente en las células por difusión pasiva [Trigatti BL y col.: Biochem. J. 313: 487-394 (1996); Kamp F y col.: Biochemistry 34: 11928-11937 (1995); Kamp F y col.: Biochemistry 32: 11074-11086 (1993)]. Después de la entrada celular, una parte de los ácidos grasos experimenta  $\beta$ -oxidación. La primera etapa en esta ruta metabólica es la activación de la molécula de ácidos grasos por combinación con la coenzima A (CoASH) en presencia de ATP para formar acil-CoASH. Esta etapa está catalizada por la acil-coenzima A sintetasa grasa y se produce en el retículo endoplásmico y la membrana mitocondrial externa. La porción restante de ácidos grasos que entra en las células miocárdicas se incorpora principalmente a triglicéridos celulares y fosfolípidos de la membrana. Se ha demostrado que las tasas de  $\beta$ -oxidación y la esterificación de ácidos grasos se reducen en un amplio intervalo de trastornos miocárdicos. Se ha mostrado que la obtención de imágenes del metabolismo intracelular de los ácidos grasos usando ácidos grasos radiomarcados conjuntamente con dispositivos de obtención de imágenes de SPECT y PET es un indicador de diagnóstico preciso de anomalía miocárdica.

Por consiguiente, en una realización del sistema de la presente invención se usa un agente de obtención de imágenes radiopaco no radiactivo que comprende un ácido graso de cadena larga unido a un resto radiopaco. Después de la administración a un paciente, el agente de obtención de imágenes entra rápidamente en las células miocárdicas mediante difusión pasiva a través de la membrana celular. Pueden obtenerse imágenes de la distribución en el tejido de este agente de obtención de imágenes usando los procedimientos de obtención de imágenes de un único y de múltiples haces descritos en el presente documento.

#### Ejemplo 5

Ácido 15-(*p*-yodofenil)pentadecanoico



El Ejemplo 5 muestra un agente de obtención de imágenes que comprende un ácido graso de cadena lineal sustituido con  $\omega$ -yodofenilo, el ácido 15-(*p*-yodofenil)pentadecanoico (IPPA). Se ha descrito la forma radiactiva de esta molécula y su síntesis [Machulla HJ y col.: J. Nucl. Med. 19: 298-302 (1978)]. Después de la entrada en células miocárdicas, una fracción del IPPA se  $\beta$ -oxida rápidamente. Otra fracción del IPPA se incorpora a triglicéridos cardíacos y fosfolípidos de la membrana [Chien y col.: Am. J. Physiol. 245: H693-H697 (1983)]. En la realización de la presente invención, el agente de obtención de imágenes es no radiactivo, que permite su uso en procedimientos de obtención de imágenes cardíacas usando dispositivos de obtención de imágenes radiográficas convencionales. Así se elimina la necesidad de síntesis de radiofármacos y la obtención de imágenes en gammacámara. Como en ejemplos previos, la configuración del yodofenilo proporciona un fuerte enlace carbono-yodo y la posterior resistencia a la desyodación *in vivo*. El Ejemplo 5 es lipófilo y entra y sale de la célula mediante difusión pasiva a través de la membrana celular. El logP calculado del Ejemplo 5 es 8,09.

Será evidente para un experto en la materia que las variantes de los ácidos grasos radiopacos no radiactivos aquí descritas pueden sintetizarse fácilmente. En particular, estas variantes incluyen la sustitución de ácidos grasos de cadena lineal con ácidos grasos ramificados con metilo y con puentes de *p*-fenileno para aumentar el tiempo de retención en el tejido [Torikuzo K y col.: Jpn. J. Nucl. Med. 28: 681-690 (1991); Eisenthut M y col.: Int. J. Rad. Appl. Instrum. 39: 639-649 (1988)].

#### 4. Obtención de imágenes de otras dianas

Las realizaciones del agente de obtención de imágenes funcionales radiopaco mostrado anteriormente se diseñan para la detección de enzimas, ácidos nucleicos y ácidos grasos. Además, algunas de las realizaciones de la presente invención pueden usarse principalmente para el diagnóstico de tejido maligno. Sin embargo, los agentes de obtención de imágenes radiográficas con una amplia variedad de funciones de diagnóstico pueden desarrollarse usando los principios de diseño desvelados en la presente invención. Por ejemplo, pueden sintetizarse agentes de obtención de imágenes permeables a una membrana celular que se unen selectivamente a hidratos de carbono, lípidos, otras moléculas intracelulares o estructuras u orgánulos de células. Por tanto, el sistema y el procedimiento pueden modificarse para proporcionar la detección radiográfica de otras dianas celulares de importancia diagnóstica.

En los ejemplos mostrados en la presente invención, el elemento radiopaco en el agente de obtención de imágenes es yodo. Sin embargo, será evidente para un experto en la materia que otros elementos que presentan suficiente radiopacidad en el espectro de energía fotónica usado en radiografía, y que poseen características fisiológicas y toxicológicas aceptables, pueden incorporarse en el resto radiopaco del agente de obtención de imágenes. En cada aplicación, la elección del elemento dependerá del fin del procedimiento de obtención de imágenes de diagnóstico, las características físicas y químicas necesarias del agente de obtención de imágenes y el espectro de energía del haz de rayos X de transiluminación.

#### B. Sistema de obtención de imágenes de un único haz

La **FIG. 1** es un diagrama de bloques de una primera realización del sistema de obtención de imágenes como se usa en un procedimiento de obtención de imágenes realizado con un único haz de transiluminación de rayos X polienergético de espectro continuo. Un agente **11** de obtención de imágenes radiopaco permeable a una membrana celular se administra a un paciente. Durante un intervalo de tiempo predeterminado, el agente de obtención de imágenes se acumula en el tejido **12** corporal normal del paciente y a una tasa diferente en cualquier tejido **13** anormal que pueda estar presente.

Una fuente **20** de iluminación de rayos X, que puede incluir un tubo de rayos X corriente con un ánodo **21** de tungsteno, produce un haz **22** polienergético de espectro continuo. Un primer colimador **23** dirige el haz. Un segundo colimador **25** dirige adicionalmente el haz. Un receptor **31** de imágenes de rayos X, que puede ser una película radiográfica, una combinación de película/pantalla intensificadora, una placa de almacenamiento de fósforo estimulable, un intensificador de imágenes fluoroscópicas, una matriz de sensores de silicio amorfo, una combinación de CCD/centelleador u otro tipo de receptor sensible a rayos X, adquiere una imagen radiográfica del tejido corporal durante la transiluminación por el haz **22**. Una interfaz **38** del receptor adquiere **37** la imagen recibida de un modo dependiente del tipo de receptor **31**. Si el receptor es una película o una combinación de película/pantalla intensificadora, la película puede procesarse y luego visualizarse directamente o escanearse y digitalizarse por la interfaz. Si el receptor es una placa de almacenamiento de fósforo estimulable, la placa es leída y digitalizada por la interfaz. Si el receptor es un intensificador de imágenes fluoroscópicas o una combinación de CCD/centelleador, la salida analógica del detector es digitalizada por la interfaz. Si el receptor es una matriz de sensores de silicio amorfo, la salida analógica es digitalizada por la interfaz o puede usarse directamente una salida digital, si está disponible. La interfaz **38** del receptor transfiere los datos de imágenes digitalizadas a un sistema **32** de procesamiento de imágenes, que puede ser un ordenador, mediante líneas **39** de señal.

Un diagrama de bloques del sistema **32** de procesamiento de imágenes se muestra en la **FIG. 1A**. Los componentes del sistema de procesamiento de imágenes pueden estar todos contenidos en un único circuito integrado o distribuidos en múltiples circuitos integrados. Un procesador **51** puede ser un microprocesador tal como un Pentium Pro, o un ordenador programable de uso general, o un procesador digital de señales (DSP) dedicado que está programado para realizar procedimientos de la invención. El software del sistema **32** de procesamiento de imágenes

puede almacenarse en la memoria **52** de programa, que puede ser ROM o RAM, o en un CD-ROM, o en un disco duro o en otros medios de almacenamiento, o puede almacenarse en un chip **51** procesador. El control **55** de I/O recibe los datos de la imagen digitalizada del receptor **38** de imágenes (FIGS. 1 y 2) mediante las líneas **39** de señal. Los datos de imágenes digitalizadas se almacenan en la memoria **54** de imágenes. Después del procesamiento de las imágenes, el controlador **53** de la visualización produce la salida de la imagen de visualización mediante líneas **35** de señal a un monitor **33** de visualización (FIGS. 1 y 2).

El sistema **32** de procesamiento de imágenes puede corregir los datos para linealidad, convierte los datos en un formato de visualización de imágenes y produce la salida de la imagen de visualización a un monitor **33** de visualización mediante líneas **35** de señal, y opcionalmente a un dispositivo de copia impresa (no mostrado) que puede ser una impresora. El sistema **32** de procesamiento de imágenes también puede almacenar la imagen en forma digital en un disco duro, una unidad de cinta u otro dispositivo de almacenamiento (no mostrado).

### C. Procedimiento de obtención de imágenes de un único haz

Si una cantidad de agente de obtención de imágenes radiopaco se acumula en tejido corporal y luego se adquiere una imagen radiográfica del tejido, la imagen mostrará la densidad radiográfica contribuida por el agente de obtención de imágenes combinada con la densidad radiográfica contribuida por el tejido blando y el hueso también presentes en la trayectoria del haz. Si se acumula una cantidad suficientemente grande del agente de obtención de imágenes, puede detectarse y localizarse por inspección directa de la imagen radiográfica. Opcionalmente, la imagen puede digitalizarse y procesarse usando los procedimientos convencionales de radiografía digital que incluyen filtrado digital y potenciamiento del contraste. Si la densidad radiográfica del agente de obtención de imágenes acumulado es demasiado baja para ser detectada cuando se combina con la densidad radiográfica del tejido blando y el hueso, el sistema de obtención de imágenes de múltiples haces y el procedimiento descrito en las secciones D y E puede usarse para aislar la densidad radiográfica contribuida por el agente de obtención de imágenes.

### D. Sistemas de obtención de imágenes de múltiples haces

La FIG. 2 es un diagrama de bloques de una segunda realización del sistema de obtención de imágenes como se usa en un procedimiento de obtención de imágenes de múltiples haces realizado con dos o más haces de transiluminación de rayos X cuasi-monoenergéticos con espectros de energía media diferentes. En el ejemplo de la realización mostrada en las Figuras 2, 3A y 3B se usan tres haces de transiluminación.

El agente **11** de obtención de imágenes radiopaco permeable a una membrana celular se administra a un paciente. Durante un intervalo de tiempo predeterminado, el agente de obtención de imágenes se acumula en el tejido **12** corporal normal del paciente, y en cualquier tejido **13** anormal que pueda estar presente.

La fuente **20** de iluminación de rayos X, que puede incluir un tubo de rayos X corriente con un ánodo **21** de tungsteno, produce el haz **22** polienergético de espectro continuo. El primer colimador **23** dirige el haz. Un aparato **40** de filtración de rayos X comprende una rueda **45** de filtración, filtros **41a**, **42a**, **43a** de rayos X (mostrados en la FIG. 3B), una varilla **44**, un posicionador **46** y señales **47** de control de la posición generadas por el sistema **32** de procesamiento de imágenes.

Las FIGS. 3A y 3B representan el aparato **40** de filtración de rayos X y su relación con la fuente **20** de iluminación de rayos X en mayor detalle. El posicionador **46**, que puede ser un motor de etapas cuya posición angular de la varilla está controlada por las señales **47** de control, está mecánicamente acoplado a la rueda **45** de filtración por la varilla **44**. Las señales **47** de control pueden generarse por el sistema **32** de procesamiento de imágenes. El posicionador **46** gira la rueda de filtración para interponer secuencialmente cada uno de los filtros **41a**, **42b**, **43c** en la trayectoria del haz **22**. Como cada uno de los filtros está interpuesto en el haz **22**, el posicionador detiene la rotación de la rueda de filtración y se adquiere una imagen radiográfica separada. Entonces, la rueda de filtración se gira para interponer el siguiente filtro en la trayectoria del haz **22**.

La rueda **45** de filtración comprende preferentemente un disco **48** de montaje circular hecho de un material altamente radiopaco que contiene una pluralidad de aperturas **41b**, **42b**, **43b** de corte dispuestas en una matriz circular regularmente espaciada. Los filtros **41a**, **42a**, **43a** de rayos X están concéntricamente montados en las aperturas **41b**, **42b**, **43b**, respectivamente. Cada filtro de rayos X contiene una sustancia diferente que convierte el haz **22** de rayos X polienergético en un haz **24** de transiluminación cuasi-monoenergético con un espectro de energía media único. El espectro de energía media de cada haz filtrado se determina por las características de absorción de rayos X de la sustancia contenida en el filtro. El procedimiento para la selección de los espectros del haz se describe en la sección E, y el procedimiento para la selección de los filtros se describe en la sección G.

La FIG. 2 muestra el segundo colimador **25** que dirige adicionalmente el haz **24** de transiluminación cuasi-monoenergético después de que haya pasado por el filtro de rayos X. El receptor **31** de imágenes de rayos X, que puede ser una película radiográfica, una combinación de película/pantalla intensificadora, una placa de almacenamiento de fósforo estimulable, un intensificador de imágenes fluoroscópicas, una matriz de sensores de silicio amorfo, una combinación de CCD/centelleador u otro tipo de receptor sensible a rayos X, adquiere una imagen radiográfica del tejido corporal durante la transiluminación por el haz **22**. Una interfaz **38** del receptor

- 5 adquiere **37** la imagen recibida de un modo dependiente del tipo de receptor **31**. Si el receptor es una película o una combinación de película/pantalla intensificadora, la película puede procesarse, escanearse y digitalizarse por la interfaz. Si el receptor es una placa de almacenamiento de fósforo estimulable, la placa es leída y digitalizada por la interfaz. Si el receptor es un intensificador de imágenes fluoroscópicas o una combinación de CCD/centelleador, la salida analógica del detector es digitalizada por la interfaz. Si el receptor es una matriz de sensores de silicio amorfo, la salida analógica es digitalizada por la interfaz, o puede usarse directamente una salida digital, si está disponible. La interfaz **38** del receptor transfiere los datos de imágenes digitalizadas al sistema **32** de procesamiento de imágenes mediante líneas **39** de señal.
- 10 Un diagrama de bloques del sistema **32** de procesamiento de imágenes se muestra en la FIG. **1A**. Los componentes del sistema de procesamiento de imágenes pueden estar todos contenidos en un único circuito integrado o distribuidos en múltiples circuitos integrados. Un procesador **51** puede ser un microprocesador tal como un Pentium Pro, o un ordenador programable de uso general, o un procesador digital de señales (DSP) dedicado que está programado para realizar procedimientos de la invención. El software del sistema **32** de procesamiento de imágenes puede almacenarse en la memoria **52** de programa, que puede ser ROM o RAM, en un CD-ROM, o en un disco duro
- 15 o en otros medios de almacenamiento, o puede almacenarse en un chip **51** procesador. El control **55** de I/O recibe los datos de imágenes digitalizadas del receptor **38** de imágenes (FIGS. **1** y **2**) mediante líneas **39** de señal. Los datos de imágenes digitalizadas se almacenan en la memoria **54** de imágenes. Después del procesamiento de imágenes, el controlador **53** de la visualización produce la salida de la imagen de visualización mediante líneas **35** de señal a un monitor **33** de visualización (FIGS. **1** y **2**). El control **55** de I/O también puede recibir señales de entrada del controlador **34** de imágenes mediante un teclado o ratón mediante líneas **36** de señal. Los procedimientos de control y de visualización de imágenes se describen en detalle en la sección F. Por medio de estas señales de entrada, el visualizador puede cambiar entre la visualización de cualquier imagen anatómica o funcional o, alternativamente, visualizar proporciones variables de imágenes anatómicas y funcionales en una única imagen en el registro.
- 20 El sistema **32** de procesamiento de imágenes linealiza los datos digitalizados y realiza un procedimiento de procesamiento de imágenes para potenciar y visualizar la imagen (los procedimientos de adquisición y de procesamiento de imágenes se describen en la sección E). El sistema **32** de procesamiento de imágenes produce la salida de la imagen de visualización a un monitor **33** de visualización mediante líneas **35** de señal, y opcionalmente a un dispositivo de copia impresa (no mostrado) que puede ser una impresora. El sistema **32** de procesamiento de imágenes también puede guardar la imagen en forma digital en un disco duro, una unidad de cinta u otro dispositivo de almacenamiento (no mostrado).
- 25 Un controlador **34** de imágenes, que puede ser un teclado o un ratón, está conectado a un sistema **32** de procesamiento de imágenes mediante líneas **36** de señal. El visualizador usa el controlador **34** de imágenes para variar uno o más de los coeficientes de visualización aplicados por el procedimiento de procesamiento de imágenes a las imágenes anatómicas y funcionales que van a visualizarse. El cambio del valor de los coeficientes de visualización varía el grado con el que el agente de obtención de imágenes, y el tejido blando y el hueso, contribuyen a la densidad radiográfica para la imagen de visualización. Por tanto, el visualizador puede superponer un nivel variable de la imagen anatómica (tejido blando y hueso) sobre la imagen funcional (agente de obtención de imágenes acumulado).
- 30 La FIG. **4** es un diagrama de bloques de una tercera realización del sistema de obtención de imágenes como se usa en un procedimiento de obtención de imágenes realizado con un único haz de transluminación de rayos X polienergético de espectro continuo. Después de que el haz transilumine el tejido corporal del paciente, se filtra secuencialmente para generar múltiples haces con espectros de energía media diferentes, y se adquiere una imagen radiográfica separada durante la generación de cada haz.
- 35 El agente **11** de obtención de imágenes radiopaco permeable a una membrana celular se administra a un paciente. Durante un intervalo de tiempo predeterminado el agente de obtención de imágenes se acumula en el tejido **12** corporal normal del paciente, y en cualquier tejido **13** anormal que pueda estar presente.
- 40 La fuente **20** de iluminación de rayos X, que puede incluir un tubo de rayos X corriente con un ánodo **21** de tungsteno, produce el haz **22** polienergético de espectro continuo. El primer colimador **23** dirige el haz. Un segundo colimador **25** dirige adicionalmente el haz **22**, que transilumina el tejido **12**, **13** corporal del paciente.
- 45 Una serie de filtros **49a**, **b**, **c** de rayos X está interpuesta en secuencia temporal entre el tejido corporal del paciente y el receptor **31** de imágenes. Cada uno de los filtros convierte secuencialmente el haz **22** polienergético en un haz cuasi-monoenergético con un espectro de energía media diferente. En una realización, cada filtro de rayos X puede comprender una hoja delgada de una sustancia con características de atenuación de rayos X seleccionadas. Esta sustancia, que puede tener un borde de absorción K a una energía fotónica predeterminada, filtra el haz para permitir la transmisión de un espectro de energía predeterminado al receptor de imágenes. El procedimiento para la selección de los espectros de los haces se describe en la sección E, y el procedimiento para la selección de los filtros se describe en la sección G.
- 50 La hoja de filtración puede posicionarse adyacente al receptor **31** de imágenes, que puede comprender una

combinación de película/pantalla intensificadora, una placa de almacenamiento de fósforo estimulable, un intensificador de imágenes fluoroscópicas, una matriz de sensores de silicio amorfo, una combinación de CCD/centelleador u otro tipo de receptor sensible a rayos X.

5 Cada filtro de rayos X contiene una sustancia diferente que convierte el haz **22** de rayos X polienergético en un haz **24** cuasi-monoenergético con un único espectro de energía media. El espectro de energía media de cada haz filtrado se determina por las características de absorción de rayos X de la sustancia contenida en el filtro. El procedimiento para la selección de los espectros del haz se describe en la sección E, y el procedimiento para la selección de los filtros se describe en la sección G.

10 El receptor **31** de imágenes de rayos X, que puede ser una película radiográfica, una combinación de película/pantalla intensificadora, una placa de almacenamiento de fósforo estimulable, un intensificador de imágenes fluoroscópicas, una matriz de sensores de silicio amorfo, una combinación de CCD/centelleador u otro tipo de receptor sensible a rayos X, adquiere una imagen radiográfica del tejido corporal durante la transiluminación por el haz **22**. Una interfaz **38** del receptor adquiere **37** la imagen recibida de un modo dependiente del tipo de receptor **31**.  
15 La posterior adquisición y el procesamiento de las imágenes radiográficas son similares a aquellas descritas anteriormente en esta sección para el sistema de obtención de imágenes de múltiples haces usando el aparato de rueda de filtración.

En una realización del sistema de obtención de imágenes de múltiples haces se satisface el requisito de una secuencia de haces de transiluminación de rayos X con espectros de energía media diferentes mediante la filtración de un haz polienergético, en secuencia temporal, a través de sustancias con características de absorción de rayos X seleccionadas. Sin embargo, será obvio para un experto en la materia que este requisito también puede satisfacerse por otros medios. Por ejemplo, un monocromador de rayos X puede sintonizarse secuencialmente para producir haces monoenergéticos con los espectros de energía requeridos. Alternativamente puede usarse un sincrotrón sintonizado para producir haces monoenergéticos con los espectros requeridos.

#### E. Procedimiento de obtención de imágenes de múltiples haces

25 Si una cantidad de agente de obtención de imágenes radiopaco se acumula en tejido corporal y luego se adquiere una imagen radiográfica del tejido, la imagen mostrará la densidad radiográfica contribuida por el agente de obtención de imágenes combinado con la densidad radiográfica contribuida por el tejido blando y el hueso también presentes en la trayectoria del haz. Si se acumula una cantidad pequeña de agente de obtención de imágenes en el tejido que se examina, la visualización del agente de obtención de imágenes debería potenciarse. Por tanto, la  
30 densidad radiográfica que contribuye a la imagen debería aislarse y visualizarse selectivamente. Se han descrito varios enfoques a este problema [Kelcz F, Mistretta CA: Med. Phys. 3: 159-168 (1976); Kelcz F y col.: Med. Phys. 4: 26-35 (1977); Riederer SJ y col.: Med. Phys. 8: 471-479 (1981); Riederer SJ y col.: Med. Phys. 8: 480-487 (1981); Macovski A y col.: Med. Phys 6: 53-58 (1979)].

El procedimiento de obtención de imágenes de múltiples haces genera una imagen radiográfica que enfatiza la densidad radiográfica del agente de obtención de imágenes acumulado y cancela casi completamente la densidad radiográfica del tejido blando y el hueso presentes en la trayectoria del haz. Para potenciar la imagen de este modo, el tejido corporal que se examina se transilumina secuencialmente por dos o más haces con diferentes espectros de energía media preseleccionados, y una imagen separada es adquirida durante la transiluminación por cada haz. Entonces, las imágenes adquiridas separadas se combinan usando coeficientes de ponderación de imágenes en una única imagen.  
40

Los haces de transiluminación pueden ser cuasi-monoenergéticos o monoenergéticos, y sus espectros se seleccionan basándose en el borde de absorción K del elemento radiopaco contenido en el agente de obtención de imágenes.

45 Para cada elemento en la tabla periódica hay un perfil único de atenuación de rayos X con respecto al espectro de energía fotónica y, lo que es más importante, una energía característica a la que la atenuación de rayos X aumenta repentinamente. Este aumento repentino en la atenuación se conoce como el borde de absorción K. El borde de absorción K para cada elemento es único y está monotónicamente relacionado con el número atómico del elemento.

En una realización de un procedimiento de obtención de imágenes de múltiples haces se selecciona un haz que tiene un espectro de energía media justamente por debajo del borde de absorción K del elemento radiopaco en el agente de obtención de imágenes y se selecciona un segundo haz que tiene un espectro de energía media justamente por encima del borde de absorción K del elemento radiopaco.  
50

El principio de operación del procedimiento se ilustra en el siguiente ejemplo. Se asume que una cantidad de agente de obtención de imágenes radiopaco se ha acumulado en un área del tejido corporal en examen. El tejido se transilumina primero por el haz  $E_1$  con un espectro de energía media justamente por debajo del borde de absorción K del elemento radiopaco en el agente de obtención de imágenes, y se adquiere la imagen  $X_1$ . La absorción del haz  $E_1$  por el agente de obtención de imágenes será relativamente baja, y la densidad radiográfica que contribuye a la imagen  $X_1$  será correspondientemente alta.  
55

Entonces, el tejido se transilumina por el haz  $E_2$  con un espectro de energía media justamente por encima del borde de absorción K del elemento radiopaco en el agente de obtención de imágenes, y se adquiere la imagen  $X_2$ . Debido a que hay un repentino aumento en la atenuación de rayos X en el borde de absorción K del elemento, la absorción del haz  $E_2$  por el agente de obtención de imágenes será relativamente alta, y la densidad radiográfica que contribuye a la imagen  $X_2$  será correspondientemente baja.

El tejido blando contribuirá a un nivel casi igual de densidad radiográfica a la imagen  $X_1$  y a la imagen  $X_2$ . Esto es debido a que los bordes de absorción K de los elementos que comprenden tejido blando (predominantemente carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno) se localizan muy por debajo de los espectros de energía media de los haces  $E_1$  y  $E_2$ . Por tanto, la absorción de los haces  $E_1$  y  $E_2$  por tejido blando será casi equivalente.

El hueso también contribuirá a un nivel casi igual de densidad radiográfica a la imagen  $X_1$  y a la imagen  $X_2$ . Esto es debido a que los bordes de absorción K de los elementos que comprenden hueso (predominantemente carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y calcio) están asimismo localizados muy por debajo de los espectros de energía media de los haces  $E_1$  y  $E_2$ . Por tanto, la absorción de los haces  $E_1$  y  $E_2$  por hueso será casi equivalente.

Entonces, si la imagen  $X_2$  se resta de la imagen  $X_1$  para producir la imagen  $Z$ , la diferencia relativamente grande entre la densidad radiográfica contribuida por el agente de obtención de imágenes acumulado en las imágenes  $X_1$  y  $X_2$  producirá un nivel relativamente alto de densidad radiográfica residual en la imagen  $Z$  restada. Los niveles aproximadamente iguales de densidad radiográfica contribuida por el tejido blando a las imágenes  $X_1$  y  $X_2$  y por el hueso a las imágenes  $X_1$  y  $X_2$  producirá niveles relativamente bajos de densidad radiográfica residual en la imagen  $Z$  restada. Por tanto, calculando la imagen de diferencia de las imágenes  $X_1$  y  $X_2$ , la densidad radiográfica del agente de obtención de imágenes se preserva en la imagen  $Z$  resultante, y la densidad radiográfica del tejido blando y el hueso se cancela esencialmente.

Un visualizador puede cambiar entre una visualización que muestra la  $Z$  y una imagen anatómica (por ejemplo, la imagen  $X_1$ ) que está alineada en el registro con la imagen  $Z$ . De este modo, las imágenes de tejido anatómicas y funcionales pueden visualizarse por separado. Alternativamente, la imagen  $Z$  puede combinarse con la imagen  $X_1$  o la imagen  $X_2$  en el registro para producir una única imagen anatómica y funcional.

En la práctica, la atenuación de los haces  $E_1$  y  $E_2$  por tejido blando no es exactamente igual. Asimismo, la atenuación de los haces  $E_1$  y  $E_2$  por hueso no es exactamente igual. Por tanto, queda un nivel residual de densidad radiográfica debido a tejido blando y hueso después de restar la imagen  $X_2$  de la imagen  $X_1$ . Para compensar opcionalmente estos errores residuales, un tercer haz  $E_3$  puede generarse con un espectro de energía media muy por encima del espectro de energía media del haz  $E_2$ , y una tercera imagen  $X_3$  adquirida durante la transiluminación del tejido por el haz  $E_3$ . La ponderación apropiada de la imagen  $X_3$ , y su combinación con imágenes  $X_1$  y  $X_2$  ponderadas, produce una imagen de visualización  $Z$  con cancelación casi completa de la densidad radiográfica del tejido blando y el hueso.

Cuando un haz cuasi-monoenergético atraviesa una longitud de tejido blando y hueso, su espectro de energía media aumenta ligeramente. Este fenómeno se conoce como endurecimiento del haz y, si no se corrige, puede reducir el grado de cancelación de tejido blando y hueso en la imagen visualizada. Por consiguiente, en una realización del procedimiento de obtención de imágenes de múltiples haces pueden aplicarse términos de mayor orden adicionales como coeficientes de ponderación a las imágenes  $X_1$ ,  $X_2$ , y  $X_3$  para compensar el endurecimiento del haz y mejorar adicionalmente la cancelación de tejido blando y hueso en la imagen visualizada.

En resumen, por el procedimiento general de:

- 1) administrar un agente de obtención de imágenes radiopaco bidireccionalmente permeable a una membrana celular a un paciente;
- 2) permitir un intervalo para la acumulación del agente de obtención de imágenes en tejido corporal;
- 3) transiluminar secuencialmente el tejido en examen con múltiples haces de rayos X  $E_1, \dots, E_n$  con espectros de energía media diferentes;
- 4) adquirir una imagen radiográfica separada  $X_1, \dots, X_n$  durante la transiluminación por cada haz;
- 5) multiplicar las imágenes adquiridas  $X_1, \dots, X_n$  por coeficientes de ponderación  $w_1, \dots, w_n$  respectivamente, y opcionalmente multiplicar las imágenes  $X_1^2, \dots, X_n^2$  por coeficientes de ponderación  $h_1, \dots, h_n$  para compensar el endurecimiento del haz durante la transiluminación de tejidos;
- 6) añadir todas las imágenes ponderadas para producir una imagen de visualización  $Z$ ; las contribuciones relativas del agente de obtención de imágenes radiopaco, el tejido blando y el hueso a la densidad radiográfica en la imagen de visualización  $Z$  pueden calcularse y aislarse. Por la etapa adicional de:
- 7) visualizar una fracción controlada por visualizador de la imagen de visualización  $Z$  junto con una fracción de una cualquiera de las imágenes  $X_1, \dots, X_n$  puede visualizarse una proporción variable de las imágenes funcionales y anatómicas del tejido que se examina, con ambas imágenes en el registro completo.

Un diagrama de flujo del procedimiento 80 de adquisición y de procesamiento de imágenes se muestra en la FIG. 8. Un agente de obtención de imágenes funcionales radiopaco se administra a un paciente. Durante un intervalo de



tiempo predeterminado **82**, el agente de obtención de imágenes se acumula en el tejido corporal del paciente. Entonces, el paciente se posiciona **83** apropiadamente entre la fuente de rayos X y el receptor de imágenes.

5 Un haz de rayos X  $E_1$  transilumina **84** el tejido corporal que se examina, y una imagen radiográfica  $R_1$  es adquirida **85**. La secuencia de transiluminación y la adquisición de imágenes se repite **86** para el haz  $E_2$  y la imagen  $R_2$ , y el haz  $E_3$  y la imagen  $R_3$ , respectivamente.

10 El siguiente procedimiento de procesamiento de imágenes se realiza en cada imagen radiográfica en secuencia. La imagen radiográfica  $R_1$  es digitalizada **87** para generar la imagen digital  $D_1$ . La imagen radiográfica puede digitalizarse inmediatamente después de la adquisición de cada imagen, digitalizarse después de la adquisición de las series de imágenes completas, o guardarse para la digitalización en algún momento posterior. Después de la digitalización, el procesamiento de imágenes puede realizarse inmediatamente, o las matrices digitales pueden almacenarse en una memoria de acceso aleatorio, en un disco duro, en cinta o en otro medio de almacenamiento digital para el posterior procesamiento. Por tanto,

$$D_1 = R_1 \text{ digitalizada}$$

15 Entonces, las correcciones para linealizar la función de transferencia del receptor de imágenes de rayos X pueden aplicarse **88** a la matriz digital. La corrección puede implementarse por una o más tablas de búsqueda basadas en hardware. La entrada a las tablas de búsqueda puede ser el valor de entrada sin corregir del conversor analógico a digital y luego se linealizaría la salida de la tabla de búsqueda. Alternativamente, la corrección puede realizarse en el software por una o más tablas de búsqueda guardadas en la memoria de acceso aleatorio, en un disco duro o en otros medios de almacenamiento. Por tanto

$$20 \quad D'_1 = D_1 \text{ corregida}$$

Ahora están disponibles varios sistemas de receptores de imágenes y otros están siendo desarrollados para adquirir imágenes radiográficas en una forma adecuada para el procesamiento digital. Estos sistemas de receptores incluyen, pero no se limitan a, placa de almacenamiento de fósforo estimulables, intensificadores de imágenes fluoroscópicas, matrices de sensores de silicio amorfo y combinaciones de CCD/centelleador. Para claridad en la descripción del procedimiento de procesamiento de imágenes se asume que el receptor de imágenes usado en la presente invención se caracteriza por a) una relación sustancialmente lineal entre la entrada de energía fotónica de rayos X y la salida de señales del detector y b) una respuesta del detector sustancialmente lineal en el espectro de energía fotónica entre aproximadamente 10 keV y aproximadamente 60 keV. Si se usa un receptor de imágenes con características de ganancia o de respuesta espectral no lineales en la presente invención, la no linealidad puede corregirse apropiadamente por hardware o software. La corrección se basa en la respuesta del receptor de imágenes predeterminada al intervalo de niveles de entrada de fotones y espectros de energía usados en el procedimiento de obtención de imágenes. Por tanto, se asume que la matriz de imágenes tiene una relación lineal con la señal de rayos X de entrada después de la corrección **88**. Las modificaciones necesarias para lograr esta corrección son matemáticamente sencillas y serán evidentes para un experto en la materia.

35 Después de la digitalización y la corrección, el logaritmo natural  $\ln$  del valor de cada píxel en la imagen digital  $D'_1$  se calcula **89** para generar la imagen  $X_1$

$$X_1 = \ln D'_1$$

40 En sistema **32** de procesamiento de imágenes multiplica **90** cada calor de píxel en la imagen  $X_1$  por el coeficiente de ponderación  $w_1$ . En una realización puede añadirse un término de mayor orden adicional para compensar el ligero endurecimiento del haz o aumentar la energía media del haz, resultando una pequeña disminución en el coeficiente de atenuación másico efectivo que se produce cuando cada haz cuasi-monoenergético pasa por un espesor de tejido o hueso. Este término es igual a  $X_1^2$  multiplicado por el coeficiente de endurecimiento  $h_1$ . La función completa del término de ponderación de la imagen es

$$Y_1 = (X_1 w_1) + (X_1^2 h_1)$$

45 La digitalización de imágenes, la corrección, la conversión logarítmica y la ponderación de imágenes se repite **91** para las imágenes radiográficas  $R_2$  y  $R_3$ . Entonces se realiza la fórmula de combinación de imágenes, que en una realización es

$$Z = Y_1 + Y_2 + Y_3$$

92 dando la imagen de visualización Z. La imagen Z es visualizada 93 en el monitor de visualización, como se muestra en la FIG. 9. Como se describe en la sección F más adelante, la imagen Z puede ser modificada por el usuario para mostrar proporciones variables de agente de obtención de imágenes, tejido blando y hueso presentes en la trayectoria del haz. La imagen Z también puede convertirse en copia impresa y puede almacenarse en una memoria de acceso aleatorio, en un disco duro, en cinta o en otro medio de almacenamiento digital para archivar y para la posterior visualización.

La Tabla 2 muestra los espectros de energía media para los haces  $E_1$ ,  $E_2$  y  $E_3$ , los coeficientes de ponderación de imágenes  $w_1$ ,  $w_2$  y  $w_3$  correspondientes y los coeficientes de endurecimiento  $h_1$ ,  $h_2$  y  $h_3$  usados en una realización del procedimiento de obtención de imágenes de múltiples haces. Estos coeficientes se usan en la etapa de ponderación de imágenes 90 de la FIG. 8.

TABLA 2

Haz	keV	Imagen	$w$	$h$
$E_1$	31,05	$X_1$	-30,5	0,11
$E_2$	37,10	$X_2$	99,7	-0,43
$E_3$	44,10	$X_3$	-67,4	0,25

La Tabla 3 muestra concentraciones típicas de agente de obtención de imágenes, tejido blando y hueso presentes en la trayectoria del haz de rayos X de transiluminación y su atenuación de haces  $E_1$ ,  $E_2$  y  $E_3$ . La tabla también muestra niveles de densidad radiográfica presentes en las imágenes  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  adquiridas y la densidad radiográfica presente en la imagen de visualización Z después de la aplicación del procedimiento de procesamiento de imágenes descritos anteriormente.

TABLA 3

Componente de la imagen	Espesor $\text{g/cm}^2$	Transmitancia del haz			Densidad relativa
		$E_1$	$E_2$	$E_3$	
Yodo	0,001	99,03	97,68	98,35	1,000
Tejido blando	12,000	69,42	74,93	78,91	0,009
Hueso	3,000	24,85	40,11	58,27	0,039

## F. Procedimientos de control y visualización de imágenes

Un diagrama de flujo del procedimiento 100 de control de imágenes se muestra en la FIG. 9. La imagen Z ponderada y combinada resultante de la etapa 92 (FIG. 8) es una imagen de contraste visual relativamente bajo. Primero puede realizarse un procedimiento de potenciación del contraste, tal como un desplazamiento de nivel y estiramiento del histograma 101 para potenciar el contraste visual de la imagen Z para producir la imagen Z'.

Después de completarse el procedimiento de adquisición y procesamiento de imágenes, cada una de las imágenes  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  sin combinar sin ponderar es una imagen anatómica representada por la densidad radiográfica contribuida por tejido blando y hueso y que también contiene densidad radiográfica contribuida por la acumulación del agente de obtención de imágenes radiopaco. La imagen Z ponderada y combinada es únicamente una imagen funcional. El visualizador puede variar interactivamente las proporciones visualizadas de las imágenes anatómicas y funcionales, y las imágenes combinadas se visualizarán en una única imagen en el registro completo. El coeficiente de visualización  $f$  representa la proporción visualizada de la imagen funcional y el coeficiente de visualización  $\alpha$ , que se fuerza a  $(1 - f)$ , representa la proporción visualizada de la imagen anatómica. En una realización, el valor de  $f$  se fija inicialmente a 1,0 cuando se visualiza una nueva imagen Z', de manera que sólo la imagen funcional se visualiza primero. Mientras que la imagen Z' se visualiza 102 en el monitor de visualización, el sistema 32 de procesamiento de imágenes (FIG. 2) prueba periódicamente 103 un cambio en el coeficiente  $f$  que selecciona el visualizador usando el controlador 34 de imágenes (FIG. 2). Si se detecta un cambio en el coeficiente  $f$ , el sistema de procesamiento de imágenes combina 104 las proporciones seleccionadas de la imagen funcional Z y la imagen  $X_1$ , realiza el potenciación del contraste y vuelve a visualizar 102 la nueva imagen Z' resultante en el monitor de visualización. La imagen Z también puede almacenarse en una memoria de acceso aleatorio, en un disco duro o en otro dispositivo de almacenamiento.

Así, mientras que se visualiza la imagen visualizada, el visualizador puede superponer interactivamente una

proporción variable de la imagen anatómica sobre la imagen funcional. Como las imágenes anatómicas y funcionales se visualizan en el registro completo, esta capacidad facilita la localización precisa de tejido maligno u otro tejido que está marcado por el agente de obtención de imágenes, con referencia a hitos anatómicos cercanos.

5 Una pequeña densidad residual no deseada contribuida por el tejido blando o hueso puede quedar en la imagen de visualización Z después del procesamiento de imágenes usando los coeficientes de ponderación predeterminados usados en el procedimiento de procesamiento de imágenes descrito en la sección E. El visualizador puede ajustar interactivamente el coeficiente de ponderación de imágenes de la imagen  $X_3$  para cancelar completamente este error residual.

10 Mientras que la imagen Z se visualiza **102** en el monitor de visualización, el sistema **32** de procesamiento de imágenes (FIG. 2) prueba periódicamente **105** un cambio en el coeficiente de ponderación  $w_3$ , que es controlado por el visualizador usando el controlador de imágenes **34** (FIG. 2). Un cambio en el valor del coeficiente de ponderación  $w_3$  cambia la contribución de la imagen  $Y_3$  a la imagen de visualización Z y, por tanto, el grado al que el tejido blando y hueso se cancelan en la imagen Z. Si se detecta un cambio en el coeficiente de ponderación, el sistema de procesamiento de imágenes vuelve a calcular la imagen **106**, **107** usando el nuevo coeficiente  $w_3$ , realiza el potenciamiento del contraste **101** para estirar la imagen que se ha vuelto a calcular a escala completa y visualiza **102** la imagen Z' que se ha vuelto a calcular en el monitor de visualización.

### G. Aparato de filtración de rayos X

20 Pueden usarse diferentes enfoques para generar los haces de rayos X cuasi-monoenergéticos o monoenergéticos requeridos para el procedimiento de obtención de imágenes de múltiples haces. En una realización de la presente invención, un aparato de filtración de rayos X genera secuencialmente múltiples haces cuasi-monoenergéticos con espectros de energía media diferentes. Sin embargo, con la presente invención también pueden usarse procedimientos alternativos para generar múltiples haces de rayos X cuasi-monoenergéticos o monoenergéticos, teniendo cada uno un espectro de energía único.

25 La operación del aparato de filtración se basa en el principio de que un haz de rayos X polienergético puede convertirse en un haz cuasi-monoenergético con un único espectro de energía media filtrando el haz polienergético a través de una sustancia que contiene un elemento con características de atenuación de rayos X seleccionadas. Específicamente se usa una sustancia con un borde de absorción K a una energía fotónica seleccionada para generar un haz con el espectro de energía deseado.

30 Como se describe previamente, para cada elemento en la tabla periódica hay una energía fotónica característica a la que la atenuación de los rayos X aumenta repentinamente. Este aumento repentino en la atenuación se conoce como el borde de absorción K. Un ejemplo de un borde de absorción K se muestra en la FIG. 5A. Una gráfica **61a** del coeficiente de atenuación másico del yodo ( $I, Z = 53$ ) se representa en función de la energía fotónica de 10 a 60 keV. El borde **61b** de absorción K aparece como un aumento repentino en el coeficiente de atenuación másico a 33,1 keV.

35 Cada filtro **41a**, **42a** y **43a** de rayos X (FIG. 3B) contiene una sustancia diferente que transforma el haz **22** de rayos X polienergéticos en un haz **24** de transiluminación cuasi-monoenergético con un único espectro de energía media.

40 Como se observa en la sección E, el espectro de energía media del haz de transiluminación  $E_1$  debería estar justamente por debajo del borde de absorción K del elemento radiopaco cuya densidad radiográfica va a aislarse. Los espectros de energía media del haz  $E_2$  deberían estar por encima del borde de absorción K del elemento radiopaco. En una realización se usa un tercer haz de transiluminación  $E_3$  y debería tener un espectro de energía media por encima del haz  $E_2$ . En una realización del agente de obtención de imágenes en la presente invención, el elemento radiopaco usado es yodo. En este caso, las sustancias que pueden usarse para filtrar haces polienergéticos para convertirlos en haces cuasi-monoenergéticos con espectros de energía media apropiados incluyen yodo, cerio y latón. Los filtros de rayos X pueden implementarse con celdas cilíndricas que contienen disoluciones de las sustancias seleccionadas para la filtración de haces, o con discos sólidos de metal. La concentración requerida de las sustancias de filtración en disolución y los espesores de los filtros de metal sólido se calculan fácilmente usando sus coeficientes de atenuación másico.

La atenuación de un haz de rayos X por el paso a través de una sustancia se describe por la ley de atenuación exponencial:

$$50 \quad I(E)/I_0(E) = \exp[-(\mu/\rho)x]$$

en la que  $I(E)$  es la intensidad de salida del haz,  $I_0(E)$  es la intensidad incidente del haz y  $\mu$  es el coeficiente de atenuación de la sustancia a la energía  $E$ .  $\rho$  es la densidad de la sustancia y  $x$  es el espesor de masa (masa por unidad de área) de la sustancia.

Las FIGS. 5A a 7B muestran los coeficientes de atenuación másico de rayos X del yodo, cerio y latón representados

frente a la energía fotónica y la conversión de haces de rayos X polienergéticos en haces cuasi-monoenergéticos con espectros de energía media diferentes por filtros que contienen espesores seleccionados de estas sustancias.

La FIG. 5A muestra una gráfica 61a del coeficiente de atenuación másico del yodo (I, Z = 53) en función de la energía fotónica. El borde 61b de absorción K del yodo está a 33,1 keV.

5 La FIG. 5B muestra espectros de energía normalizados de haces de rayos X sin filtrar y filtrados con yodo. La gráfica 61c (línea de puntos) muestra el espectro de un haz sin filtrar generado por una fuente de ánodo de tungsteno operada a 50 kVp. El filtro 41a de rayos X (FIG. 3B) contiene una disolución de un compuesto de yodo en el que el espesor de masa del yodo es 0,200 g/cm<sup>2</sup>. Un haz de 50 kVp polienergético con el espectro 61c se convierte por este filtro en un haz cuasi-monoenergético con el espectro 61d, como se muestra en la FIG. 5B. El espectro 61c del haz sin filtrar es polienergético y relativamente ancho. A diferencia, el espectro del haz 61d filtrado con yodo es más estrecho y cuasi-monoenergético. El haz 61d filtrado con yodo tiene un pico de energía a 33 keV y un espectro de energía media de 31,1 keV.

La FIG. 6A muestra una gráfica 62a del coeficiente de atenuación másico del cerio (Ce, Z = 58) en función de la energía fotónica. El borde 62b de absorción K del cerio está a 40,0 keV.

15 La FIG. 6B muestra espectros de energía normalizados de haces sin filtrar y filtrados con cerio. El filtro 42a de rayos X contiene una disolución de un compuesto de cerio en el que el espesor de masa del cerio es 0,380 g/cm<sup>2</sup>. Un haz de 50 kVp polienergético con el espectro 62c se convierte por este filtro en un haz cuasi-monoenergético con el espectro 62d, como se muestra en la FIG. 6B. El haz 62d filtrado con cerio tiene un pico de energía a 40 keV y un espectro de energía media de 36,6 keV.

20 La FIG. 7A muestra una gráfica 63a del coeficiente de atenuación másico de latón en función de la energía fotónica. Un borde de absorción K del latón está a 8,97 keV (Cu, Z = 29) (no mostrado) y un segundo borde de absorción K está a 9,65 keV (Zn, Z = 30) (no mostrado).

25 La FIG. 7B muestra espectros de energía normalizados de haces sin filtrar y filtrados con latón. El filtro 43a de rayos X es un disco de latón circular delgado en el que el espesor de masa del latón es 1,500 g/cm<sup>2</sup>. Un haz de 50 kVp polienergético con el espectro 63c se convierte por este filtro en un haz cuasi-monoenergético con el espectro 63d, como se muestra en la FIG. 7B. El haz 63d filtrado con latón tiene un pico de energía a 46 keV y un espectro de energía media de 45,3 keV.

30 La Tabla 4 resumen los parámetros de filtración para la generación de cada uno de los haces de transiluminación cuasi-monoenergéticos a partir de un haz de entrada polienergético de 50 kVp y las características de energía de los haces filtrados usados para generar la imagen de visualización Z como se describe en la sección E.

TABLA 4

Haz	Sustancia de filtración	Espesor g/cm <sup>2</sup>	Media del haz E
E <sub>1</sub>	Yodo	0,200	31,05
E <sub>2</sub>	Cerio	0,380	37,00
E <sub>3</sub>	Latón	1,340	45,01

35 Debe entenderse que los valores presentados aquí son solo representativos y se facilitan como ejemplos. Los espesores de filtro específicos, energías del haz y coeficientes de ponderación de la imagen pueden variarse ampliamente dependiendo de las condiciones particulares del procedimiento de obtención de imágenes. El procedimiento para el cálculo de estos valores será evidente para un experto en la materia.

Habiendo ahora descrito completamente la invención será evidente para un experto en la materia que pueden hacerse muchos cambios y modificaciones a la misma sin apartarse del alcance de la invención como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

40

**REIVINDICACIONES**

1. Un sistema para la obtención de imágenes radiográficas de tejido corporal (12) que comprende:

- a) un agente de obtención de imágenes;
- b) medios para administrar dicho agente de obtención de imágenes a un paciente;
- 5 c) medios (20) para generar un haz de rayos X; y
- d) medios (31) para adquirir imágenes radiográficas dispuestos en el lado de dicho paciente opuesto a dichos medios de generación de haces de rayos X;

**caracterizado porque**

10 dicho agente de obtención de imágenes es un agente de obtención de imágenes radiopaco permeable a una membrana celular que puede entrar en una célula por difusión pasiva y que se une a una diana celular.

2. El sistema según la reivindicación 1, **caracterizado porque** dichos medios (20) para generar un haz de rayos X pueden generar una pluralidad de haces con espectros de energía diferentes predeterminados y que comprende además medios (32) para realizar una combinación ponderada de una pluralidad de dichas imágenes radiográficas para producir una única imagen.

15 3. El sistema de la reivindicación 2, **caracterizado porque** dicha pluralidad de haces son cuasi-monoenergéticos.

4. El sistema de la reivindicación 2, **caracterizado porque** dicha pluralidad de haces son monoenergéticos.

5. El sistema de las reivindicaciones 2 a 4, **caracterizado porque** se generan 2 haces.

6. El sistema de las reivindicaciones 2 a 4, **caracterizado porque** se generan más de 2 haces.

20 7. El sistema de las reivindicaciones 2 a 6, **caracterizado porque** dichos medios (41a, 42a, 43 a) para generar dicha pluralidad de haces con espectros de energía diferentes predeterminados están dispuestos entre dichos medios (20) para generar un haz de rayos X y dicho paciente (12).

8. El sistema de las reivindicaciones 2 a 6, **caracterizado porque** dichos medios (49a, 49b, 49c) para generar dicha pluralidad de haces con espectros de energía diferentes predeterminados están dispuestos entre dicho paciente (12) y dichos medios (31) para adquirir imágenes radiográficas.

25 9. El sistema de las reivindicaciones 2 a 8, **caracterizado porque** incluye adicionalmente medios (35) para visualizar proporciones variables de densidad radiográfica contribuida por dicho agente de obtención de imágenes, tejido blando y hueso a dicha imagen única.

10. El sistema de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** dicha diana celular es una estructura celular.

30 11. El sistema de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** dicha diana celular es un orgánulo o una molécula.

12. El sistema de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** dicha diana celular se selecciona del grupo de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas y lípidos.

13. El sistema de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** dicha diana celular es una enzima.

14. El sistema de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** dicha diana celular es hexocinasa.

35 15. El sistema de las reivindicaciones 1 a 14, **caracterizado porque** dicho agente de obtención de imágenes es no radiactivo.

16. El sistema de las reivindicaciones 1 a 15, **caracterizado porque** dicho agente de obtención de imágenes se acumula en tejido maligno a una tasa diferente que en tejido no maligno.

40 17. El sistema de las reivindicaciones 1 a 15, **caracterizado porque** dicho agente de obtención de imágenes se acumula en tejido miocárdico anormal a una tasa diferente que en tejido miocárdico normal.

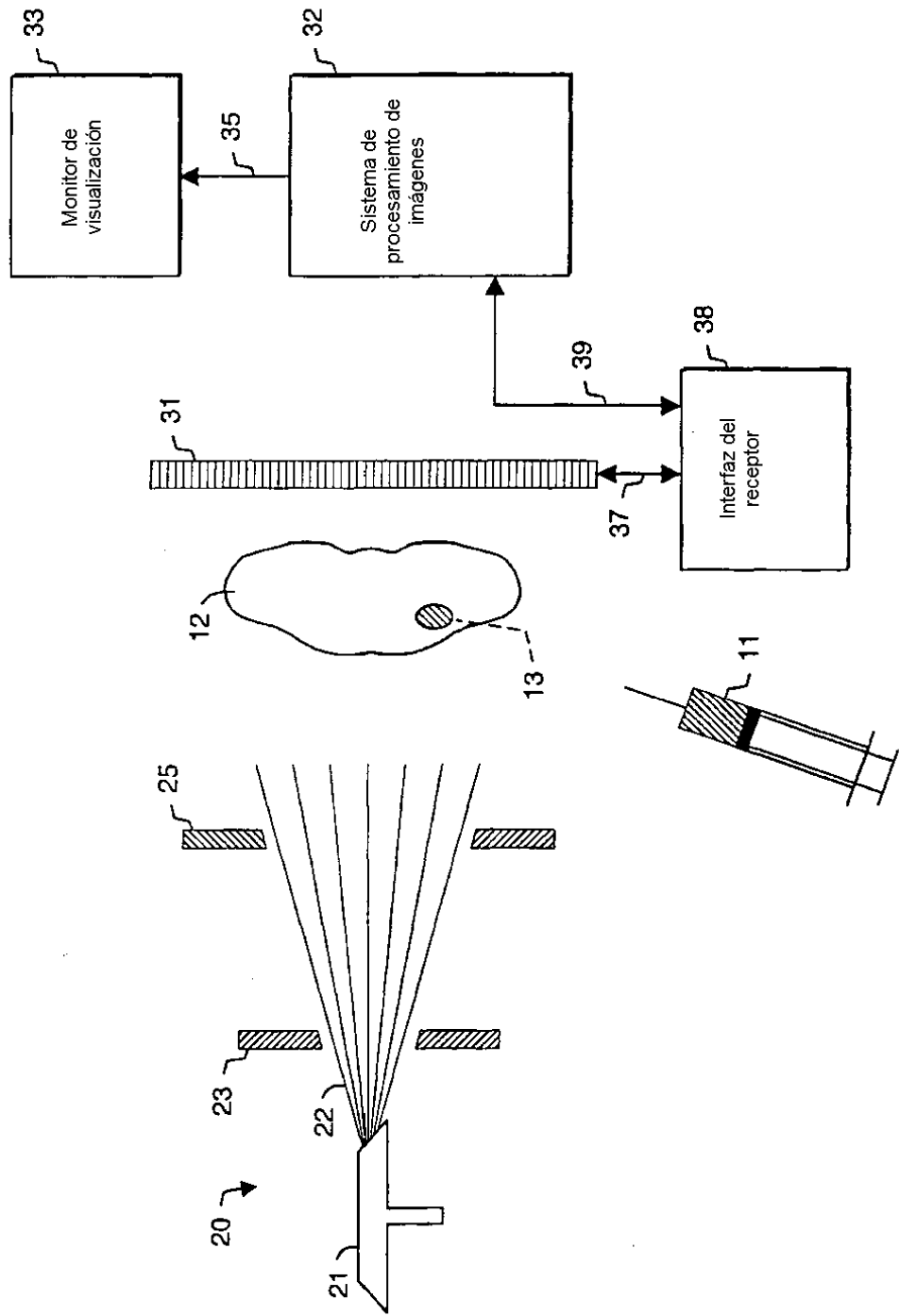
18. El sistema de las reivindicaciones 1 a 17, **caracterizado porque** dicho agente de obtención de imágenes tiene un logP superior a 0,0.

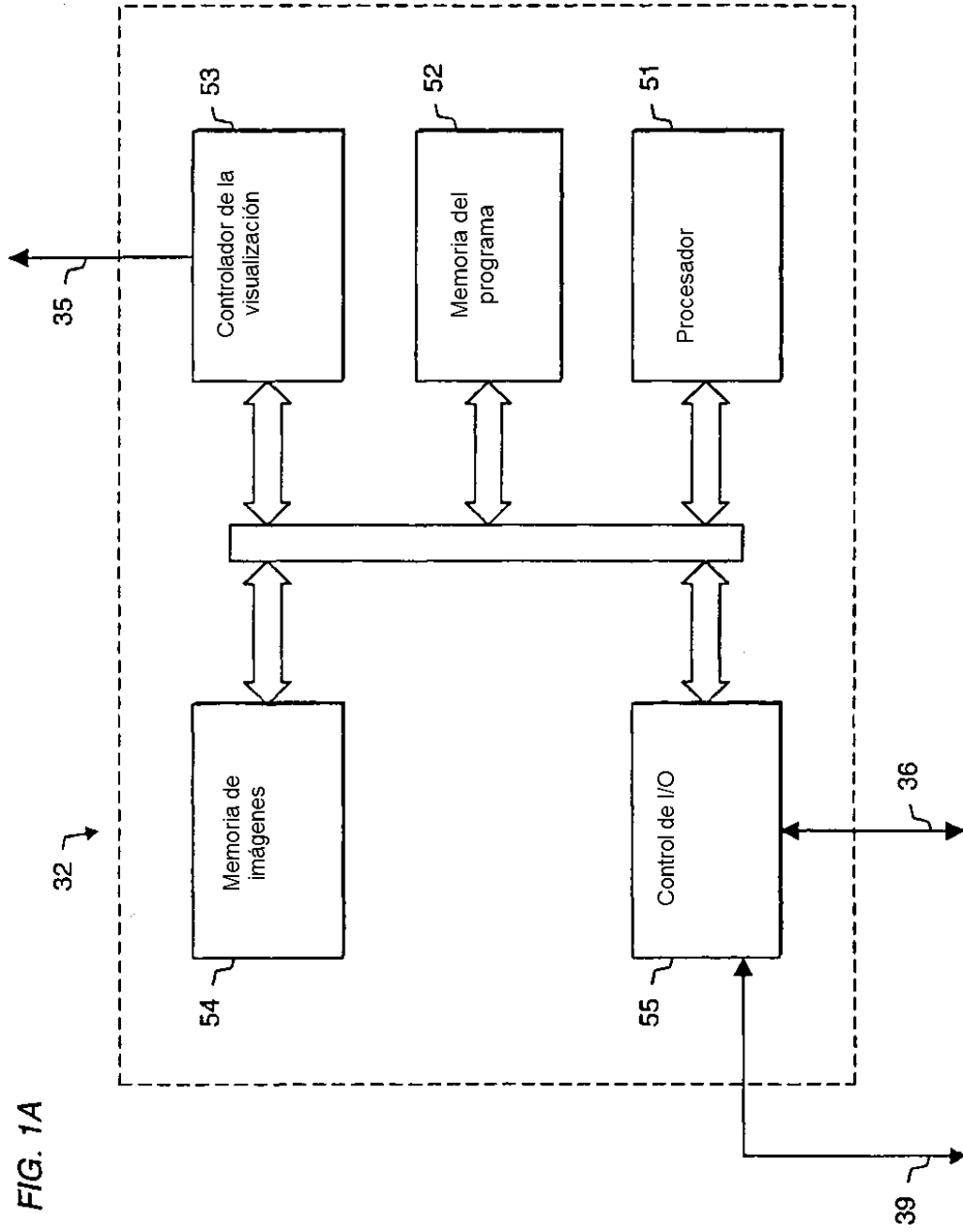
19. Una composición que tiene la fórmula general X-L-S en la que:

- 45 el resto S se selecciona de una piranosa, una furanosa o un oligonucleótido en el que la secuencia de nucleótidos comprende al menos dos residuos;
- el resto X es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi, alquiltio, alquenilo, alquilarilo, alquilamino, alquilamido, amido o arilamido sin sustituir o sustituido en el que al menos un átomo está sustituido por un átomo radiopacificante

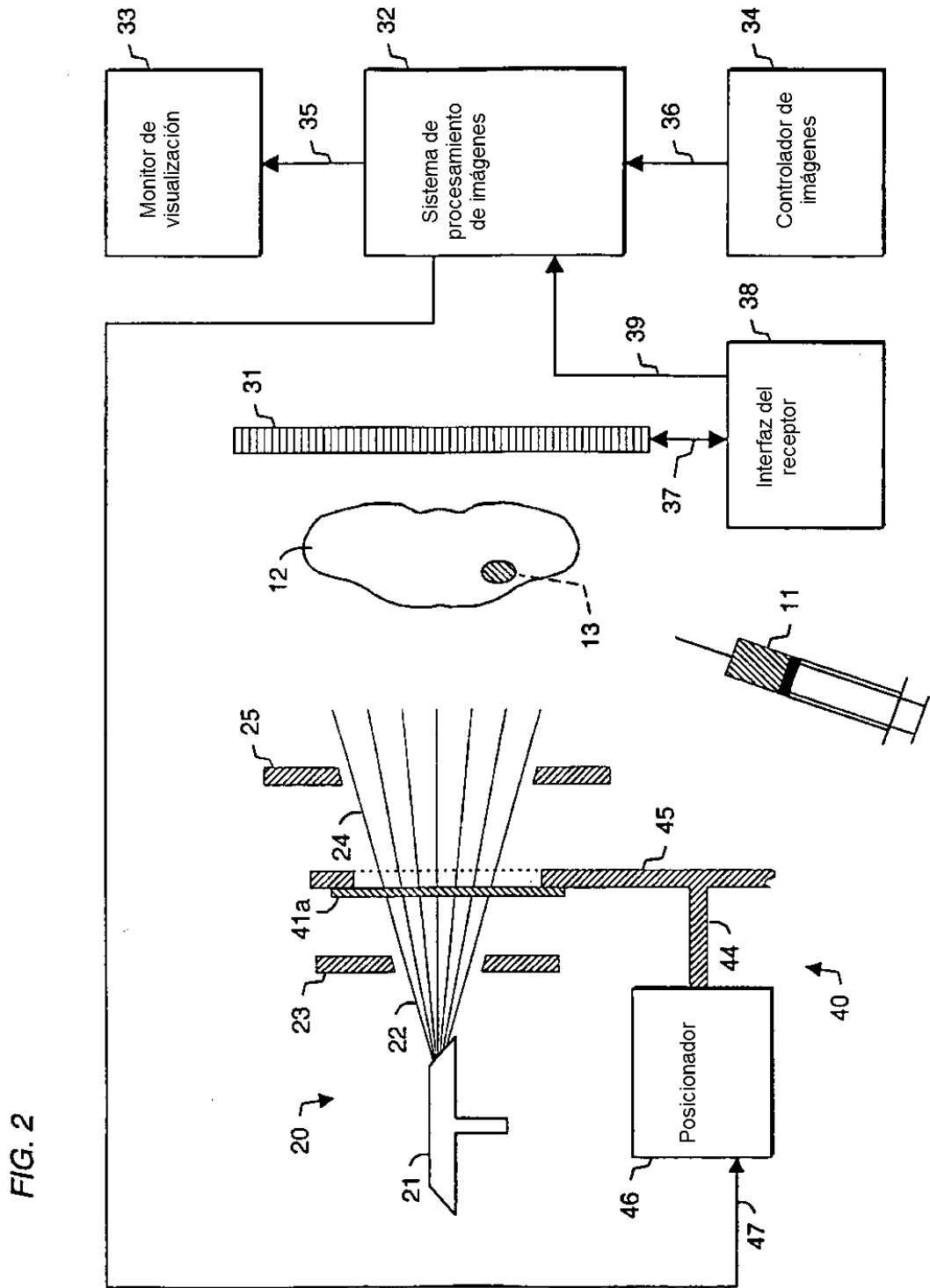
- de un elemento con un número atómico de  $Z = 35$  a  $Z = 74$ ; y  
 el resto L es un alquilo  $C_1-C_8$ , alcoxi, alquiltio, alqueniilo, alquilarilo, alquilamino, alquilamido, amido o  
 arilamido sin sustituir o sustituido unido al resto S y al resto X;  
 con la condición de que dicho agente de obtención de imágenes radiopaco tenga un valor de logP superior  
 a 0,0.
- 5
20. La composición de la reivindicación 19, **caracterizada porque** el resto S se selecciona de una piranosa o una  
 furanosa y la piranosa o la furanosa está sustituida con hidroxilo.
21. La composición de la reivindicación 20, **caracterizada porque** el resto S se selecciona de una piranosa o una  
 furanosa y la piranosa o la furanosa está sustituida con 2-hidroxilo.
- 10 22. Una composición **caracterizada porque**:
- el resto S se selecciona de una piranosa que es una piranosa sustituida de fórmula  $C_6H_{11}O_5$ ,  
 el resto X es un arilo sustituido de fórmula  $C_6H_2I_3$  y  
 el resto L es un amidoarilo sustituido de fórmula  $C_6H_3NH_2NHCO$ .
23. Una composición **caracterizada porque**:
- 15 el resto S se selecciona de una piranosa que es una piranosa sustituida de fórmula  $C_6H_{11}O_5$ ,  
 el resto X es un arilo sustituido de fórmula  $C_6H_3CH_2CH_3$ , y  
 el resto L es un amidoarilo sustituido de fórmula  $C_6H_3NH_2NHCO$ .
24. Una composición **caracterizada porque**:
- 20 el resto S se selecciona de una piranosa que es una piranosa sustituida de fórmula  $C_6H_{11}O_5$ ,  
 el resto X es un arilo sustituido de fórmula  $C_6I_3(CONHCH_3)_2$ , y  
 el resto L es un amidoarilo sustituido de fórmula  $C_6H_3NH_2NHCO$ .
25. La composición de la reivindicación 19 en la que el resto S se selecciona de un oligonucleótido en el que la  
 secuencia de nucleótidos comprende al menos dos residuos, **caracterizada porque** el enlace internucleotídico es  
 no iónico.
- 25 26. La composición de la reivindicación 19 en la que S se selecciona de un oligonucleótido en el que la secuencia de  
 nucleótidos comprende al menos dos residuos, **caracterizada porque** uno o más grupos lipófilos están unidos a al  
 menos un grupo que consiste en el resto S, el resto X y el resto L.
27. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 26, **caracterizada porque** es bidireccionalmente  
 permeable a una membrana celular.
- 30 28. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 27, **caracterizada porque** se une adicionalmente  
 selectivamente a una diana celular.
29. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 28 para su uso como un agente de diagnóstico.
30. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 28 para su uso como un agente de obtención de  
 imágenes radiopaco.
- 35 31. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 28 para su uso como un agente de diagnóstico para  
 diagnosticar tejido maligno por obtención de imágenes radiográficas.

FIG. 1









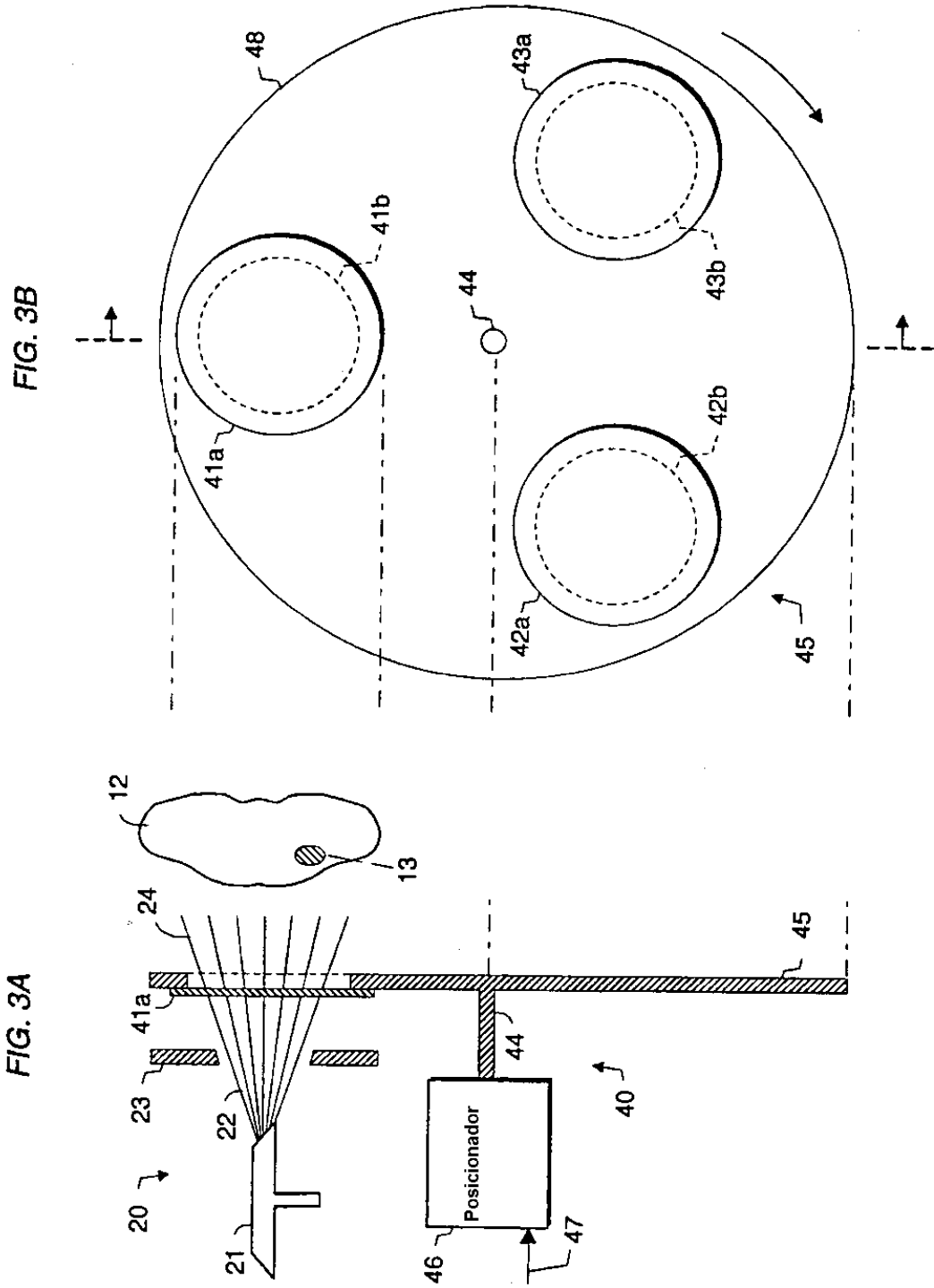
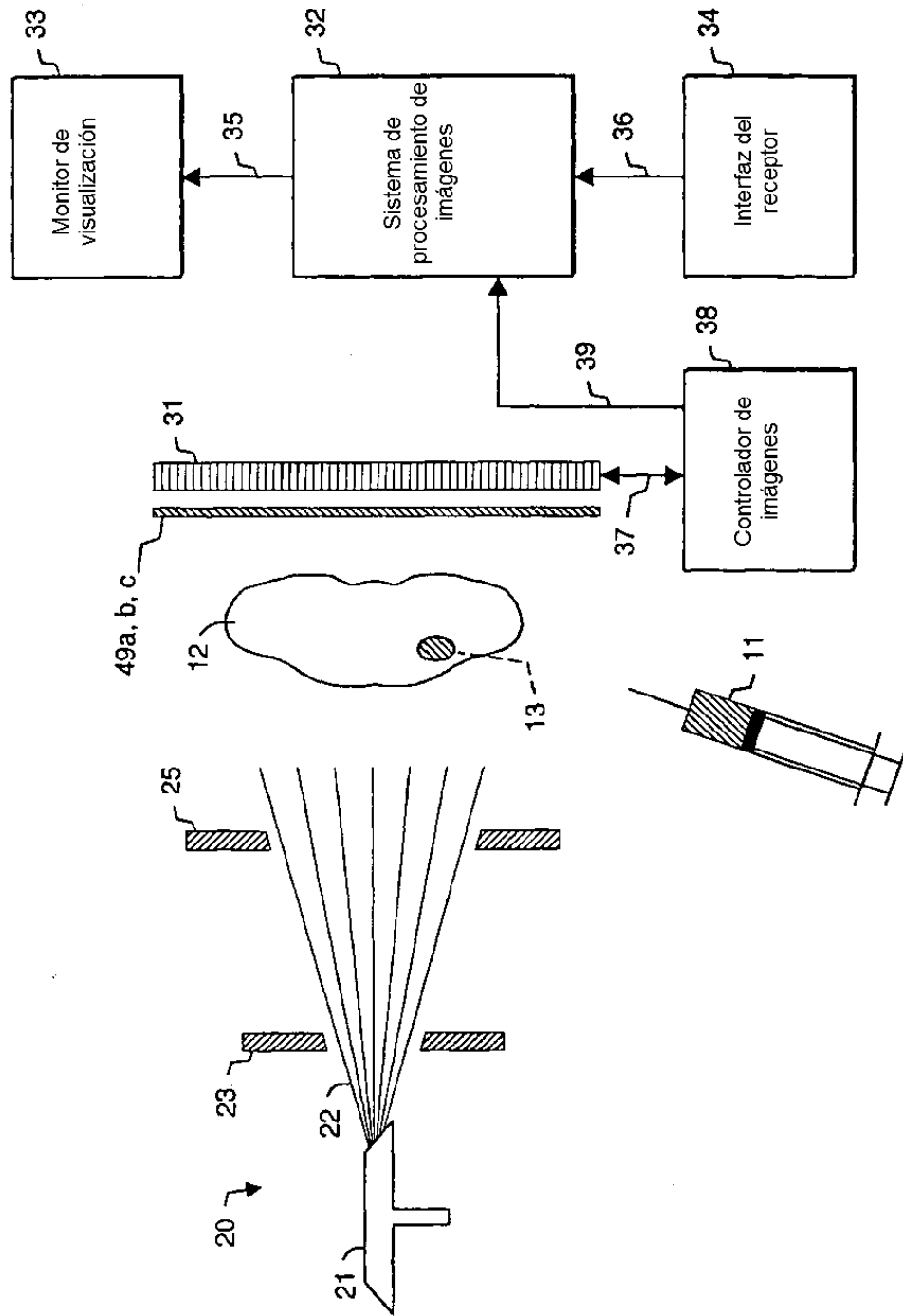
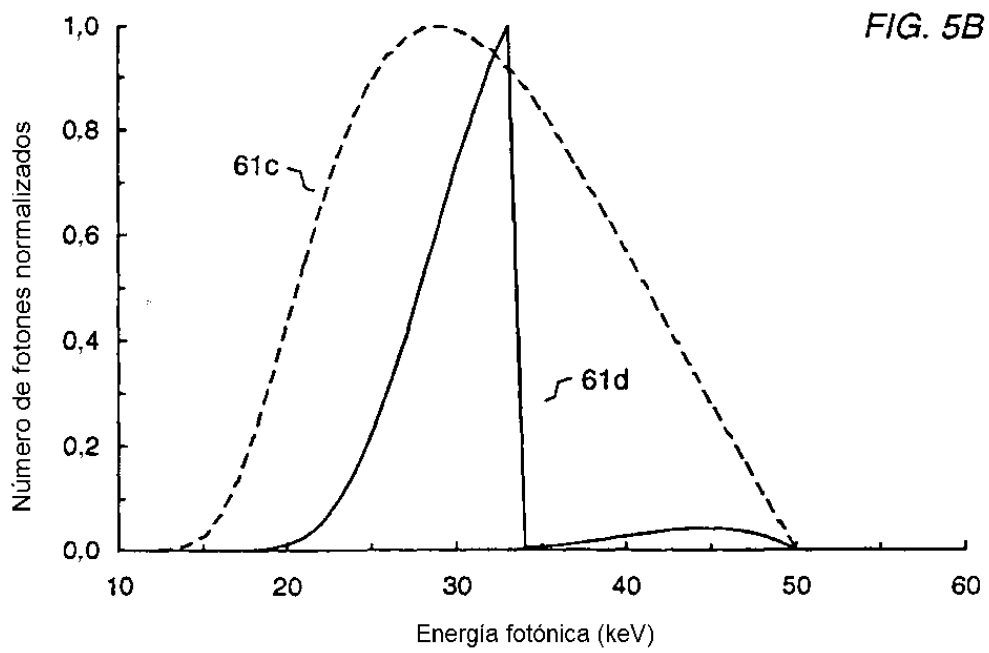
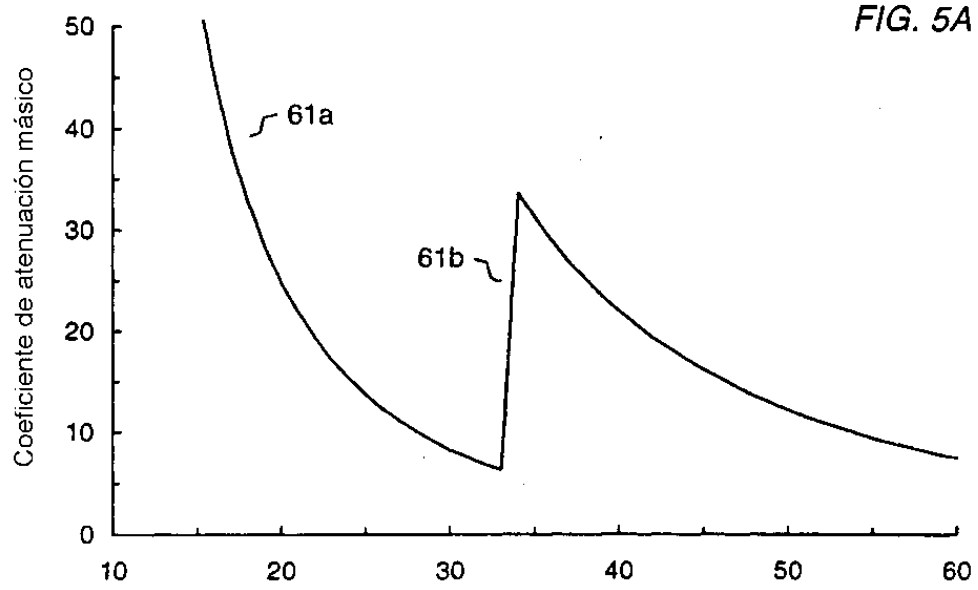
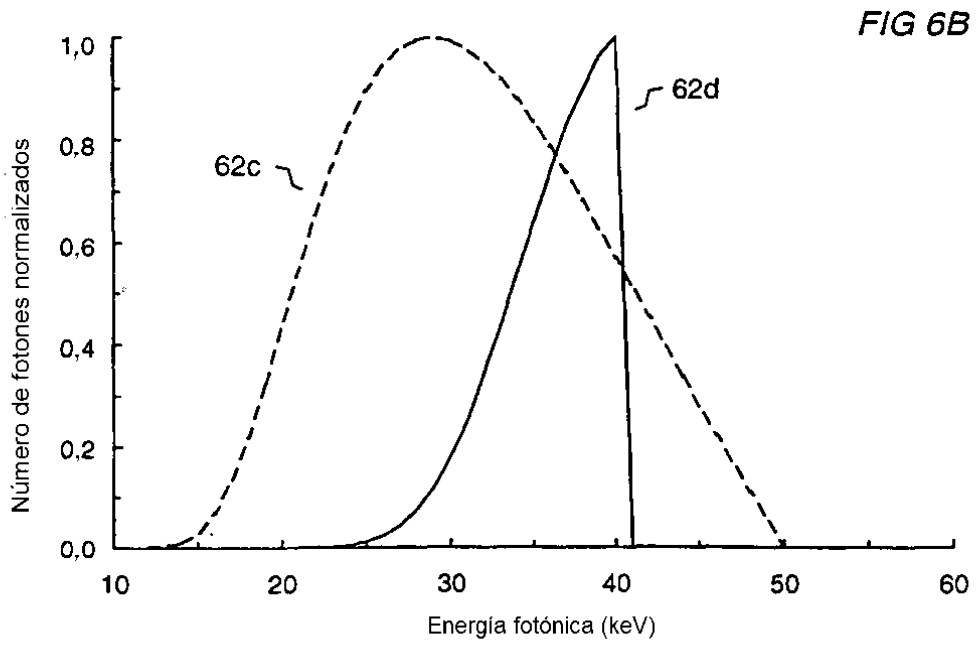
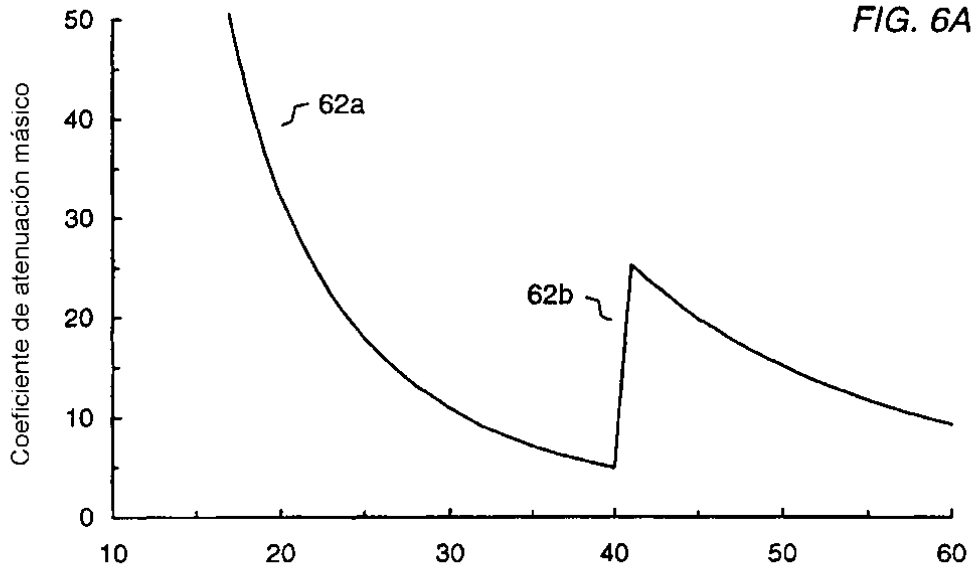
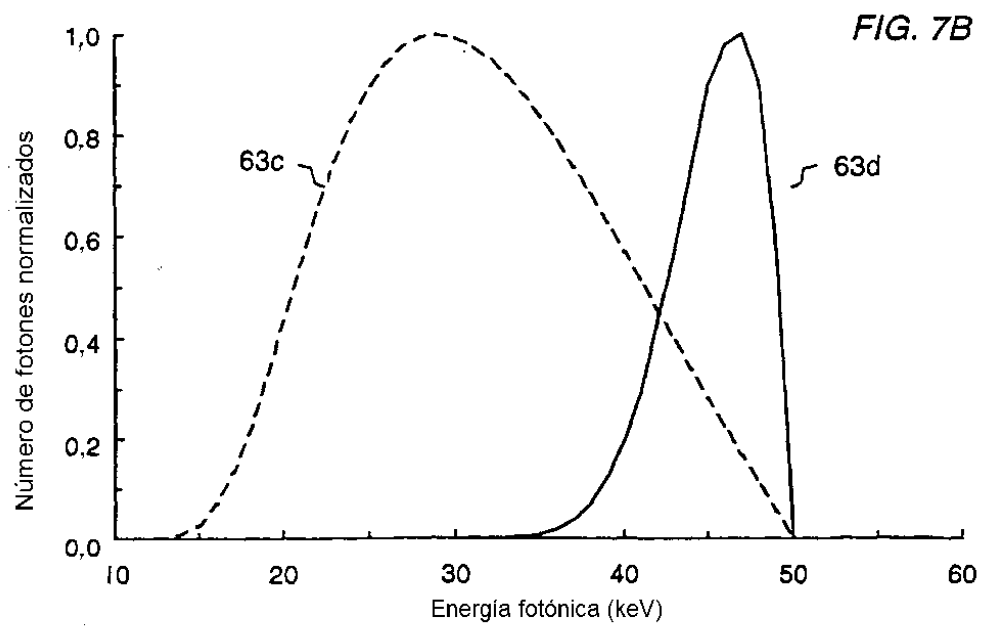
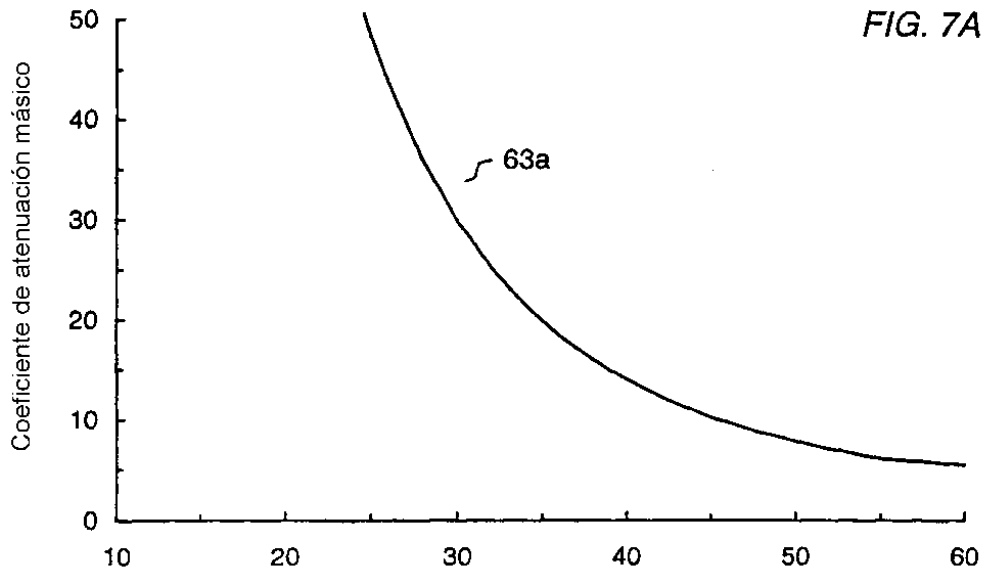


FIG. 4









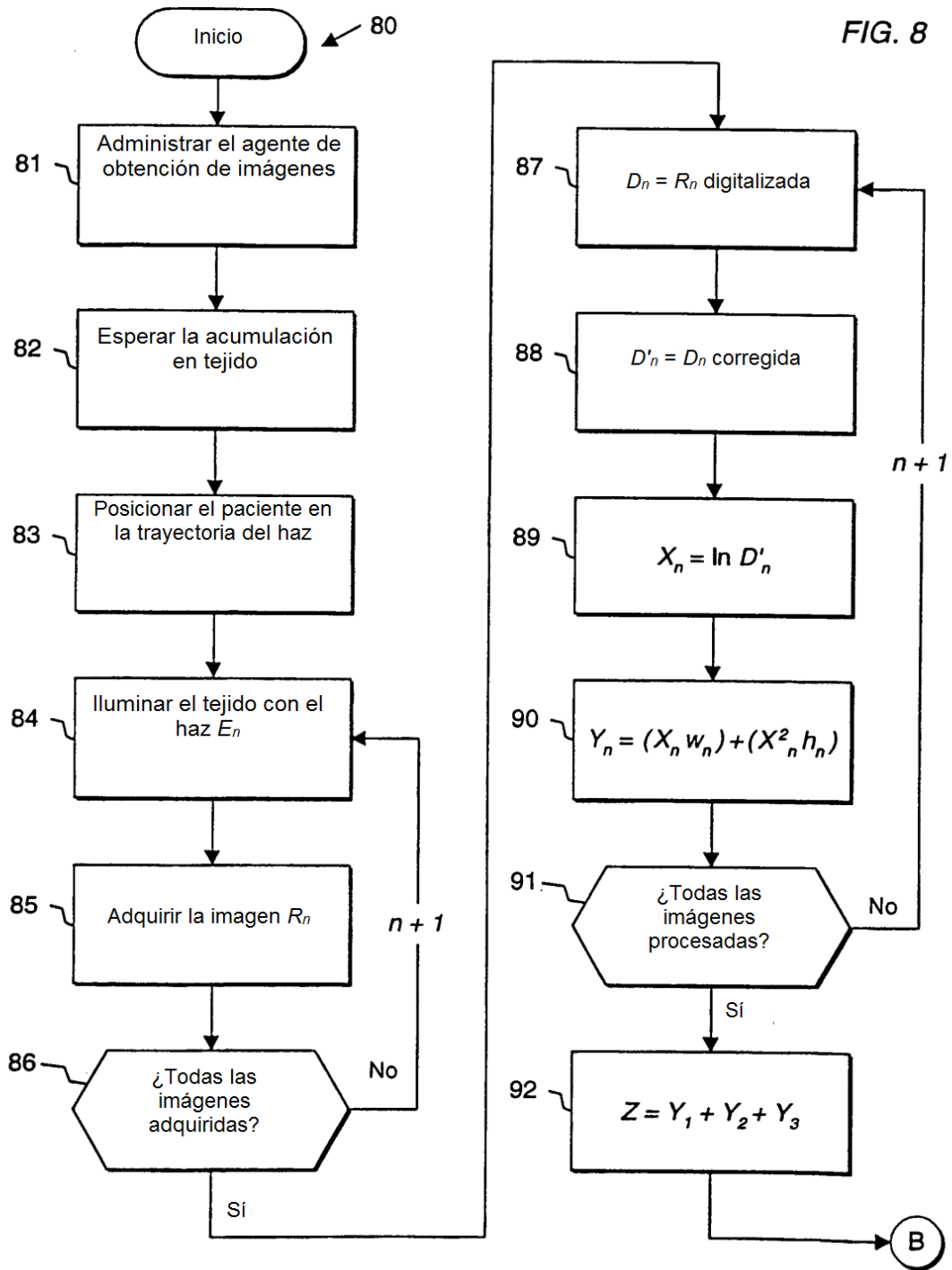


FIG. 9

