

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 532**

51 Int. Cl.:

**A61K 41/00** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61K 31/495** (2006.01)  
**A61K 31/555** (2006.01)  
**A61K 31/655** (2006.01)  
**A61K 31/4188** (2006.01)  
**A61K 33/24** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61N 5/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.06.2014 PCT/EP2014/061628**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2014 WO14195374**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2014 E 14727841 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018 EP 3003374**

54 Título: **Sustancia citotóxica para usar en combinación con radioterapia en el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

**04.06.2013 EP 13170442**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.04.2019**

73 Titular/es:

**FUMEDICA AG (50.0%)  
Luzernerstrasse 91  
5630 Muri, CH y  
UNIVERSITÄT BERN (50.0%)**

72 Inventor/es:

**DJONOV, VALENTIN y  
STEGER, BEAT**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 710 532 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

Sustancia citotóxica para usar en combinación con radioterapia en el tratamiento del cáncer

**Campo técnico**

- 5 La presente invención se refiere a una preparación que comprende sustancias citotóxicas para usar en el tratamiento de cáncer por radioterapia, preferiblemente en el tratamiento de tejido tumoral irradiado, en especial en el tratamiento del tejido tumoral maligno irradiado de cerebro o pulmón de mamífero.

**Técnica antecedente**

- 10 A pesar de los riesgos de las intervenciones directas, la cirugía aún es el método de elección para el tratamiento curativo del cáncer. Sin embargo, la cirugía no es aplicable en el caso de tumores grandes inoperables o pequeños múltiples, especialmente ciertas clases de tumores cerebrales y pulmonares. Por lo tanto, la radioterapia o quimioterapia son tratamientos estándares secuenciales para tales situaciones, para lentificar la enfermedad recurrente y suprimir el crecimiento del tumor.

- 15 En 1985, Lelieveld et al. investigaron varios esquemas de radioterapia fraccionada y tratamiento farmacológico en ratones y mostraron supra-aditividad en un tumor RIF-1 en comparación con el tejido normal, sin embargo, solo para dos de seis fármacos citotóxicos y solo para administración antes de la radiación (Lelieveld P., et al., "The Effect of Treatment in Fractionated Schedules with the Combination of X-Irradiation and Six Cytotoxic Drugs on the RIF-1 tumor and Normal Mouse Skin", Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., Vol.11, 111-121, 1985).

- 20 En especial para el glioblastoma, se halló que la quimioterapia seguida por la radioterapia posterior duplica la tasa de supervivencia media. Se considera que el efecto beneficioso de la radioterapia se origina en el hecho de que las células del tejido tumoral absorben una dosis letal de energía después de interactuar con el haz, es decir, cuando están presentes en la dirección de propagación, es decir, el eje del haz, de la radiación electromagnética o corpuscular. En consecuencia, la radioterapia está lejos de ser selectiva sobre el tipo de tejido (maligno o no). Por lo tanto, la dosificación y el enfoque de la energía del haz son muy importantes para evitar el daño excesivo del tejido sano. Por lo tanto, la radioterapia conformada tridimensional dirigida específicamente es favorable (como lo muestran Plan quality and treatment planning for single isocenter cranial radiosurgery with volumetric modulated arc therapy, Practical Radiation Oncology, 2012 Oct; 2(4):306-313; y Thomas EM et al., Effects of flattening filter-free and volumetric-modulated arc therapy delivery on treatment efficiency, Journal of Applied Clinical Medical Physics, 2013 May 6; 14(3):4126) En tales aplicaciones, se encontró que una dosis de radiación total menor de 100 Gray (Gy) era óptima.

- 35 Los avances recientes en la investigación sugieren, sorprendentemente, que la radiación de desaceleración altamente energética (también llamada Bremsstrahlung) de partículas cargadas (por ejemplo, electrones, iones) en forma de radiación de sincrotrón se puede usar en la radioterapia. Un sincrotrón es un tipo particular de acelerador de partículas cíclico que se origina a partir del ciclotrón en el que el campo magnético de guía (que curva las partículas en una trayectoria cerrada) es dependiente del tiempo, y está sincronizado con un haz de partículas de energía cinética creciente. En un sincrotrón, la adaptación de la creciente masa relativista de partículas durante la aceleración se realiza mediante la variación de la intensidad del campo magnético en el tiempo, más que en el espacio. Para partículas que no están cerca de la velocidad de la luz, la frecuencia del campo electromagnético aplicado también puede cambiar para seguir su tiempo de circulación no constante. En consecuencia, mediante el aumento de estos parámetros a medida que las partículas ganan energía, su trayectoria de circulación se puede mantener constante a medida que se aceleran. La radiación de sincrotrón cubre un amplio espectro continuo (de microondas a rayos X duros; 1 a  $10^5$  kilo electronvoltios (keV)) a alta intensidad y brillo. La alta intensidad permite una dosis de absorción de alrededor de 100 Gy a varios miles de Gray. Tal impacto de haz usualmente no es adecuado para tratamientos in vivo. Se ha demostrado que se puede lograr un efecto terapéutico en los tumores, especialmente el glioblastoma, o los carcinomas de pulmón, especialmente los que se derivan de células epiteliales, cuando se utiliza el intervalo espectral de 50 a 600 keV y se colima la radiación pulsada corta (menor de 1 s) en abanicos o matrices de haces altamente paralelos de sección transversal microscópica, con una baja divergencia y una distancia entre haces de unos cien micrómetros. Sin embargo, se ha encontrado que tal irradiación de microhaz enfocada da como resultado regiones microscópicas de células dañadas que se curan rápidamente, por lo que este tipo de irradiación no tiene un efecto letal en el tumor ni en el tejido benigno circundante del órgano. Si bien el efecto letal es lo que usualmente se desea en la terapia convencional contra el cáncer, un impacto no letal en el tejido sano puede ser favorable. El documento US 2010/00329413 A1 sugiere el uso de una fuente no sincrotrónica como una alternativa para la terapia de la radiación de microhaz, sin embargo, en la presente también se admite que se necesitan dosis de radiación muy altas para ser efectivas en la terapia del cáncer.

- 55 Con la esperanza de aumentar la selectividad del tratamiento del cáncer, de tratar las células tumorales que forman pequeñas estructuras tisulares que no se atacan fácilmente y de disminuir aún más la exposición necesaria a la radiación, ya se propuso combinar la quimioterapia con la cirugía y/o la radioterapia. Pero, hasta ahora, solo la administración del principio activo temozolomida antes de la radioterapia mostró resultados prometedores. Si bien la temozolomida es moderadamente citotóxica, parece sensibilizar a las células tumorales a la radiación. Sin embargo,

su administración aún es el único tratamiento estándar para el glioblastoma, cuando se combinan la radioterapia y quimioterapia. Se investigó la administración de otros principios activos citotóxicos; sin embargo, no proporcionó un efecto simbiótico o sinérgico de la radioterapia y la quimioterapia. Biston et al., en un intento de optimizar un protocolo de quimio-radioterapia, estudiaron el uso de rayos X de sincrotrón después del tratamiento con cisplatino en ratas con un tipo de glioma F98 radorresistente (Biston M.-C., et al., "Cure of Fisher Rats Bearing Radioresistant F98 Glioma Treated with cis-Platinum and Irradiated with Monochromatic Synchrotron X- Rays", Cancer Research 64, 2317-2323, 2004).

### Sumario de la invención

El objetivo de la presente invención es superar las desventajas mencionadas anteriormente de las preparaciones de última generación y sus métodos de administración en el tratamiento de enfermedades, especialmente en el tratamiento de tumores.

La invención se define por las reivindicaciones. Todos los temas que se hallan fuera del alcance de las reivindicaciones se proporcionan solo para información.

De acuerdo con una realización de la invención, se proporciona una preparación que comprende al menos una sustancia quimioterapéutica o citotóxica para usar en el tratamiento de una enfermedad de un paciente mamífero. Se ha demostrado que la preparación y su método de administración son especialmente ventajosos en el tratamiento del cáncer, especialmente los tumores cerebrales, tales como el glioblastoma. La preparación de acuerdo con la presente invención se administra en un tratamiento que comprende al menos las siguientes etapas:

- transmisión de una dosis de radiación terapéuticamente activa, sustancialmente no citotóxica a un tejido, preferiblemente un tejido tumoral de un paciente, en que la dosis de radiación se adapta para generar al menos una región con daño microscópico en al menos una estructura de pared límite de una porción de suministro del tejido, preferiblemente un vaso sanguíneo; y posteriormente
- administración de la preparación al paciente de modo que la sustancia quimioterapéutica o citotóxica y/o un derivado metabólico de esta alcanza la al menos una región con daño microscópico antes de que la al menos una región con daño microscópico se cure sustancial o completamente mediante la reparación del tejido endógeno. En otras palabras, la presente invención se refiere a una preparación que comprende al menos una sustancia quimioterapéutica o citotóxica para usar en el tratamiento de un tejido tumoral irradiado en una estructura de pared límite de una porción de suministro del tejido tumoral mediante una dosis terapéuticamente activa de radiación de microhaz, como se define en las reivindicaciones.

La al menos una región con daño microscópico en al menos una estructura de pared límite contiene una o más lesiones o defectos microscópicos en el tejido afectado por la radiación. El área dañada corresponde esencialmente a la sección transversal del haz o la suma de los haces dirigidos hacia el tejido al que está destinado la radiación. El tipo de daño celular puede variar de acuerdo con el tipo, dosis y duración de la radiación, así como el tipo de célula. Las lesiones o defectos pueden incluir perforaciones microscópicas de la pared vascular, defectos o perforaciones de las paredes celulares endoteliales, o defectos de las organelas celulares, etc. La dosis de radiación es emitida por una fuente de radiación controlable y es terapéuticamente activa, lo que significa que se refiere al tratamiento médico de la afección. Sin estar limitado por la siguiente explicación, parece que la mayoría de las células afectadas por la radiación solo están dañadas en un grado en el que están esencialmente aún vivas y no muertas directamente por la radiación. La región está dañada hasta el punto de que aumenta la permeabilidad de la sustancia quimioterapéutica y/o citotóxica en el tejido a tratar de tal manera que la sustancia puede traspasar y/o difundir y/o extravasar desde la porción de suministro (por ejemplo, un vaso) a través de la pared límite hasta el tejido que se va a tratar de manera más rápida. y/o más fácil, preferiblemente de manera esencialmente sin impedimentos.

La sustancia quimioterapéutica o citotóxica puede ser, por ejemplo, un complejo de metal noble tal como un agente anticáncer que contiene platino, por ejemplo, seleccionado del grupo de carboplatino, oxaliplatino o cisplatino. La sustancia también puede ser una sal de metal noble y/o un metal noble en forma de nanopartículas individuales, por ejemplo, nanopartículas de oro o plata, preferiblemente en una suspensión coloidal. Otras alternativas son otros compuestos de segunda generación, tales como oxaliplatino, picoplatino, satraplatino, etc.

La preparación preferiblemente contiene sustancias moderadamente citotóxicas. En forma ventajosa, la preparación contiene un agente antineoplásico alquilante, tal como por ejemplo un derivado del agente alquilante dacarbazina, preferiblemente un derivado de imidazotetrazina del agente alquilante dacarbazina o procarbazona (Natulan®). La preparación de acuerdo con una realización especialmente preferida contiene temozolomida. Además, una preparación que contiene uno o más compuestos N-nitrosos, especialmente seleccionados del grupo de nimustina (ACNU), carbomustina (BCNU), lomustina (CCNU) y fotemustina (Muphoran®) también es muy preferida.

La dosis transmitida de radiación de acuerdo con la invención comprende varios haces de sección transversal microscópica, que están adaptados para generar regiones dañadas microscópicamente en la al menos una estructura de pared límite de la porción de suministro del tejido. La radiación comprende preferiblemente varios haces, cuyas secciones transversales forman al menos una matriz o abanico en al menos un plano imaginario dentro del tejido o en la superficie del tejido con cada una de las secciones transversales separadas entre sí en dicho plano.

Una sección transversal de un microhaz puede exhibir una forma arbitral, por ejemplo, forma elíptica o cuadrada. Preferiblemente, es de forma circular o rectangular, es decir, con forma de ranura. En el caso de haces con una sección transversal en forma de ranura, la región dañada exhibe un patrón en capas o cortes, mientras que, en el caso de haces con una sección transversal sustancialmente circular, la región dañada aparece bastante perforada.

- 5 El ancho característico de la sección transversal de un microhaz único, para el propósito de la solicitud actual llamado "ancho de apertura" de un microhaz único, preferiblemente se encuentra en el intervalo de 10 a 100 micrómetros, más preferiblemente de 20 a 50 micrómetros, de máxima preferencia aproximadamente 25 micrómetros.

- 10 De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, se obtiene un procedimiento de irradiación altamente selectivo cuando los ejes paralelos del microhaz están separados por una distancia (distancia entre haces) de 100 a 400 micrómetros, preferiblemente de 150 a 250 micrómetros, y más preferiblemente de 190 a 210 micrómetros.

- 15 Se pueden obtener resultados especialmente buenos cuando la radiación es proporcionada por una fuente de radiación de sincrotrón. En tal caso, el uno o más microhaces se derivan preferiblemente de la radiación de sincrotrón pulsada por refracción, filtrado y colimación, tal como conoce el experto en la técnica. De manera similar, se pueden obtener buenos resultados cuando la radiación es proporcionada por una fuente de radiación láser de rayos X. Con máxima preferencia, se usa un láser de electrones libres (FEL) en tal caso, que de manera similar a un sincrotrón proporciona un espectro de Bremsstrahlung emitido por electrones de velocidad relativista que se mueven libremente a través de una estructura magnética. También en tal caso, el uno o más microhaces se derivan  
20 preferiblemente de la radiación FEL por refracción, filtrado y colimación, tal como conoce el experto en la materia.

- 25 Se puede alcanzar una mayor selectividad del tratamiento de radiación mediante el enfoque de al menos un haz con una sección transversal microscópica, es decir, un microhaz, en el sistema vascular del tumor, es decir, la porción de suministro del tejido tumoral. Mediante el desplazamiento espacial paralelo del eje de al menos un haz o mediante la aplicación de una matriz o una multitud de microhaces con ejes espacialmente fijos, se producen una multitud de lesiones microscópicas dentro de las paredes celulares endoteliales. Estas regiones dañadas aumentan la permeabilidad de la pared siempre que las regiones dañadas queden sin curar.

El efecto localizado de la sustancia se optimiza mediante la administración de la preparación que contiene dicha sustancia al paciente después de la transmisión de la dosis de radiación, preferiblemente por administración intravenosa local. Sin embargo, la administración oral u otras vías de administración también son posibles.

- 30 Con el fin de lograr una conjunción sinérgica especialmente ventajosa del tratamiento de radiación y la administración del fármaco, la preparación se administra al paciente inmediatamente después de que se haya producido la irradiación por la matriz de microhaces, y antes del momento, cuando las regiones de daño microscópicas de la estructura de la pared de la porción de suministro del tejido tumoral están completamente curadas. Más preferiblemente, la administración tiene lugar entre 40 y 300 minutos, e incluso más preferiblemente  
35 entre 45 y 150 minutos después de que la radiación causó la formación de la al menos una región con daño microscópico.

- 40 Los métodos y tiempos de administración pueden variar de acuerdo con la enfermedad por tratar y las sustancias involucradas, y dependen de la cinética de las sustancias comprendidas en la preparación (tiempo hasta que la sustancia alcanza su blanco). El elemento crucial es que la sustancia citotóxica y/o quimioterapéutica alcance el sitio del daño antes de que el daño se cure de manera sustancial o completa. En otras palabras, el fármaco administrado después de la transmisión de la dosis de radiación debe llegar al defecto durante la ventana de tiempo en la cual la al menos una región con daño microscópico todavía está presente (por ejemplo, mientras los poros producidos por los microhaces todavía estén abiertos) y por lo tanto pueden ser penetrados por la sustancia. La reparación generalmente comienza entre 30 minutos y 4 horas después de la irradiación.

- 45 En la "perforación" cuasi simultánea, es decir, el tiempo necesario para producir al menos una o la multitud de regiones de daño es al menos de un orden de magnitud más corto que el lapso de tiempo de su curación, se forma una ventana de tiempo quimioterapéutica en la cual una preparación que lleva al menos una sustancia citotóxica y/o quimioterapéutica alcanza el sitio del daño en forma de regiones de daño microscópicas y una dosis citotóxica de al menos una sustancia quimioterapéutica o citotóxica traspasa desde la porción de suministro a la parte suministrada  
50 del tejido enfermo predominantemente por difusión a través de al menos un defecto microscópico formado en una estructura de pared límite de la porción de suministro de dicho tejido. Con el fin de obtener una alta selectividad y una alta relación del tiempo de curación del defecto y el tiempo necesario para producir las regiones dañadas, la exposición total al haz por una suma de microhaces es preferiblemente menor de 30 segundos, más preferiblemente menor de 3 segundos y con máxima preferencia menor de 1 segundo.

- 55 Además, un pulso de microhaz único en la administración de la dosis de radiación tiene ventajosamente un ancho menor de 1 segundo.

Se puede lograr un efecto especialmente ventajoso mediante la transmisión al paciente de una radiación pulsada colimada en matrices de haces altamente paralelos de sección transversal microscópica, preferiblemente con una

baja divergencia. El enfoque del tejido blanco durante la radiación se puede optimizar mediante el llamado "arco de intensidad modulada", "arco modulado volumétrico", "arco rápido" o mediante "fuego cruzado", en el cual el tejido se irradia mediante rayos que aplican un campo de intensidad de radiación anisotrópica, por ejemplo, por irradiación desde diferentes direcciones.

- 5 En este sentido, también se pueden usar aparatos terapéuticos convencionales, especialmente si se combinan con escáneres de tomografía computada (CT) de rayos X o asistidos por escáneres de imagen de resonancia magnética (MRI) para implementar la presente invención. Sin embargo, la energía total transmitida por la suma de microhaces de acuerdo con una realización preferida adicional de la invención corresponde preferiblemente al intervalo de 100 a 4000 Gray, preferiblemente de 150 a 2000 Gray, más preferiblemente de 190 a 310 Gray.
- 10 La alta selectividad del procedimiento de irradiación se aumenta preferiblemente haciendo uso de un intervalo espectral de la radiación del haz de 33 a 600 keV y más preferiblemente de 50 a 350 keV.

Además, la transmisión de radiación preferiblemente se lleva a cabo con los anchos de apertura de haz de 10 a 100 micrómetros, más preferiblemente 20 a 50 micrómetros y con máxima preferencia 25 micrómetros.

- 15 La presente invención sugiere una combinación simbiótica o sinérgica de radioterapia y administración de fármacos quimioterapéuticos. Contrariamente a la radioterapia convencional, la radiación utilizada esencialmente no actúa de manera citotóxica, en otras palabras, esencialmente no tiene un efecto antiproliferativo sobre el tejido enfermo o tejido tumoral. La radiación de microhaz utilizada de acuerdo con la presente invención produce regiones dañadas de forma transitoria en las paredes vasculares, de modo que el límite, es decir, el tejido tumoral circundante, se vuelve más accesible para el agente aplicado (compuesto) en lugar de ser "asesinado" directamente. Por lo tanto, la radiación en sí misma esencialmente no tiene un efecto letal en el tejido enfermo o tumoral, sin embargo, la permeabilidad de la pared vascular del límite aumenta, lo que permite que la sustancia quimioterapéutica o citotóxica se "difunda" a través de las regiones dañadas a través de la pared del tejido suministrado y despliegue allí su efecto citotóxico. El efecto de la presente invención es sorprendente porque, contrariamente a la radiación utilizada anteriormente con dosis de varios cientos, incluso mil Gray (duplicados en el modo de fuego cruzado), se pueden lograr buenos resultados utilizando dosis de radiación en general de aproximadamente 10-50 veces menor que la terapia de radiación de microhaz (MRT) utilizada hasta ahora para el tratamiento de enfermedades. Al combinar esta forma específica de MRT, utilizando radiación discreta concentrada a dosis más bajas que en las terapias MRT estándar, con la administración de sustancias quimioterapéuticas, se lograron resultados sorprendentemente buenos en términos de regresión tumoral. En particular, se obtuvieron resultados sorprendentemente buenos cuando se pretrató el tejido tumoral con radioterapia convencional a corto plazo antes de administrar la dosis de radiación de acuerdo con la presente invención.
- 20
- 25
- 30

- El intervalo espectral y la intensidad de los microhaces se pueden elegir con respecto al tejido tumoral específico que se va a irradiar, y por lo tanto se pueden usar otros tipos o fuentes de radiación, por ejemplo, fuentes de luz paralelas y altamente colimadas ultravioleta, visible e infrarrojas, por ejemplo, láseres, o haces de partículas tales como alfa, beta, deuterón, protones y iones pesados. El al menos un (micro) haz puede ser, por lo tanto, un haz de partículas, o un haz de luz con un intervalo espectral de luz ultravioleta y/o visible y/o infrarroja o combinaciones de los mismos. En el caso de la luz con un intervalo espectral de rayos X, la fuente de radiación de al menos un haz puede ser un emisor de rayos X; preferiblemente un magnetrón, un tubo de rayos X o un láser de rayos X. La dosis de radiación también puede comprender combinaciones de diferentes tipos de haz.
- 35

- 40 También el régimen de pulsos, el ancho de la abertura del haz, que significa en general el tamaño característico y la forma de la sección transversal del microhaz, así como el patrón de la matriz de haces, es decir, el número de microhaces en la matriz y su espaciado, y las distancias entre los ejes del haz, se deben diseñar para obtener un procedimiento de irradiación selectiva y específica del tejido enfermo o específico del tejido tumoral para cumplir con la aparición de la ventana de tiempo terapéutico de acuerdo con la presente invención.

- 45 La preparación de la presente invención y su método de administración se pueden usar en una amplia variedad de tratamientos. El uso del sistema de administración no solo se limita a la terapia del cáncer, sino que también se puede usar en el tratamiento de otras enfermedades. Mediante este método, también se pueden administrar anticuerpos, vectores, nanopartículas, tales como partículas de otro u otro metal o pellets de liberación o bits a un sitio específico en el cuerpo que se ha preparado para la extravasación de fármacos a través de regiones dañadas por irradiación localizada específicamente.
- 50

Otras realizaciones de la invención se establecen en las reivindicaciones dependientes.

### Breve descripción de los dibujos

- Las realizaciones preferidas de la invención se describen a continuación con referencia a los dibujos, que tienen el propósito de ilustrar las realizaciones preferidas de la presente invención y no con el propósito de limitar la misma. En los dibujos,
- 55

Fig. 1a muestra un montaje esquemático posible para el procedimiento de irradiación de la matriz de microhaz de acuerdo con una primera realización de la presente invención en la que los

microhaces tienen secciones transversales tipo ranura;

- Fig. 1 b representa la aparición de un patrón de capas o cortes de las regiones dañadas microscópicas producidas por la irradiación del microhaz en la estructura de la pared de la porción de suministro del tejido tumoral de acuerdo con la primera realización mostrada en la Figura 1 a;
- 5 Fig. 2a muestra un montaje esquemático posible para el procedimiento de irradiación de la matriz de microhaz de acuerdo con una segunda realización de la presente invención en la que los microhaces tienen secciones transversales relativamente circulares;
- Fig. 2b representa la aparición de un patrón perforado de las regiones dañadas microscópicas producidas por la irradiación del microhaz en la estructura de la pared de la porción de suministro del tejido tumoral de acuerdo con la segunda realización mostrada en la Figura 2a;
- 10 Fig. 3 Ilustra la permeabilidad aumentada de la membrana corioalantoica de pollo normal (CAM) que se irradia como un modelo de tejido para simular la estructura de la pared vascular en la porción de suministro de un tumor (FITC-dextrano MW 2.000.000 como marcador verde fluorescente, usando un microscopio LEITZ DM RBE);
- 15 Fig. 4 muestra una representación esquemática de la permeabilidad vascular con el tiempo después de la irradiación;
- Figuras 5-7 ilustran la permeabilidad vascular en un modelo de ratón U-87 MG de glioblastoma, donde
- Fig. 5 ilustra una comparación del grado de extravasación de CD-31 o FITC-dextrano, respectivamente, entre una muestra tratada con MR y un grupo control; y
- 20 Fig. 6 muestra una comparación esquemática del índice de permeabilidad (relación) en muestras tratadas con radiación de microhaz (MRT) versus un grupo control;
- Fig. 7 muestra una ultraestructura del vaso tumoral de tumores tratados versus un grupo control (microscopía de electrónica de transmisión, CM 12);
- 25 Fig. 8a representa una comparación esquemática de los volúmenes tumorales entre animales tratados de modo diferente (xenoinjertos de glioblastoma humano U-87 MG en ratones desnudos Balb/c) después de un tratamiento quimioterapéutico único con cisplatino; después del tratamiento con irradiación sola, por irradiación seguida de cisplatino de acuerdo con una realización preferida de la presente invención, y un grupo control;
- 30 Fig. 8b muestra imágenes de resonancia de spin magnético s (xenoinjertos de glioblastoma humano U-87 MG en ratones desnudos Balb/c) después de un tratamiento quimioterapéutico único con cisplatino; después del tratamiento con irradiación sola, por irradiación seguida de cisplatino de acuerdo con una realización preferida de la presente invención, y un grupo control.

#### Descripción de las realizaciones preferidas

- 35 La fuente del haz primario utilizado para el procedimiento de irradiación debería poder proporcionar las altas tasas de dosis requeridas. Por lo tanto, se prefieren las fuentes de radiación de sincrotrón, como la Fuente de Luz de Sincrotrón Nacional (NSLS) en los Estados Unidos, la Instalación Europea de Radiación de Sincrotrón (ESRF) en Grenoble, Francia, y otras de la lista publicada en <http://www.lightsources.org/regions>. Las fuentes alternativas son la radiación emitida desde un láser de electrones libres, especialmente un láser de rayos X, tal como el XFEL del DESY, el Sincrotrón Electrónico Alemán en Hamburgo, Alemania, o el SwissFEL del Instituto Paul Scherrer en Villigen, Suiza u otros de la lista publicada en [http://sbfel3.ucsb.edu/www/vl\\_fel.html](http://sbfel3.ucsb.edu/www/vl_fel.html). Pero como los dispositivos más compactos similares a los de los aparatos de radioterapia convencionales pueden ser ventajosos, también
- 40 Bremsstrahlung, la radiación derivada de la desaceleración de partículas o fuentes de haz de partículas directas, tal como, por ejemplo, en el sistema de radiación de microhaz (MR) propuesto en la solicitud de patente US
- 45 US2010329413 A1, son adecuados para la realización de la invención.

En la Figura 1a, se muestra un montaje típico para el procedimiento de radiación de microhaz (MR) de acuerdo con una realización preferida de la presente invención. El haz primario 1 se desvía hacia la dirección del tejido biológico, por ejemplo, el tejido tumoral 4 para tratar. Por medio de un dispositivo colimador 2, se genera un paquete de microhaces 3 con ejes de haz paralelos, donde los haces presentan secciones transversales en forma de ranura. De esta manera, las secciones transversales de microhaces forman una matriz 9 en forma de abanico en al menos un plano imaginario 8 que está configurado como un plano en sección a través del tejido o en la superficie del tejido. Las secciones transversales están separadas entre sí. Como se representa en la Figura 1a, es preferible que las secciones transversales estén igualmente espaciadas en la matriz en forma de abanico 9. De acuerdo con el montaje mostrado en la Figura 1a, la matriz 9 se enfoca en la estructura de la pared de la porción de suministro de el

50

tejido 5. La estructura de pared 5 separa la porción de suministro 6 del tejido tumoral 4 de la porción suministrada 7 del tejido tumoral 4. Por medio de la interacción de la matriz 9 del paquete de microhaces 3 con la estructura de pared 5, se forman regiones de daño microscópicas en la pared que causan un aumento de la permeabilidad de la pared desde la porción de suministro 6 a la porción suministrada 7 del tejido 4. En la Figura 2a, se muestra otro montaje típico para el procedimiento de radiación de microhaz (MR) de acuerdo con una segunda realización preferida de la presente invención. Nuevamente, el haz primario 1 se desvía hacia la dirección del tejido tumoral 4 para tratar. Aquí, por medio de un dispositivo colimador 2', se genera un paquete de microhaces 3' que exhiben ejes de haz paralelos. De esta manera, las secciones transversales del microhaz forman una matriz 9' en al menos un plano imaginario 8. Aquí, las secciones transversales del haz están separadas entre sí en las dos dimensiones del plano 8. De nuevo, es preferible que las secciones transversales estén igualmente espaciadas en la matriz 9' y que la matriz 9' esté enfocada en la estructura de la pared de la porción de suministro del tejido 5. De nuevo, se forman regiones de daño microscópicas en la pared que causan un aumento de la permeabilidad de la pared desde la porción de suministro 6 a la porción suministrada 7 del tejido 4. Al contrario de la primera realización de acuerdo con las Figuras 1a y 1b, la segunda realización preferida de acuerdo con las Figuras 2a, 2b de la presente invención lleva a un procedimiento de irradiación más bien de perforación que e corte de la estructura de pared 5 de los microhaces colimados 3'.

La opción de cortar (por la matriz en forma de abanico 9 de microhaces de acuerdo con la primera realización preferida) o, más bien, perforar la irradiación de microhaz por la matriz 9' de acuerdo con la segunda realización) se puede usar para controlar o variar la profundidad y/o el ancho de la penetración en el tejido 4. La aparición de las regiones de daño 10 y 10' se ilustra en las Figuras 1b y 2b, respectivamente. Por lo tanto, posterior al procedimiento de MR y antes del momento, cuando las regiones de daño microscópicas 10, 10' en la estructura de pared 5 de la porción de suministro del tejido tumoral se curan completamente, se administra una preparación que lleva sustancias citotóxicas 11 a la porción de suministro 6. La preparación se hace preferiblemente de manera convencional, típicamente en solución salina estéril, libre de pirógenos, y típicamente para inyección intravenosa, como es sabido por el experto en la materia.

A medida que se administra la preparación, una dosis letal de las sustancias citotóxicas 11 transpermea de la porción de suministro 6 a través de las regiones de daño microscópicas 10, 10' a la porción suministrada 7 del tejido 4 que se va a intoxicar.

#### **Ejemplo 1:**

Las membranas corioalantoicas de pollos (CAM) se irradiaron en la línea de haz biomédica de la Instalación Europea de Radiación de Sincrotrón (ESRF). Aquí, la fuente del ondulator "ID17" tiene su energía crítica a 33 keV, con el espectro entero que se extiende a más de 350 keV. Se requiere un espectro filtrado de haz blanco para lograr tasas de dosis muy altas de hasta 80 Gray/s/mA. El filtrado de carbono de 1,5 mm, aluminio de 1,5 mm y cobre de 1 mm permite cortar el espectro de baja energía de la radiación del sincrotrón por debajo de aproximadamente 50 keV. La fuente del ondulator proporciona, a una distancia de 34 m del anillo de almacenamiento, un haz primario de hasta aproximadamente 20 mm de ancho y 0,5 mm de altura. La producción de microhaces con anchos de apertura de 25 micrómetros, con un espaciado de centro a centro de 200 micrómetros para el ancho completo del haz de tamaño de mitad del máximo, se realizó mediante el uso del colimador multi-ranura variable Archer, que administra, después del pasaje a través de 16 mm de aluminio, valores de dosis pico de entrada en el intervalo de arios cientos de Gray a una tasa de dosis típica de aprox. 40 Grays/seg/mA. El paquete tipo abanico de aproximadamente 10 mm x 10 mm de ancho o matriz de 50 microhaces se aplicó para irradiar CAM en una placa de Petri, se escanea verticalmente más de 1 cm, comenzando 1 mm por encima del fondo de la placa de Petri, lo que cubre más de la altura del CAM completo. Como tal, las dosis superficiales en la entrada de la placa de Petri fueron 100 Gray, lo que representa una dosis de aproximadamente 2 Gray por microhaz. Se colocó una película radiocrómica GafChromic tipo HD-8ID (1SP Corporation, Wayne, New Jersey 07470 USA) sobre la superficie de la CAM antes de la irradiación durante un segundo.

El aumento de permeabilidad vascular de la membrana producido, que es un modelo biológico para la estructura de la pared de la porción de suministro del tejido para tratar, se ilustra en la Figura 3.

La figura 3 muestra la permeabilidad cuarenta y cinco minutos después del tratamiento con MR y después del tratamiento con factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que estimula a las células a construir nuevos vasos, es decir, angiogénesis. La Figura 4 muestra que la permeabilidad vascular aumenta en el período entre 15 minutos y 240 minutos después del procedimiento de MRRM, mientras que la permeabilidad aumenta drásticamente entre 40 y 150 minutos después de que el procedimiento de MR ha iniciado la formación de regiones de daño vascular. Esto se demuestra en las Figuras 3a y 3b. En la Figura 3a, la extravasación de la fluoresceína-isotiocianato-(FITC)-dextrano produce halos verde-fluorescentes en el área irradiada por la matriz de microhaces según se indica en la película radiocrómica. Las perlas de rodamina de un diámetro característico de 100 nanómetros, sin embargo, no se difunden en el tejido circundante y permanecen fijas como puntos fluorescentes rojos a lo largo de las líneas de propagación del microhaz, como se muestra en la Figura 3b.

Las Figuras 3d y 3e son micrografías con un mayor aumento, respectivamente, de las partes izquierda y derecha de la región representada en la figura 3c. Las Figuras 3c y 3d muestran que en el sitio de aplicación del cubreobjetos

Thermanox tratado con VEGF (indicado por asteriscos en el lado izquierdo de las figuras 3c-d), la permeabilidad vascular aumenta más rápido, es decir, ya a 20 a 25 minutos después del tratamiento MR, como lo demuestran las extravasaciones de FITC-dextrano (algunas indicadas por las flechas en la Figura 3c y 3d). Mientras que en la zona sin tratamiento con VEGF (se muestra en la parte derecha de la Figura 3c y su versión con mayor aumento en la Figura 3e), no se ha detectado ningún aumento adicional en la permeabilidad vascular.

Además, no se observó extravasación del compuesto verde fluorescente FITC-dextrano 2'000'000 en los tumores de control (ver las Figuras 5a y 5b), ya que no había defectos de radiación presentes, que podrían haber permitido la extravasación, mientras que en la zona tratada con MR (ver Figuras 5c y 5d), es visible un halo transparente de fluorescencia verde debido a dicha extravasación a través de las regiones de daño microscópicas. Aquí, el tejido tumoral tratado con MR (Figura 5c) y los vasos sanguíneos en control (Figura 5a) teñidos con la molécula 1 de adhesión de células endoteliales plaquetarias (CD-31) son fluorescentes rojas y el FITC-dextrano intravascular en 5b y FITC-dextrano extravasado 5d es verde (Figura 5d y 5b), respectivamente.

Además, la Figura 6 proporciona la cuantificación de la permeabilidad vascular en controles y tumores tratados con MR como una relación del área fluorescente de FITC-dextrano extravasado por área de vaso.

La Figura 7 muestra una ultraestructura de un vaso tumoral (microscopio electrónico de transmisión CM 12). Esto revela una morfología normal en los tejidos de control como se muestra en la Figura 7a y su mayor aumento del área seleccionada en la Figura 7b) sin extravasación de FITC-dextrano (puntos oscuros intraluminales, indicados por flechas). A la inversa, en los tumores tratados que se muestran en la Figura 7c y en su mayor aumento del área seleccionada en la Figura 7d), se observó una extravasación de la sonda fluorescente como puntos oscuros (flechas) en el espacio extravascular. Aquí, los signos "E" representan endotelios alterados que contienen múltiples vacuolas de diferentes tamaños (indicados por asteriscos) y los símbolos "Er" indican la presencia de eritrocitos.

La eficiencia del presente método es más evidente cuando se comparan los volúmenes de tumores como se muestra en la Figura 8a y las imágenes de resonancia de spin magnético de los tumores mostrados en la Figura 8b. En el grupo de tratamiento doble (DT) (columna del extremo derecho de cada grupo) que se ha tratado mediante la administración de cisplatino (Cis) después del procedimiento de MR, cuando se usa la ventana quimioterapéutica del aumento de la permeabilidad vascular (comparar con la Figura 4), el tamaño del tumor mostró una disminución progresiva y significativa después del tratamiento. Además del crecimiento descontrolado de los tumores de control (Co) (columna del extremo izquierdo de cada grupo hasta el día 24, sin relleno), las etapas terapéuticas individuales de solo cisplatino (Cis) (segunda columna de la izquierda en cada grupo hasta el día 24, columna del extremo izquierdo para los días 27 y 31) o solo irradiación (IRR) según el tratamiento de MR (La segunda columna de la derecha en cada grupo hasta el día 24, columna media para los días 27 y 31), mostró un aumento gradual en el tamaño. En consecuencia, las imágenes MR anatómicas de cero a 27 días después del tratamiento mostró una significativa disminución de tamaño en los tumores que han recibido el tratamiento simbiótico de acuerdo con el presente método de la invención cuando se comparan con los otros grupos experimentales.

## Ejemplo 2:

En este ejemplo, las CAM se irradiaron en la línea de luz biomédica de ESRF. La generación y la preparación de los microhaces se produjeron básicamente de la misma manera que se describe en el Ejemplo 1 de acuerdo con una segunda realización preferida con la sección transversal sustancialmente circular de cada microhaz. Sin embargo, la diferencia aquí es que, detrás del colimador multi-ranura, se colocó un segundo colimador (tal como un colimador multi-ranura variable Archer) en la trayectoria de la primera matriz de microhaces formada por el primer colimador. Las ranuras del colimador adicional se giraron 90 grados para cortar los microhaces que salen del primer colimador en una matriz de 50 x 50 haces con anchos de apertura y alturas de 25 micrómetros y un espacio de centro a centro de 200 micrómetros para el ancho completo de los haces de tamaño de mitad del máximo

La matriz de aproximadamente 10 mm x 10 mm de 50 x 50 microhaces se aplicó para irradiar CAM en una placa de Petri. Una película radiocrómica GafChromic tipo HD-81 D (ISP Corporation, Wayne, New Jersey, 07470 USA) se colocó sobre la superficie de la CAM antes de la irradiación durante un segundo. Debido al corte de la primera matriz de microhaces en forma de abanico en la matriz de 50 x 50 haces, las dosis superficiales aproximadas en la entrada de la placa de Petri fueron de 12 a 25 Gray, lo que representa una dosis de microhaz única de aproximadamente 0,25 a 0,52 Gray.

Como resultado, el grado de aumento de la permeabilidad vascular es similar al mostrado en la Figura 3 para el Ejemplo 1. Pero en el Ejemplo 2, la irradiación más bien perfora el tejido. Por lo tanto, el nivel de exposición del tejido irradiado es incluso menos letal y da como resultado una ventana quimioterapéutica mucho más estrecha (en comparación con la Figura 4). Incluso cuando se administra Cisplatino (Cis) dentro de los 30 minutos a 1 hora después de la irradiación, el tamaño del tumor de glioblastoma muestra una disminución progresiva y significativa después del tratamiento.

Además, este ejemplo muestra que la segunda realización preferida de la irradiación por la matriz de haces es especialmente ventajosa para el tratamiento de tumores de tejido pulmonar, ya que los tumores de pulmón son más comúnmente carcinomas que se derivan de células epiteliales, que son menos dependientes del crecimiento

endotelial, como en el caso de los glioblastomas. Por lo tanto, la perforación menos letal pero punzante en el tratamiento de los tumores de pulmón, especialmente mediante el fuego cruzado, da como resultado un método de tratamiento preferible.

**Ejemplo 3:**

5 De acuerdo con una tercera realización preferida, las CAM se irradiaron en la línea de luz biomédica de ESRF solo después de que el tejido se irradió mediante un aparato radioterapéutico convencional (por ejemplo, el Arco Rápido mediante VARIAN usando un colimador dinámico de hojas múltiples para proporcionar una tasa de dosis variable y velocidad de pórtico variable). La administración homogénea de irradiación de 6 MeV a 10 MeV durante 2 a 10 min, lo que da como resultado 4 Gray para la radiación filtrada a 20 Gray para la radiación sin filtro al tejido, parece inducir un tejido perfectamente intacto, pero "en hibernación". En otras palabras, la capacidad para el crecimiento endotelial vascular se reduce drásticamente. La irradiación del tejido en hibernación luego con la matriz de microhaces en forma de abanico de acuerdo con el Ejemplo 1 o con la matriz de microhaces de acuerdo con el Ejemplo 2, en el caso de CAM, se extiende la ventana de mayor permeabilidad vascular.

**Ejemplo 4:**

15 El montaje experimental y el procedimiento del Ejemplo 1 también se aplicaron para estudiar el efecto de la presente invención sobre el tejido pulmonar maligno en un modelo de ratón de carcinoma de pulmón, en cuyo caso el crecimiento del tumor deriva principalmente de las células epiteliales. El tratamiento combinado aplicado redujo drásticamente el crecimiento del tumor y aumentó la tasa de supervivencia del animal, sorprendentemente sin la aparición de fibrosis pulmonar, lo que es un resultado único en comparación con otros tipos de tratamiento.

20 El uso de la sustancia en dicho método y sus ejemplos de una realización preferida tal como se describió anteriormente, da como resultado un tratamiento más efectivo del tejido tumoral. El método de administración se puede usar, por ejemplo, en el tratamiento del cáncer en seres humanos que tienen, por ejemplo, tumores cerebrales o pulmonares, y posiblemente incluso en terapia de radiación intraoperatoria. También se prevé que la sustancia de acuerdo con la invención y su método de administración se pueden usar para la investigación del cáncer en modelos animales. La estrategia de administración de principios activos, que tiene un amplio espectro de aplicaciones, se podría aplicar, por ejemplo, al tratamiento de diferentes procesos patológicos en diferentes órganos, por ejemplo, tumores del cerebro, especialmente de glioblastoma, del pulmón o de la médula espinal, mediante el uso de diferentes compuestos, tales como nanopartículas, preferiblemente partículas metálicas nobles, por ejemplo, nanopartículas de oro, agentes quimioterapéuticos moderadamente tóxicos, así como anticuerpos y vectores, etc.

30 Lista de signos de referencia

- 1 haz primario
- 2,2' dispositivo colimador
- 3,3' paquete de microhaces
- 4 tejido tumoral
- 35 5 estructura de pared
- 6 porción de suministro de 4
- 7 porción suministrada de 4
- 8 plano imaginario
- 9,9' matriz de 3 o 3', respectivamente
- 40 10,10' regiones de daño (microscópicos), defectos producidos por la irradiación
- 11 preparación que lleva las sustancias citotóxicas

**REIVINDICACIONES**

1. Una preparación que comprende al menos una sustancia quimioterapéutica o citotóxica para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero, **caracterizada porque** el tratamiento comprende al menos las siguientes etapas:
  - 5                   - transmisión de una dosis sustancialmente no citotóxica de radiación de microhaz a un tejido tumoral de un paciente, en la que la dosis de radiación de microhaz comprende varios haces de una sección transversal microscópica y está adaptada para generar al menos una región con daño microscópico que comprende una lesión en al menos una estructura de la pared límite de una porción de suministro del tejido tumoral, la porción de suministro es un vaso sanguíneo;
  - 10                  - administración de la preparación al paciente después de la transmisión de la dosis de radiación de microhaz, de modo que la sustancia quimioterapéutica o citotóxica y/o un derivado metabólico de esta alcanza la al menos una región con daño microscópico antes que la al menos una región con daño microscópico esté completamente curada por la reparación de tejido endógeno.
2. La preparación para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la preparación es para usar en el tratamiento de tumores cerebrales de un paciente mamífero, especialmente glioblastoma, o en el tratamiento de tumores pulmonares.
3. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** la sustancia quimioterapéutica o citotóxica es un agente anticáncer que contiene platino, preferiblemente seleccionado del grupo de carboplatino, oxaliplatino o cisplatino.
4. La preparación para usar e el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** la preparación contiene un agente antineoplásico alquilante, preferiblemente un derivado del agente alquilante dacarbazina, más preferiblemente un derivado de imidazotetrazina del agente alquilante dacarbazina, o que la sustancia quimioterapéutica o citotóxica contenga o sea temozolomida.
5. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** la radiación de microhaz comprende varios haces, cuyas secciones transversales forman al menos una matriz o abanico en al menos un plano imaginario dentro del tejido o en la superficie del tejido con cada una de las secciones transversales separadas entre sí en dicho plano.
6. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** la radiación de microhaz comprende al menos un haz de partículas y/o al menos un haz de luz, preferiblemente con un intervalo espectral de rayos X.
7. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** la radiación de microhaz es provista por una fuente de radiación de sincrotrón.
8. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** después de la administración, la sustancia quimioterapéutica o citotóxica administrada traspasa a la porción suministrada de dicho tejido, principalmente por difusión desde la porción de suministro del tejido a una porción suministrada del tejido por medio de la al menos una región con daño microscópico formada en una estructura de la pared límite de dicho tejido.
9. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** la preparación se administra al paciente por administración intravenosa local.
10. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** la preparación se administra al paciente entre 40 y 300 minutos después de la radiación de microhaz, preferiblemente entre 45 y 150 minutos después de la radiación de microhaz.
11. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** durante la administración de la dosis de radiación de microhaz, una exposición total al haz mediante una suma de microhaces es menor de 30 segundos, preferiblemente menor de 3 segundos, más preferiblemente menor de 1 segundo.
12. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con la

reivindicación 5, **caracterizada porque** un pulso de microhaz único en la administración de la dosis de radiación tiene un ancho menor de 1 segundo.

- 5
13. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la dosis de radiación de microhaz comprende radiación pulsada corta colimada en matrices de haces altamente paralelos de sección transversal microscópica, preferiblemente con una baja divergencia.
- 10
14. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11-13, **caracterizada porque** la energía total transmitida por la suma de microhaces en la administración de la dosis de radiación de microhaz corresponde al intervalo de 100 a 4000 Gray, preferiblemente 150 a 2000 Gray, más preferiblemente 190 a 310 Gray.
- 15
15. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11-14, **caracterizada porque** en la administración de la dosis de radiación, los microhaces tienen ejes paralelos que están separados por una distancia entre haces de 100 a 400 micrómetros, preferiblemente 150 a 250 micrómetros, más preferiblemente 190 a 210 micrómetros.
- 15
16. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada porque** en la administración de la dosis de radiación de microhaz se usa un intervalo espectral de 33 a 600 keV y más preferiblemente 50 a 350 keV.
- 20
17. La preparación para usar en el tratamiento de cáncer de un paciente mamífero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11-16, **caracterizada porque** en la administración de la dosis de radiación de microhaz, un ancho de apertura de un microhaz único se halla en el intervalo de 10 a 100 micrómetros, preferiblemente 20 a 50 micrómetros, más preferiblemente aproximadamente 25 micrómetros.
- 25
18. Una preparación que comprende al menos una sustancia quimioterapéutica o citotóxica para usar en el tratamiento de un tejido tumoral de un paciente mamífero irradiado en una estructura de pared límite de una porción de suministro del tejido tumoral por una dosis terapéuticamente activa sustancialmente no citotóxica de radiación de microhaz, en la que la dosis de radiación de microhaz comprende varios haces de una sección transversal microscópica y está adaptada para generar al menos una región con daño microscópico que comprende una lesión en al menos una estructura de pared límite de una porción de suministro del tejido tumoral, la porción de suministro es un vaso sanguíneo, y en la que la sustancia quimioterapéutica o citotóxica y/o un derivado metabólico de esta alcanza la al menos una región con daño microscópico antes de que la al menos una región con daño microscópico esté completamente curada por la reparación del tejido endógeno.
- 30
19. La preparación de la reivindicación 18, para usar en el tratamiento de un tejido tumoral irradiado de un paciente mamífero, preferiblemente de un tejido tumoral irradiado de tumores cerebrales, en especial glioblastoma, o de tumores pulmonares, **caracterizada porque** el tejido tumoral irradiado comprende al menos una región con daño microscópico que comprende una lesión en al menos una estructura de pared límite de un vaso sanguíneo del tejido tumoral producida por la transmisión de una dosis sustancialmente no citotóxica de radiación de microhaz, en la que la al menos una región con daño microscópico no está aún completamente curada por la reparación de tejido endógeno en el momento del tratamiento.
- 35
20. La preparación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 18-19 para usar en el tratamiento de un tejido tumoral irradiado, **caracterizada porque** el tejido tumoral irradiado comprende al menos un defecto microscópico causado por la radiación de microhaz, preferiblemente provisto por una fuente de radiación de sincrotrón, la radiación de microhaz que comprende varios haces de una sección transversal microscópica y/o por una radiación de microhaz que comprende varios haces cuyas secciones transversales forman al menos una matriz o abanico en al menos un plano imaginario dentro del tejido o en la superficie del tejido
- 40
- 45
- con cada una de las secciones transversales separadas entre sí en dicho plano.

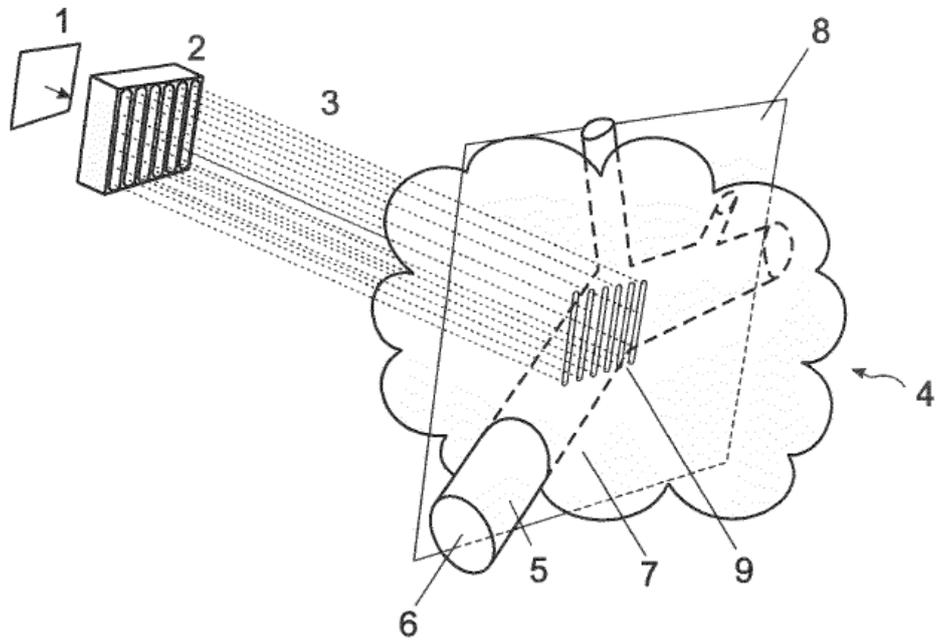


FIG. 1a

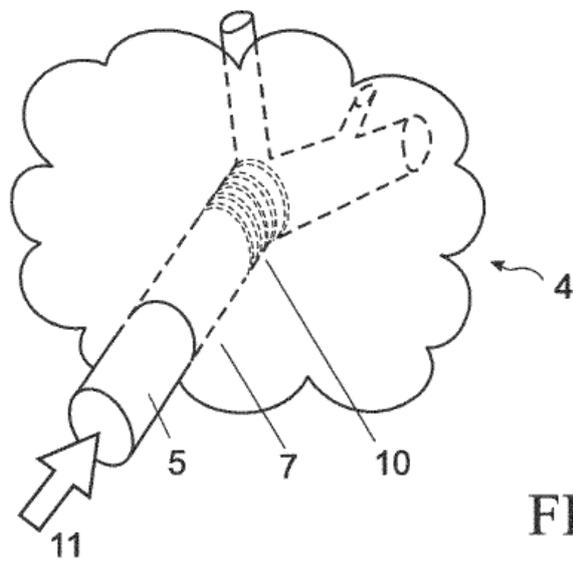


FIG. 1b

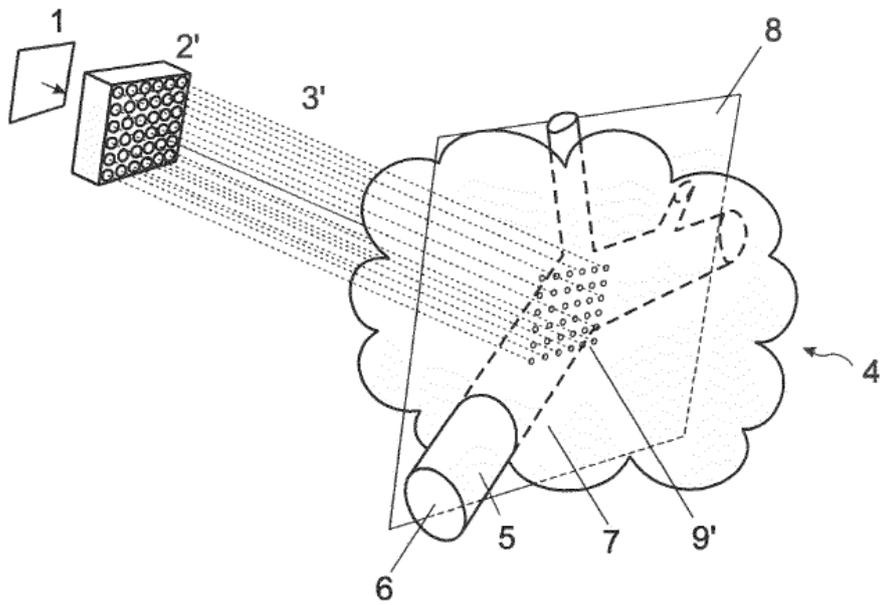


FIG. 2a

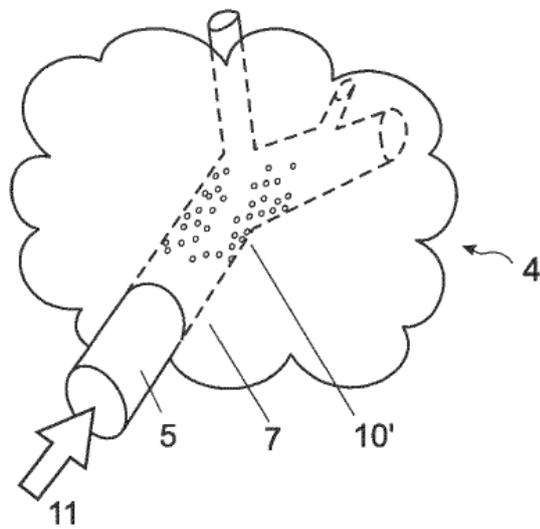


FIG. 2b

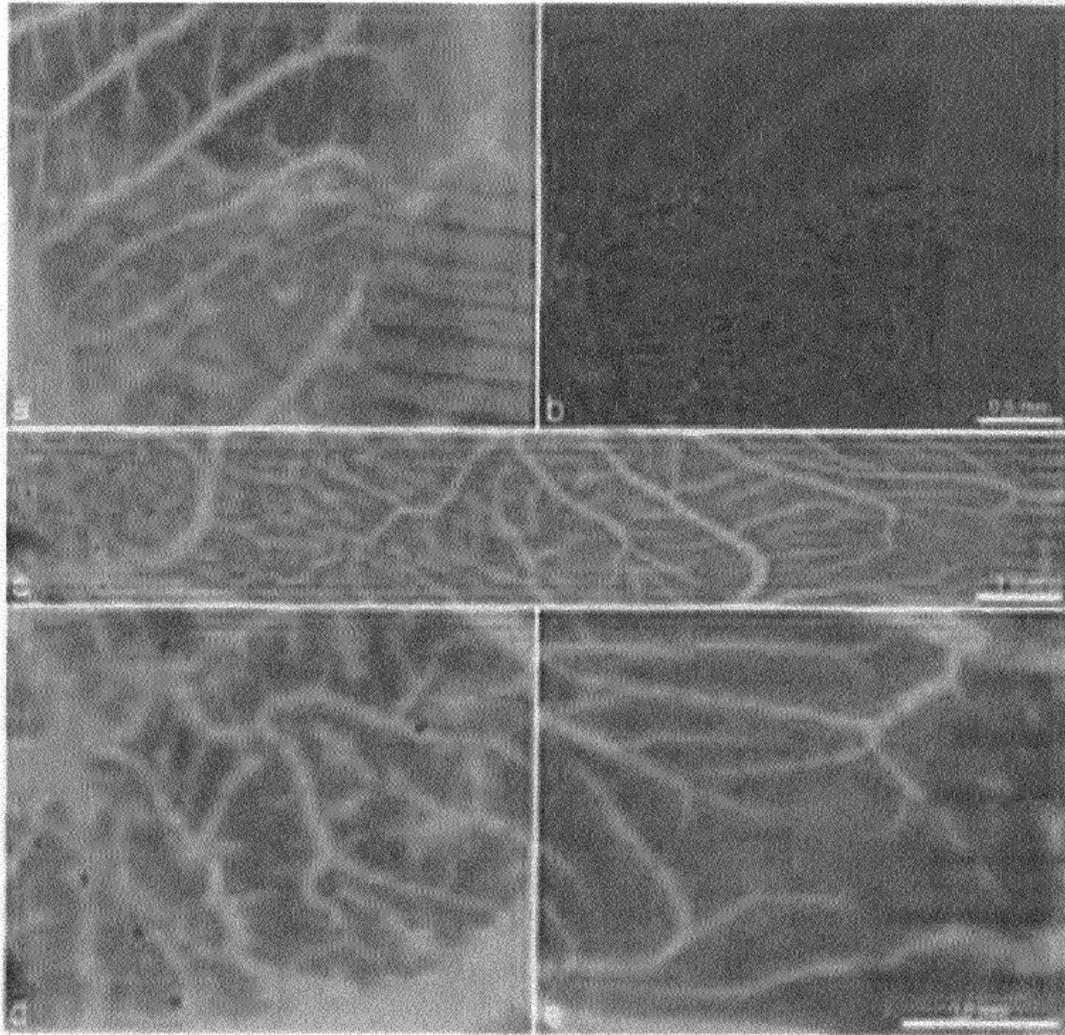


FIG. 3

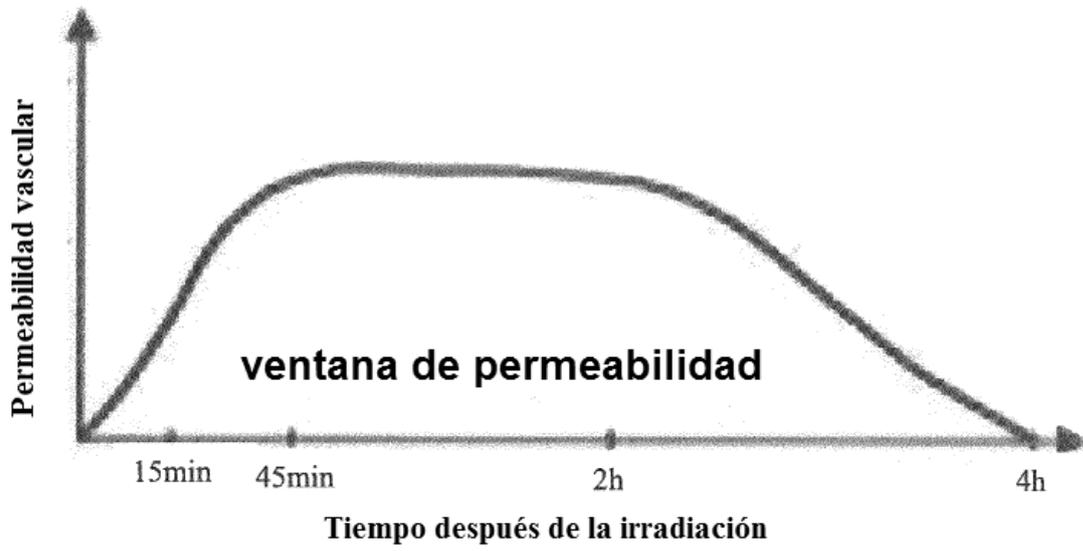


FIG. 4

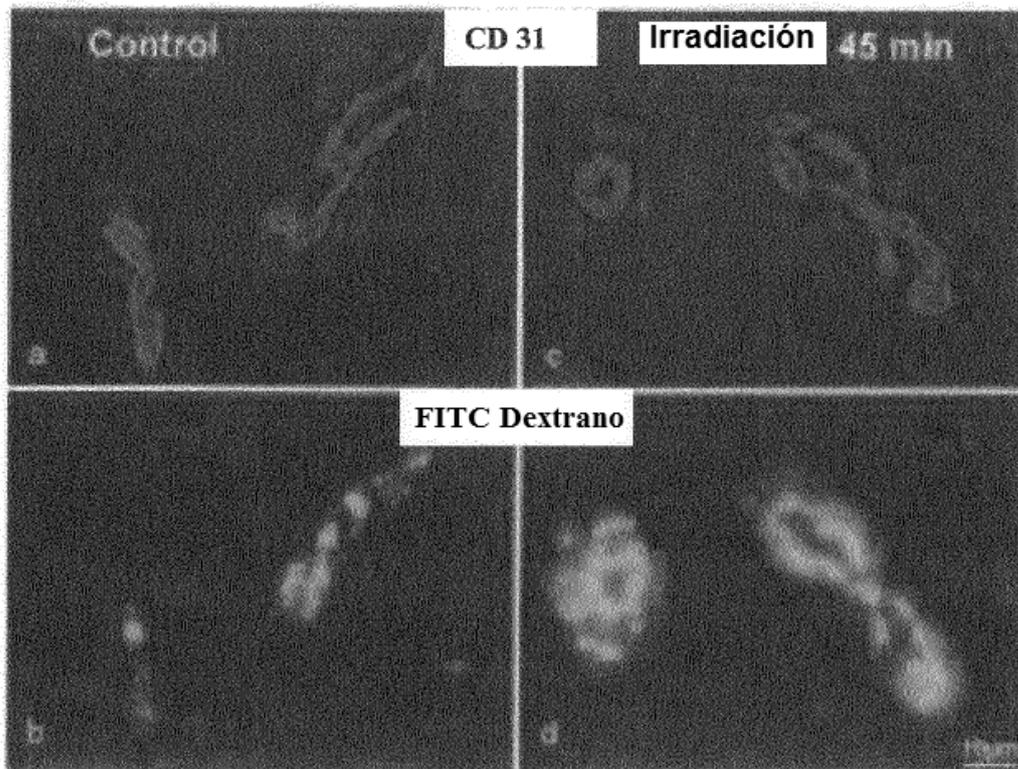


FIG. 5

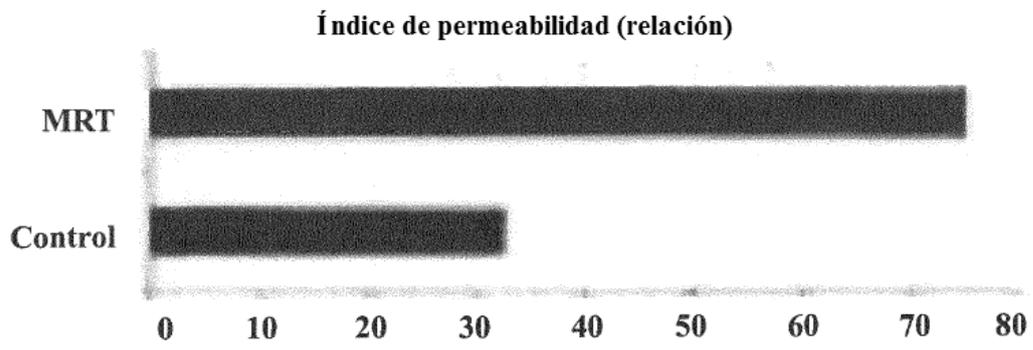


FIG. 6

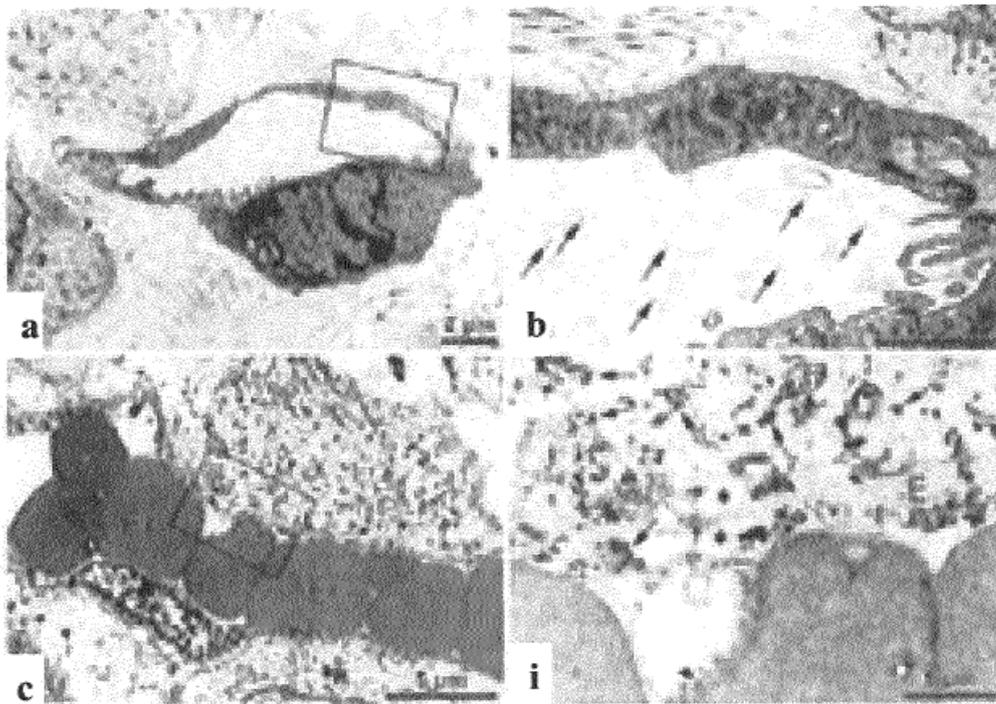


FIG. 7

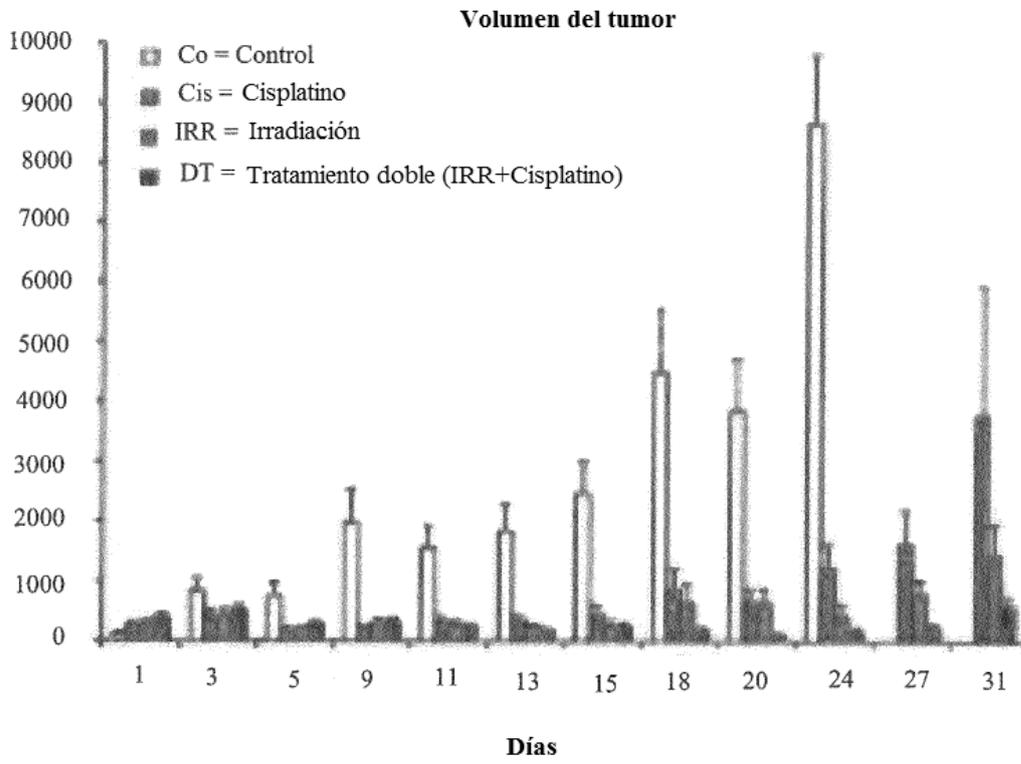


FIG. 8a

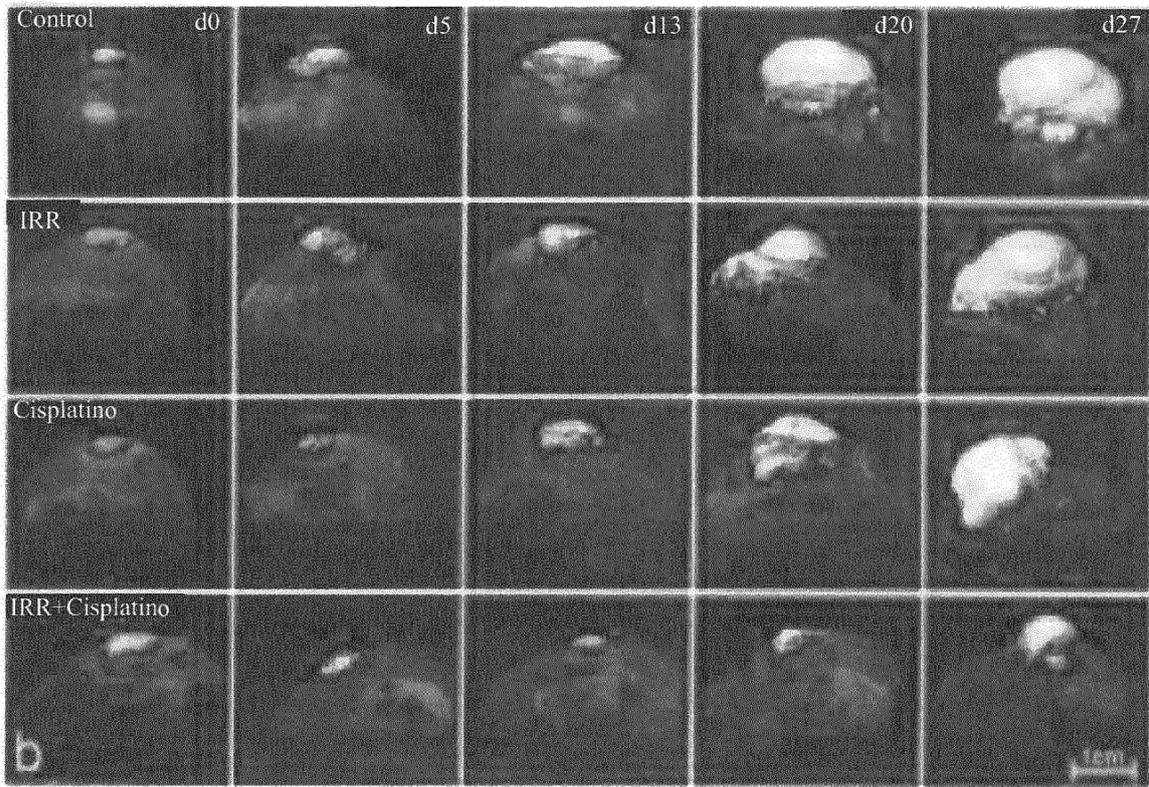


FIG. 8b