

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 585**

51 Int. Cl.:
A61K 49/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06754628 .3**
96 Fecha de presentación: **29.06.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1931391**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.06.2008**

54 Título: **Formación de imágenes ópticas de la artritis reumatoide**

30 Prioridad:
29.06.2005 US 694669 P
14.07.2005 EP 05015365

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.04.2012

73 Titular/es:
**Bundesrepublik Deutschland, vertr. d.d. Bundes-
ministerium f. Wirtschaft- und Technologie,
dieses vertr. d.d. Präs. d. Phys.- Techn.
Bundesanstalt
Bundesallee 100
38116 Braunschweig, DE**

72 Inventor/es:
**LICHA, Kai;
SCHIRNER, Michael;
VATER, Axel y
VOLLMER, Sonja**

74 Agente/Representante:
Curell Aguilá, Mireia

ES 2 379 585 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

Formación de imágenes ópticas de la artritis reumatoide.

5 **Introducción**

La presente invención se refiere a verde de indocianina para la utilización en el diagnóstico de la artritis, en particular de la artritis reumatoide.

10 **Antecedentes de la técnica**

El pigmento indotricarbocianina verde de indocianina (ICG) fue sintetizado por primera vez en los años cincuenta (Heseltine D.W., patente US nº 2.895.955, 1959) y autorizado clínicamente como fármaco diagnóstico para la evaluación de la función hepática y el gasto cardiaco, para las que el ICG muestra propiedades farmacocinéticas favorables (Caesar J. *et al.*, Clin. Sci. 21:43, 1961; Dorshow R.B. *et al.*, J. Biomed. Optics 3:340, 1998). En los años noventa se descubrió que era un agente de formación de imágenes diagnósticas y frecuentemente se aplica en la actualidad para la angiografía por fluorescencia para visualizar trastornos vasculares oftalmológicos (Brancato R. *et al.*, Semin. Ophthalmol. 13:189, 1998; Richard G., Soubrane G., Yanuzzi L., editores, Fluorescein and ICG angiography, Thieme, Alemania, 1998). El ICG ha sido estudiado como potencial agente de contraste de NIR para la detección de tumores tanto en animales (Reynolds J.S. *et al.*, Photochem. Photobiol. 70:87, 1999; Licha K. *et al.*, Photochem. Photobiol. 72:392, 2000) como en pacientes (Ntziachritos V. *et al.*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 97:2767, 2000). La rápida eliminación de la sangre del ICG proporciona no sólo una estrecha ventana temporal para las investigaciones con contraste mejorado sino una eficiencia cuántica de fluorescencia relativamente baja en ambientes fisiológicos, lo que ha motivado algunos intentos para diseñar agentes estructuralmente relacionados con mejores propiedades (Landsman M.L.J. *et al.*, J. Appl. Physiol. 40:575, 1976; Licha K. *et al.*, Photochem. Photobiol. 72:392, 2000).

La utilización de pigmentos fluorescentes para la formación diagnóstica de imágenes ha sido publicada en numerosas solicitudes de patente y artículos científicos. Estas publicaciones tienen en común que pretenden proporcionar agentes diagnósticos mejorados y/o agentes que utilizan estructuras tales como ICG como parte de nuevas entidades químicas poliméricas, en particular entidades diana y/o activables (documentos nº WO2005/019247, nº WO2004/028449, nº US2004/156785, nº WO2002/087498, nº WO2002/000265, nº US2002103517, nº WO98/48846). El ICG también ha sido descrito como un pigmento para el tratamiento de enfermedades utilizando irradiación lumínica (patente US nº 6.443.976, Tuchin V.V. *et al.*, Lasers Surg. Med. 33:296, 2003; Greenwell T.J. *et al.*, Eur. J. Surg. Oncol. 27:368, 2001).

El documento US2004156785 describe agentes de contraste bioactivables (MRI y ópticos) que comprenden ICG y su utilización en la formación de imágenes.

La formación diagnóstica de imágenes de la artritis reumatoide utilizando luz es un enfoque experimental conocido (Scheel A.K. *et al.*, Arthrit. Rheum. 46:1177, 2002). La aplicación de pigmentos fluorescentes como sondas de formación de imágenes se ha descrito en la literatura utilizando diferentes tipos de agentes (Chen W.T. *et al.*, Arthritis Res. Ther. 7:R310; Hansch A. *et al.*, Invest. Radiol. 39:626, 2004; Wunder A. *et al.*, Arthritis Rheum. 50:2459, 2004). En particular, Hansch A. *et al.*, Invest. Radiol. 39:626, 2004, demostraron que la fluorescencia de rango infrarrojo próximo (NIRF) en combinación con fluorocromo Cy5.5 puede identificar la artritis y es una herramienta potencial para la detección precoz de las articulaciones artríticas en un modelo murino *in vivo*. Los autores han sugerido además que en el futuro próximo resultará posible formar imágenes completas de las articulaciones menores de la mano en unos cuantos segundos. Sin embargo, ninguna de dichas publicaciones ha descrito la idoneidad particular de los pigmentos indocarbocianina, en particular de ICG como agente de formación obtención diagnóstica de imágenes para la formación de imágenes de enfermedades inflamatorias, en particular de la artritis reumatoide.

Descripción detallada de la invención

A menos que indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria presentan los mismos significados que los apreciados habitualmente por el experto ordinario en la materia.

Preferentemente, los términos utilizados en la presente memoria se describen en "A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)", Leuenberger H.G.W., Nagel B. y Kibl H., editores, Helvetic Chimica Acta, CH-4010, Basel, Suiza, 1995).

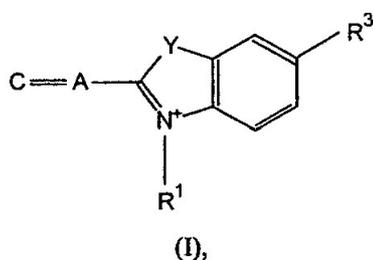
A lo largo de la presente memoria y en las reivindicaciones, posteriormente, a menos que el contexto indique lo contrario, el término "comprende" y variaciones tales como "comprenden" y "que comprende", se entenderá que implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas indicados, pero no la exclusión de cualquier otro número etapa o etapa o grupo de números enteros o etapas.

Inesperadamente, se ha descubierto un nuevo enfoque que permite detectar y cuantificar áreas de artritis, en particular artritis reumatoide, por ejemplo en articulaciones, que se basa en la distribución diferencial y/o tiempo de residencia del pigmento indocarbocianina ICG en áreas sanas e inflamadas. Se ha desarrollado un equipo con compuertas temporales para la formación continua de imágenes (hasta un fotograma por segundo) de, por ejemplo, manos o pies inflamados. Los pigmentos indocarbocianina de infrarrojo cercano (NIR) con propiedades farmacocinéticas similares al ICG son perfectamente adecuados para identificar áreas inflamatorias, en particular de artritis reumatoide en las articulaciones. Se ha desarrollado un algoritmo para la investigación de regiones de interés en los fotogramas y para la investigación de intensidades de fluorescencia en dependencia del tiempo tras la aplicación i.v. de, por ejemplo, el pigmento indotricarbocianina ICG.

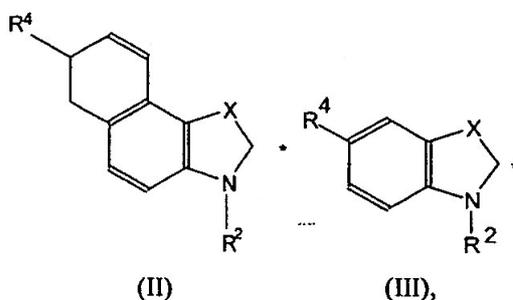
Un primer aspecto de la presente invención se refiere a la utilización de verde de indocianina para la preparación de un medicamento destinado al diagnóstico de la artritis.

Se ha observado que las indocarbocianinas muestran una localización preferida y/o una distribución alternativa en las regiones inflamatorias, en comparación con el tejido sano. Esta preferencia aparentemente no depende de la unión de un grupo de localización, que puede presentar una afinidad incremental para un sitio inflamatorio. De esta manera, no se une ningún grupo de localización al ICG utilizable según la presente invención.

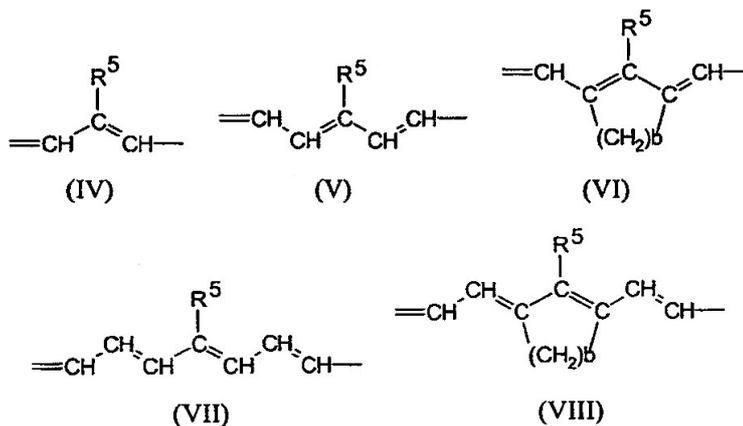
Un pigmento indocarbocianina presenta la fórmula general (I):



en la que C representa un radical (II) o (III):



en el que la posición que se ha marcado con el asterisco es el punto de unión al radical A y en el que A representa un grupo seleccionado de entre los grupos (IV), (V), (VI), (VII) o (VIII):



en los que:

R¹ y R², independientemente, representan una cadena sulfoalquilo C₁-C₄, por ejemplo sulfometilo, sulfoetilo, n-sulfopropilo, isosulfopropilo, sulfobutilo, iso-sulfobutilo, sec-sulfobutilo, terc-isobutilo, o una cadena alquilo C₁-C₅₀ saturada o insaturada de cadena ramificada o lineal, por ejemplo CH₃, C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉, C₅H₁₁, C₆H₁₃, C₇H₁₅, C₈H₁₇, C₉H₁₉, C₁₀H₂₁, C₁₁H₂₃, C₁₂H₂₅, C₁₃H₂₇, C₁₄H₁₉, C₁₅H₃₁, C₁₆H₃₃, C₁₇H₃₅, C₁₈H₃₇, C₁₉H₃₉, C₂₀H₄₁, C₂₁H₄₃, C₂₂H₄₅, C₂₃H₄₇, C₂₄H₄₉, C₂₅H₅₁, C₂₆H₅₃, C₂₇H₅₅, C₂₈H₅₇, C₂₉H₅₉, C₃₀H₆₁, C₃₁H₆₃, que opcionalmente se sustituyen con 0 a 15, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 átomos de oxígeno y/o con 0 a 3 grupos carbonilo, por ejemplo 1, 2 ó 3 y/o con 0 a 5, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos hidroxilo u opcionalmente se interrumpe con 0 a 15, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 átomos de oxígeno y/o con 0 a 3, por ejemplo 1, 2 ó 3 grupos carbonilo y/o pueden sustituirse con 0 a 5, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos hidroxilo;

R³ representa una cadena carbohidrato de cadena lineal con como máximo 20 residuos hidrocarburo, en particular metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, que se sustituye con uno o más grupos -OH, -COOH, -SO₃ y/o se interrumpe opcionalmente una o más veces (preferentemente 2, 3, 4, 5 ó 6 veces) con un grupo -O-, -S-, -CO-, -CS-, -CONH-, -NHCO-, NHCSNH-, -SO₂-, -PO₄-, arilo y/o -NH-.

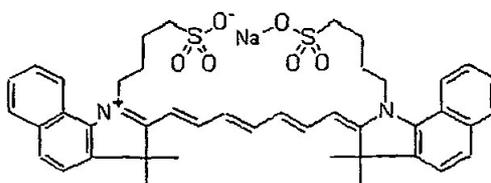
R⁴ representa el grupo -COE¹, -CONE¹E², -NHCOE¹, -NHCONHE¹, -NE¹E², -OE¹, -OSO₃E¹, -SO₃E¹, -SO₂NHE¹ o E¹, en los que E¹ y E², independientemente, representan un átomo de hidrógeno, una cadena sulfoalquilo C₁-C₄, por ejemplo sulfometilo, sulfoetilo, n-sulfopropilo, iso-sulfopropilo, sulfobutilo, iso-sulfobutilo, sec-sulfobutilo, terc-isobutilo, una cadena alquilo C₁-C₅₀ saturada o insaturada de cadena ramificada o lineal, por ejemplo CH₃, C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉, C₅H₁₁, C₆H₁₃, C₇H₁₅, C₈H₁₇, C₉H₁₉, C₁₀H₂₁, C₁₁H₂₃, C₁₂H₂₅, C₁₃H₂₇, C₁₄H₁₉, C₁₅H₃₁, C₁₆H₃₃, C₁₇H₃₅, C₁₈H₃₇, C₁₉H₃₉, C₂₀H₄₁, C₂₁H₄₃, C₂₂H₄₅, C₂₃H₄₇, C₂₄H₄₉, C₂₅H₅₁, C₂₆H₅₃, C₂₇H₅₅, C₂₈H₅₇, C₂₉H₅₉, C₃₀H₆₁, C₃₁H₆₃, que opcionalmente se interrumpan con 0 a 15 átomos de oxígeno, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 y/o con 0 a 3 grupos carbonilo, por ejemplo 1, 2 ó 3, y/o se sustituye con 0 a 5 grupos hidroxilo, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5,

R⁵ representa un átomo de hidrógeno, o un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo, metilo, etilo, propilo o isopropilo,

b se refiere al número 2 ó 3, y

X e Y, independientemente, se representa O, S, =C(CH₃)₂ o -(CH=CH)-, así como las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

En la presente invención, el pigmento indocarbocianina es verde de indocianina (ICG). El ICG presenta una estructura según la fórmula (IX):



(IX)

Los análogos de ICG son modificaciones de la estructura según la fórmula (IX), en la que uno o más sustituyentes, preferentemente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ó más sustituyentes seleccionados de entre el grupo constituido por la cadena sulfoalquilo C₁-C₄, por ejemplo sulfometilo, sulfoetilo, n-sulfopropilo, iso-sulfopropilo, sulfobutilo, iso-sulfobutilo, sec-sulfobutilo, terc-isobutilo, o una cadena alquilo C₁-C₅₀ saturado o insaturado de cadena ramificada o lineal, por ejemplo CH₃, C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉, C₅H₁₁, C₆H₁₃, C₇H₁₅, C₈H₁₇, C₉H₁₉, C₁₀H₂₁, C₁₁H₂₃, C₁₂H₂₅, C₁₃H₂₇, C₁₄H₁₉, C₁₅H₃₁, C₁₆H₃₃, C₁₇H₃₅, C₁₈H₃₇, C₁₉H₃₉, C₂₀H₄₁, C₂₁H₄₃, C₂₂H₄₅, C₂₃H₄₇, C₂₄H₄₉, C₂₅H₅₁, C₂₆H₅₃, C₂₇H₅₅, C₂₈H₅₇, C₂₉H₅₉, C₃₀H₆₁, C₃₁H₆₃, que opcionalmente se sustituye con 0 a 15, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 átomos de oxígeno y/o 0 a 3 grupos carbonilo, por ejemplo 1, 2 ó 3, y/o con 0 a 5, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos hidroxilo u opcionalmente se interrumpe con 0 a 15, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 átomo de oxígeno y/o con 0 a 3, por ejemplo 1, 2 ó 3 grupos carbonilo y/o puede sustituirse con 0 a 5, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos hidroxilo; halógenos, por ejemplo F, Cl, Br o I se encuentran unidos a la estructura, por ejemplo mediante la sustitución de un átomo de hidrógeno. Este sustituyente o sustituyentes se unen preferentemente al sistema aromático (los sistemas de anillos y/o la cadena alquenoilo conectan las estructuras de

anillos) y todavía más preferentemente en posiciones correspondientes a las posiciones R¹, R², R³ ó R⁴ en las estructuras (I), (II) o (III); anteriormente. Además, los análogos de ICG muestran una farmacocinética similar a la del ICG. El perfil farmacocinético de una sustancia puede someterse a ensayo mediante diversos métodos conocidos en la técnica. Sin embargo, resulta preferido que la determinación de la farmacocinética del análogo de ICG mediante un ensayo tal como el descrito de manera general posteriormente, en la sección experimental, por ejemplo la cinética de distribución del análogo de ICG en una parte del cuerpo de un paciente con un diagnóstico confirmado de enfermedad inflamatoria, preferentemente artritis reumatoide, mediante, por ejemplo, la aplicación de un bolo del pigmento en una zona vecina de la parte del cuerpo afectada por la enfermedad inflamatoria, la irradiación de la región o parte de la región con NIR y la medición de la fluorescencia en instantes temporales. Un análogo de ICG muestra para una enfermedad inflamatoria dada, en particular la artritis, preferentemente la artritis reumatoide, una farmacocinética similar a la del ICG. La farmacocinética es similar en el caso de que, por ejemplo, el instante temporal de máxima acumulación del análogo de ICG, es decir, la intensidad de fluorescencia máxima, en la región inflamada tras una inyección de un bolo del pigmento se encuentre a por lo menos 500 s, 450 s, 350 s, 300 s, 250 s, 200 s, preferentemente 190 s, más preferentemente por lo menos 180 s, 170 s, 160 s, 150 s, 140 s, 130 s, 120 s, 110 s, 100 s, 90 s, 80 s, 70 s, 60 s, 50 s, 40 s, 30 s, 25 s, 20 s, 15 s, 10 s, 5 s o menos del instante temporal de máxima acumulación de ICG en el mismo paciente o en un paciente afectado por una enfermedad similar. El experto en la materia apreciará que resulta necesaria para dicha comparación de los tiempos de máxima acumulación en una región enferma de ICG y de un potencial análogo de ICG, la realización de experimentos bajo condiciones prácticamente idénticas, es decir, la administración de la misma cantidad molar de ICG y análogo de ICG en el mismo volumen del mismo tampón, preferentemente en el mismo paciente en la misma vena, etc. La cinética de la distribución del análogo de ICG en una región enferma puede compararse con la cinética de distribución del mismo análogo de ICG en una región comparable de una persona sana. El análogo de ICG preferentemente también presenta una farmacocinética en personas sanas similar a la del ICG. A este respecto, la expresión "farmacocinética similar" presenta el mismo significado que el indicado de manera general anteriormente. La idoneidad particular del ICG para la detección de enfermedades inflamatorias, en particular de la artritis reumatoide, se basa en el hecho de que se observa una rápida acumulación de ICG en las áreas enfermas, en particular en las articulaciones enfermas, mientras que la acumulación de ICG en las articulaciones de los pacientes sanos es más lenta y no alcanza el mismo máximo de intensidad de fluorescencia. De esta manera, tanto la diferencia entre los instantes temporales de fluorescencia máxima como la diferencia de intensidades de fluorescencia observadas en sujetos sanos y enfermos permite diferenciar entre las dos situaciones y, por consiguiente, proporciona el diagnóstico. La presente invención no se refiere a análogos de ICG sino únicamente al ICG.

Una enfermedad inflamatoria es una enfermedad caracterizada por la infiltración de macrófagos en el tejido afectado, en particular en articulaciones y venas, la presencia de cantidades incrementadas de citoquinas y/o la presencia de cantidades incrementadas de células T. En la utilización de la presente invención, la enfermedad inflamatoria se selecciona de entre el grupo constituido por artritis.

En una forma de realización preferida de la utilización de la presente invención, la artritis se selecciona de entre el grupo constituido por artritis reumatoide, osteoartritis, artritis sorriásica, artritis traumática, artritis bacteriana (por ejemplo por *Streptococcus*), artritis posinfecciosa, enfermedad de Lyme (borreliosis), espondilitis anquilosante y artritis por rubéola.

Debido a la sensibilidad que presenta la utilización según la presente invención, resulta particularmente preferido para el diagnóstico de los estadios tempranos de las enfermedades respectivas. Dicho diagnóstico precoz resulta particularmente deseado para las enfermedades artríticas, en particular la artritis reumatoide, que presenta una distribución mundial, con una prevalencia estimada de 1% a 2%. La prevalencia se incrementa con la edad, alcanzando el 5% en mujeres de edad superior a 55 años. La incidencia anual media en los Estados Unidos es de aproximadamente 70 por cada 100.000 cada año. Tanto la incidencia como la prevalencia de la artritis reumatoide son dos a tres veces superiores en mujeres que en hombres. Aunque la artritis reumatoide puede presentarse a cualquier edad, los pacientes más comúnmente resultan afectados por primera vez en las tercera a sexta décadas de la vida. Se cree que un tratamiento temprano de la artritis reumatoide puede enlentecer o prevenir el avance hasta una artritis reumatoide totalmente desarrollada. El diagnóstico de la artritis, en particular la artritis reumatoide en un estadio temprano, es decir, cuando los síntomas clínicos de, por ejemplo, la inflamación de las articulaciones o el dolor, no se hayan presentado todavía es una utilización particularmente preferida de la presente invención.

La administración de ICG puede conseguirse mediante la inyección arterial o venosa o inyecciones en el tejido o articulación, que se sospecha que resultan afectadas por una enfermedad causada o asociada a procesos inflamatorios. Para la formación de imágenes de NIR, los pigmentos preferentemente se administran en forma de un bolo intravenoso (i.v.). En el caso de que el pigmento se administre mediante inyección de bolo, la inyección preferentemente se administra en un vaso en las proximidades a la región que debe diagnosticarse, que transportará el pigmento a la región. El experto en la materia podrá seleccionar un vaso sanguíneo adecuado para la administración del pigmento. Típicamente el paciente se somete a ayuno por lo menos 4 horas antes de la administración del pigmento.

En una forma de realización preferida de la utilización según la presente invención, el pigmento diagnóstico ICG se administra en una cantidad de 10 mg/kg de peso corporal o inferior, 9 mg/kg de peso corporal o inferior, 8 mg/kg de

5 peso corporal o inferior, 7 mg/kg de peso corporal o inferior, 6 mg/kg de peso corporal o inferior, 5 mg/kg de peso corporal o inferior, 4 mg/kg de peso corporal o inferior, 3 mg/kg de peso corporal o inferior, 2 mg/kg de peso corporal o inferior, preferentemente 1 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,9 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,8 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,7 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,6 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,5 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,4 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,3 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,2 mg/kg de peso corporal o inferior, más preferentemente en una cantidad de 0,1 mg/kg de peso corporal o inferior.

10 El pigmento ICG preferentemente se administra en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable, en el sujeto. Tal como se utiliza en la presente memoria, un portador farmacéuticamente aceptable puede incluir todos y cada uno de los solventes, medios de dispersión, agentes antibacterianos y antifúngicos y agentes isotónicos. La utilización de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocida en la técnica.

15 El pigmento ICG preferentemente se formula en forma de una solución acuosa estéril parenteralmente aceptable libre de pirógenos. La preparación de dichas soluciones parenteralmente aceptable, considerando debidamente el pH, isotonicidad y estabilidad, resultará evidente para el experto en la materia.

20 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal del pigmento ICG. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de ICG utilizables según la presente invención incluyen sales de adición de ácido que pueden formarse, por ejemplo, mezclando una solución de ICG con una solución de un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como ácido hidrocórico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Además, las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los mismos pueden incluir sales de metal alcalino (por ejemplo sales sódicas o potásicas), sales de metal alcalino-térreo (por ejemplo sales de calcio o magnesio) y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados (por ejemplo cationes amónico, de amonio cuaternario y amina formados utilizando contraaniones, tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilsulfonato y arilsulfonato). Los ejemplos ilustrativos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen: acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, butirato, edetato de calcio, canforato, canforsulfonato, camsilato, carbonato, cloruro, citrato, clavulanato, ciclopentapropionato, digluconato, dihidrocloruro, dodecilsulfato, edetato, edisilato, estolato, esilato, etanosulfonato, formato, fumarato, gluceptato, glucoheptonato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, glucolilarsanilato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hexilresorcinato, hidrabamina, hidrobromuro, hidrocioruro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, hidroxinaftoato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metanosulfonato, metilsulfato, mucato, 2-naftalenosulfonato, napsilato, nicotinato, nitrato, sal amónica de N-metilglucamina, oleato, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato/difosfato, picrato, pivalato, poligalacturonato, propionato, salicilato, estearato, sulfato, subacetato, succinato, tanato, tartrato, teoclatato, tosilato, trietayoduro, undecanoato y valerato.

40 La presente invención se refiere a ICG para la utilización en un método de diagnóstico de la artritis, que comprende las etapas siguientes:

- (a) administrar verde de indocianina (ICG), preferentemente mediante la inyección de bolo,
- (b) exponer una región del cuerpo a luz de una longitud de onda que puede excitar el verde de indocianina,
- (c) medir la fluorescencia en la región del cuerpo en múltiples instantes temporales,

45 en el que un incremento de la fluorescencia en las articulaciones es indicativo de artritis y en el que dicho incremento se detecta menos de 300 s después de la administración del verde de indocianina, y en el que el máximo de fluorescencia en las articulaciones artríticas se alcanza dentro de un tiempo de 180 s, y en el que la fluorescencia máxima en las articulaciones enfermas es más alto que la fluorescencia máxima en articulaciones no afectadas y/o en el que el máximo de fluorescencia en las articulaciones artríticas se produce antes que en las articulaciones sanas.

50 En la presente invención, el pigmento indotricarbocianina es el verde de indocianina (ICG).

55 En el método de la presente invención, la enfermedad inflamatoria se selecciona de entre el grupo constituido por artritis.

60 En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la artritis se selecciona de entre el grupo constituido por artritis reumatoide, osteoartritis, artritis soriasica, artritis traumática, artritis bacteriana (por ejemplo por *Streptococcus*), artritis posinfecciosa, enfermedad de Lyme (borreliosis), espondilitis anquilosante y artritis por rubeola, en particular artritis reumatoide.

65 Debido a la sensibilidad proporcionada por el método de la presente invención, resulta preferido para el diagnóstico de estadios tempranos de las enfermedades respectivas. El diagnóstico de la artritis, en particular la artritis reumatoide en un estadio temprano, es decir cuando los síntomas clínicos de, por ejemplo, la inflamación de las articulaciones o el dolor todavía no han aparecido, resulta particularmente preferido.

- 5 En una forma de realización preferida del método de la presente invención, el diagnóstico se administra en una cantidad de 10 mg/kg de peso corporal o inferior, 9 mg/kg de peso corporal o inferior, 8 mg/kg de peso corporal o inferior, 7 mg/kg de peso corporal o inferior, 6 mg/kg de peso corporal o inferior, 5 mg/kg de peso corporal o inferior, 4 mg/kg de peso corporal o inferior, 3 mg/kg de peso corporal o inferior, 2 mg/kg de peso corporal o inferior, preferentemente 1 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,9 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,8 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,7 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,6 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,5 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,4 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,3 mg/kg de peso corporal o inferior, 0,2 mg/kg de peso corporal o inferior, más preferentemente en una cantidad de 0,1 mg/kg de peso corporal o inferior.
- 10 En una forma de realización preferida del método de la presente invención, el diagnóstico se inyecta en la región del cuerpo que debe diagnosticarse o en un vaso sanguíneo o en el sistema linfático que proporciona sangre o linfa a la región del cuerpo que debe diagnosticarse. En el caso de la formación de una imagen de una mano, el diagnóstico se inyecta preferentemente en la vena del brazo.
- 15 En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la luz en la etapa (b) se aplica continuamente, de amplitud modulada o pulsada. En el caso de que la luz se aplique pulsada, resulta preferido que la medición se lleve a cabo en pulsos sincronizados con los pulsos de luz, lo que permite una reducción del ruido de fondo debido a la luz ambiente. Resulta preferido que la fuente de la luz de excitación sea un láser. Un tipo preferido de láser es un láser de estado sólido de Nd:YAG combinado con un oscilador paramétrico óptico bombeado por el
 20 tercer armónico. Sin embargo, igualmente puede utilizarse otro tipo de láseres que pueden proporcionar la longitud de onda de excitación deseada.
- 25 En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la luz presenta una longitud de onda de entre 600 nm y 2,2 μ m. Preferentemente, la longitud de onda de excitación se selecciona de manera que la longitud de onda sea similar al máximo de absorción del pigmento NIR utilizado respectivamente. Un intervalo preferido particular es una longitud de onda de excitación de entre 700 y 900 nm. Para el ICG, el máximo de absorción es una longitud de onda de aproximadamente 780 nm, por consiguiente resulta preferido seleccionar una longitud de onda de excitación de aproximadamente 780 nm en el caso de la presente invención, que implica ICG.
- 30 Para la formación de imágenes de procesos inflamatorios, en particular en las articulaciones de la mano, se ha demostrado que la diferencia en el patrón de fluorescencia de sujetos sanos y enfermos es más prominente dentro de un marco temporal corto posterior a la administración del pigmento NIR. De esta manera, en el método de la presente invención, la fluorescencia se mide en múltiples instantes temporales durante por lo menos 20 s, preferentemente durante por lo menos 30 s, 40 s, 50 s, 60 s, 70 s, 80 s, 90 s, 100 s, 110 s, 120 s, 130 s, 140 s, 150
 35 s, 180 s, 190 s, 200 s, 210 s, 230 s, 240 s, 250 s, 260 s, 270 s, 280 s, 290 s tras la administración del ICG. Una distribución temprana de la indocarbocianina, en particular la indotricarbocianina, en las regiones que se sospecha que presentan inflamación resultará indicativa de un proceso inflamatorio. El máximo de fluorescencia en las regiones en que se sospecha inflamación será indicativo de un proceso inflamatorio. El máximo de fluorescencia en las regiones en que se sospecha de inflamación, por ejemplo una o más articulaciones en la artritis y áreas de la piel en la soriasis, preferentemente se alcanza en menos de 10 s, preferentemente en 20 s, 25 s, 30 s, 35 s, 40 s, 45 s, 50 s, 55 s, 60 s, 65 s, 70 s, 75 s, 80 s, 90 s, 100 s, 110 s, 120 s, 130 s, 140 s, 150 s, 160 s, 170 s ó 180 s. Este máximo temprano en el área que se sospecha que se encuentra enferma es indicativo de un proceso inflamatorio. Para el diagnóstico de la artritis, en particular la artritis reumatoide, un máximo de fluorescencia en una o más de las articulaciones examinadas en un intervalo de 20 a 150 s, preferentemente 30 a 100 s después de la administración
 40 del pigmento es indicativo de enfermedad, mientras que un máximo posterior es indicativo de un sujeto sano. Además, la fluorescencia máxima observada en áreas enfermas típicamente es superior a la fluorescencia máxima observada en las mismas áreas no afectadas; por consiguiente, un nivel de fluorescencia reducido en cualquier instante temporal posterior a la administración del pigmento indocarbocianina también puede ser indicativo de enfermedad. A este respecto, un nivel reducido es un nivel que es por lo menos 70%, preferentemente 60%, más preferentemente 50% o menos del nivel observado en áreas enfermas. El experto en la materia podrá, basándose en la enseñanza de la presente memoria, establecer intervalos de tiempo apropiados en los que la detección de un máximo de fluorescencia será indicativa de una enfermedad.
- 45 50
- 55 En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la fluorescencia en la región del cuerpo se detecta en cada instante temporal en forma de una imagen y/o mediante barrido de la región del cuerpo. En el caso de que se detecte una imagen completa o parcial de la región corporal, resulta preferido utilizar una cámara con este propósito. Son conocidas en la técnica cámaras adecuadas y comprenden, por ejemplo, cámaras CCD y CMOS. En el caso de que se registre una imagen de mayor tamaño de la región del cuerpo que debe diagnosticarse para la presencia de una enfermedad inflamatoria, resulta posible definir determinadas subregiones dentro de dicha
 60 imagen, las cuales se utilizarán para determinar la farmacocinética del pigmento respectivo. Por ejemplo, al diagnosticar enfermedades inflamatorias que es conocido que afectan principalmente a las articulaciones, el campo de visión de la imagen de la parte corporal registrada habitualmente comprenderá áreas que es conocido que no resultan afectadas por la enfermedad inflamatoria. Se definirán a continuación una o más subregiones del campo de visión en aquellas áreas en las que, por ejemplo, se localizan las articulaciones.
- 65

La distribución y/o retención del pigmento fluorescente en el tiempo permite identificar áreas de inflamación, en particular de artritis reumatoide. Debido a que la distribución y/o retención alterada del pigmento administrado indicativo de inflamación sólo es un fenómeno transitorio de vida relativamente corta, en una forma de realización preferida del método de la presente invención la fluorescencia se detecta a intervalos de 15 s o menos, 10 s o menos, 9 s o menos, 8 s o menos, 7 s o menos, 6 s o menos, 5 s o menos, 4 s o menos ó 3 s o menos, 2 s o menos ó 1 s o menos.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, está previsto un estándar fluorescente sobre o en las proximidades a la región corporal de la que se obtiene una imagen, con el fin de normalizar la fluorescencia medida. Preferentemente, dicho estándar fluorescente es una estructura, por ejemplo un disco de plástico, en el que el pigmento NIR respectivo utilizado en el examen se encuentra inmovilizado.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención se utiliza un programa informático para determinar un patrón de resolución temporal de circulación, preferentemente un patrón de la circulación sanguínea dentro de la región corporal que debe examinarse. Con este fin, se captan imágenes en múltiples instantes temporales. La expresión "múltiples instantes temporales" tal como se utiliza en la presente invención se refiere a por lo menos 2 instantes temporales, es decir por lo menos dos imágenes, preferentemente por lo menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 instantes temporales, es decir imágenes, que preferentemente se obtienen en los intervalos preferidos anteriormente indicados.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención el patrón de circulación sanguínea en un paciente que se sospecha que presenta artritis se compara con el patrón de circulación sanguínea en un paciente sano y en el que las alteraciones del patrón de circulación sanguínea son indicativas de artritis. En este sentido, la alteración del patrón de circulación sanguínea comprende tiempos de residencia prolongados de los pigmentos NIR, cambios en los patrones de flujo o una distribución temporal alterada.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la región del cuerpo se selecciona de entre mano, pie, rodilla, codo y hombro.

En el método de la presente invención un incremento de la fluorescencia en las articulaciones es indicativo de artritis, por ejemplo de artritis reumatoide. Dicho incremento se detecta en menos de 300 s, en menos de 290, 280, 270, 260, 250, 240, 230, 220, 210, 200, 190, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 90, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30 ó menos de 25 s tras la administración de ICG.

También se describe un dispositivo para llevar a cabo un método de la presente invención, en el que la fuente de luz es un láser, preferentemente un láser pulsado o continuo. Los láseres adecuados son conocidos de la técnica y comprenden, entre otros, los láseres de Nd-YAG. El láser preferentemente se conecta a una fibra, que puede servir a por lo menos dos propósitos, en primer lugar dirigir la luz láser hacia el área de examen y, en segundo lugar, proporcionar una mezcla de modos de la luz utilizada para la iluminación. El extremo del láser puede estar provisto de una óptica adecuada para iluminar homogéneamente el área de examen. Preferentemente, dicha óptica presenta un conjunto de lentes o es una esfera dispersante conectada al extremo de la fibra. En este último caso, la fibra preferentemente está provista de un reflector para evitar la iluminación del exterior del área de examen.

En una forma de realización preferida del dispositivo para llevar a cabo el método de la presente invención, la fluorescencia se detecta en un ensamblado de transmisión y/o reflexión.

En una forma de realización preferida del dispositivo para llevar a cabo el método de la presente invención, el dispositivo comprende un filtro de paso largo, que suprime la longitud de onda de excitación en por lo menos DO 7.

En una forma de realización preferida del dispositivo para llevar a cabo el método de la presente invención, el dispositivo es una cámara, en el caso de que un plano de la región corporal se irradie o el dispositivo presente un detector puntual de barrido, en el caso de que se irradian localizaciones puntuales de la región corporal.

En una forma de realización preferida del dispositivo para llevar a cabo el método de la presente invención, el cambio del pigmento indocarbocianina, en particular el pigmento indotricarbocianina, se produce dentro de la región corporal.

La presente invención se refiere particularmente a la utilización de ICG para la detección de la artritis reumatoide. Asimismo, se refiere a un método para la detección de un pigmento NIR, preferentemente inyectado en el cuerpo con una inyección de bolo, mediante excitación óptica y detección de la fluorescencia emitida. Este método se caracteriza adicionalmente porque se administra ICG, se irradia luz de una longitud de onda adecuada sobre el cuerpo y en el interior del mismo, y se mide la variación, dependiente de la localización, de la intensidad de la fluorescencia. La presente invención se refiere además a un método caracterizado porque la luz de excitación se emite en forma de un pulso o en forma de una radiación continua.

Un aspecto adicional es un método caracterizado porque la distribución de la fluorescencia emitida se ilustra mediante la captación rápida de fotogramas de una serie de fotografías. Los cambios del patrón de flujo sanguíneo debidos a la enfermedad se visualizan a partir de, por ejemplo, una distribución temporal alterada o, por ejemplo, a partir de un tiempo de alojamiento prolongado del pigmento en la región corporal respectiva, por ejemplo los dedos de una mano. Un método estándar para detectar enfermedades reumatoides inflamatorias mediante la inyección de un bolo de agentes de contraste es la tomografía de resonancia nuclear con gadolinio-ácido dietilentiainapentaacético (Gd-GTPA). Un método conocido adicional es la tomografía de emisión de positrones (PET), en la que se utilizan isótopos radioactivos como agentes de contraste. Debido a las necesidades de espacio y a los costes asociados a ambos métodos, no pueden utilizarse para el cribado general de la población para permitir una detección precoz de las enfermedades inflamatorias. En particular estadios tempranos de la artritis reumatoide. Sin embargo, pueden realizarse métodos ópticos tales como la formación de imágenes de NIR con dispositivos compactos comparativamente económicos. Una ventaja de la determinación de la fluorescencia es que el pigmento fluorescente puede detectarse en el infrarrojo cercano (NIR) prácticamente sin ruido de fondo a partir del tejido, debido a que el tejido biológico emite un nivel de fluorescencia bajo o nulo dentro de la longitud de onda a la que emite fluorescencia el pigmento indocarbocianina, preferentemente las indotricarbocianinas, en particular el ICG. Las luces de fluorescencia de excitación y resultante se dispersan mucho en el tejido y, de esta manera, únicamente pueden visualizarse alteraciones próximas a la superficie, es decir, a una profundidad no superior a 10 cm. De esta manera, para obtener una imagen de enfermedades inflamatorias en áreas menos accesibles, se contempla que puedan utilizarse dispositivos endoscópicos o similares en el contexto del método de la presente invención. El aparato ilustrado en la figura 1 puede utilizarse para visualizar una inyección de bolo del pigmento que ha sido inyectado en la vena axilar. El pigmento fluorescente utilizado es el ICG, que presenta un máximo de absorción a 780 nm y un máximo de fluorescencia en 820 nm.

La presente solicitud también describe un dispositivo para registrar una radiación fluorescente, caracterizado porque se utiliza una fuente de radiación óptica, preferentemente un láser, que funciona en modo pulsado o continuo, y porque la detección se lleva a cabo a una segunda frecuencia diferente de la frecuencia de la longitud de onda de excitación. En este aspecto, resulta preferido que la detección de la fluorescencia se lleve a cabo en un dispositivo de reflexión o transmisión. Con el fin de suprimir la longitud de onda de excitación, se utiliza un filtro de paso largo que permite suprimir la longitud de onda de excitación preferentemente en una $DO > 7$. El dispositivo según la invención se caracteriza además porque se la detección de la radiación fluorescente se lleva a cabo con una cámara sensible durante la irradiación de un área superficial más amplia o con un sistema de barrido en aplicaciones en las que se utilice la excitación y detección de localizaciones puntuales. Además, el dispositivo se caracteriza porque se utiliza un material de estado sólido de fluorescencia conocida, por ejemplo un disco de plástico que comprende el pigmento NIR respectivo, con el fin de normalizar la radiación de fluorescencia. Finalmente, el dispositivo se caracteriza porque proporciona un programa informático que permite el análisis de los fotogramas con el fin de proporcionar una presentación normalizada de la dinámica del pigmento NIR dentro de las regiones determinadas de interés (RDIs).

Breve descripción de las figuras

Figura 1 El panel A es una imagen fotográfica del aparato de detección de fluorescencia de la presente invención, que incluye la cámara CCD, la fibra y el soporte para la mano. El panel B ilustra esquemáticamente el diseño del aparato de detección de fluorescencia de la presente invención. "OPO" se refiere a oscilador paramétrico óptico; "SHG" representa la generación de segundo armónico; "THG" representa la generación de tercero armónico y "Nd-YAG" representa láser de estado sólido pulsado.

Figura 2 Ilustra las imágenes de fluorescencia del dorso de la mano de un sujeto sano en diferentes instantes temporales. El panel A muestra una imagen obtenida antes de la administración del pigmento. El panel B muestra una imagen 47 segundos después de la administración de 0,1 mg/kg de ICG K.G. El panel C muestra una imagen 1.040 segundos después de la administración del ICG. El panel D muestra una imagen 104 segundos después de la administración del ICG. La fluorescencia es detectable en primer lugar en las puntas de los dedos.

Figura 3 Ilustra las imágenes de fluorescencia del dorso de la mano de un paciente con artritis reumatoide en diferentes instantes temporales. El panel A muestra una imagen obtenida antes de la administración del pigmento. El panel B muestra una imagen 45 segundos después de la administración de 0,1 mg/kg de ICG K.G. El panel C muestra una imagen 900 segundos después de la administración del ICG. El panel D muestra una imagen 102 segundos después de la administración del ICG. La fluorescencia es detectable en primer lugar en las articulaciones del dedo.

Ejemplos

1. Excitación

La excitación de los pigmentos NIR se llevó a cabo con ayuda de un oscilador paramétrico óptico bombeado con el armónico 3. ($\lambda=350$ nm, $E_{\text{pulso}}=100$ mJ) de un láser de Nd:YAG. La longitud de onda de la radiación del láser del

sistema es variable y puede modificarse entre 415 nm y 2,2 μm . La energía del pulso es 5 mJ y la duración del mismo es 3 ns. El haz del láser se acopla a una fibra con un diámetro de 600 μm . Debido a una fuerte curvatura en la fibra, se consigue una buena mezcla de modos, conduciendo a una radiación homogénea. Dentro del área de la formación de imagen de la cámara de CCD intensificada se ilumina un área circular de aproximadamente 220 mm de diámetro de manera prácticamente homogénea (corresponde a una radiación de 16 $\mu\text{J}/\text{cm}^2$). La iluminación prácticamente homogénea se consigue mediante una pequeña esfera dispersante al final de la fibra que se encuentra localizada dentro de un reflector. La longitud de onda de excitación puede seleccionarse dependiendo de las propiedades fotofísicas del pigmento utilizado respectivamente.

2. Formación de fluorescencia

Se utilizan un filtro de paso largo de vidrio ($\lambda_{50\%}=780$ nm (vidrio de color de 2 mm) y dos filtros de paso largo de interferencia $\lambda_{50\%}=800$ nm) para suprimir la longitud de onda de excitación. La fluorescencia se detecta en un fotocátodo de una cámara CCD intensificada enfriada por agua/Peltier con una lente estándar de longitud focal 35 mm ($f=1,4$). Para suprimir la luz ambiental se sincronizó la apertura de la cámara iCCD con los pulsos de láser. La señal de apertura de la cámara iCCD era un pulso eléctrico de 10 ns de duración. El tiempo de exposición fue de 0,04 s, producto de la acumulación de 40 pulsos. De acuerdo con lo expuesto anteriormente, en un periodo de 3 s resultó posible captar 300 imágenes. Se evitó una sobreexposición, es decir, la sobremodulación de la señal, mediante la selección de la apertura apropiada de la lente. Para el pigmento fluorescente preferido, ICG, se detectó la fluorescencia emitida a $\lambda_{\text{obs}} \geq 800$ nm.

3. Aplicación de un pigmento NIR en un paciente

Como referencia durante el examen se proporciona un disco de plástico de 2 mm de grosor que comprende perlas de vidrio incluidas en el mismo, las cuales comprenden el pigmento NIR utilizado respectivamente, por ejemplo ICG. Se sitúa este disco en un borde del campo de visión de la cámara iCCD, aunque procurando mantener una distancia a la región del cuerpo a examen, por ejemplo en el caso de una mano, resulta apropiada una distancia de aproximadamente 2 cm. La mano que debía examinarse se sitúa con el dorso de la misma apuntando hacia la cámara sobre un soporte preformado, que separa ópticamente las manos para evitar el cruce de canales de fluorescencia. Para llevar a cabo la medición, se disolvieron aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal del pigmento disuelto en la vena del brazo. Se captaron fotogramas con la cámara iCCD a intervalos de 3 segundos y se llevó a cabo la inyección del pigmento NIR manualmente mediante una inyección de bolo 6 segundos después de iniciar la captación de fotogramas, es decir, el bolo se inyectó conjuntamente con el tercer fotograma. Los dos primeros fotogramas sirvieron para determinar la fluorescencia de fondo.

Se caracterizó el patrón de fluorescencia de los voluntarios sanos como un fuerte incremento de la fluorescencia aproximadamente 40 segundos después de la inyección de un bolo de 0,1 mg/kg peso corporal, en las puntas de los dedos y posteriormente en las articulaciones distal y proximal (ver la fig. 2). Esta secuencia se encontraba modificada en las extremidades inflamadas (ver la fig. 3).

4. Procesamiento de los datos y análisis

Los datos detectados (imágenes) se registraron en un ordenador y se guardaron en el disco. Para el análisis de la intensidad de fluorescencia de las articulaciones, se definieron las denominadas "regiones de interés" (RDI) dentro del área de las articulaciones interfalángicas distales (DIP), de las articulaciones interfalángicas proximales (PIP) y de las articulaciones metacarpofalángicas (MP), así como dentro del área de referencia. Los valores medios de las RDIs de las articulaciones durante el examen sirvieron de intensidades de fluorescencia (IF media de las articulaciones de tobillo). Las intensidades de fluorescencia se normalizaron respecto a la intensidad de fluorescencia de la referencia (IF media de la referencia) (IFN).

$$\text{IFN} = \text{IF articulación tobillo} / \text{IF referencia}$$

en donde IFN = intensidad de fluorescencia normalizada

IF articulación tobillo = intensidad de fluorescencia media de las articulaciones de tobillo, y

IF referencia = intensidad de fluorescencia media de la referencia.

Para el análisis estadístico, se recogieron los IFN en instantes temporales definidos tras la administración del pigmento NIR, por ejemplo ICG, y se determinaron los datos para todas las articulaciones de la mano. De esta manera se determinó el curso temporal de la intensidad de fluorescencia para las articulaciones individuales. La comparación entre las articulaciones de un dedo de la mano muestra diferencias características invasivas, es decir, en la distribución temporal, de las propiedades del pigmento en pacientes que presentan enfermedades reumatóides inflamatorias (ver fig. 3). En sujetos sanos, el agente de contraste es visible en primer lugar en las puntas de los dedos (ver la fig. 2). En los pacientes reumáticos, las articulaciones que resultan visibles en primer lugar son las

articulaciones alteradas por inflamación (ver la fig. 3). El paciente presentaba artritis dentro del área de MCP II, III de PIP II, III y V, así como la implicación del hueso carpiano, no implicando las articulaciones DIP. Considerando todos los datos, éste es un ejemplo típico de una artritis reumatoide.

5

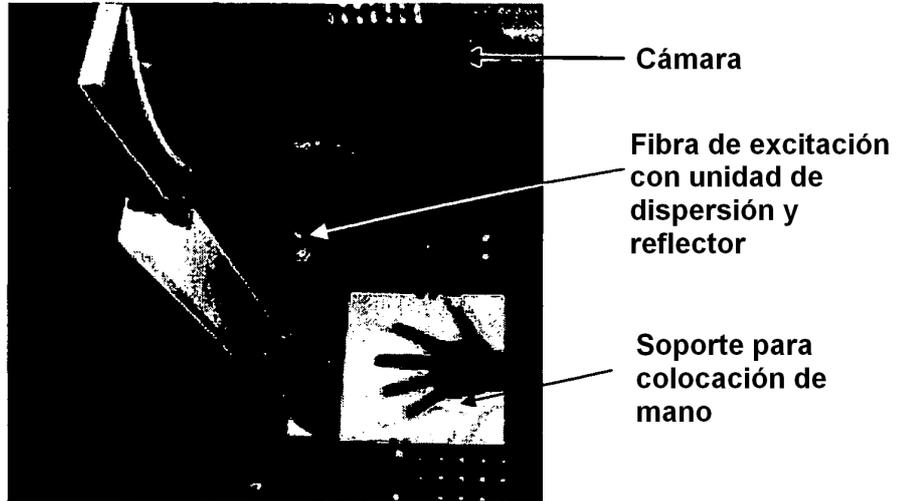
REIVINDICACIONES

1. Verde de indocianina para la utilización en un método de diagnóstico de la artritis, comprendiendo el método las etapas siguientes, en las que:
- 5 (a) debe administrarse un verde de indocianina (ICG) preferentemente mediante inyección de bolo,
- (b) una región del cuerpo debe exponerse a luz de una longitud de onda que puede excitar el verde de indocianina,
- 10 (c) la fluorescencia en la región del cuerpo debe medirse en múltiples instantes temporales, en el que un incremento de la fluorescencia en las articulaciones es indicativo de artritis y en el que dicho incremento se detecta en menos de 300 s después de la administración del verde de indocianina, y en el que el máximo de fluorescencia en las articulaciones artríticas se alcanza dentro de un tiempo de 180 s, y en el que la fluorescencia máxima en las articulaciones enfermas es superior a la fluorescencia máxima en las articulaciones no afectadas y/o en el que el
- 15 máximo de fluorescencia en las articulaciones artríticas es más prematuro que en articulaciones sanas.
2. Verde de indocianina para la utilización en un método según la reivindicación 1, en el que la artritis se selecciona de entre el grupo constituido por artritis reumatoide, osteoartritis, artritis soriásica, artritis traumática, artritis bacteriana, artritis posinfecciosa, enfermedad de Lyme (borreliosis), espondilitis anquilosante y artritis por rubéola.
- 20 3. Verde de indocianina para la utilización en un método de diagnóstico de la artritis reumatoide según la reivindicación 1 ó 2, en el que la fluorescencia es detectable en primer lugar en las articulaciones de los dedos en un paciente con artritis reumatoide y en el que la fluorescencia es detectable en primer lugar en las puntas de los dedos en una persona sana.
- 25 4. Verde de indocianina para la utilización en un método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el diagnóstico se administra en una cantidad de 10 mg/kg de peso corporal o menos, preferentemente de 1 mg/kg de peso corporal o menos, más preferentemente en una cantidad de 0,1 mg/kg de peso corporal.
- 30 5. Verde de indocianina para la utilización en un método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el diagnóstico se inyecta en la región del cuerpo que debe diagnosticarse o en un vaso sanguíneo o en el sistema linfático, que proporciona sangre o linfa a la región del cuerpo que debe diagnosticarse.
- 35 6. Verde de indocianina para la utilización en un método según la reivindicación 5, en el que el diagnóstico se inyecta en la vena del brazo.
7. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 6, en el que la luz en la etapa (b) se aplica en continuo modulada en amplitud o pulsada.
- 40 8. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 7, en el que la luz presenta una longitud de onda de entre 600 nm y 2,2 μ m.
- 45 9. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 8, en el que la fluorescencia se mide en múltiples instantes temporales por lo menos durante 20 s, preferentemente durante por lo menos 30 s, 40 s, 50 s, 60 s ó 120 s después de la administración del verde de indocianina.
- 50 10. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 9, en el que la fluorescencia en la región del cuerpo se detecta en cada instante temporal como una imagen y/o mediante barrido de la región del cuerpo.
- 55 11. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 10, en el que la fluorescencia se detecta a intervalos de 5 s o menos.
12. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 11, en el que está previsto un estándar fluorescente en las proximidades a la región corporal de la que se forma una imagen, con el fin de normalizar la fluorescencia medida.
- 60 13. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 12, en el que se utiliza un programa informático para determinar un patrón con resolución temporal de la circulación, preferentemente un patrón de la circulación sanguínea dentro de una región del cuerpo.
- 65 14. Verde de indocianina para la utilización en un método según la reivindicación 13, en el que el patrón de circulación sanguínea en un paciente que se sospecha que presenta artritis se compara con el patrón de circulación sanguínea en un paciente sano y en el que las alteraciones del patrón de circulación sanguínea son indicativas de artritis.

15. Verde de indocianina para la utilización en un método según las reivindicaciones 1 a 14, en el que la región del cuerpo se selecciona de entre mano, pie, rodilla, codo y hombro.

Fig. 1

A



B

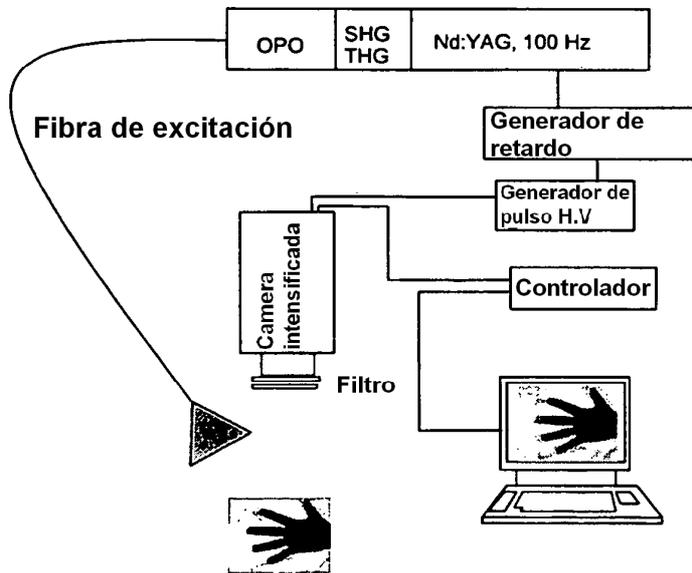


Fig. 2

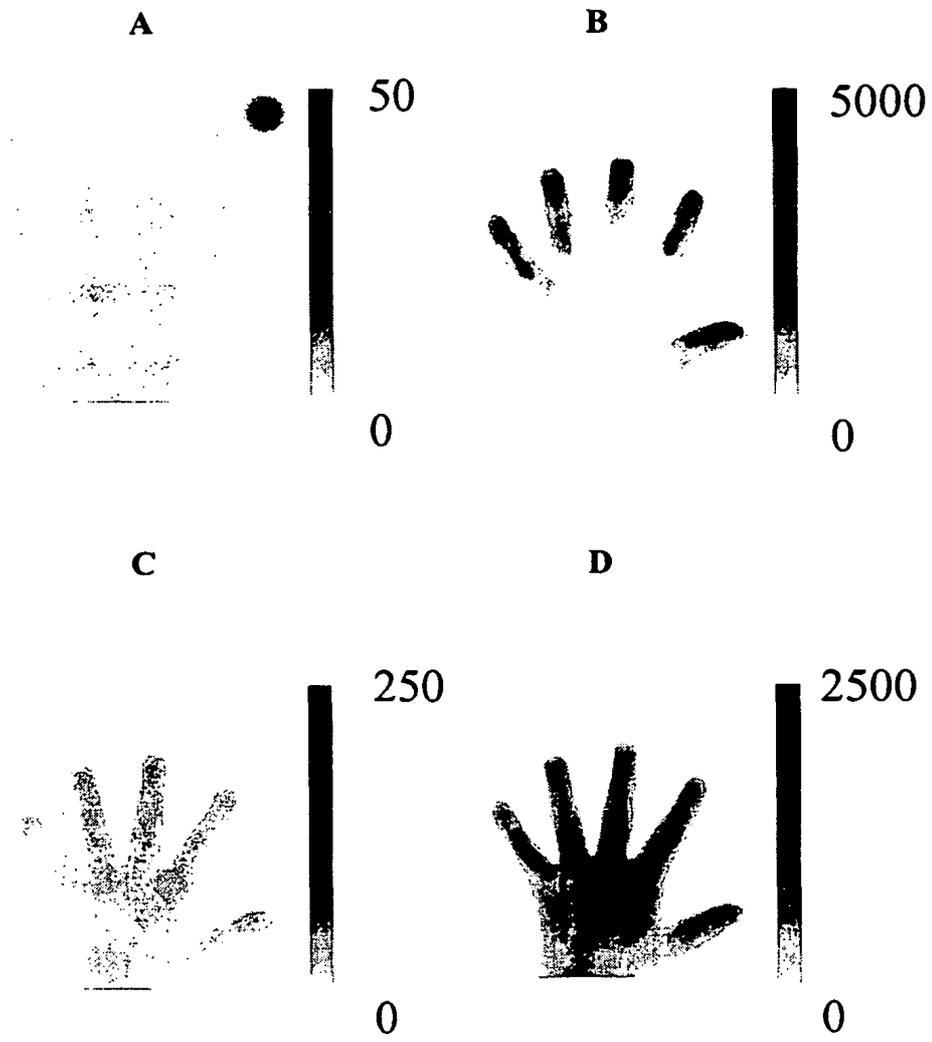


Fig. 3

