

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 576**

51 Int. Cl.:

A61B 5/055 (2006.01)

G01R 33/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.09.2010 PCT/GB2010/051466**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.03.2011 WO11027165**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.09.2010 E 10752615 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2464286**

54 Título: **Método mejorado para determinar función metabólica**

30 Prioridad:

04.09.2009 GB 0915464

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

17.10.2019

73 Titular/es:

**AURUM BIOSCIENCES LIMITED (100.0%)
20-23 Woodside Place
Glasgow G3 7QF, GB**

72 Inventor/es:

**SANTOSH, CELESTINE;
HOLMES, WILLIAM y
LOPEZ, ROSARIO**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 727 576 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

Método mejorado para determinar función metabólica

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método mejorado para determinar función metabólica de un organismo.

10

Antecedente de la invención

El concepto de la penumbra isquémica tiene en la actualidad más de 20 años. A continuación de la oclusión de una arteria cerebral algunos de los tejidos cerebrales suministrados por el vaso mueren debido a hipoxia/anoxia pero algunos tejidos tienen una capacidad de recuperarse con tratamiento apropiado. Astrup define, en primer lugar, la penumbra isquémica en 1981 como tejido cerebral perfundido a un nivel dentro de los límites de deterioro funcional e integridad morfológica, que tiene la capacidad de recuperarse si se mejora la perfusión. Esto sucede debido a la falta de capacidad de células para producir ATP (energía) lo que conduce a disfunción celular y luego, a muerte celular. Por lo tanto, cualquier técnica demostrativa de metabolismo activo en los tejidos afectados sería capaz de detectar la penumbra.

15

20

El documento "Brain metabolite concentration estimates using Magnetic Resonance Spectroscopy in a chronic model of temporal lobe epilepsy" de Cudalbu et al. divulga la adquisición de datos de MRI antes y después de una intervención y la comparación posterior para determinar cantidades relativas de lactato.

25

Resumen de la invención

La invención que se describirá más particularmente a continuación en la presente utiliza en un aspecto diagnóstico por imágenes de MRI con contraste *in-vivo* utilizando una técnica nueva de diagnóstico por imágenes de diferenciación de lactato (LDI), en conjunto con una exposición de oxígeno, para proporcionar imágenes para la evaluación de las respuestas metabólicas de tejido durante un periodo de tiempo. Hasta el momento, el valor de cuantificación de distribución de lactato celular en un período de tiempo medido no se ha reconocido como un indicador de función metabólica. De manera sorprendente, el trabajo actual ha demostrado que áreas de tejido viable que se encuentran en riesgo de sufrir daño irreversible pueden identificarse rápidamente y localizarse con un alto grado de precisión mediante la medición de concentración de lactato durante un período de tiempo definido. Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto de la invención, una evaluación de lactato preliminar de un tejido diana proporciona una indicación de actividad metabólica en el tejido.

30

35

De acuerdo con un aspecto adicional, la evaluación de lactato propuesta se combina además con una exposición de oxígeno. Este enfoque permite la discriminación de uso de lactato durante un período de tiempo de evaluación de metabolismo tisular que no resulta posible usando las técnicas publicadas hasta el momento. Por ende, el uso de oxígeno según se contempla en la presente con diagnóstico por imágenes de MRI puede utilizarse como un indicador de tejido viable, que ofrece beneficios en la administración y tratamiento de los efectos de muchas enfermedades comunes, en particular, accidente cerebrovascular.

40

45

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un método de diagnóstico por imágenes de una función metabólica en un área diana de un organismo usando imágenes de resonancia magnética (MRI) con contraste, comprendiendo el método las etapas de: i) obtener una primera medición de lactato en un área diana del organismo; ii) administrar oxígeno a dicho organismo; iii) obtener una segunda medición de lactato en un área diana del organismo a continuación de dicha administración de oxígeno; iv) comparar dichas mediciones primera y segunda para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato que se presenta en dicha área diana antes y a continuación de la administración de oxígeno, y correlacionar dichos datos con respecto a la función metabólica del área diana.

50

Preferiblemente, la etapa de correlacionar dichos datos con respecto a la función metabólica del área diana incluye el procesamiento de datos para evaluar dicha función metabólica.

55

Preferiblemente, la obtención de una medición de lactato comprende obtener una o más imágenes de MRI del área diana.

60

Los datos que se obtienen mediante el método del primer aspecto pueden proporcionar una medición semicuantitativa de lactato que revela información de función metabólica. Aquí, la concentración de lactato a lo largo del tiempo proporciona el parámetro variable que puede utilizarse en la evaluación de imágenes.

65

A continuación del infarto cerebral, se ha mostrado mediante espectroscopia de MR que el lactato se acumula en el tejido privado de oxígeno que rodea el área de infarto, debido a la falla de metabolismo aeróbico (Berkelback van der Sprenkel JW et al 1988, Fenstermacher MJ y Naryana PA 1990 y Houkin K 1990).

Se considera que el sustrato preferido para metabolismo neuronal es lactato, que se produce principalmente mediante los astrocitos.

5 La exposición de oxígeno se utiliza como un biotrazador metabólico (para presencia de metabolismo aeróbico) en tejidos diana. Por lo tanto, el método puede usarse para producir un mapa metabólico de un área diana en el cuerpo.

El oxígeno que se administra al organismo permite el reinicio de metabolismo aeróbico en las células de la lesión isquémica, caracterizado porque se utiliza lactato como el sustrato para oxidación aeróbica local mediante neuronas.

10 La reutilización gradual de lactato como un sustrato en metabolismo aeróbico por las células de la lesión isquémica se detecta mediante una reducción gradual en la señal de lactato.

15 De acuerdo con la observación de una reducción en concentración de lactato en una región del cerebro durante la exposición de oxígeno indica la ubicación de la penumbra isquémica.

20 El cambio de señal de lactato que se detecta mediante MRI a lo largo del tiempo permite que se alcance el resultado. Podría resultar posible determinar, mediante titulación de la administración de oxígeno, la concentración de oxígeno que se requiere para reducir la señal de lactato que se obtiene a partir del área diana. Esto debería proporcionar información sobre la presencia de metabolismo oxidativo.

25 Se conocen diversas formas de diagnóstico por imágenes de sensibilidad. Los métodos de esta invención puede usar cualquiera de tales técnicas de sensibilidad que se disponen en MRI y que resultan adecuadas para investigar los cambios a una señal consecuente con respecto a la etapa(s) de exposición de oxígeno, por ejemplo, puede llevarse a cabo un escaneo de imagen de resonancia magnética potenciada en T_2^* .

30 El oxígeno puede administrarse mediante inhalación o de manera intravenosa o en combinación. Cuando se selecciona la vía intravenosa, puede usarse un transportador de oxígeno. El transportador de oxígeno puede ser un perfluorocarbono o cualquier otro transportador de oxígeno fisiológicamente inerte.

La evaluación de señal supone que la referencia surge a partir de la señal para la presencia de lactato que se acumula en células del cerebro que se someten a metabolismo anaeróbico (glicólisis anaeróbica),

35 De esta manera, cuando el oxígeno se presenta para iniciar el ciclo de Krebs de metabolismo aeróbico y para convertir el metabolismo celular a partir de anaeróbico a aeróbico, la dicha conversión manifiesta por sí misma un cambio de señal en el sentido que la conversión a metabolismo aeróbico se reconoce como una reducción de señal.

40 En una realización de la presente invención, el método comprende las etapas de: i) generar datos de imágenes de referencia del área diana del organismo; ii) administrar oxígeno a dicho organismo; iii) generar datos de imágenes como respuesta a dicha administración de oxígeno; iv) procesar dichos datos de imágenes para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato que se presenta en dicha área diana a continuación de la administración de oxígeno, y correlacionar dichos datos con respecto a la función metabólica del área diana.

45 Los datos de imágenes pueden detectarse para lactato y/o lípido en el área diana. La sustracción de los datos de imágenes de las imágenes que se obtienen antes de la administración de oxígeno a partir de los datos de imágenes que se obtiene después de la administración de oxígeno da como resultado una indicación de un cambio de lactato o "diferencia de lactato".

50 En otra realización de la presente invención, el método comprende las etapas de: i) generar datos de imágenes de referencia del área diana del organismo; ii) administrar oxígeno a dicho organismo; iii) generar datos de imágenes a continuación de dicha administración de oxígeno, en la que los datos de imágenes que se obtienen de esta manera se refieren a una indicación de la cantidad relativa de lípido y/o lactato que se presenta en el área diana, y un cambio de intensidad de imagen a continuación de la administración de oxígeno indica utilización de lactato en el área diana del organismo.

55 Una secuencia de MRI nueva puede utilizarse, específicamente para representar por imagen señal de "cambios del lactato". Esta secuencia puede caracterizarse mediante una combinación de generación de pulsos a medida para reducir saturación de agua y grasa, optimización de la frecuencia de pulsos para el diagnóstico por imágenes de lactato y utilización de un método de diagnóstico por imágenes de adquisición rápida con realce de la relajación (RARE) para medir la resonancia magnética en el área diana.

60 Las técnicas de MRI, tales como imágenes Rare potenciada en T_2 , diagnóstico por imágenes potenciadas en difusión (DWI), diagnóstico por imágenes de perfusión (PWI), espectroscopia de 1H localizado y diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato (LDI). pueden utilizarse con los métodos de la presente invención.

65 Los datos obtenidos pueden procesarse para producir un mapa metabólico del área diana.

La administración de oxígeno puede continuarse por un período de tiempo suficiente para retirar todo el lactato en el área diana.

5 La señal que representa lactato se identifica a partir de los datos de imágenes que se obtienen.

La observación de una reducción de la señal de lactato después de la administración de oxígeno libre en dosis de concentración baja indica actividad metabólica y, por lo tanto, integridad funcional en el área diana.

10 Un cambio de la señal de lactato a lo largo del tiempo de positiva a negativa puede usarse para proporcionar información de la tasa de metabolismo activo en un área diana.

El área diana puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de una región de tejido y un órgano.

15 El oxígeno puede administrarse una vez en una dosis única.

De manera opcional, el oxígeno puede administrarse mediante una inyección de goteo lento de perfluorocarbonos, o, mediante un bolo inyectado.

20 La cantidad de perfluorocarbonos que se administra mediante goteo lento puede variar de alrededor de 300 ml a alrededor de 1000 ml, de manera ideal, alrededor de 600 ml, y la cantidad de perfluorocarbonos que se administra mediante bolo puede variar de alrededor de 50 ml a alrededor de 150 ml.

De manera alternativa, el oxígeno puede administrarse como una pluralidad de dosis sucesivas.

25 El oxígeno puede administrarse en concentraciones diferentes.

De manera opcional, la cantidad de oxígeno que se administra puede aumentarse de manera lineal.

30 La cantidad de oxígeno puede administrarse en incrementos en aumento.

De manera opcional, se puede proporcionar un período de tiempo corto entre cada incremento.

35 La administración de oxígeno es en etapas incluyendo una etapa de nivel bajo, y, al menos, una etapa de un nivel elevado en comparación con la etapa de "nivel bajo".

El método puede comprender una etapa de nivel bajo final o "fase de descanso".

40 El oxígeno puede administrarse mediante un método que se selecciona a partir del grupo que consiste de inhalación, administración intravenosa y combinaciones de estos.

De manera opcional, un transportador de oxígeno puede utilizarse en la administración intravenosa.

45 El transportador de oxígeno puede ser un transportador de oxígeno fisiológicamente inerte.

El transportador de oxígeno puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de perfluorocarbonos.

50 El perfluorocarbono puede ser una emulsión estable de pequeñas partículas que tienen un diámetro medio de <0,2 μm .

El perfluorocarbono puede administrarse como un bolo para facilitar la determinación de información de perfusión de tejido.

55 El método de imágenes puede comprender escaneo de imagen de resonancia magnética de O_2 potenciada en T_2^* .

La función metabólica puede determinarse en un paciente que se encuentra afectado por una condición que se selecciona a partir del grupo que consiste de trastornos circulatorios incluyendo accidente cerebrovascular, trastornos neuronales, incluyendo epilepsia (convulsión recurrente), demencia y disfuncionalidades cerebrales progresivas similares, enfermedades autoinmunes, incluyendo esclerosis múltiple, disfuncionalidad neoplásica de tejido blando incluyendo cánceres de la cabeza y cuello, cánceres de pulmón, cánceres gastrointestinales, cánceres genitourinarios, linfoma, y melanoma.

60 La función metabólica se determina y se utiliza como un medio para diferenciar recurrencia tumoral a partir de necrosis tumoral.

65 Otro aspecto de la presente invención proporciona un método de diagnóstico de imágenes de resonancia magnética nuclear que comprende las etapas de a) administrar oxígeno a un paciente mientras se lleva a cabo el diagnóstico por

5 imágenes de resonancia magnética; b) generar imágenes del área diana de interés del organismo del paciente antes, durante y después de la administración de oxígeno; y c) procesar dichas imágenes para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato y/o lípido en dicha área diana a continuación de la administración de oxígeno, siendo dichos datos indicativos de la función metabólica de dicha área diana y siendo útiles en el diagnóstico de enfermedad.

10 Inclusive otro aspecto de la presente invención proporciona un método de diagnóstico de imágenes de resonancia magnética nuclear que comprende las etapas de a) administrar oxígeno a un paciente mientras se lleva a cabo el diagnóstico por imágenes de resonancia magnética; b) generar imágenes del área diana de interés del organismo del paciente antes, durante y después de la administración de oxígeno; y c) procesar dichas imágenes para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato, saturación de agua y saturación de grasa en dicha área diana a lo largo del tiempo a continuación de la administración de oxígeno, siendo dichos datos indicativos de la función metabólica de dicha área diana y siendo útiles en el diagnóstico de enfermedad.

15 Las imágenes que se obtienen pueden optimizarse de manera tal que se reduce la señal a partir de saturación de agua y saturación de grasa en dicha área diana.

De manera opcional, puede utilizarse diagnóstico por imágenes RARE.

20 El transportador de oxígeno puede ser un transportador de oxígeno fisiológicamente inerte.

El transportador de oxígeno puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de perfluorocarbonos.

25 El área diana puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de una región de tejido y un órgano.

El área diana puede ser el cerebro.

30 Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para determinar efectos de un agente terapéutico o agente profiláctico en tejido blando o un órgano en un organismo usando diagnóstico por imágenes de resonancia magnética (MRI) con contraste, comprendiendo el método las etapas de: i) obtener una primera medición de lactato en un área diana del organismo; ii) administrar oxígeno a dicho organismo; iii) obtener una segunda medición de lactato en un área diana del organismo a continuación de dicha administración de oxígeno; iv) procesar dichas mediciones primera y segunda para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato que se presenta en dicha área diana a continuación de la administración de oxígeno, y correlacionar dichos datos con respecto a la función metabólica del área diana, v) repetir las etapas i) a iv) anteriores conjuntamente con administración simultánea o secuencial del agente terapéutico, y evaluar la función metabólica para determinar cambios que se atribuyen a efectos del agente terapéutico.

40 Otro aspecto de la presente invención proporciona un escáner de MRI que se configura para llevar a cabo cualquiera de los métodos de los aspectos anteriores.

45 La función metabólica en un área diana de un organismo puede determinarse usando dicho escáner de MRI que se configura para: i) generar datos de imágenes de referencia del área diana de un organismo antes de una intervención; ii) obtener datos de imágenes adicionales del área diana de un organismo a continuación de dicha intervención; iii) procesar dichos datos de imágenes para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato que se presenta en dicha área diana a continuación de dicha intervención, y correlacionar dichos datos con respecto a la función metabólica del área diana.

50 El escáner de MRI puede configurarse para detectar lactato y/o lípido en el área diana. La sustracción de los datos de imágenes de las dos imágenes da como resultado una indicación de un cambio de lactato o "diferencia de lactato".

55 El escáner de MRI puede configurarse para ejecutar una secuencia para representar por imagen señal de "cambios del lactato". Esta secuencia puede caracterizarse mediante una combinación de generación de pulsos a medida para reducir saturación de agua y grasa, optimización de la frecuencia de pulsos para el diagnóstico por imágenes de lactato y utilización de un método de diagnóstico por imágenes de adquisición rápida con realce de la relajación (RARE) para medir la resonancia magnética en el área diana.

60 El escáner de MRI puede configurarse además para llevar a cabo técnicas de MRI tales como diagnóstico por imágenes RARE potenciadas en T₂, diagnóstico por imágenes potenciadas en difusión (DWI), diagnóstico por imágenes de perfusión (PWI), espectroscopia de 1H localizado y diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato (LDI).

El escáner de MRI puede procesar los datos que se obtienen para producir un mapa metabólico del área diana.

65 La intervención puede ser administración de oxígeno.

La observación de una reducción de la señal de lactato después de la administración de oxígeno indica actividad metabólica y, por lo tanto, integridad funcional en el área diana.

- 5 Una reducción de la fuerza de la señal de lactato a lo largo del tiempo puede usarse para proporcionar información de la tasa de metabolismo oxidativo en el área diana.

El área diana puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de una región de tejido y un órgano.

- 10 El oxígeno puede administrarse una vez en una dosis única.

De manera alternativa, el oxígeno puede administrarse como una pluralidad de dosis sucesivas.

El oxígeno puede administrarse en concentraciones diferentes.

- 15 De manera opcional, la cantidad de oxígeno que se administra puede aumentarse de manera lineal.

La cantidad de oxígeno puede administrarse en incrementos en aumento.

- 20 De manera opcional, se puede proporcionar un período de tiempo corto entre cada incremento.

La administración de oxígeno es en etapas incluyendo una etapa de nivel bajo, y, al menos, una etapa de un nivel elevado en comparación con la etapa de "nivel bajo".

- 25 El método puede comprender una etapa de nivel bajo final o "fase de descanso".

El oxígeno puede administrarse mediante un método que se selecciona a partir del grupo que consiste de inhalación, administración intravenosa y combinaciones de estos.

- 30 De manera opcional, un transportador de oxígeno puede utilizarse en la administración intravenosa.

El transportador de oxígeno puede ser un transportador de oxígeno fisiológicamente inerte.

El transportador de oxígeno puede seleccionarse a partir del grupo que consiste de perfluorocarbonos.

- 35 El perfluorocarbono puede ser una emulsión estable de pequeñas partículas que tienen un diámetro medio de $<0,2 \mu\text{m}$.

El perfluorocarbono puede administrarse como un bolo para facilitar la determinación de información de perfusión de tejido.

- 40 El método de imágenes puede comprender escaneo de imagen de resonancia magnética de O_2 potenciada en T_2^* .

El método de imágenes puede comprender escaneo de imagen de resonancia magnética de O_2 potenciada en T_2^* .

Breve descripción de las Figuras

- 45 La presente invención se describirá ahora a modo de ejemplo solamente con referencia a las figuras adjuntas en las que:

La Figura 1 muestra espectroscopia de ^1H localizado de rata después de MCAO y efecto de exposición de oxígeno. A) espectro a partir de vóxel colocado con región de desajuste PWI/DWI. B) Vóxel colocado en hemisferio contralateral;

- 50 La Figura 2 es un diagrama esquemático de a) la secuencia de pulso de MRI de diferencia de lactato y cómo funciona; y b) el método que se usa para obtener imágenes de diferencia de lactato;

La Figura 3 contiene diagnóstico por imágenes usando la secuencia de MRI de lactato. La parte superior muestra fantasmas usando señal de agua de ^1H . La parte inferior muestra imágenes usando señal de resonancia de lactato de CH_3 ;

- 55 La Figura 4 contiene imágenes de MRI in-vivo de rata a continuación de MCAO. A) imagen de lactato-lípido antes de O_2 ; B) imagen de lactato-lípido durante exposición de oxígeno; C) imágenes de diferencia de lactato (a saber, B-A); y D) región de desajuste a partir de DWI/PWI;

La Figura 5 muestra imágenes de MRI in-vivo de rata a continuación de MCAO. Se usó oxígeno al 100% como la exposición.

- 60 La Figura 6 muestra imágenes de IMR a partir de un experimento usando diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato en una rata a continuación de oclusión de arteria cerebral media (MCAO). El panel (a) ilustra la región de daño

La Figura 6 muestra imágenes de IMR a partir de un experimento usando diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato en una rata a continuación de oclusión de arteria cerebral media (MCAO). El panel (a) ilustra la región de daño

- 65 La Figura 6 muestra imágenes de IMR a partir de un experimento usando diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato en una rata a continuación de oclusión de arteria cerebral media (MCAO). El panel (a) ilustra la región de daño

isquémico severo según se identifica mediante diagnóstico por imágenes potenciadas en difusión (DWI) mientras que el panel (b) muestra el área de hipoperfusión a través del uso de diagnóstico por imágenes de perfusión (PWI). Con el fin de detectar cambios de lactato a continuación de la iniciación de hiperoxia se adquirió inicialmente una imagen (c) de lactato de referencia a continuación de la administración de 1,5 ml de PFC a medida. La ventilación del animal se cambió a oxígeno al 100% (hiperoxia) durante la cual se adquirió un escaneo (d) de lactato adicional. A continuación de esto, la ventilación se cambió de nuevo a niveles normóxicos y se adquirió un escaneo (e) de lactato final. Mediante la sustracción de la imagen que se adquirió durante hiperoxia a partir de la imagen de referencia, se generó un mapa (f) de cambio de lactato que muestra una reducción (flecha) del nivel de lactato en un área que se aproxima a la región de desajuste DWI/PW (presunta penumbra). Al retirar el exceso de oxígeno y volver a la ventilación normóxica, el mapa (g) de cambio de lactato (sustracción de e-d) mostró un retroceso (flecha) de esta reducción de lactato en la correspondiente región del cerebro;

La Figura 7 ilustra la colocación de los vóxeles. Un vóxel se colocó en la región de la presunta penumbra (desajuste DWI/PWI) con otros vóxeles que se colocan en la región de núcleo isquémico (tejido muerto) y el hemisferio contralateral normal;

La Figura 8 muestra espectro de ¹H localizado que se toma de la región de desajuste DWI/PWI a continuación de MCAO con N-acetilaspártato (NAA) y picos de lactato etiquetados. Resulta evidente que el pico de lactato se reduce en el animal que recibe 1,5 ml (a) de PFC a medida durante hiperoxia con ausencia de tal reducción en el animal que recibe solución (b) salina;

La Figura 9 muestra el efecto de administrar PFC a medida antes de hiperoxia a continuación de cerebral a continuación de oclusión de arteria cerebral media (MCAO). La figura 9a donde la reducción de pico de lactato en región de desajuste DWI/PWI resulta evidente cuando se administra PFC a medida (n=5) antes de hiperoxia con este efecto no observado en animales que se tratan con solución salina (n=4) antes de hiperoxia. Al volver el animal a la ventilación normóxica (figura 9b) resultó evidente que el pico de lactato aumentó a un nivel mayor en comparación con los niveles de prehiperoxia en los animales que se trataron con solución salina mientras que en los animales que se trataron con PFC, solo regresó a su nivel prehiperoxia;

La Figura 10 muestra espectro de ¹H localizado a partir de (a) la región de núcleo isquémico del hemisferio ipsilateral y b) la región correspondiente del hemisferio contralateral a continuación de MCAO en animales que reciben 1,5 ml de GOLD PCF antes de hiperoxia. Resulta evidente que el lactato permanece sin cambios en ambas regiones durante hiperoxia. Esto se debe probablemente a que tejido en el núcleo isquémico resulta incapaz de recuperar metabolismo aeróbico durante hiperoxia; a saber, tejido ya no metabólicamente viable. La falta de efecto en el hemisferio contralateral es probable que refleje la ausencia de aumento de nivel de lactato en esta región del cerebro aguda a continuación del accidente cerebrovascular. Resultados similares se demostraron en animales que se tratan con solución salina (los datos no se muestran).

Descripción detallada de la invención

Los datos obtenidos desde 1930 han sugerido que el lactato constituye el sustrato preferido para oxidación aeróbica con el fin de bioenergética mediante neuronas. Se conoce bien además que el lactato aumenta en una lesión isquémica e infarto. Esto ocurre como una consecuencia de un cambio a metabolismo anaeróbico debido a hipoxia/anoxia.

El metabolismo anaeróbico (glicólisis) resulta muy ineficiente y puede proporcionar solo aproximadamente el 6% de la energía potencial a partir de glucosa. En cambio, el ciclo de Krebs proporciona el 94% de la energía disponible a partir de glucosa. Por lo tanto, la integridad del ciclo de Krebs resulta esencial para la supervivencia celular.

De este modo, a continuación de un ataque oclusivo de un órgano en el organismo humano tal como un accidente cerebrovascular isquémica en el cerebro, cualquier técnica capaz de demostrar un ciclo de Krebs en funcionamiento en la lesión isquémica identificaría así también tejido que sobrevive o tiene el potencial para sobrevivir.

Un aumento de lactato en el cerebro isquémico/infartado se ha demostrado mediante espectroscopia de resonancia magnética a continuación del infarto cerebral debido a la falla de metabolismo aeróbico (Berkelback van der Sprenkel JW et al 1988, Fenstermacher MJ y Naryana PA 1990 y Houkin K 1990).

De manera adicional, el sustrato preferido para metabolismo neuronal es lactato, el cual en el cerebro se produce principalmente mediante los astrocitos. Por lo tanto, la demostración de producción de lactato y su utilización indicarían integridad metabólica de las neuronas y astrocitos y, por lo tanto, su potencial para sobrevivir el ataque a continuación del infarto cerebral.

A la fecha, las técnicas de MRS solo han sido capaces de demostrar la presencia de lactato en un tejido y un aumento en tal lactato a lo largo del tiempo a continuación de infarto cerebral. Actualmente no existen técnicas que se conocen en la técnica capaces de demostrar la utilización temporal de lactato con oxígeno y demostrar, de este modo, la penumbra después de infarto cerebral.

La presente invención proporciona una técnica de diagnóstico por imágenes nueva que ha demostrado metabolismo de lactato en tejidos cerebrales que se identifican como penumbra potencial en un modelo de ataque cerebrovascular de rata.

5 Los tejidos cerebrales acumulan lactato en tejidos cerebrales isquémicos/infartados. Esto ocurre debido a la falta de oxígeno, ya que el oxígeno resulta esencial para metabolismo aeróbico. Esta acumulación de lactato en un infarto se demostró inicialmente en un informe de caso (Berkelback van der Sprengel JW et al 1988).

10 Estudios posteriores en animales y humanos han demostrado un aumento agudo en aumento de lactato, que persiste durante unos pocos días después del infarto cerebral (Fenstermacher MJ y Naryana PA 1990 y Hokkaido Igaku Zasshi 1990).

15 Se ha demostrado ahora que la identificación de neuronas que funcionan metabólicamente y, de este modo, de la penumbra, resulta posible en tiempo real utilizando una técnica que se desarrolla para aumentar la cantidad de oxígeno que se administra a los tejidos isquémicos y para monitorear un cambio temporal en concentraciones de lactato.

20 El aumento de la cantidad de oxígeno puede alcanzarse al aumentar el porcentaje de oxígeno inhalado. Normalmente, el porcentaje de oxígeno en aire es del 21% y a nivel del mar, la presión parcial (pO_2) es de alrededor de 160 mm de Hg. Por lo tanto, el aumento del porcentaje de oxígeno y la pO_2 aumentaría la cantidad de oxígeno que transporta la sangre. Sin embargo, la hemoglobina se encuentra completamente saturada mientras se respira aire y, de esta manera, el oxígeno aumentado durante hiperoxia, se transporta por el plasma. Sin embargo, esto resulta algo muy ineficiente ya que la cantidad de oxígeno que se transporta por cada mm de aumento de Hg es de solo 0,003 ml (Law y Bukwirwa, 1999).

25 Por lo tanto, solo pequeñas cantidades de oxígeno se administrarían ante hiperoxia de tejidos isquémicos y, de esta manera, tomaría mucho tiempo detectar cualquier cambio de lactato para identificar la penumbra. El tiempo constituye lo esencial a continuación del infarto cerebral, y reducir el tiempo de detección resulta, por lo tanto, fundamental. Para alcanzar esto, se ha utilizado PFC en los métodos de la presente invención para transportar oxígeno aumentado. 100 ml de perfluorodecalina pueden transportar 49 ml de oxígeno a temperatura y presión estándares. Esto resulta superior en muchas veces con respecto a lo que resulta posible con plasma.

30 Los métodos de la presente invención consisten, además, de una secuencia de MRI nueva para representar lactato por imagen.

35 En una realización general del método, cantidades diferentes de oxígeno se administran a un organismo al tiempo que se monitorea la susceptibilidad magnética, por ejemplo, se lleva a cabo escaneo de imagen de resonancia magnética potenciada en T_2^* ($O_2T_2^*$). El oxígeno puede administrarse mediante inhalación usando una máscara facial, o de manera intravenosa, usando un transportador de oxígeno, o en combinación. Los tejidos que se encuentran metabólicamente activos utilizan oxígeno, lo que da como resultado una reducción gradual de la presencia de lactato.

40 En el método de la presente invención, el escaneo de MRI del cerebro revelará una acumulación de lactato en células cerebrales isquémicas como un resultado de glucogenólisis y/o metabolismo de glucólisis anaeróbico. El lactato se utiliza de manera gradual como un sustrato para glucólisis aeróbica que depende de la disponibilidad de oxígeno, reduciendo, de este modo, la señal de MRI que se obtiene a partir de lactato. En tejido no isquémico con metabolismo aeróbico funcional, se observará poco lactato en la referencia y se observará poco cambio al momento de la exposición de oxígeno. En tejido isquémico, se observará una gran acumulación de lactato en la referencia. Al momento de exposición de oxígeno, las áreas de tejido que muestran una fuerte reducción en señal de lactato indicarían integridad metabólica de las neuronas y astrocitos y, por lo tanto, su potencial para sobrevivir el ataque a continuación del infarto cerebral. Esta reducción de lactato reduce la fuerza de la señal. Dependiendo de la actividad metabólica del tejido que se encuentra bajo examinación, se observará un cambio pronunciado de la señal, específicamente una reducción de la fuerza de la señal, con administración de oxígeno aumentada (titulación) y se usa para producir un mapa metabólico semicuantitativo del tejido u órgano.

50 En tejidos sin metabolismo (a saber, tejido muerto) no existirá facilidad alguna para convertir lactato en piruvato y, de este modo, ingresar al ciclo de Krebs. De este modo, no existirá reducción que se detecta en la señal de lactato a partir de tales tejidos debido a un deterioro funcional.

60 Experimentos de MRI y MRS *in-vivo* y un método nuevo de diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato

Experimentos de MRI *in-vivo* se llevaron a cabo en ratas anestesiadas a continuación de una oclusión de arteria cerebral media (MCAO). Las mediciones incluyeron diagnóstico por imágenes RARE potenciadas en T_2 , diagnóstico por imágenes potenciadas en difusión (DWI), diagnóstico por imágenes de perfusión (PWI), espectroscopia de 1H localizado y diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato (LDI).

65 Espectroscopia de 1H localizado y el efecto de exposición de oxígeno.

El primer experimento usó una secuencia de espectroscopia localizada estándar (PRESS) para adquirir espectro de ¹H. Un vóxel se colocó en la región penumbral presunta (según se indica por el desajuste DWI/PWI, un segundo vóxel se colocó en el hemisferio contralateral normal (véase figura 1).

Al otorgar una exposición de oxígeno inhalado al 100%, el pico de lactato en la región penumbral mostró una reducción significativa (fig. 1a). De manera importante, ningún otro de los metabolitos en el espectro mostró algún cambio con oxígeno. En la región contralateral, el pico de lactato permaneció sin cambios (Fig. 1b). Al regresar a aire inhalado al 100%, el pico de lactato reducido en la penumbra, aumentó de regreso al nivel anterior (Fig. 1c).

Diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato

Resultó conveniente representar por imagen la región donde ocurren los cambios de lactato durante una exposición de oxígeno, ya que estas regiones podrían definir la penumbra isquémica.

Los intentos anteriores de diagnosticar por imágenes el lactato han usado diagnóstico por imágenes de desplazamiento químico (CSI) estándar, donde todo un espectro NRM de ¹H se adquiere para un conjunto de vóxeles. Esta técnica sufre de muy baja resolución espacial y tiempos de adquisición muy largos.

Además, se han usado técnicas de edición espectral por ejemplo mediante acoplamiento J o efectos múltiples de coherencia cuántica (Reese 1995, Pickup 2008). De nuevo, estas técnicas sufren de pérdida de señal significativa, limitando la resolución espacial y temporal de imágenes adquiridas.

Por lo tanto, se ha utilizado una secuencia nueva, específicamente para representar por imagen señal de “cambios del lactato”. Esta secuencia puede describirse mediante el diagrama de bloques que se muestra en la figura 2a, que comprende una combinación de generación de pulsos a medida para reducir saturación de agua y grasa, optimización de la frecuencia de pulsos para el diagnóstico por imágenes de lactato y utilización de un método de diagnóstico por imágenes de adquisición rápida con realce de la relajación (RARE) para medir la resonancia magnética en el área diana.

La secuencia se evaluó en fantasmas que se realizaron con un rango de concentraciones de lactato, a partir de los cuales se puede observar que la secuencia resulta capaz de representar por imagen de manera exitosa una baja concentración de lactato, sin contaminación a partir de la señal de agua mucho más grande (a saber, no puede verse ninguna imagen en el fantasma que comprende agua solamente).

In-vivo, la secuencia se utilizará para representar por imagen señal de ambos lactato y lípido, ya que sus frecuencias de resonancia se superponen.

La secuencia puede usarse para representar por imagen específicamente “cambios de lactato” que se originan por una exposición de oxígeno. La exposición de oxígeno no tiene efectos en la concentración de lípido pero reduce la concentración de lactato. De este modo, la sustracción de las dos imágenes da como resultado las imágenes de “cambio de lactato” o “diferencia de lactato” (véase figura 4b).

La presente técnica resulta más eficiente que ya sean los métodos de CSI o edición de lactato, ya que no se desperdicia señal de MRI en cortar la señal de lípido y, permitiendo, de este modo, alta resolución espacial para representar por imagen, incluso a las concentraciones bajas de lactato.

El método que se describe en la presente proporciona un paradigma de escaneo que permitirá medidas semicuantitativas de metabolismo cerebral. Este paradigma puede incluir variación del oxígeno inspirado durante el procedimiento de escaneo. Esto puede tomar la forma de la administración de múltiples niveles de concentración de oxígeno estables, normalmente de manera incremental, o variando los niveles de concentración de oxígeno de manera constante (por ejemplo, aumentando o reduciendo el nivel de concentración de manera lineal). Al analizar la variación de la señal de lactato con niveles cambiantes de oxígeno administrado resulta posible producir mapas metabólicos semicuantitativos.

El oxígeno puede administrarse mediante una máscara facial. Esta técnica resulta fácil y generalmente aceptada por los pacientes. Sin embargo, un problema técnico con esta vía de administración de oxígeno consiste en que puede dar como resultado artefactos de gran susceptibilidad en los lóbulos frontal inferior y temporal inferior, debido al reemplazo de aire en los senos paranasales con oxígeno paramagnético (Figura 4). Por lo tanto, los lóbulos frontal y temporal inferiores pueden no siempre evaluarse mediante administración de oxígeno a través de la vía oronasal. De manera adicional, resulta difícil configurar la cantidad de oxígeno que se administra mediante una máscara. Incluso si se administra oxígeno al 100% al paciente mediante la vía de inhalación, los niveles de plasma sanguíneo solo aumentan algo del 5-6%. Por consiguiente, el cambio de señal que se observa como respuesta es también relativamente pequeño.

Por lo tanto, otra vía de administración de oxígeno para evitar este problema resultaría ventajosa. El uso de la vía intravenosa para la administración de medicamentos es de rutina en la práctica clínica y resulta ideal para este

requerimiento. Existen productos de reemplazo sanguíneo que se conocen o expansores sanguíneos que incluyen transportadores de oxígeno que ofrecen la capacidad de administrar oxígeno para liberación a tejidos. Resulta previsto que cualquier agente transportador de oxígeno adecuado como tal, que puede administrarse de manera intravenosa podría considerarse para el propósito de proporcionar una alternativa a la vía oronasal. Un tipo particular de transportador de oxígeno que se considera como adecuado para este propósito serían los perfluoroquímicos.

Los perfluoroquímicos constituyen moléculas sintéticas químicamente inertes que consisten principalmente de átomos de carbono y flúor y son líquidos claros, sin color. Tienen la capacidad de disolver físicamente cantidades significativas de muchos gases incluyendo oxígeno y dióxido de carbono. En la actualidad, se usan comúnmente como "sustitutos sanguíneos" durante cirugía. Los perfluoroquímicos son hidrofóbicos y, por lo tanto, no se mezclan con agua.

Los perfluoroquímicos deben, de este modo, emulsionar para uso intravenoso. Con tecnología sofisticada, resulta posible generar una emulsión de perfluorocarbono estable con partículas excepcionalmente pequeñas (diámetro medio $<0,2 \mu\text{m}$) (Keipert PE 10). Las características de transporte de oxígeno de emulsiones de perfluorocarbono son fundamentalmente diferentes con respecto a aquellas de la sangre. Las emulsiones de perfluorocarbono se caracterizan por una relación lineal entre la presión parcial de oxígeno y contenido de oxígeno, en contraste con la sangre que exhibe una curva de disociación sigmoidea de oxígeno (Keipert PE 10). Por lo tanto, la capacidad de transporte de oxígeno resulta directamente proporcional a PO_2 y esto significa que la cantidad de oxígeno que se transporta mediante perfluorocarbonos puede variar mediante variación de la PO_2 . Las características de transporte de oxígeno y capacidad de variar la capacidad de transporte de oxígeno, vuelve a los perfluorocarbonos ideales para uso como un agente para transportar oxígeno en el presente método. Como la capacidad de transportar oxígeno puede variarse, puede obtenerse estratificación de los tejidos sobre la base de sus vías metabólicas. La vía intravenosa su usa de manera rutinaria en la práctica clínica y no originará los artefactos observados cuando se administra oxígeno usando una máscara facial. El primer perfluorocarbono que se usó como un compuesto para transportar y administrar oxígeno fue Fluosol (TM), que se aprobó en 1989 por la FDA. Sin embargo, este producto fabricado por Green Cross necesitaba congelarse para almacenamiento y descongelarse para uso. Un producto alternativo Oxigent(TM) no se encuentra congelado sino que está en una forma lista para uso.

Se espera que cualquier perfluorocarbono adecuado o transportador de oxígeno fisiológicamente inerte que se dispone comercialmente, y cualquiera de aquellos, u otros que pueden volverse inclusive disponibles podrían usarse para el propósito de administración de oxígeno en el presente método.

La PO_2 de aire a presión atmosférica normal es 160 mm de Hg y el porcentaje de oxígeno es del 21%. Esto significa que a medida que el perfluorocarbono pasa a través de los pulmones, el oxígeno se uniría a este y la cantidad de oxígeno en el bolo de perfluorocarbono podría ser de hasta el 21% (dependiendo del grado de mezcla de sangre y agente que ocurre). Debido a que la unión de oxígeno con respecto a perfluorocarbonos es de 1:1, si el oxígeno inhalado aumenta en un 30%, el oxígeno que se transporta de los perfluorocarbonos podría ser de hasta el 30% y aumentos adicionales darían como resultado un aumento correspondiente.

La vía intravenosa con perfluorocarbono i.v. da como resultado una concentración de O_2 de hasta el 21% en comparación con la propia vía de inhalación que alcanza alrededor del 3-4%.

Sin embargo, las concentraciones de oxígeno pueden aumentarse aún más mediante la inhalación de mayores concentraciones de O_2 durante la inyección intravenosa de los perfluorocarbonos. A concentraciones de hasta oxígeno al 60%, no se presentan artefactos debido al efecto paramagnético de oxígeno libre en las cavidades nasales y/o los senos de aire. De este modo, en una realización, el método se lleva a cabo mediante inyección intravenosa de un compuesto que transporta oxígeno mientras que el paciente respira aire. Sin embargo, si así se requiere, la concentración de aire puede aumentarse para hacer que el ensayo sea más sensible, mediante el suplemento de mayores concentraciones de oxígeno a través de inhalación.

Un método adecuado para llevar a cabo escaneo de imágenes de resonancia magnética que ilustra la invención comprende:

1) El paciente se posiciona en un escáner de MRI.

2) Comienza el escaneo. Esta secuencia recolecta escaneos completos del cerebro (o de cualquier otra parte del organismo bajo investigación), de manera repetida durante el transcurso del estudio dando como resultado un número de volúmenes que proporcionan información temporal. Este escaneo corre de manera continua hasta que se completa la etapa 8.

3) El escaneo procede durante un tiempo específico sin ninguna inyección de medio o inhalación de oxígeno. Esto proporciona datos de referencia para futuros análisis de imágenes.

4) Una cantidad específica de biotrazador metabólico se inyecta a una tasa determinada.

5) Dependiendo del protocolo particular, el paciente puede inhalar oxígeno o no a una presión parcial aumentada durante la duración de la inyección y durante un período corto a continuación de la inyección.

5 6) Después de la inyección (e inhalación, si así se requiere) se lleva a cabo un período de ausencia de inyección o inhalación de oxígeno, proporcionado datos de referencia adicionales y permitiendo que el biotrazador metabólico se diluya en el sistema cardiovascular.

10 7) Dependiendo del protocolo, las etapas 4 y 5 se repiten ya sea con una cantidad diferente de biotrazador, un tiempo de inyección diferente o una presión parcial diferente de oxígeno inhalado. Resulta posible que más de uno de estos parámetros pueda variarse en un momento determinado.

15 8) Dependiendo del protocolo, las etapas 4 -7 se repiten un número específico de veces, cada vez con variaciones específicas de los parámetros que se describen en la etapa 7.

9) Los datos a partir de este escaneo se analizan usando software de análisis de imágenes para proporcionar medidas cuantitativas o cualitativas de la actividad metabólica oxidativa en los tejidos que se someten a escaneo.

20 10) De manera opcional, resulta posible también rastrear el pasaje de los perfluoroquímicos oxigenados para proporcionar información de perfusión de tejido. Esto requeriría que los perfluoroquímicos se inyecten mediante un método de bolo.

25 Las cantidades de inyección de medio y/o inhalación de oxígeno pueden ser cualquiera de los protocolos ilustrativos siguientes, cada uno de los cuales podría llevar un minuto, y podría repetirse o usarse en secuencia de manera opcional. Si se requieren repeticiones, estas pueden separarse de manera opcional por uno o varios minutos, preferiblemente 1-2 minutos de separación.

Administración de oxígeno:

30 De manera opcional, el oxígeno puede administrarse mediante una inyección de goteo lento de perfluorocarbonos, o mediante un bolo inyectado.

35 La cantidad de perfluorocarbonos que se administran mediante goteo lento puede variar de alrededor de 300 ml a alrededor de 1000 ml, de manera ideal, alrededor de 600 ml, y la cantidad de perfluorocarbonos que se administran mediante bolo puede variar de alrededor de 50 ml a alrededor de 150 ml.

40 A. La cantidad de inyección de perfluorocarbonos puede ser de 10 ml a 150 ml, respirando aire. El oxígeno que se transporta mediante perfluorocarbonos sería de hasta el 21% y la cantidad de oxígeno libre en la sangre es de casi 0 y, de esta manera, la diferencia sería de hasta el 21%.

45 B. La cantidad de inyección de perfluorocarbonos puede ser de 10 ml a 150 ml, respirando oxígeno al 30%. El oxígeno que se transporta mediante perfluorocarbono sería de hasta el 30% y la cantidad de oxígeno libre en la sangre sería de alrededor del 1,3%. La diferencia entre estos dos sería de aproximadamente el $30\% - 1,3\% = 28,7\%$. C. La cantidad de inyección de perfluorocarbono puede ser de 10 ml a 150 ml y respirando oxígeno al 40%. El oxígeno que se transporta mediante perfluorocarbono sería de hasta el 40% y la cantidad de oxígeno libre en la sangre sería de alrededor del 2,6%. La diferencia entre estos dos sería de aproximadamente el $40\% - 2,6\% = 37,4\%$.

50 D. La cantidad de inyección de perfluorocarbonos puede ser de 10 ml a 150 ml y respirando oxígeno al 50%. El oxígeno que se transporta mediante perfluorocarbono sería de hasta el 50% y la cantidad de oxígeno libre en la sangre sería de alrededor del 3,9%. La diferencia entre estos dos sería de aproximadamente el $50\% - 3,9\% = 46,1\%$.

55 E. La cantidad de inyección de perfluorocarbonos puede ser de 10 ml a 150 ml y respirando oxígeno al 60%. El oxígeno que se transporta mediante perfluorocarbono sería de hasta el 40% y la cantidad de oxígeno libre en la sangre sería de alrededor del 5,2%. La diferencia entre estos dos sería de aproximadamente el $60\% - 5,2\% = 54,8,4\%$.

60 Una cualquiera de las etapas anteriores (A-E) podría tomar un minuto. Sin embargo, para la mayoría de los exámenes, se requeriría solo una de tales etapas de administración de oxígeno de manera tal que la recopilación de datos completa o examen de diagnóstico podrían completarse en un minuto. En algunas situaciones clínicas, podría necesitarse más de una repetición, pero resulta poco probable que se pueda obtener más beneficio al exceder las 10 repeticiones. No existe un período de tiempo teórico de espera entre repeticiones, si esto se considera conveniente, una pequeña demora no interferiría con el procedimiento, y en la práctica, puede ser del orden de 1-2 minutos.

65 Además de resultar útil para modelar la función metabólica de tejidos, el método que se describe puede resultar útil para evaluar la función metabólica de tejidos y órganos normales y enfermos. Esto puede compararse con la asistencia al diagnóstico de estados de enfermedad y análisis de estados de tejidos y órganos. Debido a la aplicabilidad general del método, los tipos de enfermedad que pueden investigarse y diagnosticarse no son limitantes, pero, con fines

ilustrativos, pueden incluir incidentes isquémicos tales como accidente cerebrovascular; epilepsia; demencia, incluyendo enfermedad de Alzheimer; esclerosis múltiple; cáncer y enfermedad cardíaca.

5 El accidente cerebrovascular constituye la tercera causa de muerte más común y la principal causa de discapacidad severa. El coste para la sociedad resulta también muy alto y el coste promedio por paciente en toda Europa es de alrededor de 15.000 Euros por paciente durante el primer año. Las estrategias terapéuticas para tratar un accidente cerebrovascular se dirigen a limitar la isquemia cerebral mediante reperfusión temprana e interferencia con la cascada patobioquímica que conduce a muerte celular isquémica (Heiss et al). La terapia solo puede resultar efectiva si existe tejido cerebral viable que puede salvarse de manera potencial. El término “penumbra isquémica” se usa para definir este tejido cerebral viable (Baron, Benard Schaller). De manera ideal, se desea estratificar el tejido lesionado a lo largo de dimensiones hemodinámicas, funcionales y metabólicas (Hakim AM). La ventana de tiempo potencial para las diversas opciones de tratamiento resulta variable, debido a que la penumbra puede durar hasta 48 horas en algunos pacientes (Heiss WD y Marchal ME). La ventana de tiempo para iniciar tratamientos basados en reperfusión es muy corta (medidas trombolíticas), más larga para neuroprotección e incluso más larga para medidas antiapoptóticas y antioxidantes. Para todas estas opciones de tratamiento, se necesita establecer en primer lugar la presencia y magnitud de la penumbra. El diagnóstico por imágenes constituye la única manera directa de evaluar la penumbra. El diagnóstico por imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET) se considera el estándar de referencia para la evaluación de los cambios patofisiológicos en un accidente cerebrovascular temprano (Baron JC 4). Sin embargo, su uso en la práctica clínica no resulta práctico, ya que es complejo, costoso y no se encuentra fácilmente disponible.

Un estudio piloto usando un modelo de rata ha demostrado tejidos que responden a la exposición de oxígeno en la anomalía DW en dos horas y tres horas después de la oclusión. La anomalía DW que se observa después de oclusión vascular contiene además la Penumbra. Por lo tanto, los tejidos en los límites ADC, que respondieron durante un transcurso de tiempo similar como tejidos normales a la exposición de oxígeno, son metabólicamente activos y de esta manera podrían constituir la penumbra isquémica.

Un estudio piloto en pacientes que sufren de accidentes cerebrovasculares se ha llevado a cabo además y sugiere que la técnica es fácil de trasladar a esta situación clínica.

30 Epilepsia

La epilepsia o convulsión recurrente es un trastorno común con una prevalencia de aproximadamente 1:130 en UK. La mayoría de epilepsias en adultos son focales. Alrededor del 30% no se pueden llevar a un control satisfactorio usando tratamiento con medicamentos y se considera tratamiento quirúrgico cada vez más. En estos casos, resulta muy importante identificar el foco de convulsión para cirugía. Los pacientes se someten a investigación antes de cirugía con EEG, MRI estructural, SPECT y PET. El EEG se usa para tomar actividad eléctrica anormal que se genera mediante el foco de convulsión. Sin embargo, los estudios de EEG superficiales no pueden localizar de manera precisa la anormalidad en el cerebro. No obstante, esto puede realizarse al colocar electrodos en el cerebro, a pesar de que esto conlleva riesgos debido a la naturaleza invasiva de la técnica. Estudios han demostrado metabolismo alterado en el foco de convulsión. Durante el ictus existen metabolismo y flujo sanguíneo aumentados y esto se reduce con posterioridad a la convulsión. Por lo tanto, las técnicas con la capacidad de demostrar anatómicamente flujo sanguíneo alterado tal como SPECT y metabolismo alterado tal como PET 18FDG se usan también para demostrar el foco de convulsión. Sin embargo, las desventajas principales, comunes a estas dos técnicas, consisten en el uso de radioisótopos y resolución espacial relativamente limitada. Además, el coste de escaneos de PET es muy alto.

Usando el método que se describe anteriormente, los inventores creen que sería posible demostrar el foco de convulsión de manera no invasiva. Las ventajas de MRI consisten en que no usa radiación ionizante, tiene mayor resolución espacial, es ubicua y tiene un coste más bajo que PET. Un estudio piloto adicional se lleva a cabo usando esta técnica en paciente con epilepsia seleccionados.

50 Demencia

La demencia, una disfunción cerebral progresiva, conduce a una restricción gradualmente en aumento de actividades diarias. La demencia no solo afecta a pacientes, sino también a aquellos que los rodean, ya que la mayoría de pacientes requieren cuidado a largo plazo. El tipo de demencia que mejor se conoce es la enfermedad de Alzheimer. La Alzheimer’s Society estima que existen actualmente más de 750.000 personas en UK con demencia. Las teorías actuales sobre la patogénesis de los signos y síntomas cognitivos de la enfermedad de Alzheimer atribuyen algunos de estos a una deficiencia de neurotransmisión colinérgica. El hidrocloreuro de donepezilo, un medicamento que se usa en la enfermedad de Alzheimer, se plantea para ejercer su efecto terapéutico al mejorar la función colinérgica y mejorar el rendimiento cognitivo en pacientes durante un año. Este tratamiento con medicamento es costoso y existen muchas otras causas de demencia para las cuales este tratamiento no resulta efectivo. Por lo tanto, el diagnóstico de esta condición resulta importante y se logra actualmente usando escaneos de SPECT o PET, que muestran flujo sanguíneo y metabolismo reducidos en los lóbulos temporal y parietal del cerebro. Se plantea que este patrón específico podría detectarse además mediante los métodos de la presente invención.

65 Esclerosis múltiple

Se cree que MS es una enfermedad autoinmune que afecta el sistema nervioso central (CNS). El CNS consiste del cerebro, médula espinal, y los nervios ópticos. Rodeando y protegiendo a las fibras nerviosas del CNS se encuentra un tejido adiposo que se denomina mielina, que contribuye a que las fibras nerviosas conduzcan impulsos eléctricos. La mielina no solo protege a las fibras nerviosas, sino que también hace que la conducción sea posible. Cuando la mielina o la fibra nerviosa se destruyen o dañan, la capacidad de los nervios de conducir impulsos eléctricos hacia y desde el cerebro se interrumpe, y esto produce los diversos síntomas de MS. Los escaneos de MRI constituyen la manera más sensible de detectar las lesiones en MS. Sin embargo, los escaneos de MRI simples no pueden diferenciar de manera activa lesiones inflamadas a partir de lesiones anteriores que han sanado. Los escaneos mejorados con gadolinio pueden demostrar de manera activa lesiones inflamadas a medida que la barrera hematoencefálica se interrumpe. Debido a que el metabolismo de una lesión activa se diferenciaría de las lesiones anteriores que han sanado, se plantea que los métodos de la presente invención podrían demostrar las lesiones inflamadas de manera activa sobre esta base.

Cáncer

Más de 270.000 pacientes nuevos se diagnostican con cáncer anualmente en UK. El diagnóstico por imágenes transversales usando MRI y CT, tiene actualmente un rol central en cuanto al manejo de pacientes con enfermedad maligna. Este rol incluye diagnóstico inicial y estadificación, monitoreo de respuesta a tratamiento y reconocimiento de complicaciones. El uso del tamaño como un criterio de compromiso nodal linfático tiene sus limitaciones. Los tejidos tumorales tienen un nivel más alto de metabolismo y esto se ha usado para detectar diseminación de cáncer en nódulos linfáticos, mediante combinación de escaneos de CT estructurales con - PET 18FDG. Se cree que la técnica que se describe anteriormente demostrará tejidos que son metabólicamente diferentes, y que, con escaneos de MRI estructurales de alta resolución, puede reemplazar el cáncer que se estadifica por PET-CT. Esto tendrá un impacto no solo en los costes sino también en la capacidad de entregar resultados rápidamente, ya que los escáneres de MRI son ubicuos y la técnica resultará fácil de trasladar clínicamente. Como el diagnóstico por imágenes de MRI no usa radiación ionizante, le respuesta de tratamiento puede monitorearse más estrechamente, debido a que no existen limitaciones del número de veces para que el paciente o los intervalos de tiempo antes del diagnóstico por imágenes puedan repetirse. Por lo tanto, el presente método podría usarse en estadificación de cánceres de cabeza y cuello, cánceres pulmonares, cánceres gastrointestinales, cánceres genitourinarios, linfoma y melanoma. Esta capacidad para monitorear el desarrollo o progresión de cáncer a partir de un tumor primario a metástasis al dirigirse a un tejido en particular (por ejemplo, nódulos linfáticos) u órganos (por ejemplo, hígado) resulta un desarrollo significativo en cuanto al cuidado de los que sufren de cáncer. El método puede usarse además para diferenciar recurrencia tumoral a partir de necrosis tumoral en gliomas cerebrales.

Diagnóstico por imágenes cardíacas

En UK, 140.000 personas mueren cada año por enfermedad cardíaca. El estrechamiento de las arterias coronarias puede dar como resultado suministro insuficiente de sangre al corazón, especialmente en momentos de estrés físico o emocional. El estrechamiento de las arterias se debe al depósito de placas de colesterol en la pared interna de la arteria. La falta de sangre oxigenada debido a enfermedad de arteria coronaria origina que el músculo cardíaco se dirija a metabolismo anaeróbico, produciendo un dolor parecido a un calambre que se conoce como angina. La falta de oxígeno por más de un período breve origina isquemia y/o muerte celular muscular. La angiografía coronaria por tomografía computada (CTCA) es una técnica para detección no invasiva del estrechamiento de un vaso sanguíneo (estenosis coronaria). La CTCA constituye una herramienta excelente para descartar enfermedad de arteria coronaria relevante, pero no todas las placas o lesiones de las arterias coronarias originan reducción significativa de flujo sanguíneo al corazón. El diagnóstico por imágenes de perfusión miocárdica (flujo sanguíneo) usando tomografía computada de emisión de fotón único (SPECT) es un método establecido para evaluar el significado fisiológico de lesiones coronarias en pacientes con dolor de pecho. Combinar estas dos modalidades de diagnóstico por imágenes del corazón ha proporcionado información tanto anatómica como fisiológica para mejor manejo de isquemia cardíaca. Ahora, la MRI cardíaca proporciona además una imagen precisa del corazón. Puede capturar el latido del corazón en tiempo real al representar por imagen hasta 50 cuadros por segundo en una secuencia que se dispara mediante una máquina de electrocardiograma (EKG). Estas capacidades permiten que se puedan observar las arterias coronarias con suficiente detalle como para determinar si la acumulación o bloqueo de placa ha ocurrido. La MRI cardíaca puede determinar además la magnitud de daño muscular a continuación de un ataque cardíaco, debido a que la MRI tiene buen contraste de tejido blando y de esta manera puede identificar las diferencias sutiles entre músculos cardíacos normales y anormales. Sin embargo, esto es todavía información que resulta todavía estructural solamente. De manera ideal, se requeriría información que sería capaz de estratificar tejidos afectados sobre la base de la función. Los tejidos cardíacos que son funcionalmente activos tendrán mayor metabolismo y, por lo tanto, el diagnóstico por imágenes del corazón usando el método actual puede estratificar tejidos que son normales, isquémicos e infartados.

De manera ventajosa, el método de la presente invención está previsto para tener aplicación en el manejo de muchas enfermedades comunes. Un beneficio de los procedimientos que se describen en la presente yace en el hecho de que los datos con respecto a la función metabólica (o disfunción) de tejido se encuentran disponibles en tiempo real, produciendo información valiosa sobre tejido viable, y permitiendo una decisión rápida para tomar si se debe

considerar una intervención o procedimiento como una consecuencia de un diagnóstico hecho sobre la base de los datos recopilados.

5 La invención encuentra utilidad en la investigación de soporte en cuanto a enfermedad y trastornos degenerativos y en diagnóstico y tratamiento de soporte de condiciones que pueden ser mortales o de otra manera reducir la calidad de vida de una persona. De este modo, la invención se puede aplicar para monitorear estadios de cáncer, por ejemplo, para evaluar metástasis, normalmente propagación del cáncer a partir de un tumor primario a nódulos linfáticos o migración a través de otro sistema circulatorio o en un órgano tal como el hígado.

10 La invención encuentra también utilidad en estudio de medicamentos, y evaluación de efectos de administración de un agente terapéutico o profiláctico en tejido blando o un órgano mediante la ejecución del método de los aspectos primero y segundo que se describen anteriormente en la presente conjuntamente con administración simultánea o secuencial de dicho agente, y evaluación de función metabólica para determinar cambios que se atribuyen a efectos de dicho agente.

15 Modificaciones y mejoras adicionales pueden agregarse sin abandonar el alcance de la invención que se describe en la presente.

20 Referencias

1. Astrup J, Siesjo BK y Symon L. Thresholds in cerebral ischemia-the ischemic penumbra. *Stroke*. 12:723-725. 1981.
2. Bittar PG, Charnay Y, Pellerin L, Bouras c y Magistretti PJ. Selective distribution of lactate dehydrogenase isoenzymes in neurons and astrocytes of human brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 16:1079-1089. 1996.
- 25 3. Berkelback van der Sprenkel JW, Luyten PR, van Rijen PC, Tulleken CA y den Hollander JA. Cerebral lactate detected by regional proton magnetic resonance spectroscopy in a patient with cerebral infarction. *Stroke*. 19(12):1556-60. 1988.
- 30 4. Fenstemacher MJ y Narayana P. Serial proton magnetic resonance spectroscopy of ischemic brain injury in humans. *Investigative Radiology*. 25(9):1034-9, 1990.
5. Houkin K. Proton and phosphorous-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy in experimental cerebral infarction in rats. *Hokkaido Igaku Zasshi* (japonés). 65(6):595-603.
- 35 6. Law R, Bukwirwa H (1999) *The Physiology of Oxygen Delivery*. Update in Anaesthesia, 10 (3): 1-2.
7. Pellerin L, Pellerin G, Bittar PG, Charnay Y, Bouras C, Martin J, Stella N y Magistretti PJ. Evidence supporting the existence of an activity-dependent astrocyte-neuron lactate shuttle. *Dev Neurosci* 20:291-299-1998
- 40 8. Pickup S, Lee SC, Mancuso A, Glickson JD. Lactate Imaging with Hadamard-Encoding slice selective multiple quantum coherence chemical shift Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2008.60:299-305.
- 45 9. Reese T., Norris DG, Leibfritz D. A fast method for in-vivo Lactate imaging. 1995. *NMR in Biomedicine*. 8: 225-231.
10. Pauling L, Coryell C. The magnetic properties of and structure of haemoglobin, oxyhaemoglobin and carbon-monoxihaemoglobin. *Proc Natl Acad Sci USA* 22: 210-216.
- 50 11. Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87: 9868-9872. 3. Heiss WD, Thiel A, Grond M, Graf R (1999) Which targets are relevant for therapy of acute ischaemic stroke? *Stroke* 30: 1486-1489.
- 55 12. Baron J Mapping the ischaemic penumbra with PET: implications for stroke treatment. *Cerebrovasc Dis*. 1999; 9:193-201.
13. Benard Schaller Review article. Cerebral Ischaemia and Reperfusion: The Pathophysiologic Concept as a Basis for Clinical Therapy. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 24:351-371 2004
- 60 14. Hakim AM: The cerebral ischemic penumbra. *Can J Neurol Sci*. 1987; 14: 557-559
15. Heiss WD,, Huber M, Fink GR, et al . Progressive derangement of periinfarct viable tissue in ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1992; 12: 193-203.
- 65 16. Marchal G, Beaudouin V, Rioux P, et al. Prolonged persistence of substantial volumes of potentially viable brain tissue after stroke: a correlative PET-CT study with voxel-based data analysis. *Stroke*. 1996; 27:599-606.

17. Guadagno JV, et al. Cerebrovascular Diseases 19(4), 239-246, feb. 2005. 10. Keipert PE: Perfluorochemical emulsions: future alternatives to transfusion. Blood Subst Princ Meth Prod Clin Trials 1998, 2:127-156

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método de diagnóstico por imágenes de una función metabólica en un área diana de un organismo usando imagen de resonancia magnética (MRI), comprendiendo el método las etapas de:
- i) obtener una primera medición de lactato en un área diana del organismo;
- 10 ii) administrar oxígeno a dicho organismo;
- iii) obtener una segunda medición de lactato en un área diana del organismo a continuación de dicha administración de oxígeno;
- 15 iv) comparar dichas mediciones primera y segunda mediante un escáner de MRI para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato que se presenta en dicha área diana antes y a continuación de la administración del oxígeno, y
- v) correlacionar dichos datos con respecto a la función metabólica del área diana mediante el escáner de MRI.
- 20 2. El método de la reivindicación 1, en el que el oxígeno se administra mediante inhalación.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en el que la etapa v) incluye procesar los datos para evaluar dicha función metabólica.
- 25 4. El método de las reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que la obtención de una medición de lactato comprende la obtención de uno o más de imágenes de MRI del área diana.
5. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además una secuencia de MRI, caracterizada porque la secuencia comprende una combinación de generación de pulsos a medida para reducir saturación de agua y grasa, optimización de la frecuencia de pulsos para el diagnóstico por imágenes de lactato y utilización de un método de diagnóstico por imágenes de adquisición rápida con realce de la relajación (RARE) para medir la resonancia magnética en el área diana, y/o, de manera opcional, en el que el método comprende además una o más técnicas de MRI que se seleccionan a partir de diagnóstico por imágenes RARE potenciadas en T₂, diagnóstico por imágenes potenciadas en difusión (DWI), diagnóstico por imágenes de perfusión (PWI), espectroscopia de 1H localizado y diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato (LDI).
- 30 6. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que los datos obtenidos se procesan para producir un mapa metabólico del área diana.
- 40 7. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la administración de oxígeno se continúa por un período suficiente para retirar todo el lactato del área diana.
8. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el área diana se selecciona a partir del grupo que consiste de una región de tejido y un órgano, de manera opcional, en el que el área diana es el cerebro.
- 45 9. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el oxígeno se administra una vez en una dosis única; o en el que el oxígeno se administra como una pluralidad de dosis sucesivas; o en el que el oxígeno se administra en concentraciones diferentes; o en el que la cantidad de oxígeno que se administra se aumenta de manera lineal; o en el que la cantidad de oxígeno administrado se administra en incrementos en aumento, de manera opcional, en el que se proporciona un período de tiempo corto entre cada incremento.
- 50 10. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la administración de oxígeno es en etapas incluyendo una etapa de nivel bajo, y, al menos, una etapa de un nivel elevado en comparación con la etapa de "nivel bajo", en el que, de manera opcional, el método comprende además una etapa de nivel bajo final o "etapa de descanso".
- 55 11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el método de diagnóstico por imágenes comprende escaneo de imágenes de resonancia magnética de O₂ potenciadas en T₂*.
- 60 12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la función metabólica se determina en un paciente que se encuentra afectado por una condición que se selecciona a partir del grupo que consiste de trastornos circulatorios incluyendo accidente cerebrovascular, trastornos neuronales incluyendo epilepsia (convulsión recurrente), y demencia, disfuncionalidades cerebrales progresivas, enfermedades autoinmunes incluyendo esclerosis múltiple, disfuncionalidad neoplásica de tejido blando incluyendo cánceres de la cabeza y cuello, cánceres de pulmón, cánceres gastrointestinales, cánceres genitourinarios, linfoma, y melanoma o, de manera opcional, en el que la función metabólica se determina y utiliza como un medio para diferenciar recurrencia tumoral a partir de necrosis tumoral.
- 65

13. El método de la reivindicación 3, que comprende las etapas adicionales de:

5 vi) repetir etapas i) a v) anteriores conjuntamente con administración simultánea o secuencial del agente terapéutico, y evaluar la función metabólica para determinar cambios que se atribuyen a efectos del agente terapéutico.

14. Un escáner de MRI que se configura para:

10 i) generar datos de imágenes de referencia del área diana de un organismo antes de la administración de oxígeno;

ii) obtener datos de diagnóstico por imágenes adicionales del área diana de un organismo a continuación de dicha administración de oxígeno;

15 iii) procesar dichos datos de diagnóstico por imágenes para obtener datos con respecto a las cantidades relativas de lactato que se presenta en dicha área diana a continuación de dicha administración de oxígeno, y correlacionar dichos datos con respecto a la función metabólica del área diana,

20 en el que dicho escáner de MRI se configura además para ejecutar una secuencia para representar por imagen señal de "cambios del lactato" que comprende

i) generar pulsos a medida para reducir saturación de agua y grasa,

ii) optimizar la frecuencia de pulsos para el diagnóstico por imágenes de lactato y

25 iii) utilizar un método de diagnóstico por imágenes de adquisición rápida con realce de la relajación (RARE) para medir la resonancia magnética en el área diana.

30 15. El escáner de MRI de la reivindicación 14 que se configura además para realizar una o más técnicas de MRI que se seleccionan a partir de diagnóstico por imágenes RARE potenciadas en T₂, diagnóstico por imágenes potenciadas en difusión (DWI), diagnóstico por imágenes de perfusión (PWI), espectroscopia de 1H localizado y diagnóstico por imágenes de diferencia de lactato (LDI).

35 16. El escáner de MRI de una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 15 que se configura además para procesar los datos que se obtienen para producir un mapa metabólico del área diana.

17. El escáner de MRI de una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, en el que el área diana se selecciona a partir del grupo que consiste de una región de tejido y un órgano.

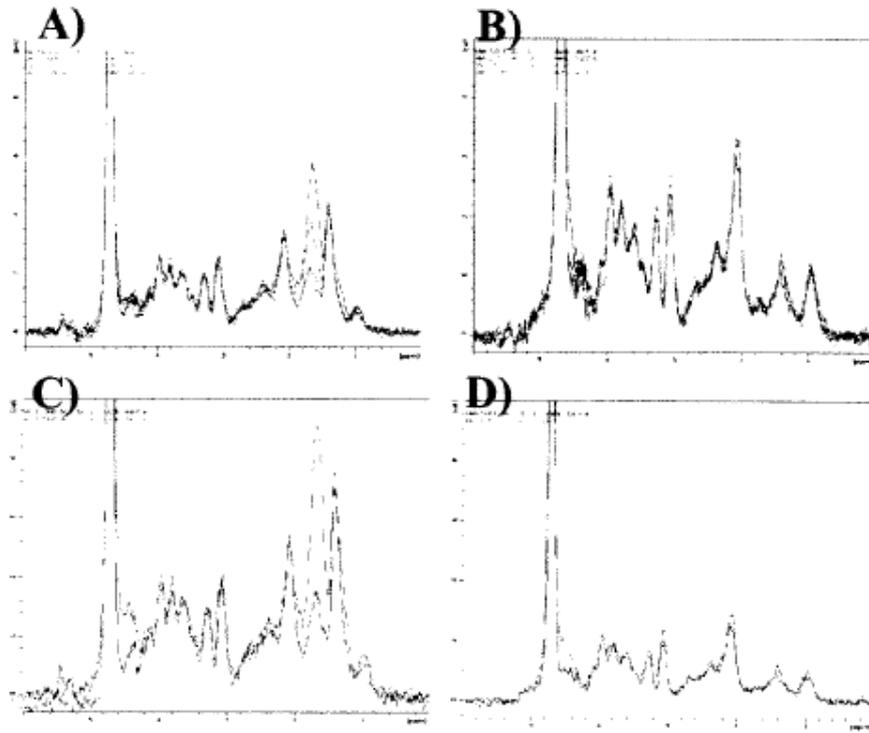
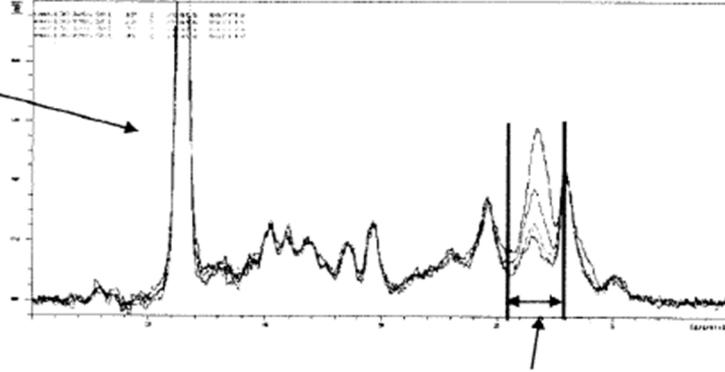
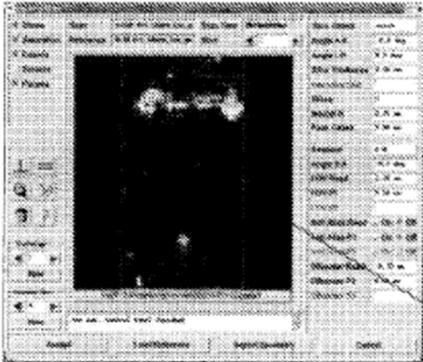


Figura 1

a)



1) Necesidad de reducir gran señal de agua con pulsos de supresión de agua



3) Excitar de manera selectiva solo rangos de frecuencias alrededor del Lactato

2) Señal de grasa fuerte de alrededor del cerebro necesita supresión

b)

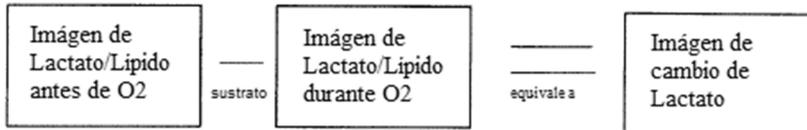


Figura 2

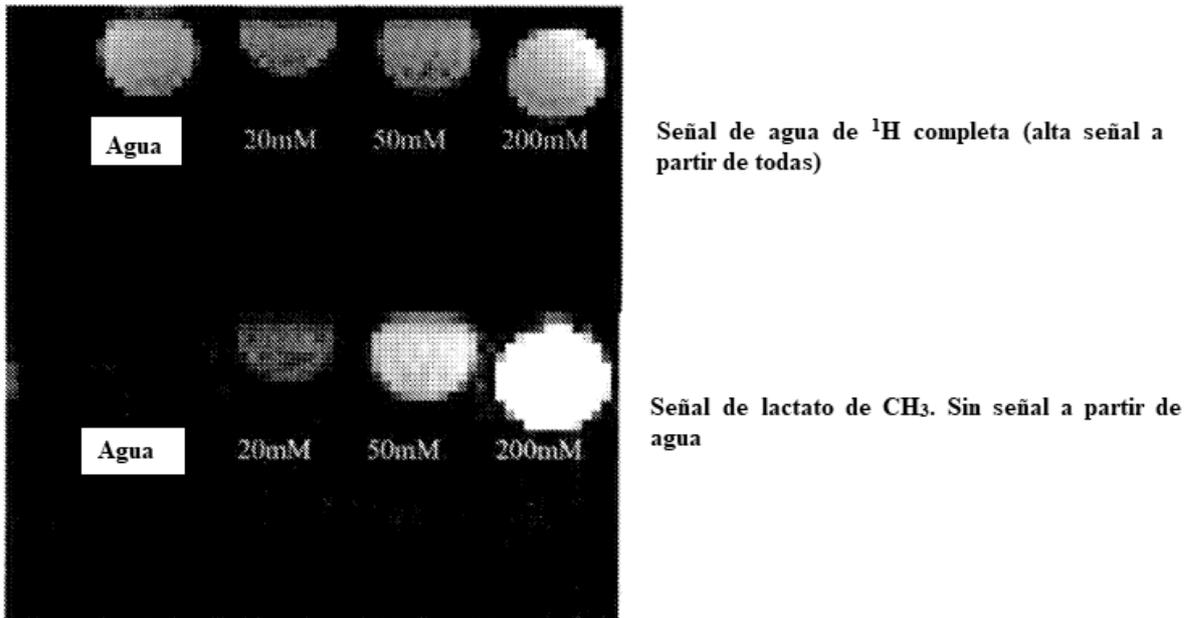


Figura 3

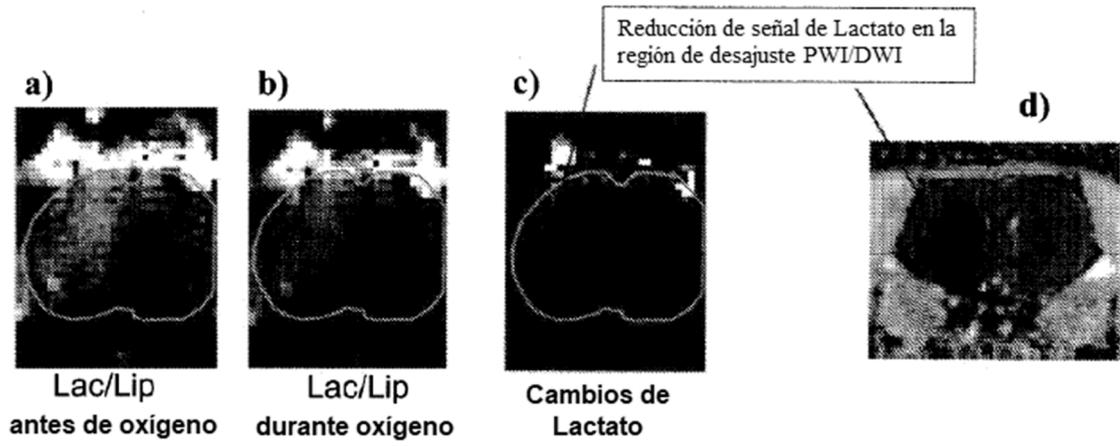
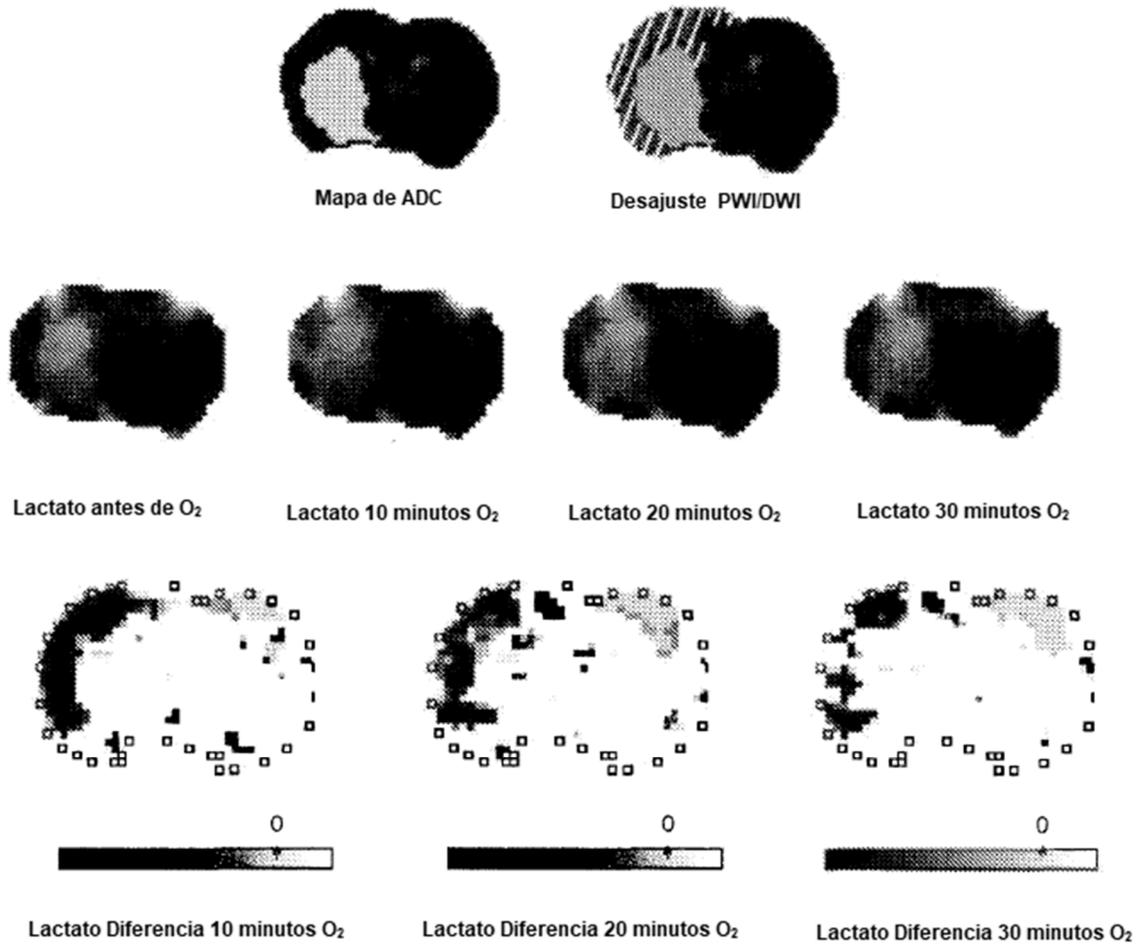


Figura 4

Figura 5



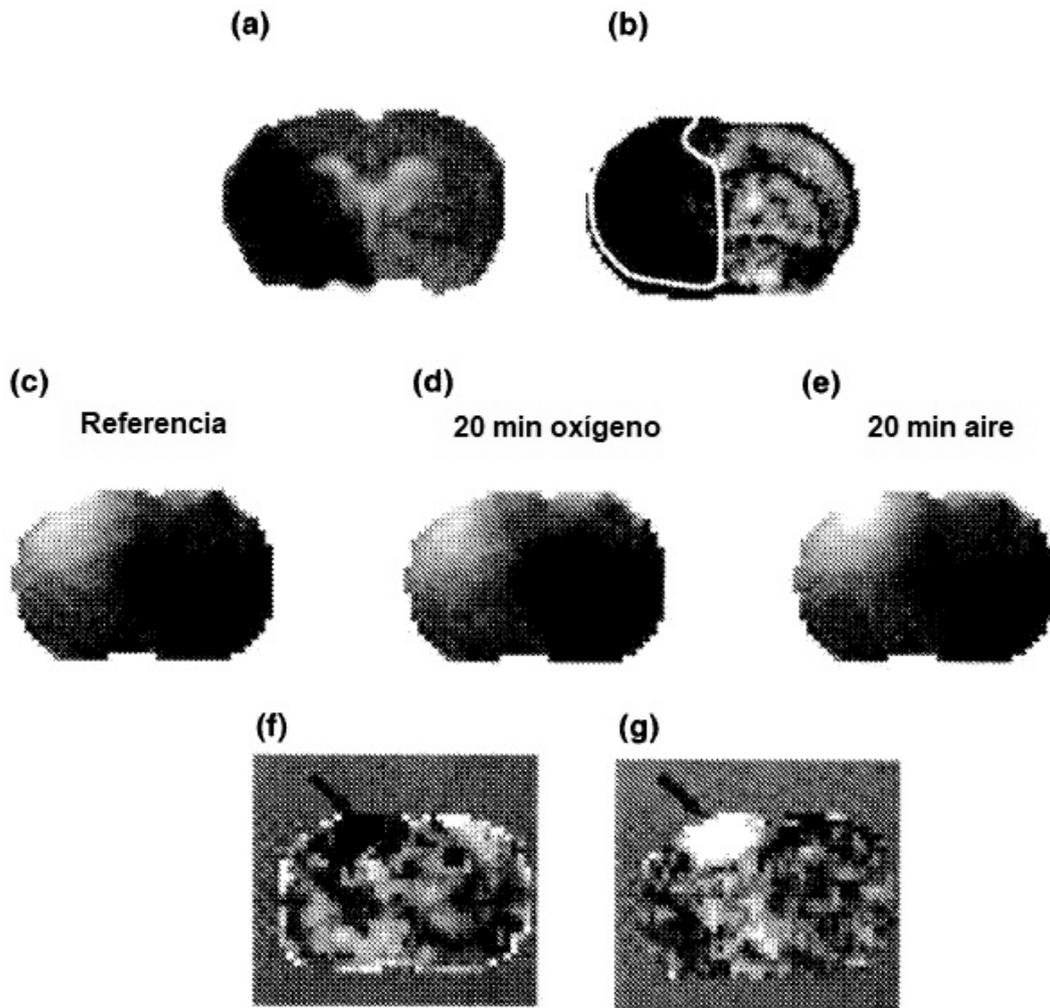


Figura 6

Diagrama que ilustra desajuste DWI (blanco)/PWI (negro) y colocación de vóxeles para espectroscopia localizada

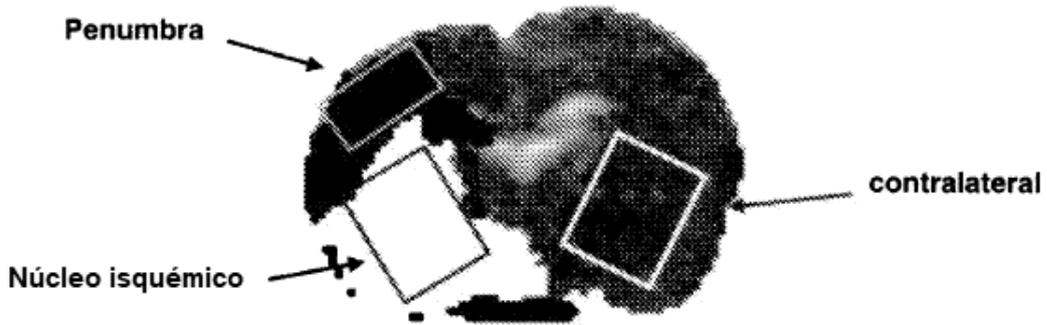


Figura 7

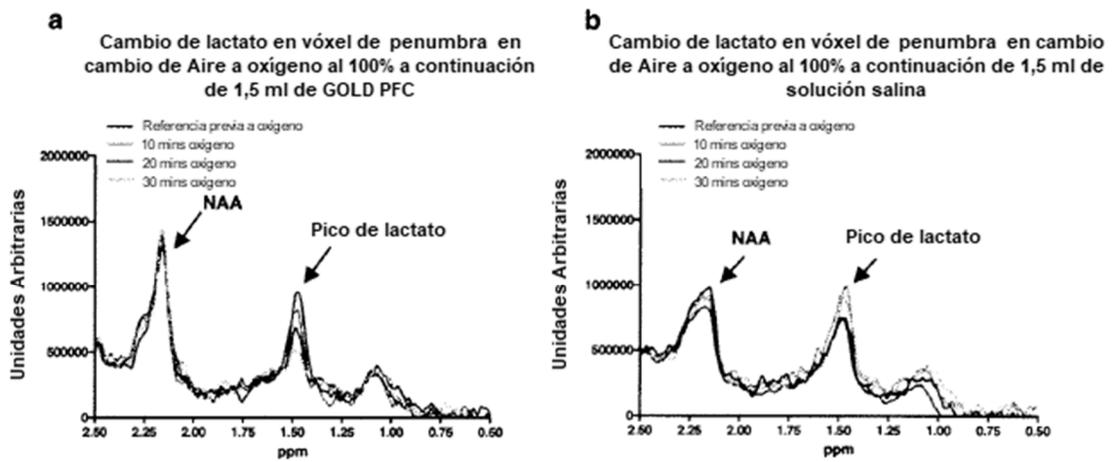


Figura 8

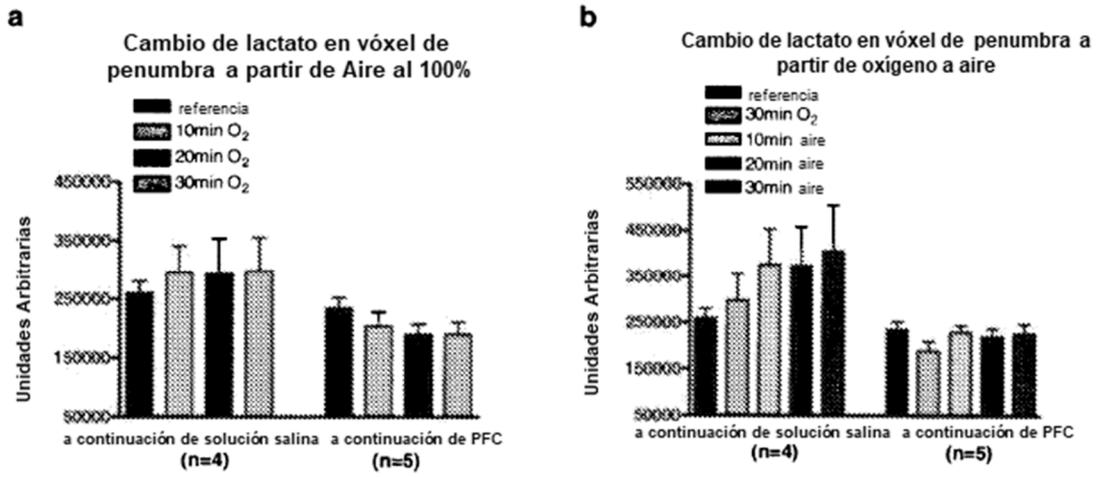


Figura 9

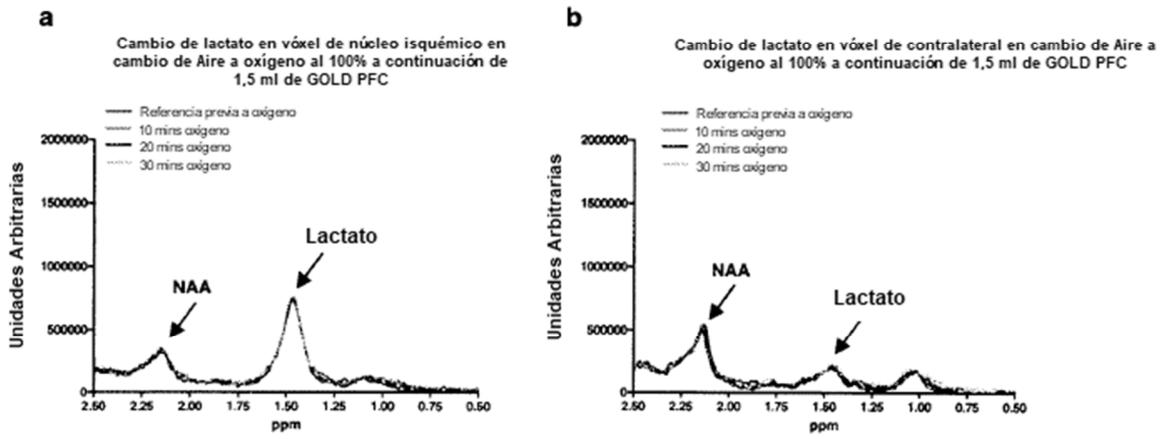


Figura 10