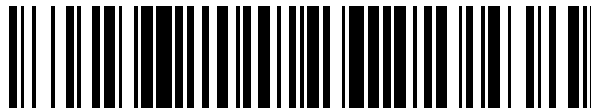


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 455**

51 Int. Cl.:

A61K 49/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.01.2008 E 08701869 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.11.2014 EP 2117608**

54 Título: **Formación de imágenes por resonancia magnética**

30 Prioridad:

18.01.2007 GB 0700999

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.01.2015

73 Titular/es:

**JYNGE, PER (25.0%)
Bispegata 3E
2315 Hamar, NO;
SKJOLD, ARNE M. (25.0%);
LARSSON, HENRIK W. (25.0%) y
BRUOK, HEIDI (25.0%)**

72 Inventor/es:

**JYNGE, PER;
SKJOLD, ARNE;
LARSSON, HENRIK W. y
BRUOK, HEIDI**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 526 455 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 por resonancia magnética

5 La presente invención se refiere a formación de imágenes por resonancia magnética (MRI) y en particular a agentes de contraste de manganeso para usar en métodos de determinación de viabilidad/función tisular a un nivel clasificado y detectar así la remodelación cardíaca.

La cardiopatía isquémica (IHD) causada por la aterosclerosis, trombosis y/u oclusión de arterias sigue explicando la mayoría de las muertes en los países occidentales. El suceso potencialmente mortal más común asociado a la IHD es el infarto agudo de miocardio (AMI), arritmias e insuficiencia cardíaca durante o después del AMI.

10 En los últimos años, el tratamiento del AMI ha mejorado en gran medida y muchos individuos sobreviven ahora a un AMI debido a la disponibilidad de revascularización rápida con fármacos y/o intervención percutánea. Sin embargo, desgraciadamente un número significativo de individuos que reciben tal tratamiento, así como individuos incluso con pequeños infartos, desarrollan posteriormente remodelación del ventrículo izquierdo e insuficiencia cardíaca que tiene un alto nivel de mortalidad y morbosidad. La remodelación abarca cambios estructurales, metabólicos y funcionales en la región infartada (ahora cicatrizada), en la zona limítrofe vecina y en diferentes grados por todo el
15 ventrículo. Estos cambios heterogéneos predisponen a un individuo tanto a arritmias que amenazan la vida como al fallo de la bomba cardíaca, es decir, insuficiencia cardíaca. Por tanto hay una necesidad de métodos para la identificación y seguimiento de la remodelación del miocardio de manera que la acción necesaria, ya sea farmacológica o quirúrgica, se pueda realizar antes de que ocurra un suceso fatal.

20 Una de las principales dificultades que hay que superar en el desarrollo de métodos para detectar la remodelación del miocardio es la diferenciación entre la perfusión miocárdica y viabilidad miocárdica. A nivel celular, la viabilidad requiere que el flujo sanguíneo miocárdico sea suficiente para mantener el metabolismo oxidativo no impedido, por tanto la viabilidad está intrínsecamente ligada a la perfusión. Sin embargo, a la inversa, la perfusión no siempre indica viabilidad porque las arterias coronarias se reabren espontáneamente o mediante tratamiento de revascularización puede suministrar flujo sanguíneo a un área de tejido no viable. Por tanto los métodos para
25 detectar la perfusión son de utilidad limitada en la identificación o seguimiento de la remodelación cardíaca.

La perfusión se puede valorar, por ejemplo, por MRI con seguimiento rápido del bolo de un agente de contraste inyectado por vía intravenosa que contiene Gd extracelular, tal como Gd-DTPA o Gd-DTPA-BMA. Sin embargo, la determinación de la viabilidad depende de la acumulación del agente de contraste basado en Gd en el tejido infartado y se puede ver solamente esperando 10-20 minutos tras la administración inicial de agente de contraste y repitiendo la MRI. Un gran inconveniente de esta técnica es que se visualiza tejido muerto o que no funciona. Por tanto la información sobre miocardio viable solo se obtiene indirectamente.

35 La MRI intensificada por manganeso es otra técnica que se puede usar para visualizar el miocardio. Esta técnica está basada en el hecho de que los iones de manganeso entran en las células a través de canales de Ca^{2+} y por tanto se acumulan en las células vivas. El manganeso acumulado conduce a mayor intensidad de señal (SI) en las imágenes. Lo que es más importante, el manganeso acumulado conduce también a una reducción en el tiempo de relajación longitudinal (T_1) y en consecuencia a un aumento de la velocidad de relajación longitudinal, R_1 ($R_1=1/T_1$) de estas células frente a las células que carecen de manganeso. Un factor que contribuye al aumento de R_1 por el manganeso es la fuerte unión a proteínas. Por tanto se puede captar por MRI una imagen de tejido vivo frente a tejido necrótico.

40 El documento WO99/01162, por ejemplo, describe el uso de diversos complejos de manganeso para detectar isquemia miocárdica, y en particular para distinguir por MRI tejido miocárdico viable de tejido infartado. Para identificar el tejido viable se administra un complejo de manganeso a un órgano y, en un periodo de tiempo de 3 a 6 horas, se visualiza el órgano por MRI. Las células viables absorben el complejo de manganeso, mientras que se formula la hipótesis de que en el tejido infartado el manganeso se distribuye rápidamente a través del mismo por
45 perfusión, pero no es retenido por las células. El retraso de 3 a 6 horas después de la administración para comenzar la formación de imágenes está diseñado para garantizar que el manganeso se ha eliminado efectivamente del tejido no viable y por tanto se puede detectar un contraste con las células viables.

El método descrito en el documento WO99/001162 permite, por tanto, distinguir tejido viable e infartado. Sin embargo, este método requiere un periodo de espera de 3 a 6 horas después de la administración del agente de
50 contraste y el comienzo de la formación de imágenes y por tanto es costoso en términos de tiempo del paciente y de atención sanitaria. Además no hay medios previstos para la evaluación de diferentes niveles de viabilidad o función. En otras palabras, por los métodos del documento WO99/001162 el tejido se puede clasificar solamente como viable o no viable, es decir, como un "sí" o "no" y no como un fenómeno de viabilidad graduada. El documento US2002/0090341 tiene una descripción similar relacionada.

55 El documento 2006/028379 describe un método de resonancia magnética para evaluar la viabilidad miocárdica en donde las relaciones de T_1 y T_2 y difusión del agua para compartimientos de agua intracelular y extracelular se detectan por separado. Este método es esencialmente un medio mejorado para realizar métodos conocidos de

evaluación de la viabilidad (por ejemplo como se describe en el documento WO 99/01162). Nuevamente los resultados ofrecen una simple viabilidad de sí/no y no un fenómeno cuantificable de viabilidad graduada.

5 Hay una clara distinción entre viabilidad simple, en donde se ofrece una conclusión básica de sí/no, y viabilidad graduada conducente a un diagnóstico de remodelación cardíaca como conceptos clínicos. La viabilidad simple en la enfermedad isquémica del corazón significa la capacidad del tejido miocárdico para sobrevivir, es decir vivir o morir, durante un episodio de infarto agudo de miocardio amenazante (AMI).

En cambio, la remodelación cardíaca es una descripción de cambios diferenciados y compensatorios que tienen lugar a lo largo de toda la pared del ventrículo izquierdo (y a través de todo el corazón) después de un AMI, es decir, cambios compensatorios debidos a una pérdida local de tejido viable y por tanto de función local.

10 El corazón enfermo después de un AMI se caracteriza por heterogeneidad con una mezcla de: células muertas, células vivas pero que funcionan mal (sub-reguladas), células normales, y células supernormales para compensar la pérdida funcional o deterioro de otras. Por lo general, la región más remota (opuesta en un corte transaxial de los ejemplos de patente que siguen) se vuelve más gruesa de lo normal (hipertrofia excéntrica) y se contrae más fuertemente. Esto representa la verdadera remodelación, una situación o enfermedad que no garantiza la función

15 cardíaca normal pero significa heterogeneidad y anuncia la aparición de insuficiencia cardíaca con pérdida gradual de una función de bomba integrada. Además, la remodelación se predispone también a cambios en la electrofisiología del corazón y pueden correlacionarse con arritmias letales.

Sin desear limitarse por la teoría, se cree que la remodelación causada por un AMI es un proceso que tiene lugar en todo el ventrículo, es decir, también fuera del infarto y que incluye tanto zonas intermedias como remotas.

20 Un paciente que muestre un gradiente de R_1 relativamente grande entre las zonas de infarto y peri-infarto y la zona remota poco después del AMI estaría en alto riesgo de desarrollar insuficiencia cardíaca congestiva que amenaza la vida en una etapa posterior. Tal paciente debe ponerse en tratamiento farmacológico agresivo. Exámenes repetidos con, por ejemplo, evaluaciones de intensificación con Mn y R_1 son por tanto una nueva modalidad para controlar el proceso de remodelación. Tal método debe resolver dos problemas médicos importantes, a saber, predecir quién

25 desarrollará insuficiencia cardíaca congestiva o no; y quién responderá al tratamiento por fármacos o revascularización (PCI, cirugía de baipás coronario).

Para facilitar la remodelación cardíaca hay una necesidad de técnicas que permitan que la viabilidad/función miocárdica se determine más rápidamente de modo que los cambios en ella se puedan monitorizar a lo largo del tiempo. Además, hay una necesidad de técnicas que puedan distinguir diferentes niveles de viabilidad/función y no

30 ofrecer solamente la conclusión de sí/no ofrecida por la técnica anterior. Sorprendentemente se ha descubierto ahora que esto se puede lograr mediante el uso de agentes de contraste basados en manganeso en un régimen particular de MRI.

El quelato de manganeso (II) del ácido N,N'-bis(piridoxal-5-fosfato)-etilendiamino-N,N'-diacético (MnDPDP) es un agente de contraste muy conocido para usar en MRI. El MnDPDP administrado al órgano se metaboliza en el

35 plasma de dos maneras como se muestra en la Figura 1. En una primera ruta, el MnDPDP sufre transmetalación con Zn en el plasma para liberar iones Mn^{2+} que son absorbidos rápidamente por las células a través de canales de Ca^{2+} . En una segunda ruta, se cree que el MnDPDP sufre degradación enzimática por fosfatasas plasmáticas a su derivado monofosfato, MnDPMP, y a su derivado no fosforilado MnPLED. Estos biomarcadores pueden entonces entrar en las células como moléculas intactas y/o sufrir transmetalación para liberar iones Mn^{2+} que pueden entrar en

40 las células a través de canales de Ca^{2+} como se ha descrito anteriormente.

La velocidad de acumulación de células de miocardio sanas se estudió en J. Magnetic Resonance Imaging (2006, 24:1047-1055). En este estudio, individuos sanos se sometieron a infusión durante 5 ó 30 minutos con MnDPDP y la acumulación o concentración de manganeso en las células se siguió por MRI. El estudio revela que la infusión de 5

45 minutos de MnDPDP produce una curva bifásica de concentración de manganeso en tejido frente al tiempo en donde hay un primer aumento, rápido de la concentración de Mn^{2+} y un posterior aumento más lento de la concentración de Mn^{2+} , mientras que con la infusión de 30 minutos la concentración de Mn^{2+} aumentó constantemente. La cantidad total de manganeso acumulado fue, sin embargo, constante. Las gráficas se muestran en la Figura 2.

La presente invención está basada en el hallazgo sorprendente de que, cuando un agente de contraste de manganeso tal como MnDPDP se administra a un individuo enfermo, el tejido no viable con proteínas cicatriciales (por ejemplo colágeno) absorbe o enlaza rápidamente el Mn^{2+} durante un corto tiempo tras la infusión de MnDPDP (como la fase inicial de la curva bifásica descrita anteriormente), pero a partir de entonces cesa la absorción. Por tanto las células viables se pueden diferenciar de las células no viables por la presencia de manganeso en ellas. De modo más significativo, la cantidad de manganeso intracelular proporciona una medida cuantitativa de la viabilidad,

55 es decir, de la función. Como la cantidad de manganeso presente en una célula se demuestra que es esencialmente proporcional a los valores de intensidad de señal (SI) y de R_1 determinados por MRI, las medidas de R_1 se pueden usar para proporcionar una medida cuantitativa de manganeso intracelular y viabilidad/función tisular. Esto es particularmente útil para detectar la remodelación cardíaca.

Por tanto, la invención proporciona un agente de contraste de manganeso, o una sal cuya farmacéuticamente aceptable, para usar en un método de detección de remodelación cardíaca en un individuo, en donde dicho método comprende:

5 (i) administrar un agente de contraste de manganeso, o una sal cuya farmacéuticamente aceptable, a dicho individuo; y

(ii) someter dicho individuo a un procedimiento de MRI con el cual se determina la viabilidad/función tisular miocárdica mediante la determinación de la cantidad de manganeso intracelular en el miocardio de dicho individuo, en donde la cantidad de manganeso intracelular en el miocardio de dicho individuo se evalúa por la velocidad de relajación longitudinal, R_1 , o el tiempo de relajación longitudinal, T_1 , en todo el susodicho miocardio; y opcionalmente

10 (iii) repetir las etapas (i) y (ii) y evaluar si se han producido cambios en la viabilidad/función tisular miocárdica.

La etapa (iii) se puede realizar opcionalmente tras un periodo de tratamiento (por ejemplo días, semanas, meses).

15 Por la expresión “determinar la cantidad de manganeso” se entiende que un valor en una escala cuantitativa o semi-cuantitativa (por ejemplo una escala cuantitativa) se atribuye a la cantidad de manganeso intracelular presente. En otras palabras, un valor en una escala graduada se atribuye a la cantidad de manganeso presente. Por tanto esta expresión no abarca determinaciones que producen simplemente una conclusión de presente o ausente. Por tanto el valor obtenido se puede correlacionar con la probabilidad de viabilidad/función tisular y por consiguiente con la presencia de remodelación cardíaca.

20 Por la expresión “viabilidad tisular” se entiende la probabilidad de que el tejido viva y funcione de manera normal. Por tanto, críticamente la expresión “viabilidad tisular” como se usa en la presente memoria no se corresponde a una simple conclusión de sí/no, sino más bien a una evaluación graduada de si el tejido en cuestión funcionará. Por tanto bajo un punto de vista alternativo la expresión “viabilidad tisular” se podría considerar que significa “función tisular”, es decir, la probabilidad de que el tejido viva y funcione de manera normal.

Por la expresión “remodelación cardíaca” se entiende los cambios en tamaño, forma, metabolismo y función del corazón después de la lesión, especialmente en el ventrículo izquierdo.

25 Por la expresión “agente de contraste de manganeso” se entiende en la presente memoria un agente que comprende al menos un átomo o ion de manganeso.

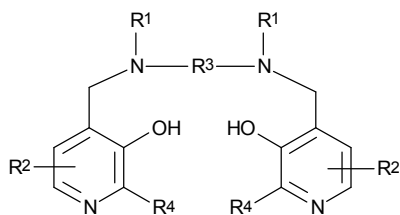
30 El uso de agentes de contraste de manganeso en MRI es muy conocido en la bibliografía de patentes y científica, por ejemplo como se describe en el documento WO99/01162, cuyos contenidos se incorporan aquí por referencia. Todos los agentes de contraste de manganeso como se describen en el mismo, y sus sales farmacéuticamente aceptables, son adecuados para usar en la invención descrita en la presente memoria.

El agente de contraste de manganeso puede estar en forma de un complejo iónico, o más preferiblemente no iónico. Especialmente preferidos en los usos y métodos de la invención son los complejos quelatos de manganeso, que pueden estar unidos a una o más moléculas portadoras.

35 Agentes de contraste particularmente preferidos son agentes de contraste de manganeso de liberación lenta. Estos agentes de contraste retienen el manganeso dentro de su estructura durante algún tiempo tras la administración *in vivo*, por ejemplo hasta que el agente de contraste ha alcanzado el sistema intravascular. Complejos quelatos preferidos liberadores de ion manganeso son los que se disocian *in vivo* para proporcionar una liberación de iones de manganeso al pasar a través del corazón. Convenientemente, el quelato de manganeso puede tener un valor de K_a en el intervalo de 10^7 a 10^{25} , más preferiblemente 10^9 a 10^{24} , aún más preferiblemente 10^{10} a 10^{23} , por ejemplo 10^{12} a 10^{22} .

Se ha propuesto una serie amplia de quelantes y quelantes unidos a macromoléculas adecuados para iones de manganeso. Agentes quelantes basados en dipiridoxilo se han descrito por ejemplo para usar como agentes de contraste para MRI. Los quelatos de manganeso (II) con agentes quelantes de dipiridoxilo son particularmente preferidos para los usos y métodos de la presente invención.

45 Los quelatos preferidos son quelatos de manganeso de un compuesto de la fórmula I y sus sales



(I)

(en donde en la fórmula I

cada R¹ representa independientemente hidrógeno o -CH₂COR⁵;R⁵ representa hidroxilo, opcionalmente alcoxilo hidroxilado, amino o alquilamido;cada R² representa independientemente un grupo XYR⁶;5 X representa un enlace, o un grupo alquileo u oxoalquileo (C₁-C₃) opcionalmente sustituido con un grupo R⁷;Y representa un enlace, un átomo de oxígeno o un grupo NR⁶;R⁶ es un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un grupo COOR⁸, un grupo OP(O)(OR⁸)R⁷, un grupo OP(O)(OM)R⁷ o un grupo alquilo, alquenido, cicloalquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de COOR⁸, CONR⁸, NR⁸, OR⁸, =NR⁸, =O, OP(O)(OR⁸)R⁷, OP(O)(OM)R⁷ y OSO₃M;10 R⁷ es OM, hidroxilo, un grupo alquilo o aminoalquilo opcionalmente hidroxilado, opcionalmente alcoxilado;R⁸ es un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo opcionalmente hidroxilado, opcionalmente alcoxilado;M es un átomo de hidrógeno o un equivalente de un catión fisiológicamente tolerable, por ejemplo un catión alcalino o alcalinotérreo (por ejemplo Na⁺), un ion amonio o un catión amínico orgánico tal como un ion meglumina;15 R³ representa un grupo alquileo(C₁-C₈), preferiblemente un grupo alquileo(C₁-C₆), por ejemplo un grupo alquileo(C₂-C₄), un grupo 1,2-cicloalquileo, o un grupo 1,2-arileno; ycada R⁴ representa independientemente hidrógeno o alquilo(C₁-C₃)).

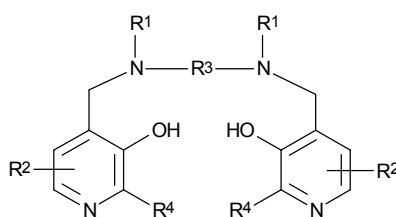
20 Como se usan en la presente memoria, los términos "alquilo" y "alquileo" incluyen hidrocarburos saturados e insaturados, tanto de cadena lineal como ramificada. El término "1,2-cicloalquileo" incluye grupos cicloalquileo tanto cis como trans y grupos cicloalquileo alquil-sustituidos que tienen de 5 a 8 átomos de carbono. El término "1,2-arileno" incluye grupos fenilo y naftilo y sus derivados alquil-sustituidos que tienen de 6 a 10 átomos de carbono.

A menos que se especifique de otro modo, cualquier resto alquilo, alquileo o alquenido puede contener convenientemente de 1 a 20, preferiblemente 1-8, más preferiblemente 1-6 y especialmente preferible 1-4 átomos de carbono.

25 Los restos cicloalquilo, arilo y aralquilo pueden contener convenientemente 3-18, preferiblemente 5-12 y especialmente preferible 5-8 átomos de anillos. Se prefieren restos arilo que comprenden grupos fenilo o naftilo. Como grupos aralquilo se prefieren fenil-alquilo(C₁-C₃), especialmente bencilo.

Cuando los grupos pueden estar sustituidos opcionalmente con grupos hidroxilo, esto puede ser monosustitución o sustituciones múltiples y, en el caso de sustituciones múltiples, sustituyentes alcoxilo pueden llevar sustituyentes alcoxilo y/o hidroxilo.

30 Quelatos particularmente preferidos son quelatos de manganeso de un compuesto de la fórmula II y sus sales,



(II)

(en donde en la fórmula II

cada R^1 representa independientemente hidrógeno o $-CH_2COR^5$;

R^5 representa hidroxilo, opcionalmente alcoxilo hidroxilado, amino o alquilamido;

- 5 cada R^2 representa independientemente un grupo alquilo (por ejemplo un grupo alquilo(C_1-C_6)) sustituido con uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, $COOR^8$, $CONR^8_2$, NR^8_2 , OR^8 , $=NR^8$, $=O$, $OP(O)(OR^8)R^7$, $OP(O)(OM)R^7$ y OSO_3M ;

R^7 es OM, hidroxilo, un grupo alquilo o aminoalquilo opcionalmente hidroxilado, opcionalmente alcoxilado;

R^8 es un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo opcionalmente hidroxilado, opcionalmente alcoxilado;

- 10 M es un átomo de hidrógeno o un equivalente de un catión fisiológicamente tolerable, por ejemplo un catión alcalino o alcalinotérreo (por ejemplo Na^+), un ion amonio o un catión amínico orgánico tal como un ion meglumina;

R^3 representa un grupo alquilenos(C_1-C_8), preferiblemente un grupo alquilenos(C_1-C_6), por ejemplo un grupo alquilenos(C_2-C_4); y

cada R^4 representa independientemente hidrógeno o alquilo(C_1-C_3)).

- 15 En la fórmula II, R^5 es preferiblemente hidroxilo. Preferiblemente cada grupo R^1 representa $-CH_2COR^5$ en el que R^5 es hidroxilo.

En otros compuestos preferidos de la fórmula II, R^3 es preferiblemente etileno (es decir, $-CH_2-CH_2-$).

En otros compuestos preferidos, cada R^4 es alquilo(C_1-C_3), especialmente metilo.

- 20 Los compuestos de la fórmula II pueden tener grupos R^2 iguales o diferentes en los dos anillos piridilo y éstos pueden estar unidos en las mismas o diferentes posiciones del anillo. Sin embargo, se prefiere especialmente que la sustitución sea en las posiciones 5 y 6, lo más especialmente en la posición 6, es decir, posición *para* con respecto al grupo hidroxilo. Se prefieren especialmente compuestos en los que los grupos R^2 son idénticos e idénticamente situados, por ejemplo 6,6'.

- 25 En los compuestos de la fórmula II, R^2 es preferiblemente un grupo alquilo(C_1-C_4), por ejemplo un grupo alquilo(C_1-C_2). Más preferiblemente, R^2 es C_1 . Sustituyentes preferidos en R^2 son hidroxilo, $OP(O)(OR^8)R^7$ y $OP(O)(OM)R^7$. R^7 es preferiblemente un grupo hidroxilo o OM. R^8 es preferiblemente hidrógeno.

Identities particularmente preferidas para el grupo R^2 incluyen grupos $CH_2OP(O)(OM)OM$, $CH_2OP(O)(OM)OH$, $CH_2OP(O)(OH)_2$, o CH_2OH .

- 30 Se prefieren particularmente compuestos de la fórmula II en los que R^3 es etileno y R^2 tiene cualquiera de las identities enumeradas anteriormente.

Especialmente preferido es el quelato de manganeso (II) del ácido N,N'-bis-(piridoxal-5-fosfato)-etilendiamino-N,N'-diacético (MnDPDP). También se conoce MnDPDP como N,N'-dipiridoxil-etilendiamino-N,N'-diacetato-5,5'-bi(fosfato) de manganeso (II) y como mangafodipir trisódico.

- 35 También se prefiere el quelato de manganeso (II) del ácido N,N'-dipiridoxil-etilendiamino-N,N'-diacético (MnPLED). También se conoce MnPLED como N,N'-dipiridoxil-etilendiamino-N,N'-diacetato de manganeso (II).

También se prefiere el quelato de manganeso (II) del ácido N-piridoxil, N'-(piridoxil-5-fosfato)-etilendiamino-N,N'-diacético (MnDPMP). También se conoce MnDPMP como N,N'-dipiridoxil-etilendiamino-N,N'-diacetato-5-fosfato de manganeso (II).

Como se ha descrito anteriormente, la presente invención está basada en el hallazgo de que aunque tanto el tejido miocárdico viable como no viable absorben manganeso durante un tiempo corto tras la administración de un agente de contraste de manganeso tal como MnDPDP, solo las células viables continúan absorbiendo iones manganeso a lo largo del tiempo. Por tanto la cantidad final de manganeso presente en una célula tras un cierto periodo de tiempo después de la administración del agente de contraste proporciona una medida del nivel de viabilidad/función celular.

Un hallazgo muy sorprendente es que aunque MnDPDP y sus metabolitos, MnDPMP y MnPLED, dan todos como resultado acumulación de iones M^{2+} en el miocardio, lo hacen de forma diferente. Se cree que esto puede ser debido a que tanto el tejido vivo como el necrótico absorben Mn^{2+} que se produce por transmetalación inicial, mientras que solamente las células viables absorben Mn^{2+} en forma de MnDPMP o MnPLED o producido por transmetalación retardada de estos agentes.

Por tanto se cree que MnDPMP y MnPLED facilitan la determinación más exacta de la viabilidad/función tisular. Cuando se usan estos agentes se cree que se produce muy poca, si la hubiere, absorción de manganeso en el tejido necrótico, por tanto se pueden obtener los niveles de contraste más altos. Por tanto MnDPMP y MnPLED son agentes de contraste preferidos para usar en los métodos de la invención. Se prefiere particularmente MnDPMP porque tiene mayor solubilidad en agua que MnPLED. Si no todos los hidrógenos lábiles de los quelatos están sustituidos por el ion metálico complejado, la biotolerancia y/o solubilidad del quelato se puede aumentar sustituyendo los átomos de hidrógeno lábiles restantes con cationes fisiológicamente biocompatibles de bases inorgánicas y/u orgánicas o aminoácidos. Los ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen Li^+ , K^+ , Na^+ y especialmente Ca^{2+} . Los cationes orgánicos adecuados incluyen amonio, amonio sustituido, etanolamina, dietanolamina, morfolina, glucamina, N,N,-dimetilglucamina, lisina, arginina u ornitina.

Los compuestos para usar en los métodos de la invención pueden estar disponibles comercialmente (por ejemplo de GE Healthcare) o se pueden preparar por procedimientos conocidos en la técnica. En los documentos EP-A-299795, EP-A-71564, DE-A-3401052, EP-A-203962 y EP-A-436579 se describen métodos adecuados para preparar los agentes quelantes basados en ácidos poliaminopolicarboxílicos.

En la preparación de los compuestos dipiridoxílicos, el compuesto PLED se puede usar como material de partida y puede ser derivatizado adecuadamente usando procedimientos convencionales para obtener los compuestos de la fórmula I. En el documento EP-A-290047, por ejemplo, se describen métodos adecuados para preparar los compuestos de la fórmula I. Alternativamente los compuestos de la fórmula I se pueden preparar haciendo reaccionar el correspondiente compuesto de piridoxal con una alquilendiamina según el procedimiento para producir PLED descrito por Taliaferro (Inorg. Chem. 23:1183-1192, 1984).

Los quelatos de manganeso para usar de acuerdo con la invención se pueden formar por procedimientos convencionales conocidos en la técnica. En general, tales procedimientos implican disolver o suspender un óxido metálico o sal metálica (por ejemplo nitrato, cloruro o sulfato) en agua o un alcohol inferior tal como metanol, etanol, o isopropanol. A esta disolución o suspensión se añade una cantidad equimolar del agente quelante en agua o en un alcohol inferior y la mezcla se agita, si fuese necesario con calentamiento moderado o hasta el punto de ebullición, hasta que se complete la reacción. Si la sal del quelato formada es insoluble en el disolvente usado, el producto de reacción se aísla por filtración. Si es soluble, el producto de reacción se aísla por evaporación a sequedad, por ejemplo mediante secado por pulverización o liofilización.

Si en el quelato resultante están presentes todavía grupos ácidos tales como grupos de ácido fosfórico, es conveniente convertir la sal de quelato ácido en una sal de quelato neutro por reacción con bases inorgánicas y/u orgánicas o aminoácidos, que forman cationes fisiológicamente aceptables, y aislarlas. Los grupos carboxilo y de ácido fosfórico de los agentes quelantes se pueden neutralizar también por esterificación para preparar ésteres de carboxilato y fosfato. Tales ésteres se pueden preparar a partir de los correspondientes alcoholes por procedimientos convencionales conocidos en la técnica. Los ésteres adecuados incluyen, por ejemplo, ésteres de alcoholes de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 18 átomos de carbono, alquilaminoalcoholes mono- y polihidroxilados que tienen de 1 a 18 átomos de carbono, preferiblemente que tienen de 1 a 6 carbonos, tales como serinol o dietanolamina, y alcoholes polihidroxilados que tienen de 1 a 18 átomos de carbono tales como etilenglicol o glicerol.

Cuando el quelato metálico lleva una carga global, se usará convenientemente en forma de una sal con un contraión fisiológicamente aceptable, por ejemplo un amonio, amonio sustituido, catión de metal alcalino o de metal alcalinotérreo (por ejemplo calcio) o un anión derivado de un ácido inorgánico u orgánico. En este aspecto se prefieren particularmente sales de meglumina.

Los agentes de contraste para usar en los métodos de la presente invención se formulan preferiblemente en composiciones farmacéuticas de una manera convencional, por ejemplo con uno o más vehículos o diluyentes fisiológicamente aceptables. Las composiciones preferidas para usar en los métodos de la presente invención están en forma adecuada para inyección o infusión directamente o después de la dispersión en, o dilución con, un medio vehicular fisiológicamente aceptable, por ejemplo agua para inyecciones. Por tanto, aunque los agentes de contraste pueden estar en una forma tal como un polvo, se prefieren generalmente disoluciones, suspensiones y dispersiones en un vehículo fisiológicamente aceptable.

- Las composiciones para usar en los métodos de la presente invención, por ejemplo disoluciones intravenosas, deben ser estériles y libres de agentes fisiológicamente inaceptables, y preferiblemente deben tener baja osmolalidad para minimizar la irritación u otros efectos adversos tras la administración, y por tanto el medio de contraste debe ser preferiblemente isotónico o ligeramente hipertónico. Por tanto los vehículos o diluyentes adecuados incluyen vehículos acuosos usados habitualmente para administrar disoluciones parenterales tales como Inyección de Cloruro Sódico, Inyección de Ringer, Inyección de Dextrosa, Inyección de Dextrosa y Cloruro Sódico, Inyección de Ringer Lactato y otras disoluciones tales como se han descrito en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., Easton: Mack Publishing Co., pp. 1405 1412 and 1461 1487 (1975) y The National Formulary XIV, 14th ed. Washington: American Pharmaceutical Association (1975).
- Los agentes de contraste se pueden formular para administración de una manera muy conocida para los expertos en la técnica. Por ejemplo, los compuestos, opcionalmente con la adición de excipientes farmacéuticamente aceptables, se pueden suspender o disolver en un medio acuoso, con la disolución o suspensión resultante esterilizándose después. Se pueden incluir también coadyuvantes de formulación (por ejemplo, estabilizantes, antioxidantes, agentes para ajuste de la osmolalidad, tampones, agentes para ajuste del pH, agentes de conservación, agentes antimicrobianos, etc.) y/u otros aditivos. Ejemplos representativos de aditivos adecuados incluyen tampones fisiológicamente biocompatibles (por ejemplo DTPA o DTPA-bisamida), complejos quelatos de calcio (por ejemplo sales de DTPA de calcio, sales de DTPA-bisamida de calcio) o adiciones (por ejemplo 1 a 50 por ciento en moles) de sales de calcio o sodio (por ejemplo cloruro cálcico, ascorbato cálcico, gluconato cálcico o lactato cálcico).
- Para la absorción eficaz por los canales de calcio de los cardiomiocitos, el manganeso está preferiblemente en el estado Mn^{2+} . Para inhibir la oxidación a Mn^{3+} , las composiciones utilizadas en los usos y métodos de la invención contendrán preferiblemente un antioxidante, por ejemplo ácido ascórbico o un azúcar reductor.
- La concentración de los compuestos de la invención en las composiciones usadas para MRI variará dependiendo de varios factores que incluyen la naturaleza del compuesto, la naturaleza de la composición y el tipo de formación de imágenes a realizar. Sin embargo, se usan preferiblemente intervalos de concentración de 0,001 a 1 mmoles/ml, más preferiblemente 0,005 a 0,1 mmoles/ml, aún más preferiblemente 0,01 a 0,05 mmoles/ml, por ejemplo aproximadamente 0,01 mmoles/ml.
- Las composiciones adecuadas para aplicación en la presente invención pueden estar disponibles comercialmente. Por ejemplo una disolución de MnDPDP está disponible de GE Healthcare bajo el nombre comercial Teslascan.
- En la presente invención se usan dosis de manganeso clínicamente aceptables. Convenientemente, los compuestos como se han descrito anteriormente se pueden administrar en una dosis de 0,5 a 40 μ moles/kg de peso corporal, más preferiblemente 1 a 20 μ moles/kg de peso corporal, aún más preferiblemente 2 a 12 μ moles/kg de peso corporal, por ejemplo aproximadamente 5 a 10 μ moles/kg de peso corporal. Preferiblemente los compuestos se administran mediante inyección o infusión en bolo en la vasculatura sistémica. Se prefiere infusión.
- En realizaciones preferidas, el agente de contraste de manganeso se administra a lo largo de un corto periodo de tiempo, por ejemplo de 1 a 30 minutos, más preferiblemente 2 a 20 minutos, aún más preferiblemente 5 a 10 minutos. Por tanto la velocidad preferida de administración está comprendida en el intervalo de 0,01-1 ml/kg/minuto, aún más preferiblemente 0,02-0,5 ml/kg/minuto. Tales velocidades de administración se pueden lograr fácilmente usando equipo de tratamiento convencional.
- La administración del agente de contraste de manganeso al individuo puede realizarse fuera del campo magnético usado para MRI o puede realizarse en el interior del campo magnético. Sin embargo, generalmente se prefiere si la administración se realiza fuera del campo magnético.
- Cuando la administración se realiza fuera del campo magnético usado para MRI, la MRI se lleva a cabo preferiblemente dentro de 0,5 a 6 horas, preferiblemente 1 a 4 horas, por ejemplo 1,5 a 3 horas después. Cuando la administración se lleva a cabo en el interior del campo magnético usado para MRI, la MRI se realiza de forma intermitente antes, durante y/o después (por ejemplo, preferiblemente dentro de 30 a 60 minutos después).
- En la presente invención, las medidas de R_1 y T_1 se usan para proporcionar una medida cuantitativa de la viabilidad/función celular. Aunque las medidas de R_1 y T_1 están bien descritas en la bibliografía de MRI, por lo que el solicitante está informado no ha habido publicación previa alguna de un método para la medida graduada o cuantitativa de la viabilidad/función celular y por tanto para la remodelación cardíaca. Esto se puede lograr ahora mediante el uso de un agente de contraste intracelular como se describe en la presente memoria. Como resultará evidente a partir de los ejemplos descritos más adelante, los cambios de R_1 se detectan solo modestamente sin agente de contraste de manganeso, pero se han mejorado en gran medida con el manganeso.
- Por tanto, en la presente invención se evalúa una medida cuantitativa de la viabilidad/función miocárdica determinando la cantidad de manganeso intracelular en el miocardio, en donde la cantidad de manganeso intracelular en el miocardio de dicho individuo se evalúa determinando R_1 o T_1 . En métodos preferidos de la invención la cantidad de manganeso intracelular se evalúa determinando R_1 . En particular, es el ventrículo izquierdo del corazón el que se visualiza. Más específicamente, la invención permite que se detecte la absorción de Mn

diferenciada y el cambio de R_1 por todo el ventrículo izquierdo y que el resultado se correlacione con la presencia o ausencia de remodelación cardíaca.

En realizaciones particularmente preferidas, el miocardio se divide en un número de sectores transmurales (por ejemplo 5 a 50, más preferiblemente aproximadamente 10 a 30 sectores, aún más preferiblemente 24 sectores). Alternativamente se pueden elegir regiones de interés (ROI) de diferentes capas del miocardio. Ambos enfoques hacen posible crear representaciones gráficas de R_1 de distribución compuesta revelando así la distribución diferenciada de los protones de agua magnetizados en los píxeles visualizados.

Se determina preferiblemente un R_1 o T_1 de referencia sin agente de contraste para cada sector o capa. Durante y/o después de la administración del agente de contraste de manganeso se realiza un número de medidas para cada sector o capa a lo largo del tiempo (por ejemplo cada 1 a 30 segundos, más preferiblemente cada 5 a 20 segundos, aún más preferiblemente aproximadamente cada 10 segundos). La adquisición de imágenes se continúa preferiblemente de este modo durante 20 minutos a 2 horas, preferiblemente 30 minutos a 1 hora, por ejemplo 45 minutos. Por tanto, se puede realizar un total de 100 a 500 medidas (por ejemplo 250 a 400) para un corte seleccionado de miocardio y por tanto de cada sector o capa. Alternativamente se pueden producir imágenes en menor número de momentos, por ejemplo a intervalos de 5-10 minutos a lo largo de 30-45 minutos. Ambos enfoques permiten una determinación continua o semi-continua de la absorción de Mn^{2+} .

Con exámenes repetidos a intervalos de semanas a meses después del AMI, se pueden seguir los procesos de remodelación y/o sus respuestas a la terapia.

R_1 se puede medir por medio de una medición de intensidad de señal (SI). Cada medida de SI se ajusta a la ecuación de señal [1] para obtener un cálculo de R_1 :

$$S = \left| \Omega M_0 \text{sen} \alpha \left[\left(1 - 2 e^{(-R_1 T_1)} \right) a^{n-1} + \frac{b(1 - a^{n-1})}{(1 - a)} \right] \right| \quad [1]$$

En esta ecuación, S es la intensidad de señal, Ω es una constante dependiente de la ganancia del receptor, condiciones instrumentales y caída de T_2^* (que es una constante con los TE cortos usados), M_0 es la magnetización longitudinal totalmente relajada, α es el ángulo del pulso de RF usado, T_1 es el tiempo de inversión medido al comienzo de la cadena de pulsos- α de RF, n es el número de pulsos- α hasta el centro del espacio-K, TR es el intervalo de tiempo entre dos pulsos- α de la cadena de pulsos, $a = (\cos \alpha \exp(-R_1 TR))$ y $b = (1 - \exp(-R_1 TR))$. Se puede usar cualquier procedimiento de ajuste convencional, por ejemplo un método de investigación simplex y una función de coste de mínimos cuadrados. El ajuste produce preferiblemente valores para R_1 y ΩM_0 . Se pueden calcular entonces valores separados para cada sector, por ejemplo tanto para la medida de SI de referencia como la medida de SI final para determinar R_1 en cada etapa así como ΔR_1 , el valor de R_1 en 1 hora menos el valor de R_1 de referencia. Los valores finales de R_1 proporcionan una medida de la viabilidad/función y se representan preferiblemente como un mapa de R_1 . Se pueden establecer varios mapas para un paciente a lo largo de un periodo de tiempo (por ejemplo 2 semanas a 6 meses) para monitorizar la remodelación cardíaca.

En algunas realizaciones preferidas se analizan los valores de ΔR_1 para identificar las regiones de interés (ROIs). Normalmente las ROIs cubrirán aquellas áreas en donde se ha producido un presunto infarto. Las SIs determinadas a lo largo del tiempo se extraen después preferiblemente para esas ROIs y se convierten en cambios de R_1 temporales. Esto se puede utilizar para confirmar si la ROI comprende tejido viable.

La MRI utilizada en la presente invención se puede realizar usando equipo convencional de MRI. Se usan preferiblemente técnicas de inversión o técnicas de saturación, especialmente técnicas de inversión basadas en los métodos Look-Locker de MRI conocidos en la técnica.

La presente invención se puede utilizar en cualquier individuo. Por el término "individuo" se entiende en la presente memoria cualquier ser humano o no humano. Los individuos preferidos para aplicación de la presente invención son humanos. Aunque los métodos se pueden utilizar en individuos que no han sufrido un AMI, individuos particularmente preferidos son aquellos que han sufrido un AMI previo. En tales individuos se puede utilizar la invención para detectar la remodelación cardíaca.

El método de la invención se ilustrará más ahora por medio de ejemplos con referencia particular a ciertas realizaciones no limitantes y a las figuras que se adjuntan en donde:

La Figura 1 muestra la descomposición metabólica hipotética de MnDPDP *in vivo*.

La Figura 2 muestra los cambios en intensidad de señal (SI) en el miocardio (negro) y la sangre (gris) en un individuo sano después de la administración de Teslascan (5 μ moles/kg durante 5 minutos (a) y durante 30 minutos (b)).

La Figura 3 muestra cambios temporales de R_1 de la sangre (línea de puntos), presunto infarto de miocardio (línea gris) y la región remota (línea negra) en un paciente con un infarto completamente desarrollado.

5 La Figura 4 muestra cambios temporales de R_1 de la sangre (línea de puntos), presunta región infartada (línea gris) y una región remota (línea negra) en un paciente en el que el tratamiento con PCI en el comienzo del infarto dio como resultado recuperación cardíaca.

La Figura 5 muestra mapas de R_1 de cortes de eje corto de un paciente tratado con PCI, pero con un infarto completamente desarrollado.

La Figura 6 muestra mapas de R_1 de cortes de eje corto de un paciente en el que el tratamiento con PCI en el comienzo del infarto dio como resultado recuperación cardíaca.

10 Ejemplos

Formación de imágenes de resonancia magnética

Se realizaron exploraciones de resonancia magnética en 10 pacientes 3-12 semanas después de un episodio coronario agudo con aparición de infarto agudo de miocardio (AMI). Todos los pacientes fueron revascularizados mediante intervención coronaria percutánea (PCI) inmediatamente después de la admisión en hospital por AMI.

15 Las exploraciones se realizaron en un escáner Siemens Magnetom Symphony 1.5 Tesla con gradientes Quantum (Versión de Software: Syngo 2002B, VA21B. Fuerza de gradiente: 30 mT/m.). Los registros se realizaron con bobina de superficie acoplada en fase de cuerpo. Se usó una señal electrocardiográfica (ECG) para el seguimiento del ritmo cardíaco y secuencia de activación.

20 Se prepararon cortes de eje corto en cine de precesión libre en estado estacionario (verdadera FISP) cubriendo la longitud ventricular. Cada corte se adquirió durante una respiración contenida, con un espesor de corte de 8 milímetros y separación de cortes de 10 milímetros. Sobre la base de la exploración de las imágenes de cine de eje corto para señales de movimiento de la pared deteriorada y engrosamiento parietal sistólico, se seleccionó un corte en cada paciente para obtener imágenes con aumento de contraste. Los parámetros de ubicación de corte de este corte de interés (SOI) se copiaron y usaron a través de la exploración de MRI restante.

25 En el SOI se realizaron medidas de R_1 del miocardio y sangre de pre-contraste a través de una serie de 20 imágenes usando una secuencia turbo-FLASH (fast low-angle shot, disparo rápido en ángulo bajo) de inversión-recuperación con tiempos de inversión (T_1) crecientes posteriormente. La secuencia usó un pulso de inversión no selectivo de 180 grados seguido por una secuencia FLASH ultra-rápida, que consistía en pulsos- α repetitivos en bajo ángulo selectivos del corte con ecos de gradiente generados entre los pulsos- α . Los tiempos de inversión
30 usados abarcaron de 90 a 5000 ms. Los ajustes de parámetros fueron: anchura de banda: 1000 Hz/pixel, espaciado de eco (TR): 1,9 ms, TE: 1,06 ms, campo de visión: 380 mm, espesor de corte: 8 mm, ángulo de inclinación α -flip: 12 grados y una fase de Fourier parcial de 6/8.

35 Tras la medida inicial de R_1 , el escáner de resonancia magnética se preparó para registrar una serie de imágenes-IR (de inversión recuperación) con los mismos ajustes de parámetros que los usados para las medidas de R_1 , pero con un tiempo de inversión fijo de 400 ms.

Después de 10 imágenes de referencia, los pacientes recibieron 5 μ moles de MnDPDP por kg de peso corporal de una disolución de 0,01 mmoles/ml (TeslascanTM, Amersham) como una infusión intravenosa periférica durante cinco minutos. Se adquirió un total de 300-350 imágenes de IR durante 40-45 minutos. A lo largo de esta serie de la infusión, se mantuvo un intervalo de tiempo de 7-8 segundos entre imágenes individuales.

40 A continuación se realizó la formación de imágenes para la visualización de regiones infartadas. Se probaron dos secuencias segmentadas ponderadas en T_1 con sincronismo electrocardiográfico (ECG): una secuencia turbo-FLASH y una secuencia de IR verdadera FISP con la posibilidad de reconstrucción sensible a la fase. En cualquier caso se usaron tiempos de inversión individualizados, dependiendo del ritmo cardíaco y capacidad para respiraciones contenidas.

45 Finalmente, una hora después del comienzo de la infusión de contraste se realizó una segunda medida de R_1 que consistía en 20 imágenes de IR turbo-FLASH durante cinco minutos.

Análisis de R_1

50 Las imágenes para las medidas de R_1 se analizaron usando software escrito en Matlab, versión 6.5 (MathWorks, USA), y los bordes interior y exterior de la pared del ventrículo izquierdo fueron dibujados manualmente en cada corte individual. El miocardio delineado se dividió después en 24 sectores. La intensidad de señal se extrajo y analizó por separado para cada sector. La ecuación de señal se ajustó a los datos de los sectores para obtener un cálculo de R_1 :

$$S = \left| \Omega M_0 \text{sen} \alpha \left[\left(1 - 2 e^{(-R_1 T_1)} \right) a^{n-1} + \frac{b(1 - a^{n-1})}{(1 - a)} \right] \right| \quad [1]$$

En esta ecuación, S es la intensidad de señal, Ω es una constante dependiente de la ganancia del receptor, condiciones instrumentales y caída de T_2^* (que es una constante con los TE cortos usados), M_0 es la magnetización longitudinal totalmente relajada, α es el ángulo del pulso de RF usado, T_1 es el tiempo de inversión medido al comienzo de la cadena de pulsos- α de RF, n es el número de pulsos- α hasta el centro del espacio-K, TR es el intervalo de tiempo entre dos pulsos- α de la cadena de pulsos, $a = (\cos \alpha \exp(-R_1 TR))$ y $b = (1 - \exp(-R_1 TR))$. El ajuste se realizó con dos variables: R_1 y el producto de ΩM_0 . Estas dos variables se optimizaron usando un método de investigación simplex y una función de coste de mínimos cuadrados.

Se calcularon valores de R_1 separados para cada uno de los 24 sectores, tanto para las medidas de R_1 de referencia como para las medidas después de una hora. Se calculó un valor de ΔR_1 para cada sector como el valor de R_1 de una hora menos el valor de referencia.

Cambios temporales de R_1

Se crearon cambios temporales de R_1 después de la infusión de contraste combinando las medidas de R_1 de referencia de cada paciente con la serie de la infusión del paciente. Las imágenes se analizaron conjuntamente en software escrito en Matlab. Sobre la base de los valores de ΔR_1 se obtuvieron centralmente dos ROIs pequeñas (5 a 8 píxeles de tamaño) en la pared del ventrículo izquierdo. Una ROI se colocó en el centro de la región del supuesto infarto y otra en una región remota suministrada por una arteria coronaria diferente. Una tercera ROI se colocó en la sangre de la cavidad del ventrículo izquierdo, y se le dio un diámetro de aproximadamente la mitad del diámetro interno del ventrículo izquierdo. Cada ROI se obtuvo en la primera imagen y se copió en todas las imágenes de la medida de R_1 así como en toda la serie de la infusión. Después las ROIs se ajustaron manualmente para los movimientos respiratorios. Se obtuvieron las intensidades de señal y se realizaron las medidas de R_1 de pre-contraste por medio de la Ecuación 1. Los productos ΩM_0 calculados se usaron después, mediante la ecuación 1, para convertir los cambios de intensidades de señal tras las infusiones en cambios temporales de R_1 .

Resultados

Cinética de infusión y post-infusión por MRI

Las Figuras 3 y 4 muestran los resultados de la determinación temporal de R_1 en dos de los diez pacientes. La Figura 3 muestra los resultados obtenidos de un paciente tratado con PCI, pero que todavía revela un infarto completo según lo confirmado por la historia anterior y ahora también mediante MRI ponderada en T_1 . Durante la infusión de Teslascan (0-5 min) hay una absorción inicial de Mn, no solamente en la región remota y viable sino también en el área infartada, y después de la infusión hay una absorción tardía de Mn en la región remota pero no en el área infartada. La ausencia de absorción tardía en la región infartada indica que contiene tejido cicatricial sin células miocárdicas viables.

En cambio, la Figura 4 muestra los resultados obtenidos de un paciente que recibió tratamiento por PCI mucho antes tras la aparición del infarto. En este paciente la intervención inicial dio como resultado recuperación miocárdica según lo confirmado por los parámetros clínicos y ahora también mediante MRI ponderada en T_1 . Durante la infusión de Teslascan (0-5 min) se observaron perfiles de absorción similares tanto con una absorción inicial como tardía de Mn, en el área previa en situación de riesgo (región infartada) como en la región remota. Esto indica que todas las células son viables.

Estas observaciones en los dos pacientes indican dos fases de absorción de ion Mn^{2+} y que eran responsables diferentes agentes de manganeso: una absorción inicial durante el periodo de 5 min de infusión se producía a partir de la sustancia madre MnDPDP; y una absorción tardía se producía en el periodo de post-infusión tras la conversión de MnDPDP en sus dos metabolitos MnDPMP y MnPLED. Sorprendentemente, las observaciones muestran que mientras que una absorción inicial con MnDPDP indica viabilidad más perfusión del miocardio, una absorción tardía indica específicamente viabilidad. Por tanto MnDPDP es un marcador de viabilidad más perfusión, mientras que MnDPMP y MnPLED son puros marcadores de viabilidad.

Mapeo de R_1 en cortes de eje corto

Se prepararon mapas de R_1 en cortes de eje corto del corazón que cubren las áreas anteriores de infartos desarrollados o sospechosos para los dos mismos pacientes y se muestran en las Figuras 5 y 6. Estas muestran que se puede obtener información mucho más clasificada mediante los usos y métodos de la invención. Antes de la infusión de Teslascan casi no se observan diferencias en los valores de R_1 entre sectores, pero 45 min después aparece una heterogeneidad mucho más marcada.

5 En el paciente con un defecto persistente post-infarto (Figura 5), en las primeras imágenes de fondo de resonancia magnética los R_1 son $0,80 \text{ s}^{-1}$ y $0,95 \text{ s}^{-1}$ en las zonas infartadas frente a las zonas remotas, es decir, una diferencia en R_1 de $\sim 0,15 \text{ s}^{-1}$. En las imágenes de resonancia magnética intensificada con manganeso los respectivos R_1 son $0,95 \text{ s}^{-1}$ y $1,35 \text{ s}^{-1}$, es decir, una diferencia en R_1 de $\sim 0,40 \text{ s}^{-1}$. Este resultado se puede explicar por la absorción tardía de manganeso en las regiones remotas. Sin embargo, sorprendentemente y más importante, hay una diferencial gradual desde la zona de infarto ($0,95 \text{ s}^{-1}$): a la zona de borde ($1,10 \text{ s}^{-1}$); después a grandes zonas intermedias ($1,20 \text{ s}^{-1}$); y finalmente a la zona principal y remota ($1,35 \text{ s}^{-1}$).

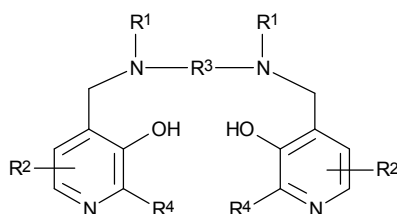
10 En el paciente con recuperación miocárdica (Figura 6), casi no hay diferencias entre sectores transmurales antes o después del contraste. Por tanto se mantiene la homogeneidad y hay una elevación media de R_1 de $\sim 0,40 \text{ s}^{-1}$ como se espera para el miocardio normal tras la infusión de Mn. La variación entre sectores está dentro de $\sim 0,05$ a $0,10 \text{ s}^{-1}$.

15 Estos resultados del mapeo de R_1 demuestran alteraciones regionales detectables en la relajación tisular y por tanto en la absorción/retención de Mn en tejidos durante la recuperación de un AMI completamente desarrollado. Esto es consistente con la remodelación cardíaca post-infarto, demostrado en esta invención por primera vez con iones de Mn paramagnéticos intracelulares que reflejan bien el número global de células cardíacas vivas y/o el estado de la función de estas células.

20 En el paciente con infarto persistente y tejido cicatricial los resultados de R_1 eran consistentes con una reducida fracción de eyección del ventrículo izquierdo (49%) e indicaban una necesidad de terapia con el fin de retrasar el desarrollo de una insuficiencia cardíaca manifiesta. En el otro paciente sin señales de remodelación del ventrículo izquierdo y con una fracción de eyección del ventrículo izquierdo normal (71%) no había necesidad de tal terapia específica.

REIVINDICACIONES

1. Agente de contraste de manganeso, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para usar en un método para detectar remodelación cardíaca en un individuo, en donde dicho método comprende:
- 5 (i) administrar un agente de contraste de manganeso, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a dicho individuo; y
- (ii) someter dicho individuo a un procedimiento de MRI por medio del cual determinar la viabilidad/función tisular miocárdica mediante la determinación de la cantidad de manganeso intracelular en el miocardio de dicho individuo, en donde la cantidad de manganeso intracelular en el miocardio de dicho individuo se evalúa por la velocidad de relajación longitudinal, R_1 , o el tiempo de relajación longitudinal, T_1 , en todo el susodicho miocardio; y opcionalmente
- 10 (iii) repetir las etapas (i) y (ii) y evaluar si se han producido cambios en la viabilidad/función tisular miocárdica.
2. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho agente de contraste de manganeso es un quelato liberador de ion manganeso.
3. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en la reivindicación 2, en donde dicho agente de contraste de manganeso es un compuesto de dipiridoxilo.
- 15 4. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en la reivindicación 2 ó 3, en donde dicho quelato liberador de ion manganeso tiene un valor de K_a en el intervalo de 10^7 a 10^{25} .
5. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en donde el quelato de manganeso es un compuesto de fórmula II y sus sales,



(II)

- en donde en la fórmula II
- 20 cada R^1 representa independientemente hidrógeno o $-\text{CH}_2\text{COR}^5$;
- R^5 representa hidroxilo, opcionalmente alcoxilo hidroxilado, amino o alquilamido;
- cada R^2 representa independientemente un grupo alquilo (por ejemplo un grupo alquilo($\text{C}_1\text{-C}_6$)) sustituido con uno o más grupos seleccionados de hidroxilo, COOR^8 , CONR^8_2 , NR^8_2 , OR^8 , $=\text{NR}^8$, $=\text{O}$, $\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^8)_2$, $\text{OP}(\text{O})(\text{OM})\text{R}^7$ y OSO_3M ;
- 25 R^7 es OM, hidroxilo, un grupo alquilo o aminoalquilo opcionalmente hidroxilado, opcionalmente alcoxilado;
- R^8 es un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo opcionalmente hidroxilado, opcionalmente alcoxilado;
- M es un átomo de hidrógeno o un equivalente de un catión fisiológicamente tolerable, por ejemplo un catión alcalino o alcalinotérreo (por ejemplo Na^+), un ion amonio o un catión amínico orgánico tal como un ion meglumina;
- 30 R^3 representa un grupo alquilenos($\text{C}_1\text{-C}_8$), preferiblemente un grupo alquilenos($\text{C}_1\text{-C}_6$), por ejemplo un grupo alquilenos($\text{C}_2\text{-C}_4$); y
- cada R^4 representa independientemente hidrógeno o alquilo($\text{C}_1\text{-C}_3$).
6. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho agente de contraste de manganeso se selecciona de MnDPDP, MnDPMP y MnPLED.
- 35 7. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho agente de contraste de manganeso se administra en una dosis de 0,5 a 40 $\mu\text{moles/kg}$ de peso corporal.

8. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en la reivindicación 7, en donde dicha administración de agente de contraste de manganeso se lleva a cabo fuera del campo magnético utilizado para dicho procedimiento de MRI y la MRI se realiza dentro de 0,5 a 6 horas después; o
- 5 en donde dicha administración de agente de contraste de manganeso se lleva a cabo en el interior del campo magnético usado para dicha MRI y la MRI se realiza de modo intermitente antes, durante y/o después de ello.
9. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dichos valores de R_1 se procesan en gráficas de cinética de absorción de manganeso por el individuo; o
- en donde dichos valores de R_1 se procesan en gráficas de distribución o mapas de R_1 en sectores transmurales o capas en cortes visualizados del miocardio del individuo.
- 10 10. Agente de contraste de manganeso para usar como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho individuo ha sufrido un AMI previo.

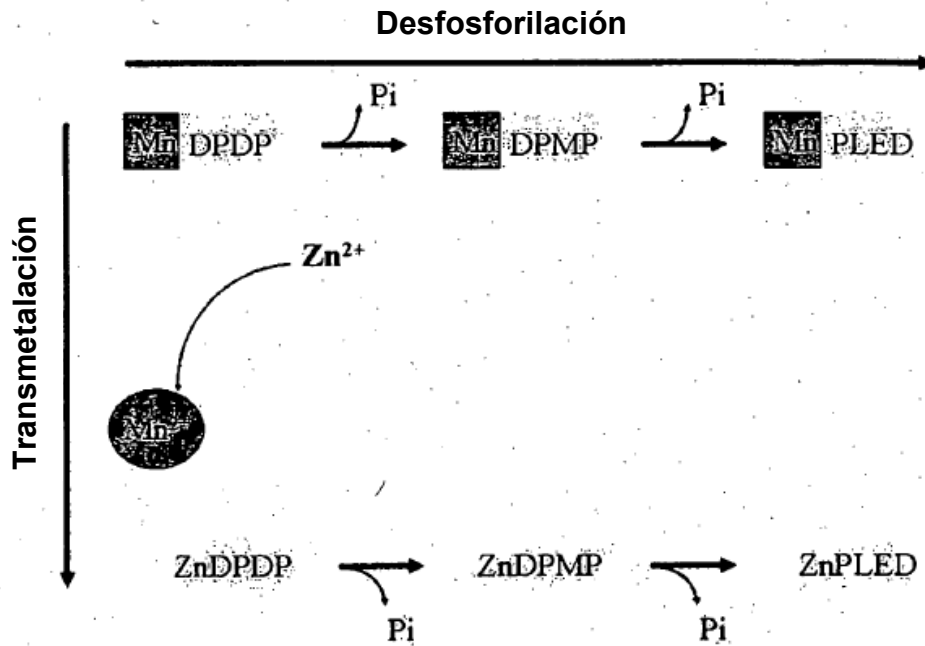


Figura 1. Cinética y metabolismo plasmático de MnDPDP tras infusión intravenosa de Teslascan.

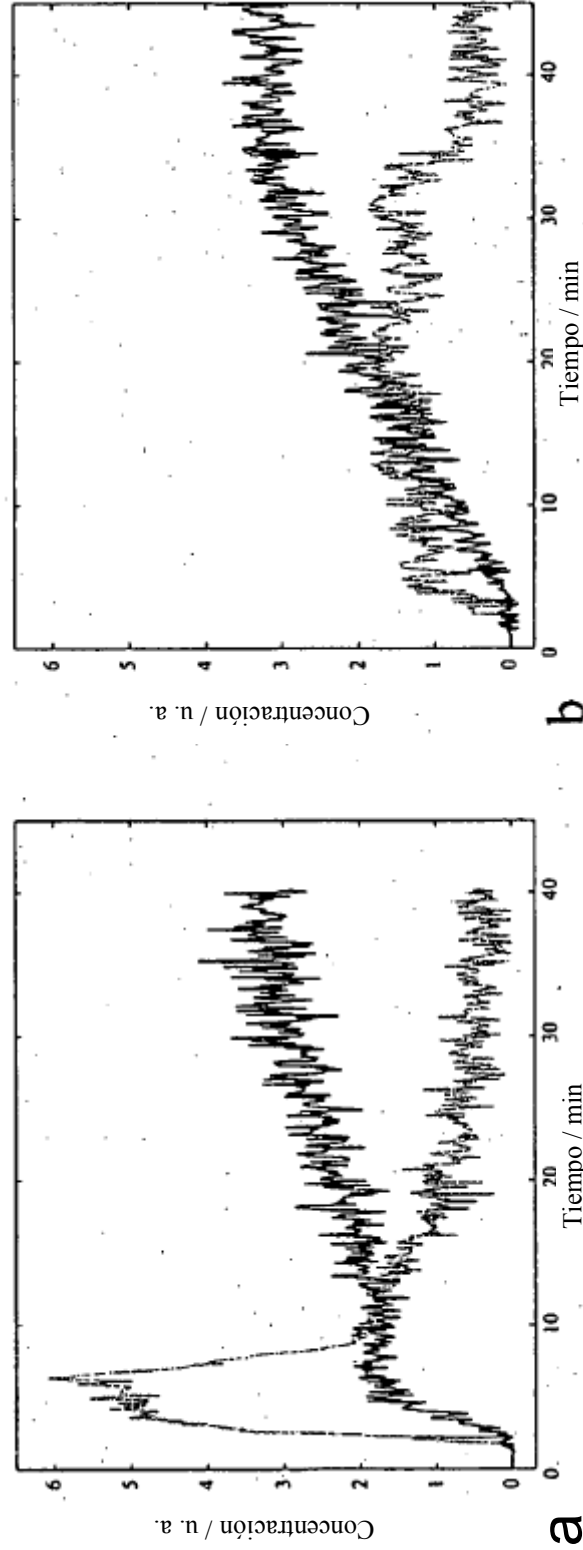


Figura 2. Cinética de resonancia magnética en términos de cambios en SI (unidades arbitrarias de "concentración") en sangre de cámara ventricular izquierda (gris) y en miocardio de ventrículo izquierdo (negro) durante y después de: a) 5 min de infusión intravenosa de Teslascan; y b) 30 min de infusión intravenosa de Teslascan. Dosis aplicada de 5 μ moles/kg de peso corporal. Resultados obtenidos en voluntarios humanos adultos y sanos.

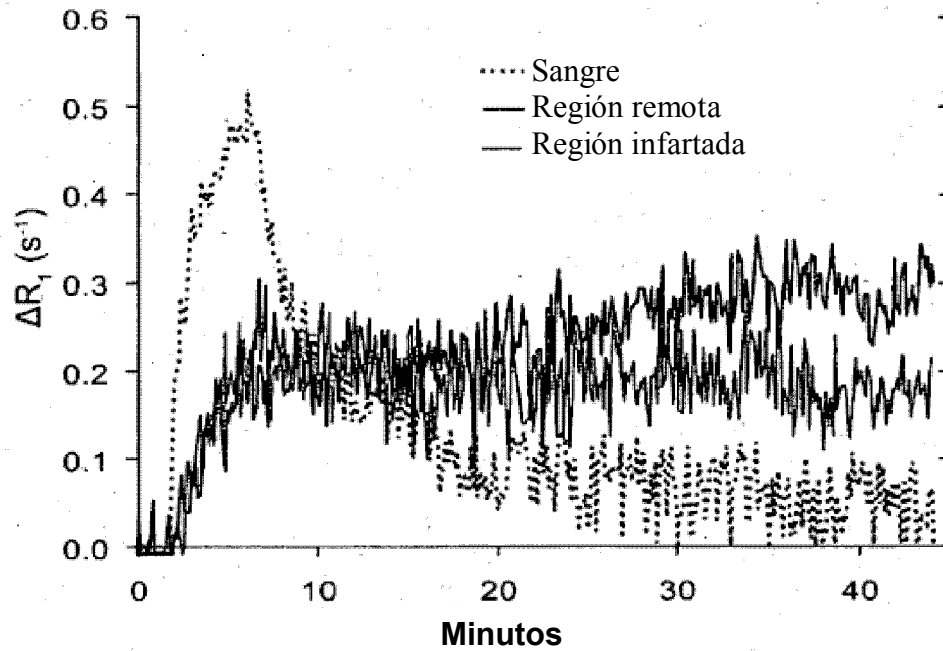


Figura 3. Cinética de absorción de manganeso evaluada por medidas de R_7 en un paciente con un infarto de miocardio persistente en la pared lateral del ventrículo izquierdo. Durante 5 minutos se realizó infusión de 5 μ moles de Teslascan/kg de peso corporal. Se observa que en el periodo inicial de 5 min hay también una absorción consistente en el área infartada-fibrótica, pero después no hay absorción tardía. Hay tanto una absorción inicial como una tardía en el miocardio remoto y normal.

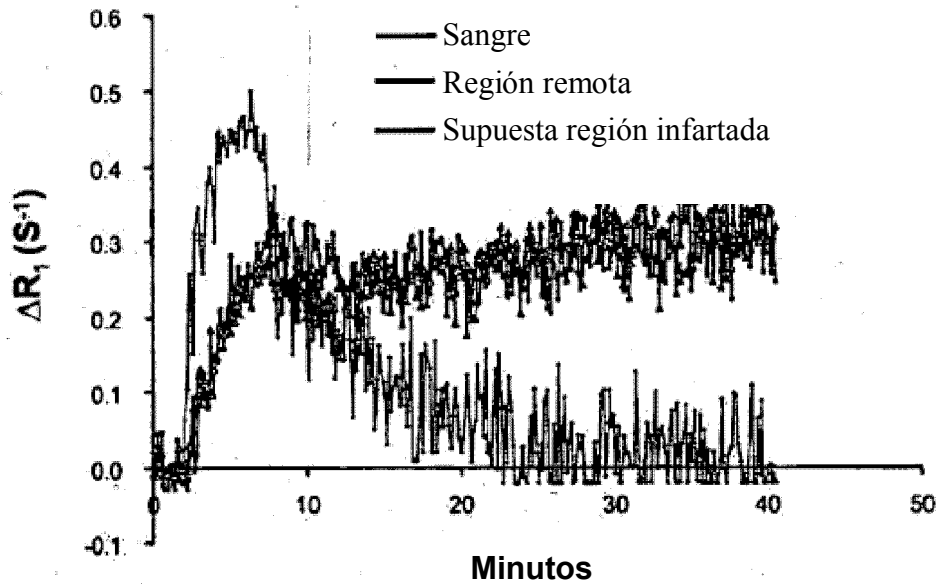


Figura 4. Cinética de absorción de manganeso evaluada por medidas de R_1 en un paciente con un supuesto infarto pero con recuperación miocárdica en PCI. Durante 5 minutos se realizó infusión de 5 μ moles de Teslascan/kg de peso corporal. Se observa que tanto en el periodo inicial de 5 min como después, hay una absorción idéntica en la supuesta área infartada y en el área remota y normal.

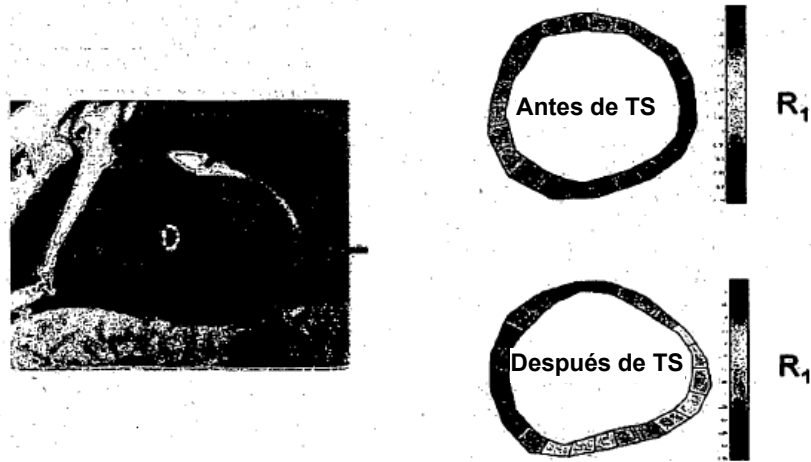


Figura 5. Paciente con infarto persistente indicado por la flecha en la imagen de la izquierda. El diagrama del ventrículo izquierdo presenta valores de R_1 distribuidos en el corte del ventrículo izquierdo que cubre el área infartada. Se observa la gran heterogeneidad que aparece aproximadamente 40 min después de la infusión de Teslascan (TS).

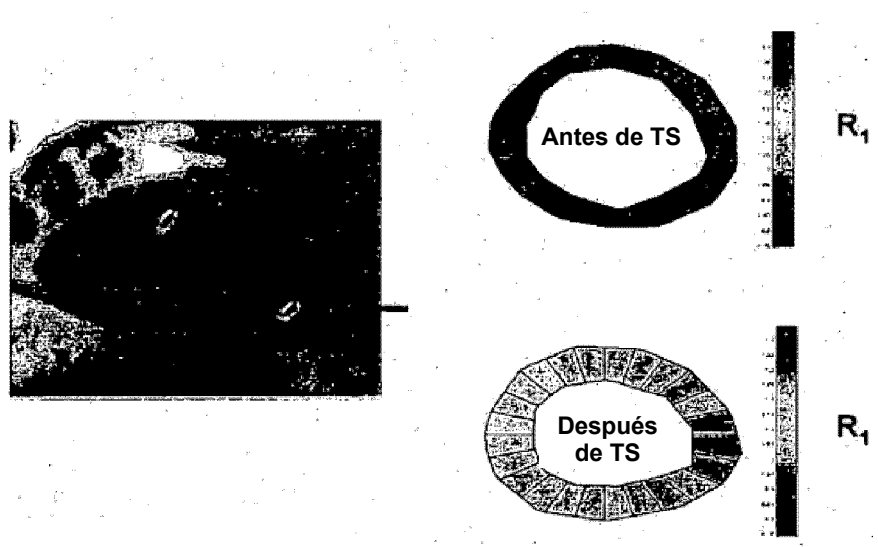


Figura 6. Paciente con presunto infarto indicado por la flecha en la imagen de la izquierda, pero con recuperación miocárdica en la revascularización por PCI. El diagrama del ventrículo izquierdo presenta valores de R_1 distribuidos en el corte del ventrículo izquierdo que cubre la supuesta área, pero no infartada. Se observa la gran homogeneidad que está presente antes y aproximadamente 40 min después de la infusión de Teslascan (TS) y la elevación importante y uniforme de valores de R_1 .