

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 499**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/13** (2006.01)

**A61P 39/06** (2006.01)

**A61K 31/661** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.09.2011 PCT/US2011/051946**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.03.2012 WO12037466**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.09.2011 E 11771290 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2019 EP 2663297**

54 Título: **Métodos y composiciones para la protección de células y tejidos contra la radiación de la tomografía computarizada**

30 Prioridad:

**16.09.2010 US 383592 P**

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

**11.05.2020**

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF CHICAGO (100.0%)  
5801 South Ellis Avenue  
Chicago, IL 60637, US**

72 Inventor/es:

**GRDINA, DAVID, J.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 759 499 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

Métodos y composiciones para la protección de células y tejidos contra la radiación de la tomografía computarizada

5 **Antecedentes de la invención****I. Campo de la invención**

10 En líneas generales, la invención está relacionada con la bioquímica, fisiología, medicina y la inhibición de la inestabilidad genómica causada por la radiación ionizante, tal como la del diagnóstico por imágenes mediante tomografía computarizada.

**II. Antecedentes**

15 La tomografía computarizada (TC) es un poderoso método médico de diagnóstico por imágenes que emplea tomografía creada mediante procesamiento informático. Sin embargo, se ha estimado que las exploraciones mediante TC producen aumentos no insignificantes en la probabilidad de mortalidad por cáncer de por vida, lo que conduce a un llamamiento del uso de configuraciones de corriente reducidas para las exploraciones por TC. Los riesgos estimados de mortalidad por cáncer de por vida, atribuibles a la exposición a la radiación de una TC en un niño de 1 año son del 0,18 % (abdomen) y 0,07 % (cabeza), un orden de magnitud mayor que para los adultos, aunque esas cifras aún representan un pequeño aumento en la mortalidad por cáncer sobre la tasa de fondo. En Estados Unidos, de aproximadamente 600 000 reconocimientos mediante TC de abdomen y cabeza realizados anualmente en niños menores de 15 años, una estimación aproximada es que 500 de estos individuos podrían morir por cáncer atribuible a la radiación de TC. El riesgo adicional sigue siendo muy bajo (0,35 %) en comparación con el riesgo de fondo de morir por cáncer (23 %). Sin embargo, si estas estadísticas se extrapolan al número actual de exploraciones por TC, el aumento adicional de la mortalidad por cáncer podría ser del 1,5 al 2 %. Asimismo, determinadas afecciones pueden requerir que los niños estén expuestos a múltiples exploraciones mediante TC. De nuevo, estos cálculos pueden ser problemáticos debido a suposiciones subyacentes que podrían sobreestimar el riesgo.

30 En 2009, aparecieron diversos estudios que definieron aún más el riesgo de cáncer que puede ser causado por exploraciones mediante TC (Brenner *et al.* 2001) Un estudio indicó que la radiación por exploraciones mediante TC es a menudo más alta y más variable de lo citado y cada una de las 19 500 exploraciones mediante TC que se realizan diariamente en los Estados Unidos es equivalente en radiación a de 30 a 442 radiografías de tórax. Se ha estimado que la exposición a la radiación de TC provocará 29 000 nuevos casos de cáncer solo por las exploraciones de TC realizadas en 2007 (Brenner *et al.* 2001). Se cree que los cánceres más comunes causados por la TC son cáncer de pulmón, cáncer de colon y leucemia en personas más jóvenes y en mujeres con mayor riesgo. Aunque las exploraciones con TC conllevan un riesgo adicional de cáncer (se puede estimar que la exposición a la radiación de una exploración del cuerpo entero es la misma que a 2,4 km de distancia de las explosiones de bombas atómicas de la Segunda Guerra Mundial en Japón (Nelson, 2009; Semelka *et al.*, 2007), especialmente en niños, los beneficios derivados de su uso superan el riesgo en muchos casos (Khamsi, 2007). Se ha demostrado que una diversas vitaminas y complementos nutricionales protegen al organismo cuando está expuesto a la radiación ionizante. Sin embargo, se necesitan métodos mejorados para reducir de manera sistemática y reproducible el riesgo de radiación asociada a la TC.

45 **Compendio de la invención**

Por tanto, de acuerdo con la divulgación, se desvelan composiciones y métodos para la protección de células y tejidos de los efectos dañinos de la radiación de la tomografía computarizada. En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto para su uso en un sujeto, en un método de inhibición de la inestabilidad genómica causada por procedimientos de radiología diagnóstica que implican la exposición a 1-25 cGy de radiación ionizante, en donde el método comprende administrar una dosis eficaz del compuesto antes del procedimiento de radiología diagnóstica, y en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en ácido S-2-(3-aminopropilamino)etil fosforotioico (amifostina, WR-2721) y 2-[(aminopropil)amino]etanotiol (WR-1065). En divulgaciones específicas, los métodos comprenden administrar al sujeto una dosis eficaz de un compuesto antes y/o después de la exposición a un procedimiento de diagnóstico radiológico, incluyendo, pero sin limitación, a una serie gastrointestinal (GI) inferior, que es un procedimiento médico que implica tomar radiografías y que también se denomina enema de bario. En determinadas realizaciones, el compuesto es para su uso en métodos que excluyen específicamente el uso de radiografías convencional que no implican la tomografía computarizada.

60 En determinados aspectos, se proporciona un compuesto para su uso en un sujeto, en un método de inhibición de la inestabilidad genómica causada por una dosis de radiación de exploración por tomografía computarizada (TC) de 1-25 cGy, en donde dicho método comprende administrar al sujeto una dosis eficaz del compuesto antes de la exposición a la radiación de exploración mediante TC, y en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en ácido S-2-(3-aminopropilamino)etil fosforotioico (amifostina, WR-2721) y 2-[(aminopropil)amino]etanotiol (WR-1065). La dosis puede proporcionar un nivel en sangre de aproximadamente 1 a 150  $\mu\text{M}$ . La dosis de radiación de TC puede ser de aproximadamente 1-10 cGy. En otras divulgaciones, la dosis de radiación de TC puede ser de aproximadamente, de al menos aproximadamente, o como máximo de aproximadamente, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140,

- 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 441, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000 (y de cualquier intervalo derivable de los mismos). En determinadas realizaciones, la dosis de radiación de TC no es inferior a aproximadamente 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140 o 150 millirem. En realizaciones adicionales, la dosis de radiación de TC puede ser de aproximadamente, de al menos aproximadamente, o como máximo de aproximadamente, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, 7,0, 7,1, 7,2, 7,3, 7,4, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9, 9,0, 9,1, 9,2, 9,3, 9,4, 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 15,5, 16,0, 16,5, 17,0, 17,5, 18,0, 18,5, 19,0, 19,5, o 20,0 mSv, o de cualquier intervalo derivable de los mismos.
- 15 La inhibición de la inestabilidad genómica puede comprender la reducción de la formación de micronúcleos y/o la hiperrecombinación. El método puede comprender además, administrar al sujeto un segundo agente protector, tal como vitamina E, selenio o catalasa.
- 20 El compuesto se administra antes de la exposición a la radiación de exploración por TC. El compuesto también puede proporcionarse tanto antes como después de la exploración por TC. El compuesto puede administrarse por vía subcutánea, tal como usando el sujeto un dispositivo de autoinyector. El compuesto puede administrarse por vía intravenosa, tópica u oral. El sujeto puede tener cáncer o se puede sospechar que tiene cáncer. El sujeto puede haberse sometido a 1, 2 o 3 exploraciones previas por TC. El sujeto puede ser un ser humano o un animal no humano.
- 25 También se desvelan métodos de evaluación de un sujeto con radiación mediante exploración por tomografía computarizada (TC) que comprende (a) administrar al sujeto una dosis eficaz del compuesto antes y/o inmediatamente o 1 hora después, de la exposición a la radiación mediante exploración por TC; y (b) someter al sujeto a una exploración mediante TC.
- 30 Otra divulgación comprende un método de diagnóstico de cáncer en un sujeto usando una dosis de radiación de exploración por tomografía computarizada (TC) que comprende (a) administrar al sujeto una dosis eficaz del compuesto antes y/ o inmediatamente o 1 hora después de la exposición a la radiación mediante exploración por TC; y (b) someter al sujeto a una exploración mediante TC.
- 35 Una divulgación adicional implica un método de evaluación del tratamiento de cáncer en un sujeto utilizando radiación mediante exploración por tomografía computarizada (TC) que comprende administrar al sujeto una dosis eficaz del compuesto antes y/o inmediatamente después de la exposición a la radiación mediante exploración por TC; (b) tratar al sujeto con una terapia contra el cáncer; y (c) someter al sujeto a una exploración mediante tomografía computarizada. La exploración mediante tomografía computarizada se puede comparar con una exploración mediante tomografía computarizada previa al tratamiento del sujeto.
- 40 También se desvela un método para modular los niveles de superóxido dismutasa 2 mitocondrial (SOD2) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una dosis eficaz del compuesto antes y/o después de la exposición a la radiación de exploración mediante tomografía computarizada.
- 45 Los compuestos utilizados en los métodos de la invención son ácido S-2-(3-aminopropilamino)etil fosfortioico (amifostina, WR-2721) y 2-[(aminopropil)amino]jetanotiol (WR-1065). En aspectos particulares, el compuesto es WR-2721.
- 50 El compuesto puede proporcionarse a una dosis de al menos aproximadamente, como máximo de aproximadamente, o de aproximadamente, 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 25, 50, 100, 200, 400 mg/kg o mg/kg/día, incluyendo todos los valores o intervalos entre ellos. En determinados aspectos, el compuesto se administra a una dosis de al menos aproximadamente, como máximo de aproximadamente, o de aproximadamente, 20 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, y más particularmente, de aproximadamente 75 mg/kg o mg/kg/día. El compuesto puede administrarse 1 vez, 2, 3, 4, 5 veces o más veces al día, a la semana, al mes o al año. En determinados aspectos, el compuesto se administra aproximadamente cada 24, 48, 72, 96, 120 horas o cualquier intervalo derivable de los mismos. El compuesto puede proporcionarse por vía intravenosa, i.v., aunque los métodos también pueden incluir la administración a través de otras vías, tal como la enteral o mediante inyección intraarterial, subcutánea, intraperitoneal, infusión o perfusión, o por inhalación.
- 60 En determinadas realizaciones, el compuesto puede proporcionarse antes de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 o 300 minutos (o de cualquier intervalo derivable de los mismos) de exponerse a la radiación de TC. En determinadas realizaciones, el sujeto está expuesto a radiación de TC.
- 65 Los métodos pueden implicar además administrar al sujeto por vía intravenosa un agente de contraste, que se usa

para visualizar una exploración mediante TC.

A lo largo de esta solicitud se exponen otras realizaciones. Se entiende que las realizaciones en la sección de Ejemplos son realizaciones de la invención que son aplicables a todos los aspectos de la invención.

5 Las expresiones "que inhibe", "que reduce", o "prevención", o cualquier variación de estas expresiones, cuando se usan en las reivindicaciones y/o en la memoria descriptiva, incluyen cualquier disminución o inhibición completa medible para obtener el resultado deseado. El uso de la palabra "un" o "uno/a", cuando se usa junto con la expresión "que comprende" en las reivindicaciones y/o en la memoria descriptiva puede significar "uno/a" pero también está en consonancia con el significado de "uno/a o más", "al menos uno/a", y "uno/a o más de uno/a". A lo largo de esta solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la desviación estándar de error para el dispositivo o método que se emplea para determinar el valor. El uso del término "o" en las reivindicaciones se usa para dar a entender "y/o" a menos que se indique explícitamente para referirse solo a alternativas o las alternativas sean mutuamente excluyentes, aunque la divulgación respalda una definición que se refiere solo a alternativas y a "y/o".

10 Como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las palabras "comprendiendo" (y cualquier forma de comprendiendo, tal como "comprender" y "que comprende"), "teniendo" (y cualquier forma de teniendo, tal como "tener" y "que tiene"), "incluyendo" (y cualquier forma de incluyendo, tal como "incluir" y "que incluye") o "conteniendo" (y cualquier forma de conteniendo, tal como "contener" y "que contiene") son inclusivas o abiertas y no excluyen elementos o etapas de métodos adicionales que no se hayan mencionado.

Otros objetos, características y ventajas de la presente divulgación serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

## 25 Descripción de los dibujos

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente determinados aspectos de la presente invención. La invención se puede entender mejor haciendo referencia a uno o más de estos dibujos junto con la descripción detallada de las realizaciones específicas presentadas en el presente documento.

- 35 **FIG. 1** - Fotomicrografías representativas de colonias GFP+/- que muestran hiperrecombinación tardía.  
**FIG. 2** - Porcentaje de colonias GFP+/- en función del tratamiento.  
**FIG. 3** - Porcentaje de colonias GFP+/- en función del tratamiento.  
**FIGS. 4A-B** - Porcentaje de células con micronúcleos (A) tratados con WR1065 e irradiados o irradiados 24 h después de la exposición a WR1065 (B) tratados con WR1065 a diversos momentos después de la irradiación.  
**FIG. 5** - Porcentaje de células con micronúcleos expuestos a rayos X de 10 cGy y estimulados con 2 Gy varias veces más tarde.  
**FIG. 6** - Cinética de los efectos de la amifostina sobre la actividad de MnSOD (superóxido dismutasa de manganeso) en tejidos normales de ratón.  
**FIG. 7** - Cinética de los efectos de la amifostina sobre la actividad de GPx en tejidos normales de ratón.  
**FIG. 8** - Cinética de los efectos de la amifostina sobre la actividad catalasa en tejidos normales de ratón.  
**FIG. 9** - Efectos de la amifostina sobre la formación de micronúcleos en tejidos normales de ratón.  
**FIG. 10A-B** - (A) Efectos de la transfección de SOD2-ARNip sobre la capacidad de la amifostina para prevenir la formación de micronúcleos inducida por la radiación; (B) Correspondencia de la transfección de SOD2-ARNip con inhibición de actividad de SOD2 elevada.

## 50 Descripción detallada de la invención

La radiología diagnóstica utiliza actualmente la tomografía computarizada o tecnología de exploración mediante "TC" como herramienta de diagnóstico principal. En el 2007, solo en los Estados Unidos, se realizaron setenta y dos millones de exploraciones mediante TC. Por desgracia, los estudios epidemiológicos predicen que la radiación relacionada con la TC conducirá a 29 000 nuevos cánceres cada año. Una exploración típica mediante TC da como resultado dosis de órganos 100 veces más grandes que las radiografías de tórax. Las personas que debido a un problema médico tienen que realizarse una exploración mediante TC generalmente deben realizarse un promedio de 2 a 3 exploraciones. Los niños son los más susceptibles al efecto cancerígeno de las exploraciones mediante TC. Todo el intervalo de dosis de radiación utilizado en las exploraciones mediante TC es de la magnitud demostrada a partir de los datos de supervivientes de la bomba atómica para elevar significativamente el riesgo carcinogénico por encima de los niveles de fondo. Por tanto, existe la necesidad de un método/producto para reducir estos riesgos, lo que hace que las exploraciones mediante TC sean más seguras para la población general y específicamente para los niños.

En este caso, la amifostina se muestra a dosis de radiación típicas de exploraciones mediante TC, e.g, 10 cGy, para ser eficaz en la protección contra procesos celulares de hiperrecombinación, un elemento importante en el desarrollo de la inestabilidad genómica y el eventual desarrollo del cáncer y se observa fácilmente en el intervalo de dosis de radiación baja utilizado por las exploraciones mediante TC. Asimismo, se ha demostrado que la amifostina protege

contra la formación de micronúcleos en las células irradiadas incluso cuando se administra hasta una hora después de la irradiación. Este es un criterio de valoración de inestabilidad genómica mucho más tóxico que la mutagénesis, ya que las mutaciones se producen a nivel de genes, mientras que la formación de micronúcleos representa un daño cromosómico a escala completa que da como resultado la pérdida de partes de los cromosomas.

5 Por lo tanto, se propone que la amifostina y otros fosforotioatos puedan usarse para reducir los efectos secundarios graves de las exploraciones mediante TC de la radiología diagnóstica, en concreto, la inducción de la inestabilidad genómica caracterizada por la hiperrecombinación inducida por bajas dosis de radiación que conduce a un enorme daño cromosómico, aunque no letal, como lo demuestra la formación de micronúcleos que puede culminar en el desarrollo de cáncer. Cabe destacar que la alteración de los procesos de recombinación de fondo normales que se producen en las células no irradiadas, inducidos por irradiación, dan como resultado efectos nocivos tardíos en los cuales la integridad del genoma se ve afectada negativamente, por ejemplo, por procesos de hiperrecombinación significativamente elevados. Cada suceso de recombinación conlleva una probabilidad incorrecta de unirse de nuevo y, por lo tanto, la introducción de daño tardío en el ADN. La hiperrecombinación es una manifestación de pérdida de homeostasis genómica y elevada probabilidad de daño genómico. Los tumores malignos surgen como consecuencia del cambio genético adquirido como lo demuestra la inestabilidad genómica en células con capacidad de expansión clonal. La creencia popular sostiene que la inducción de la inestabilidad genómica, como lo demuestra la hiperrecombinación, es un marcador temprano que puede observarse directamente a dosis muy bajas de radiación y puede representar la primera etapa crítica en la generación de cánceres inducidos por radiación. Por tanto, este método implica el uso de compuestos, tales como la amifostina, con el fin de proteger contra dosis de radiación de nivel de radiación diagnóstica cuando se administra 30 minutos antes o 1 hora después de la irradiación. Se propone que dichos agentes se administren ventajosamente por vía subcutánea usando un aparato autoinyector, opcionalmente con un segundo agente citoprotector.

## 25 I. EXPLORACIÓN MEDIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA (TC)

La tomografía computarizada (TC) es un método médico de diagnóstico por imágenes que emplea tomografía creada mediante procesamiento informático. Habitualmente se usan agentes mejoradores de contraste y a su vez estos pueden exacerbar el daño por radiación en el ADN celular debido a sus números atómicos Z altos que facilitan la intensidad de la radiación dispersa y, por tanto, mejorar la imagen medida. Por lo tanto, dichos agentes de contraste tienen, como efecto secundario, la capacidad de sensibilizar aún más a las células frente a las propiedades perjudiciales de las dosis de radiación utilizadas en la adquisición de imágenes mediante TC. El procesamiento de geometría digital se utiliza para generar una imagen tridimensional del interior de un objeto a partir de una amplia serie de imágenes de rayos X bidimensionales tomadas alrededor de un solo eje de rotación.

35 La TC produce un volumen de datos que puede gestionarse a través de un proceso conocido como "presentación en ventanas", con el fin de demostrar diversas estructuras corporales en función de su capacidad para bloquear el haz de rayos X. Aunque históricamente las imágenes generadas estaban en el plano axial o transversal, ortogonal al eje longitudinal del cuerpo, los escáneres modernos permiten que este volumen de datos se vuelva a formatear en varios planos o incluso como representaciones de estructuras volumétricas (3D). Aunque es más habitual en medicina, la TC también se usa en otros campos, tales como en ensayos no destructivos de materiales. El uso de la TC ha aumentado drásticamente en las últimas dos décadas - se estima que en el 2007 se realizaron 72 millones de exploraciones en los Estados Unidos.

45 La tomosíntesis digital combina la captura y el procesamiento de imágenes digitales con un movimiento simple de tubo/detector, como se usa en la tomografía radiográfica convencional. Aunque hay algunas similitudes con la TC, esta es una técnica distinta. En la TC, la fuente/detector realiza una rotación completa de 360 grados sobre el sujeto obteniendo un conjunto completo de datos a partir del cual se pueden reconstruir imágenes. En la tomosíntesis digital, solo se usa un ángulo de rotación pequeño (por ejemplo, de 40 grados) con un pequeño número de exposiciones distintas (por ejemplo, 10). Este conjunto incompleto de datos puede procesarse digitalmente para producir imágenes similares a las de la tomografía convencional con una profundidad de campo limitada. Sin embargo, dado que el procesamiento de la imagen es digital, a partir de la misma adquisición se puede reconstruir una serie de cortes a diferentes profundidades y con diferentes espesores, economizando tanto en tiempo como en exposición a la radiación.

55 Dado que los datos adquiridos son incompletos, la tomosíntesis no puede ofrecer las bandas de corte extremadamente estrechas que ofrece la TC. Sin embargo, pueden usarse detectores de mayor resolución, permitiendo una resolución muy alta en el plano, incluso si la resolución del eje Z es pobre. El interés principal de la tomosíntesis es el diagnóstico mamográfico, como una extensión a la mamografía, donde puede ofrecer mejores tasas de detección con un pequeño aumento adicional en la exposición a la radiación.

65 Los algoritmos de reconstrucción de la tomosíntesis son significativamente diferentes de los de la TC convencional, ya que el algoritmo convencional de retroproyección filtrada requiere un conjunto completo de datos. Los algoritmos iterativos basados en la maximización de expectativas son los más utilizados, pero desde el punto de vista informático son extremadamente difíciles. Para realizar la reconstrucción, algunos fabricantes han producido sistemas prácticos que utilizan GPU (siglas del inglés *Graphics Processing Unit*, unidades de procesamiento gráfico) estándar.

Desde su introducción en la década de 1970, la TC se ha convertido en una herramienta importante en el diagnóstico médico por imágenes que complementa a las radiografías y ecografías médicas. Más recientemente se ha utilizado en medicina preventiva o en la detección de enfermedades, por ejemplo, en colonografía por TC, para pacientes con alto riesgo de cáncer de colon, o gammagrafía cardíaca de movimiento completo, para pacientes con alto riesgo de cardiopatía. Diversos centros ofrecen exploraciones del cuerpo entero para la población en general. Sin embargo, esta es una práctica controvertida, dada su falta de beneficio comprobado, coste, exposición a la radiación y el riesgo de encontrar anomalías 'incidentales' que pueden desencadenar investigaciones adicionales. El incremento del uso de las exploraciones por TC se ha dado en dos campos principales: detección de adultos (detección mediante TC del pulmón en fumadores, colonoscopia virtual, detección cardíaca con TC y TC del cuerpo entero en pacientes asintomáticos) y el diagnóstico por imágenes mediante TC de niños. El acortamiento del tiempo de exploración a aproximadamente 1 segundo, la eliminación de la estricta necesidad de que el sujeto deba permanecer quieto o sedado, es una de las principales razones del gran aumento en la población infantil (especialmente para el diagnóstico de la apendicitis).

#### DOSIS DE EXPLORACIÓN TÍPICAS

| Reconocimiento                   | Dosis eficaz típica |           |
|----------------------------------|---------------------|-----------|
|                                  | (mSv)               | (milirem) |
| Radiografía de tórax             | 0,1                 | 10        |
| TC de cabeza                     | 1,5                 | 150       |
| Mamografía de detección          | 3                   | 300       |
| TC de abdomen                    | 5,3                 | 530       |
| TC de tórax                      | 5,8                 | 580       |
| Colonografía mediante TC         | 3,6-8,8             | 360-880   |
| TC de tórax, abdomen y pelvis    | 9,9                 | 990       |
| Angiografía mediante TC cardíaca | 6,7-13              | 670-1300  |
| Enema de bario                   | 15                  | 1500      |
| TC abdominal neonatal            | 20                  | 2000      |

Con fines comparativos, la exposición de fondo promedio en el Reino Unido es de 1-3 mSv (millisievert) por año.

Dado que las exploraciones de contraste por TC se basan en agentes de contraste administrados por vía intravenosa para proporcionar una calidad de imagen superior, existe un nivel de riesgo bajo, aunque no insignificante, asociado a los propios agentes de contraste. Muchos pacientes comunican náuseas y molestias, incluyendo calor inguinal parecido a la sensación de estar húmedo. Determinados pacientes pueden experimentar reacciones alérgicas graves y potencialmente mortales al colorante de contraste.

El agente de contraste también puede inducir daño renal. El riesgo de esto aumenta con los pacientes que tienen insuficiencia renal preexistente, diabetes preexistente o volumen intravascular reducido. En general, si un paciente tiene una función renal normal, entonces los riesgos de la nefropatía por contraste son insignificantes. Por lo general, a los pacientes con insuficiencia renal leve se les recomienda que se aseguren de hidratarse bien durante varias horas antes y después de la inyección. Para la insuficiencia renal moderada, se debe evitar el uso de contraste yodado; esto puede significar el uso de una técnica alternativa en lugar de la TC, por ejemplo., RMN (resonancia magnética nuclear). Paradójicamente, los pacientes con insuficiencia renal grave sometidos a diálisis, no requieren precauciones especiales, ya que a sus riñones les queda poca funcionalidad y cualquier daño adicional no sería perceptible y la diálisis eliminará el agente de contraste.

Una cuestión importante en la radiología actual es cómo reducir la dosis de radiación durante los reconocimientos mediante TC sin comprometer la calidad de las imágenes. Generalmente, las dosis de radiación más altas ofrecen imágenes con mayor resolución, mientras que las dosis más bajas aumentan el ruido de fondo de las imágenes y éstas son poco nítidas. El incremento de la dosis aumenta el riesgo de cáncer inducido por radiación - una TC abdominal tetrafásica proporciona la misma dosis de radiación que 300 radiografías de tórax. Existen varios métodos que pueden reducir la exposición a la radiación ionizante durante una exploración mediante TC.

La nueva tecnología con programación informática puede reducir significativamente la dosis de radiación requerida. Los programas informáticos funcionan como un filtro que reduce el ruido de fondo aleatorio y mejoran las estructuras. De esta forma, es posible obtener imágenes de alta calidad y, al mismo tiempo, reducir la dosis hasta en un 30 a 70 %. Otras sugerencias son individualizar el reconocimiento y ajustar la dosis de radiación al tipo de cuerpo y de órgano corporal examinados (diferentes tipos de cuerpos y de órganos corporales requieren diferentes cantidades de radiación), y, antes de cada reconocimiento mediante TC, evaluar si es pertinente realizar el reconocimiento o si es más adecuado realizar otro tipo de reconocimiento (una resolución más alta no siempre es adecuada para cualquier caso determinado, tal como ocurre en la detección de pequeñas masas pulmonares).

Los datos del corte tomográfico se generan utilizando una fuente de rayos X que gira alrededor del objeto; los sensores de rayos X se colocan en el lado opuesto del círculo de la fuente de rayos X. Los primeros sensores eran detectores de centelleo, con tubos fotomultiplicadores excitados (generalmente) por cristales de yoduro de cesio. Durante la

década de 1980, el yoduro de cesio se reemplazó por cámaras de iones que contenían gas xenón a alta presión. A su vez, estos sistemas se reemplazaron por sistemas de centelleo basados en fotodiodos en lugar de en fotomultiplicadores y en materiales modernos de centelleo con características más convenientes. A medida que el objeto pasa gradualmente a través del túnel, se van tomando progresivamente muchos datos de exploraciones.

5 Los nuevos aparatos con sistemas informáticos más rápidos y las nuevas estrategias de programación informática no solo pueden procesar cortes transversales individuales sino que dichos cortes cambian continuamente a medida que el túnel, con el objeto cuyas imágenes se van a procesar, se desliza lenta y suavemente a través del círculo de rayos X. Estos aparatos reciben el nombre de aparatos de TC helicoidal o espiral. Sus sistemas informáticos integran los datos de los cortes individuales en movimiento para generar información volumétrica tridimensional (exploración mediante TC en 3D (tridimensional)), a su vez visible desde múltiples perspectivas diferentes en monitores de estaciones de trabajo de TC conectados. Este tipo de adquisición de datos requiere una enorme potencia de procesamiento, ya que los datos llegan en un flujo continuo y deben procesarse en tiempo real.

15 En aparatos de TC convencionales, un tubo y un detector de rayos X giran físicamente detrás de una cubierta circular (véase la imagen superior de la derecha); en la tomografía de haz de electrones (EBT, en inglés *electron beam tomography*), el tubo es mucho más grande y de mayor potencia para soportar la alta resolución temporal. El haz de electrones se desvía en una cámara de vacío hueca con forma de embudo. Los rayos X se generan cuando el rayo incide en la diana estacionaria. El detector también es estacionario. Esta configuración puede dar lugar a exploraciones muy rápidas, pero es extremadamente costosa.

La TC se usa en medicina como herramienta de diagnóstico y como guía en procedimientos intervencionistas. A veces se utilizan materiales de contraste tal como el contraste yodado intravenoso. Esto es útil para resaltar estructuras, tales como vasos sanguíneos, cuyos contornos serían muy difíciles de trazar de otro modo. El uso de material de contraste también puede ayudar a obtener información funcional sobre los tejidos.

Una vez adquiridos los datos de la exploración, estos deben procesarse utilizando una forma de reconstrucción tomográfica, que produce una serie de imágenes transversales. La técnica más común de uso generalizado es la retroproyección filtrada, que es fácil de implementar y se puede calcular rápidamente. Sin embargo, esta no es la única técnica disponible: el escáner original de la compañía EMI resolvió el problema de reconstrucción tomográfica mediante álgebra lineal, pero esta táctica estaba limitada por su alta complejidad informática, especialmente dada la tecnología informática disponible en ese momento. Más recientemente, los fabricantes han desarrollado técnicas iterativas de maximización de expectativas basadas en modelos físicos. Estas técnicas son ventajosas porque utilizan un modelo interno de las propiedades físicas del escáner y de las leyes físicas de las interacciones de rayos X. Por el contrario, métodos anteriores han dado por supuesto un escáner perfecto y una física enormemente simplificada, lo que conduce a una serie de artefactos y a una resolución reducida - el resultado son imágenes con resolución mejorada, ruido de fondo reducido y menos artefactos, así como la capacidad de reducir en gran medida la dosis de radiación en determinadas circunstancias. La desventaja es que se requiere exigencias muy altas desde el punto de vista informático, que rayan en la practicidad de los protocolos de exploración actuales.

Los píxeles en una imagen obtenida por exploración mediante TC, se muestran en términos de radiodensidad relativa. El propio píxel se muestra según la atenuación media del tejido o tejidos a los que corresponde en una escala de +3071 (más atenuante) a -1024 (menos atenuante) en la escala de Hounsfield. El píxel es una unidad bidimensional basada en el tamaño de la matriz y el campo de visión. Cuando también se tiene en cuenta el espesor del corte tomográfico, la unidad se conoce como vóxel (del inglés *volumetric pixel*), que es una unidad tridimensional. El fenómeno de que una parte del detector no pueda diferenciar entre diferentes tejidos se denomina "efecto de volumen parcial". Eso significa que una gran cantidad de cartílago y una capa delgada de hueso compacto pueden causar la misma atenuación en un vóxel que el cartílago hiperdenso solo. El agua tiene una atenuación de 0 unidades Hounsfield (UH) mientras que la de aire es de - 1000 UH, la del hueso esponjoso (o trabecular) es normalmente de +400 UH, la del hueso craneal puede alcanzar 2000 UH o más (hueso temporal) y puede causar artefactos. La atenuación de los implantes metálicos depende del número atómico del elemento utilizado: El titanio generalmente tiene una cantidad de +1000 UH, el acero férnico puede extinguir completamente los rayos X y, por lo tanto, es responsable de los artefactos lineales bien conocidos en los tomogramas computarizados. Los artefactos son causados por transiciones repentinas entre materiales de baja y alta densidad, lo que da como resultado valores de datos que superan el intervalo dinámico de la electrónica de procesamiento.

## II. INSTABILIDAD GENÓMICA Y CITOPROTECCIÓN

### A. Inestabilidad genómica

60 La inestabilidad genómica puede definirse como un aumento de la tasa de alteraciones genéticas en el genoma de la descendencia de varias generaciones de las células irradiadas después del ataque inicial, tales como reordenaciones y aberraciones cromosómicas, formación de micronúcleos, mutaciones genéticas, inestabilidad de microsátélites, cambios en la ploidía y disminución de la eficacia de la siembra en placas (EP) (Morgan, 2003a; Morgan, 2003b) con una asociación entre inestabilidad cromosómica y muerte celular reproductiva tardía (Limoli *et al.* 1997; Marder y Morgan, 1993).

Los micronúcleos son núcleos pequeños que se forman cada vez que un cromosoma o un fragmento de un cromosoma no se incorpora en uno de los núcleos de las células hijas durante la división celular. En los glóbulos rojos recién formados en humanos, estos se conocen como cuerpos de Howell Jolly. Estos pueden ser el resultado de la toxicidad genómica, tal como la causada por radiación. De hecho, la formación de micronúcleos representa un nivel significativamente mayor de daño cromosómico que el que está asociado a la mutagénesis, que es específica de genes.

Los procesos normales de recombinación se producen en las células como un medio para preservar la integridad genómica y mantener la estabilidad genómica. La frecuencia de estos procesos puede verse afectada negativamente por agentes inductores de estrés tales como la radiación ionizante. La posterior elevación de las frecuencias recombinantes en las células conduce a una mayor probabilidad de errores y a un mayor daño al ADN mucho después de la exposición inicial a la radiación. A diferencia de los principales sucesos nocivos inducidos por altas dosis de exposición a la radiación, tales como la pérdida de viabilidad celular, la mutagénesis, la rotura de cromosomas y de la cadena de ADN, este proceso nocivo con su consecuencia carcinogénica posterior puede observarse y medirse a dosis de radiación relativamente bajas en el intervalo habitualmente usado para las exploraciones mediante TC. Cabe destacar que las consecuencias de la hiperrecombinación no se limitan a la mutagénesis, sino que también abarcan el potencial del aumento de genes debido a la hiperduplicación y a la reubicación dentro del genoma, lo que afecta a una gran cantidad de procesos genómicos, incluida la posibilidad de procesos epigenéticos tales como el silenciamiento génico.

La conversión génica puede producir una pérdida de heterocigosidad (LOH, del inglés *loss of heterozygosity*) local, así como deleciones e inversiones en repeticiones y translocaciones unidas (Nickoloff, 2002). El inventor ha utilizado un ensayo basado en proteína verde fluorescente (GFP, del inglés *green fluorescent protein*) utilizando células humanas derivadas de RKO para estudiar el papel de la hiperrecombinación tardía en la inestabilidad genómica inducida por radiación (Huang *et al.* 2004). En las células RKO se incorpora un sustrato de GFP para la recombinación homóloga con repetición directa. El promotor de CMV genera una copia pero está inactivada por una mutación de desplazamiento del marco del enlazador en *XhoI*, y la segunda copia tiene una capacidad de codificación de tipo silvestre pero está inactiva porque carece de un promotor.

La inestabilidad genómica puede medirse mediante análisis de hiperrecombinación tardía y mutación/delección en el sustrato de GFP con repetición directa. Las células RKO-GFP pueden ser GFP- o GFP+. Cuando estas células se siembran en placas, las colonias que surgen de células individuales son homogéneamente incoloras (GFP-) o verdes (GFP+). Una célula GFP- puede convertirse en una célula GFP+ directamente por hiperrecombinación tardía inducida por radiación. De manera similar, una célula GFP+ puede transformarse en una célula GFP- directamente mediante una mutación o delección puntual inducida por radiación (véase la figura 1). Las colonias mixtas surgen por hiperrecombinación tardía y pueden calificarse fácilmente usando los criterios de tener al menos > 4 células por colonia que tiene un fenotipo fluorescente alterado. La frecuencia de la inestabilidad inducida puede calcularse como el número de colonias GFP+/- por el total de colonias supervivientes calificadas.

La exposición a la radiación puede inducir hiperrecombinación tardía con hasta el 10 % de las células produciendo colonias GFP+/- mixtas. Las células que presentan hiperrecombinación tardía no muestran constatación de muerte celular reproductiva tardía y no hay correlación entre inestabilidad cromosómica tardía e hiperrecombinación tardía, lo que indica que estas formas de inestabilidad genómica surgen por mecanismos distintos. La inclusión de la hiperrecombinación tardía inducida por la radiación como un criterio de valoración importante de inestabilidad genómica y el enfoque de estudios de dosis bajas de radiación, reflejan tres elementos importantes que se consideran importantes en el proceso de riesgo carcinogénico. En primer lugar, la inestabilidad del genoma asociada con hiperrecombinación tardía aumenta la probabilidad de descubrir mutaciones recesivas mediante LOH (pérdida de heterocigosidad). En segundo lugar, la hiperrecombinación tardía puede inducirse con dosis de radiación que causan poca o ninguna citotoxicidad, aumentando por tanto la fracción relativa de células en riesgo y permitiéndolas sobrevivir y acumular mutaciones necesarias para la inmortalización y la transformación celular. Y en tercer lugar, dado que la hiperrecombinación tardía es importante para la reparación de roturas de la cadena doble del ADN, las células con un fenotipo de hiperrecombinación pueden presentar mayor resistencia a la radiación.

## B. Citoprotección

La citoprotección es el uso de un agente químico que impide la destrucción y/o pérdida de función de las células en tejidos normales expuestos a un ambiente extracelular o intracelular nocivo, tal como la radiación. La amifostina es un agente citoprotector de este tipo, pero se ha utilizado de manera limitada debido a estudios previos con modelos animales. La presente invención busca proteger a las células de la radiación asociada a las exploraciones mediante TC.

La constatación de la citoprotección *in vivo* también puede medirse analizando determinados biomarcadores relacionados con inestabilidades genéticas. Por ejemplo, las frecuencias de translocación cromosómica se han señalado como el sello distintivo de la exposición a la radiación ionizante y se han utilizado para detectar el daño cromosómico de los rayos X diagnósticos al nivel de 50 mGy. Véase Tucker y Luckinbill, *Radiat Res.* 2011, 175(5),

631-7; Bhatti et al., *Radiat. Environ. Biophys.* 2010, 49(4), 685-692; y Sigurdson et al., *Cancer Res.* 2008, 68(21), 8825-8831.

5 En otro ejemplo, la citoprotección *in vivo* también puede medirse analizando la formación de micronúcleos. Véase Kim et al., *Cancer Res.* 2006, 66, 10377-10383. Los micronúcleos se forman a partir de fragmentos de cromosomas o de cromosomas completos que se quedan atrás en la anafase durante la división celular, y se considera que su formación es un biomarcador importante en ensayos de genotoxicidad. En particular, se ha demostrado que los micronúcleos se generan a bajos niveles de dosis de radiación (p. ej., 10 cGy). Véase Murley et al., *Radiat. Res.*, 175:57-65, 2011.

10 La constatación de la citoprotección *ex vivo* también puede medirse analizando la fosforilación de histona H2AX, inducida por radiación, en la serina 139 ( $\gamma$ -H2AX). Se ha demostrado que la cantidad de células  $\gamma$ -H2AX positivas aumenta con el aumento de la dosis de radiación, con una desintegración dependiente de la dosis y del tiempo. La formación de  $\gamma$ -H2AX en células irradiadas, en función del contenido relativo de ADN, puede cuantificarse mediante análisis de citometría de flujo bivariable con anticuerpo  $\gamma$ -H2AX conjugado con FITC y tinción nuclear con DAPI; la medición puede realizarse después de aproximadamente 1 hora después de la exposición celular a la radiación ionizante. Véase, Kataoka et al., *Radiat. Res.* 2007, 168, 106-114. En particular, la visualización basada en  $\gamma$ H2AX y la cuantificación del daño en el ADN inducido en células mononucleares de sangre periférica (CMSP) pueden usarse para estimar la dosis de radiación recibida por pacientes adultos que se someten a tomografía computarizada (TC) multidetector, y se han utilizado para detectar dosis tan bajas como 6,3 mGy. Véase Rothkamm et al., *Radiology* 2007, 242, 244 - 251.

25 En otro ejemplo, la constatación de la citoprotección *ex vivo* también puede medirse analizando la frecuencia mutante en el locus de la hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa (HPRT, siglas del inglés *hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase*), por ejemplo, en linfocitos humanos de sangre periférica de la fase G(0). Véase Kumar et al., *Radiat Res.* 2006, 165(1), 43-50. La frecuencia mutante de la HPRT en linfocitos se ha utilizado satisfactoriamente para estimar la dosis promedio de 9,5 cGy para los trabajadores de limpieza rusos de Chernobyl en función del aumento promedio en la frecuencia de translocación. Véase Jones et al., *Radiat Res.* 2002, 158(4), 424-42.

30 En otra realización, el uso de protección con fosforotioato puede combinarse con una segunda estrategia citoprotectora. En las patentes de Estados Unidos 5 567 686; 5 488 042, 5 891 856 y 5 869 338, se ofrece una descripción de la citoprotección y de los métodos de ensayo para la citoprotección en relación con terapias contra el cáncer. Cualquiera de las terapias citoprotectoras descritas en dichas patentes puede combinarse con los compuestos de la presente invención.

### 35 III. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

#### A. Fosforotioatos

40 En Sweeney, 1979 y Giambarresi y Jacobs, 1987 puede encontrarse una descripción general de la clase de compuestos y de sus propiedades descritas en esta solicitud. Los compuestos y nomenclaturas ejemplares de la clase de fosforotioatos incluyen ácido S-2-(3-aminopropilamino)etil fosforotioico (amifostina, WR-2721), 2-[(aminopropil)amino]etanotiol (WR-1065), ácido S-1-(aminoetil)fosforotioico (WR-638), ácido S-[2-(3-metilaminopropil)aminoetil]fosforotioato (WR-3689), ácido S-2-(4-aminobutilamino)etilfosforotioico (WR-2822), 3-[(2-mercaptopropil)amino]propionamida p-toluenosulfonato (WR-2529), ácido S-1-(2-hidroxi-3-amino)propil fosforotioico (WR- 77913), 2-[3-(metilamino)propilamino]etanotiol (WR-255591), ácido S-2-(5-aminopentilamino)etil fosforotioico (WR-2823), [2-[(aminopropil)amino]etanotiol]N,N,-ditiodi-2,1-(etanodil)bis-1,3-propanodiamina (WR- 33278), diclorhidrato de 1-[3-(3-aminopropil)tiiazolidin-2-Y1]-D-gluco-1,2,3,4,5 pentano-pentol (WR-255709), diclorhidrato de 3-(3-metilaminopropilamino)propanotiol (WR-151326) y ácido S-3-(3-metilaminopropilamino)propil fosforotioico (WR-151327).

#### B. Formulaciones y Vías de Administración

55 Los compuestos utilizados en los métodos de la invención pueden estar en forma de ácidos libres, bases libres, o sales de adición de los mismos farmacéuticamente aceptables. Dichas sales se pueden preparar fácilmente tratando los compuestos con un ácido apropiado. Dichos ácidos incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, ácidos inorgánicos, tales como ácidos hidrácicos (clorhídrico, bromhídrico, fluorhídrico, etc.), ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico, y ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido propanoico, ácido 2-hidroxiacético, ácido 2-hidroxipropanoico, ácido 2-oxopropanoico, ácido propanodioico y ácido butanodioico. A la inversa, la sal puede transformarse en la forma de base libre por tratamiento con álcali.

60 Las composiciones acuosas usadas en la presente invención comprenden una cantidad eficaz del compuesto terapéutico, dispersado adicionalmente en un vehículo o medio acuoso farmacéuticamente aceptable. Las frases "farmacéuticamente aceptable" o "farmacológicamente aceptable" se refieren a composiciones que no producen ninguna reacción adversa, alérgica u otra reacción inadecuada, cuando se administran a un animal o a un ser humano, según sea apropiado.

Como se usa en el presente documento, la frase "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos, y similares. En la técnica se conoce bien el uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticas activas. Salvo en tanto que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en composiciones terapéuticas. En las composiciones también pueden incorporarse principios activos complementarios.

Las soluciones de composiciones terapéuticas se pueden preparar en agua mezclada adecuadamente con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. Se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos, mezclas de los mismos, y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estos preparados contienen un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos.

Las composiciones terapéuticas usadas en la presente invención se administran ventajosamente en forma de composiciones inyectables, como suspensiones o soluciones líquidas; también pueden prepararse formas sólidas adecuadas para solución en líquido, o suspensión en líquido, antes de la inyección. Estas preparaciones también pueden emulsionarse. Una composición típica para tal fin comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, la composición puede contener al menos aproximadamente, como máximo aproximadamente, o aproximadamente, 1, 5, 10, 25, 50 mg o de hasta aproximadamente 100 mg de seroalbúmina humana por mililitro de solución salina tamponada con fosfato. Otros vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones acuosas, excipientes no tóxicos, incluyendo sales, conservantes, tampones y similares.

Una forma de administración particular es el uso de un autoinyector que puede precargarse con una "dosis unitaria" (véase más adelante), o calibrarse para suministrar, de manera fiable y/o repetible, una dosis unitaria del compuesto. La mayoría de los autoinyectores son jeringas cargadas por resorte. Según el diseño, los autoinyectores son fáciles de usar y están destinados a la autoadministración por parte de los pacientes o a la administración por parte de personal no especializado. El lugar donde se realiza la inyección depende del fármaco cargado, pero normalmente se administra en el muslo o en las nalgas. Los inyectores se diseñaron inicialmente para superar la indecisión asociada a la autoadministración del dispositivo de suministro de fármaco con aguja.

El autoinyector mantiene protegida la punta de la aguja antes de la inyección y también tiene un mecanismo de seguridad pasivo que impide que se produzca una descarga (inyección) accidental. La profundidad de la inyección puede ser ajustable o fija y se puede incorporar una función para extraer el protector de la aguja. Simplemente presionando un botón, la aguja de la jeringa se inserta automáticamente y el fármaco se suministra. Una vez finalizada la inyección, algunos autoinyectores tienen una marca visual para confirmar que se ha suministrado toda la dosis. Los autoinyectores contienen jeringas de vidrio, esto puede hacerlos frágiles y pueden contaminarse. Más recientemente, para impedir este problema, las compañías han estado investigando sobre la fabricación de jeringas de plástico para autoinyectores. Anapen®, EpiPens®, o el recientemente introducido Twinject®, a menudo se prescriben a personas con riesgo de anafilaxia. Los autoinyectores Rebiject® y Rebiject® II se utilizan para Rebif, el fármaco para interferón  $\beta$ -1a, utilizado para tratar la esclerosis múltiple. El autoinyector SureClick® suministra un producto combinado para fármacos Enbrel o Aranesp para tratar la artritis o la anemia, respectivamente. Cualquiera de estas tecnologías podría adaptarse para suministrar los compuestos utilizados en la presente invención.

Los ejemplos de disolventes no acuosos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceite vegetal y ésteres orgánicos inyectables tal como oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, soluciones salinas, vehículos parenterales, tales como cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, etc. Los vehículos intravenosos incluyen reabastecedores de líquidos y nutrientes. Los conservantes incluyen agentes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes. El pH y la concentración exacta de los diversos componentes de la composición farmacéutica se ajustan según parámetros bien conocidos.

Las composiciones terapéuticas usadas en la presente invención pueden incluir preparaciones farmacéuticas clásicas. La administración de composiciones terapéuticas según la presente invención se realizará a través de cualquier vía habitual siempre que el tejido diana esté disponible a través de esa vía. Esta incluye la vía oral, nasal, bucal, rectal, vaginal o tópica. Como alternativa, la administración se realizará a través de inyección ortotópica, intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intravenosa. Normalmente, dichas composiciones se administrarían como composiciones farmacéuticamente aceptables que incluyen vehículos, tampones u otros excipientes fisiológicamente aceptables. El volumen de un aerosol varía normalmente entre aproximadamente 0,01 ml y 0,5 ml.

Para la administración oral puede ser adecuadas otras formulaciones. La "administración oral", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier forma de suministro a un sujeto, de un agente o composición del mismo, en el que el agente o la composición se coloca en la boca del sujeto, tanto si el agente o la composición va a tragarse como si no. Por tanto, la "administración oral" incluye administración bucal y sublingual, así como administración esofágica. La absorción del agente puede producirse en cualquier parte o partes del tubo digestivo, incluida la boca, el esófago, el estómago, el duodeno, el íleon y el colon. Las formulaciones orales incluyen excipientes típicos tales como, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio y similares. Las composiciones adoptan la forma de soluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, formulaciones de liberación sostenida o polvos.

En una realización, la formulación oral puede comprender los compuestos y uno o más agentes de carga. Los agentes volumétricos adecuados son cualquier agente de este tipo que sea compatible con los compuestos que incluyen, por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina y azúcares no reductores, tales como manitol, xilitol y sorbitol. Un ejemplo de formulaciones orales adecuadas incluye nanopartículas poliméricas que contienen compuestos secados por pulverización (por ejemplo, nanopartículas de poli(lactida-co-glicólido)/amifostina secadas por pulverización que tienen un diámetro medio de entre aproximadamente 150 nm y 450 nm; véase, Pamujula, S. et al., J. Pharmacy Pharmacol. 2004, 56, 1119-1125). Las nanopartículas pueden contener entre aproximadamente 20 y 50 % p/p del compuesto; por ejemplo, entre aproximadamente 25 % y 50 %.

Cuando la vía es tópica, la forma puede ser una crema, una pomada, un bálsamo o un aerosol. Las formulaciones tópicas pueden incluir disolventes tales como, aunque no de forma limitativa, dimetilsulfóxido, agua, N,N-dimetilformamida, propilenglicol, 2-pirrolidona, metil-2-pirrolidona y/o N-metilformamida. Para mejorar la permeabilidad cutánea, si fuera necesario, la zona cutánea a tratar puede tratarse previamente con dimetilsulfóxido; véase Lamperti et al., Radiation Res. 1990, 124, 194-200.

En otras realizaciones, las composiciones terapéuticas pueden ser para administración subcutánea (por ejemplo, inyección y/o implantación). Por ejemplo, las formas implantables pueden ser útiles para los pacientes que se espera que se sometan a múltiples exploraciones por TC durante un período de tiempo prolongado (por ejemplo, una semana, dos semanas, un mes, etc.). En un ejemplo, dichas formas subcutáneas pueden comprender los compuestos y un vehículo, tal como un polímero. Los polímeros pueden ser adecuados para su liberación inmediata o prolongada dependiendo del uso previsto. En un ejemplo, el compuesto se puede combinar con un polímero biodegradable (por ejemplo, polilactida, poliglicólido y/o sus copolímeros). En otro ejemplo, las formas subcutáneas pueden comprender una forma microencapsulada del compuesto, véase, por ejemplo, Srinivasan et al, Int. J. Radiat. Biol. 2002, 78, 535-543. Dichas formas microencapsuladas pueden comprender el compuesto y uno o más tensioactivos y otros excipientes (por ejemplo, lactosa, celulosa, colesterol y tensioactivos basados en fosfato y / o estearato).

En una realización adicional, los compuestos terapéuticos pueden administrarse por vía transdérmica mediante un parche adhesivo que se coloca en la piel que suministra los compuestos terapéuticos a través de la piel y al interior de la corriente sanguínea. Una ventaja de la vía de administración transdérmica de fármacos en relación con otros sistemas de suministro tales como la vía oral, tópica o intravenosa, es que el parche proporciona al paciente una liberación controlada del compuesto terapéutico, generalmente a través de una membrana porosa que cubre un depósito del compuesto terapéutico o a través del calor corporal que funde capas finas de compuesto terapéutico embebidas en el adhesivo. A la hora de llevar a la práctica esta invención, se puede usar cualquier sistema de parche transdérmico adecuado, incluyendo, sin limitación, un fármaco en adhesivo monocapa, un fármaco en adhesivo multicapa y un depósito.

Las composiciones terapéuticas pueden comprender opcionalmente además un segundo agente protector. El segundo agente terapéutico puede ser un antioxidante. Como ejemplos de antioxidantes adecuados se incluyen, pero sin limitación, ácido ascórbico (vitamina C), glutatión, ácido lipoico, ácido úrico,  $\beta$ -caroteno, licopeno, luteína, resveratrol, retinol (vitamina A),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), ubiquinol, selenio y catalasa. En determinadas realizaciones, el segundo agente terapéutico es vitamina E, selenio o catalasa.

En función del objetivo previsto, tal como mejorar o prolongar la vida útil de una célula beta en condiciones hiperglucémicas, se determina una cantidad eficaz de la composición terapéutica. La expresión "dosis unitaria" o "dosificación" se refiere a unidades físicamente separadas que son adecuadas para su uso en un sujeto, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de la composición terapéutica calculada para producir las respuestas deseadas, expuestas anteriormente, junto con su administración, es decir, la vía y el régimen de tratamiento adecuados. La cantidad a administrar, tanto según el número de tratamientos como de la dosis unitaria, depende de la protección deseada. Se entiende que una dosis eficaz se refiere a una cantidad necesaria para obtener un efecto particular, por ejemplo, una mayor capacidad antioxidante de una célula. En la práctica de la presente invención, se contempla que dosis en el intervalo de 10 mg/kg a 200 mg/kg pueden afectar a la capacidad protectora de estos compuestos. Por tanto, se contempla que las dosis incluyen dosis de aproximadamente 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 y 200  $\mu$ g/kg o mg/kg. Asimismo, dichas dosis pueden administrarse varias veces durante un día y/o varios días, semanas o meses.

En determinadas realizaciones, la dosis eficaz es una que puede proporcionar un nivel en sangre de aproximadamente 1  $\mu$ M a 150  $\mu$ M. En otra realización, la dosis eficaz proporciona un nivel en sangre de aproximadamente 4  $\mu$ M a 100  $\mu$ M; o de aproximadamente 1  $\mu$ M a 100  $\mu$ M; o de aproximadamente 1  $\mu$ M a 50  $\mu$ M; o de aproximadamente 1  $\mu$ M a 40  $\mu$ M; o de aproximadamente 1  $\mu$ M a 30  $\mu$ M; o de aproximadamente 1  $\mu$ M a 20  $\mu$ M; o de aproximadamente 1  $\mu$ M a 10  $\mu$ M; o de aproximadamente 10  $\mu$ M a 150  $\mu$ M; o de aproximadamente 10  $\mu$ M a 100  $\mu$ M; o de aproximadamente 10  $\mu$ M a 50  $\mu$ M; o de aproximadamente 25  $\mu$ M a 150  $\mu$ M; o de aproximadamente 25  $\mu$ M a 100  $\mu$ M; o de aproximadamente 25  $\mu$ M a 50  $\mu$ M; o de aproximadamente 50  $\mu$ M a 150  $\mu$ M; o aproximadamente 50  $\mu$ M a 100  $\mu$ M. En otras realizaciones, la dosis puede proporcionar el siguiente nivel en sangre del compuesto, resultante del compuesto que se administra a un sujeto: aproximadamente, al menos aproximadamente, o como máximo de aproximadamente,

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100  $\mu\text{M}$  o cualquier intervalo derivable de los mismos. En determinadas realizaciones, el compuesto que se administra a un sujeto se metaboliza en el cuerpo a un compuesto de fosforotioato metabolizado, en cuyo caso los niveles en sangre pueden referirse a la cantidad de ese compuesto. Como alternativa, en la medida en que el compuesto no es metabolizado por un sujeto, los niveles en sangre expuestos en el presente documento pueden referirse al compuesto no metabolizado.

En algunas realizaciones, el momento en el cual se realiza la administración es relevante. Antes de iniciar la TC en el paciente, a éste se le pueden administrar 1, 2, 3, 4 o 5 dosis. En algunas realizaciones, la dosis previa a la exploración mediante TC se administra como máximo 10, 20, 30, 40, 50 o 60 minutos (o cualquier intervalo derivable de los mismos) antes de iniciar la exploración. En realizaciones adicionales, la dosis previa a la exploración mediante TC se administra al menos 12, 18 o 24 horas (o cualquier intervalo derivable de los mismos) antes de iniciar la exploración. En algunas divulgaciones, una dosis se administra 10, 20, 30, 40, 50 o 60 minutos, o 1, 2 o 3 horas (o cualquier intervalo derivable de los mismos) después de iniciar la exploración o al finalizarla. En divulgaciones adicionales, la dosis posterior a la exploración mediante TC se administra al menos, hasta, o como máximo, 10, 20, 30, 40, 50 o 60 minutos, o hasta 1, 2 o 3 horas (o cualquier intervalo derivable de los mismos) después de iniciar la exploración o al finalizarla. En determinadas realizaciones, la dosis se administra solo en el plazo de 30 minutos, 1 hora, 1,5, 2, 2,5 o 3 horas (o cualquier intervalo derivable de los mismos) dentro del inicio de la exploración. Como alternativa, en algunas realizaciones, la periodicidad expuesta en el presente documento puede referirse al momento en el cual se administra el agente de contraste.

Las cantidades exactas de la composición terapéutica también dependen del criterio del facultativo y son peculiares para cada individuo. Los factores que influyen en la dosis incluyen el estado físico y clínico del paciente, de la vía de administración, del objetivo del tratamiento previsto (alivio de los síntomas o curación) y de la fuerza, estabilidad y toxicidad de la sustancia terapéutica particular o de otras terapias a las que se somete un sujeto.

Los expertos en la materia entenderán y serán conscientes de que las unidades de dosificación de  $\mu\text{g}/\text{kg}$  o  $\text{mg}/\text{kg}$  de peso corporal de esta invención pueden transformarse y expresarse en unidades de concentración comparables de  $\mu\text{g}/\text{ml}$  o  $\text{mM}$  (niveles en sangre), tal como de 4  $\mu\text{M}$  a 100  $\mu\text{M}$ . También se entiende que la absorción depende de la especie y del órgano/tejido. Los factores de transformación aplicables y las suposiciones fisiológicas que deban hacerse con respecto a la absorción y a la medición de la concentración, son bien conocidos y permitirían a los expertos en la materia transformar una medición de concentración en otra y hacer comparaciones y llegar a conclusiones razonables con respecto a las dosis, eficacia y resultados descritos en el presente documento.

#### IV. Ejemplos

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar las realizaciones preferidas de la invención. Los expertos en la materia deberían apreciar que las técnicas divulgadas en los siguientes ejemplos representan técnicas descubiertas por el inventor para que funcionen bien en la práctica de la invención, y por tanto, se puede considerar que constituyen modos preferidos para su práctica.

##### .Ejemplo 1 - Hiperrecombinación tardía después de exposición a tiol antes de la irradiación con 10 cGy

La inestabilidad genómica se evaluó en células RKO36 mediante análisis de hiperrecombinación tardía y mutación/delección en el sustrato de *GFP* con repetición directa. Todas las colonias GFP+ o GFP- "puras" reflejan un fenotipo estable anterior o un nuevo fenotipo estable inducido directamente por radiación, pero si la radiación induce una inestabilidad tardía en el sustrato de *GFP* con repetición directa, se formarán colonias mixtas de GFP+/- (véase la figura 1). Las células se expusieron durante 30 min a WR1065 4 mM y se irradiaron 24 h más tarde, el periodo de tiempo en que los niveles de actividad de MnSOD se elevaron en grado máximo (Murley *et al.* 2007). Las células se expusieron a 10 cGy de radiación ionizante usando un generador de rayos X de Philips que funciona a 250 kVp y 15 mA a una velocidad de dosis de 0,6 cGy/seg. La frecuencia de la inestabilidad inducida se calcula como el número de colonias GFP+/- por el total de colonias supervivientes calificadas (Huang *et al.* 2004). Usando este sistema, el inventor evaluó si las células RKO36 presentaban una respuesta adaptativa inducida por tiol para la prevención de la inestabilidad genómica tardía inducida por radiación (hiperrecombinación tardía). Los resultados se muestran en la figura 2. Una dosis de 10 cGy no fue citotóxica pero indujo una elevación significativa en la frecuencia de colonias GFP +/- sobre el fondo, por ejemplo, 2,7 % frente a 0,7 %,  $P < 0,001$ . Las frecuencias de colonias GFP+/- en células tratadas con WR1065 4 mM o en células expuestas a 10 cGy, 24 h después del tratamiento con WR1065 4 mM, se redujeron significativamente al 1,1 % ( $P = 0,02$ ) y al 1,6 % ( $P = 0,05$ ) en comparación con las células no expuestas a WR1065 aunque irradiadas, respectivamente.

Los investigadores han determinado que con las células RKO36, la mayoría de las colonias GFP+/- mixtas están compuestas principalmente por células GFP- con un número variable de células GFP+. La frecuencia de esta inestabilidad genómica inducida aumenta con la dosis, aunque típica de efectos no dirigidos, la respuesta a la dosis no es lineal (Smith *et al.* 2003).

**Ejemplo 2 - Respuestas adaptativas inducidas por radiación sobre la formación de micronúcleos en células RKO36**

5 La frecuencia de formación de micronúcleos después de una dosis de 2 Gy se reducía significativamente si las células se exponían a WR1065 30 min. o 24 h antes de la irradiación (véase la figura 4A) o 30 min., 1, 2 o 3 h después de la irradiación (véase la figura 4B). En las condiciones de tratamiento en las que las células se expusieron a WR1065, 30 minutos antes o 3 h después de la irradiación, el efecto protector es el resultado de una interacción directa entre el tiol absorbido por las células y el daño inducido por la radiación. Este efecto protector directo desapareció cuando se  
 10 añadió el fármaco 6 h después de la irradiación. Sin embargo, cuando las células se expusieron al tiol 24 h antes de la irradiación para permitir la inducción de niveles elevados de la enzima MnSOD, se observó de nuevo un efecto protector (véase la figura 5). A diferencia de los datos descritos en la figura 4A, la protección descrita en la figura 4B no fue directamente mediada por la acción del tiol (Grđina *et al.*, 1995), sino como resultado de una respuesta adaptativa inducida por tiol mediada a través de la activación de NFκB que da como resultado la elevación de la actividad de MnSOD (Murley *et al.* 2002; Murley *et al.*, 2004; Murley *et al.*, 2006; Murley *et al.*, 2007; Murley *et al.* 2008). A efectos comparativos, se investigó una respuesta adaptativa inducida por radiación exponiendo primero las células RKO36 a 10 cGy y después estimulando con una dosis de 2 Gy 0, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 h más tarde (véase la figura 5). Tanto las respuestas adaptativas inducidas por tiol como por radiación medidas 24 h después de la exposición a WR1065 o a 10 cGy, respectivamente, dieron como resultado la formación de micronúcleos a niveles de  
 20 fondo no irradiados.

**Ejemplo 3 - Actividad elevada de MnSOD inducida por tiol *in vivo***

En colaboración con el Free Radical Biology Core de la Universidad de Iowa, el inventor caracterizó la actividad de  
 25 MnSOD en varios tejidos normales en ratones C3H tratados con amifostina, la forma profarmacológica de WR1065. A los 60 días de vida, los animales, tres por grupo experimental, recibieron una inyección i.p. con una dosis única de 400 mg/kg de amifostina (WR2721). Los animales se sacrificaron al cabo de 8, 16, 24 y 32 h de la administración de amifostina y el intestino delgado, el páncreas, el pulmón, el hígado, el corazón y el bazo de cada animal, se extrajo, se ultracongeló y se codificó. Las muestras codificadas se analizaron para determinar la actividad de la MnSOD, la catalasa y la glutatión peroxidasa (GPx) (Li *et al.* 1998; Oberley y Spitz, 1984). En la figura 6 se presentan gráficos combinados que demuestran los efectos de una sola inyección de amifostina sobre la cinética de cambio en la actividad de MnSOD en función del tiempo. Las comparaciones por pares de las actividades en el control a las 0 h y el intervalo de tiempo que demuestra la mejora o reducción máximas en la actividad de MnSOD, se determinaron usando una prueba la t de Student bilateral y se incluyen. La actividad de MnSOD fue significativamente elevada en el intestino delgado, el páncreas y el bazo a las 24 h o 32 h. Las actividades de GPx se elevaron en el bazo y el páncreas a las 24 h y 32 h, respectivamente (véase la figura 7), y la actividad de catalasa se elevó en el bazo a las 32 h (véase la figura 8). Estos datos demuestran que los tioles no proteicos también pueden influir sobre la actividad enzimática de MnSOD en tejidos en un modelo animal.

**Ejemplo 4 - Inhibición *in vivo* de la formación de micronúcleos**

Ratones C3H de 60 días de vida, tres por grupo experimental, recibieron una inyección i.p. de una sola dosis de amifostina (WR2721) 400 mg/kg. Después de 24 horas (cuando la actividad de SOD2 estaba elevada en grado máximo en los bazos de los ratones; véase, el ejemplo 3), los ratones se irradiaron con 2 Gy de radiación ionizante, y los  
 45 esplenocitos se examinaron para detectar la formación de micronúcleos. La figura 9 muestra que la formación de micronúcleos se inhibió significativamente en los animales tratados con amifostina en comparación con los animales de control no tratados con amifostina. Parece ser que la amifostina puede impedir la inestabilidad genómica al estabilizar directamente el genoma, mejorando la fidelidad de la reparación, ralentizando la progresión del ciclo celular, facilitando por tanto la reparación antes de que el daño se fije en la división celular y mediante la producción de SOD2 inducida por amifostina en tejidos normales. El aumento de los niveles intracelulares de SOD2, a través de sus propiedades antioxidantes endógenas, puede ampliar la protección contra la inestabilidad genómica como lo demuestra la inhibición de la formación de micronúcleos.

Como prueba adicional del mecanismo de acción propuesto, células RKO de carcinoma de colon humano (J.S. Murley et al. Radiat. Res. 175, 57-65, 2011; células endoteliales microvasculares humanas (HMEC, siglas del inglés *human microvascular endothelial cells*) y células tumorales de fibrosarcoma de ratón SA-NH (J.S. Murley et al. Radiat. Res. 169, 495-505, 2008), se transfectaron con SOD2-ARNip, (Ambion (Foster City, CA), la secuencia de SOD2-ARNip es 5' AAG GAA CAA CAG GCC TTA TTC 3') (SEQ ID NO: 1) un inhibidor específico de la síntesis de SOD2 en las células. Las células de control se transfectaron con ARNip que no es específico para SOD2 (nc-ARNip en las figuras 10a y 10b). Se encontró que la transfección con SOD2-ARNip inhibía la capacidad de la amifostina para impedir la formación de micronúcleos inducida por la radiación (véase la figura 10a). Y que la transfección con SOD2-ARNip se correspondía con la inhibición de la actividad elevada de SOD2 (véase la figura 10b). Por tanto, la elevación de la SOD2 inducida por la amifostina puede conferir una propiedad protectora que se suma a la utilidad de la amifostina como agente contra la inestabilidad genómica.

65 Todas las composiciones y métodos desvelados y reivindicados en el presente documento pueden realizarse y

ejecutarse sin excesiva experimentación a la luz de la presente divulgación.

## V. REFERENCIAS

- 5 Patente de Estados Unidos 5 488 042  
 Patente de Estados Unidos 5 567 686  
 Patente de Estados Unidos 5 869 338  
 Patente de Estados Unidos 5 891 856  
 Patente de Estados Unidos 6 984 619
- 10 Bhatti et al., *Radiat. Environ. Biophys.*, 49(4):685-692, 2010.  
 Brenner et al., *Am. J. Roentgenol.*, 176(2):289-96, 2001.  
 Giambarresi y Jacobs, en: *Military Radiobiology*, Conklin y Walker (Eds.), Academic Press, 265-301, 1987.  
 Grdina et al., *Carcinogenesis*, 16(4):767-774, 1995.  
 Huang et al., *Molec. Cell. Biol.*, 24(11):5060-5068, 2004.
- 15 Jones et al., *Radiat. Res.*, 158(4):424-42, 2002.  
 Kataoka et al., *Radiat. Res.*, 168:106-11, 2007.  
 Khamisi, *New Scientist*, 11 de mayo de 2007.  
 Kim et al., *Cancer Res.*, 66:10377-10383, 2006.  
 Kumar et al., *Radiat. Res.*, 165(1): 43-50, 2006.
- 20 Lamperti et al., *Radiat. Res.*, 124:194-200, 1990.  
 Li et al., *Prostate*, 35:221-233, 1998.  
 Limoli et al., *Cancer Res.*, 57(18):4048-4056, 1997.  
 Marder y Morgan, *Mol. Cell. Biol.*, 13(11):6667-6677, 1993.  
 Morgan, *Radiat. Res.*, 159(5):567-580, 2003a.
- 25 Morgan, *Radiat. Res.*, 159(5):581-596, 2003b.  
 Murley et al., *Radiat. Res.*, 158(1):101-109, 2002.  
 Murley et al., *Radiat. Res.*, 162:536-546, 2004.  
 Murley et al., *Free Radical. Biol. Med.*, 40:1004-1016, 2006.  
 Murley et al., *Radiat. Res.*, 167:465-474, 2007.
- 30 Murley et al., *Radiat. Res.*, 169:495-505, 2008.  
 Murley et al., *Radiat. Res.*, 175:57-65, 2011.  
 Nelson, en: *Thousands of New Cancers Predicted Due to Increased Use of CT*, Medscape, 2009.  
 Nickoloff, en: *Encyclopedia of Cancer*, Bertino (Ed.), Elsevier Science, 2ª ed., 4:49-59, 2002.  
 Oberley y Spitz, en: *Methods in Enzymology*, Packer (Ed.), Academic Press, 105:457-469, 1984.
- 35 Pamujula, S. et al., *J. Pharmacy Pharmacol.*, 56:1119-25, 2004.  
 Rothkamm et al., *Radiology*, 242:244-51, 2007.  
 Semelka et al., *J. Magn. Reson. Imaging*, 25(5):900-9, 2007.  
 Sigurdson et al., *Cancer Res.*, 68 (21): 8825-8831, 2008.  
 Smith et al., *Health Phys.*, 85(1):23-29, 2003.
- 40 Srinivasan et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 78:535-543, 2002.  
 Sweeney, *Radiol. Technol.*, 51(3):321-7, 1979.  
 Tucker y Luckinbill, *Radiat Res.*, 175(5):631-7, 2011.

## LISTADO DE SECUENCIAS

- 45 <110> GRDINA, DAVID J.
- <120> MÉTODOS Y COMPOSICIONES PARA LA PROTECCIÓN DE CÉLULAS Y TEJIDOS DE LA RADIACIÓN DE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA
- 50 <130> ARCD.P0497WO
- <140> PCT/US11/51946  
 <141> 16/09/2011
- 55 <150> 61/383.592  
 <151> 16/09/2010
- <160> 1
- 60 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1  
 <211> 21
- 65 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador sintético

5

<400> 1

aaggaacaac aggcttatt c

21

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto para su uso en un sujeto en un método de inhibición de la inestabilidad genómica causada por una dosis de radiación de exploración mediante tomografía computarizada (TC) de 1-25 cGy, en donde dicho método comprende administrar al sujeto una dosis eficaz del compuesto antes de la exposición a la radiación de exploración mediante TC, y donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en ácido S-2-(3-aminopropilamino)etil fosforotioico (amifostina, WR -2721) y 2-[(aminopropil)amino]etanotiol (WR-1065).
- 10 2. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde la dosis proporciona un nivel en sangre de 1  $\mu$ M a 150  $\mu$ M.
- 15 3. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde el método de inhibición de la inestabilidad genómica comprende reducir la formación de micronúcleos, la formación de  $\gamma$ -H2AX, la frecuencia de translocación cromosómica, la frecuencia mutante de la HPRT y/o hiperrecombinación.
- 20 4. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 3, en donde el método reduce tanto la formación de micronúcleos como la hiperrecombinación.
- 25 5. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde el método comprende administrar el compuesto:
- (a) 5 horas antes de la exposición a la radiación de la exploración mediante TC;
  - (b) al menos 12, 18 o 24 horas antes de la exposición a la radiación de exploración mediante TC;
  - (c) por vía subcutánea; o
  - (d) por vía intravenosa, tópica, transdérmica u oral.
- 30 6. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde el compuesto es amifostina.
- 35 7. El compuesto para su uso en un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el método comprende administrar el compuesto al sujeto usando un dispositivo autoinyector.
- 40 8. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde el sujeto:
- (a) tiene cáncer o se sospecha que tiene cáncer;
  - (b) se ha sometido a 1, 2 o 3 exploraciones previas mediante TC;
  - (c) es un ser humano; o
  - (d) es un animal no humano.
- 45 9. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde el método comprende además:
- (a) administrar al sujeto un segundo compuesto, opcionalmente en donde el segundo compuesto es vitamina E, selenio o catalasa; o
  - (b) tratar al sujeto con una terapia contra el cáncer.
- 50 10. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 1, en donde el método comprende diagnosticar cáncer en el sujeto usando la exploración mediante tomografía computarizada (TC).
- 55 11. Un compuesto para su uso en un sujeto en un método de inhibición de la inestabilidad genómica causada por procedimientos de radiología diagnóstica que implica la exposición a 1-25 cGy de radiación ionizante, en donde el método comprende administrar una dosis eficaz del compuesto antes del procedimiento de radiología diagnóstica, y en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste en ácido S-2-(3-aminopropilamino)etil fosforotioico (amifostina, WR-2721) y 2-[(aminopropil)amino]etanotiol (WR-1065).
12. El compuesto para su uso en un método de la reivindicación 11, en donde el compuesto es amifostina.

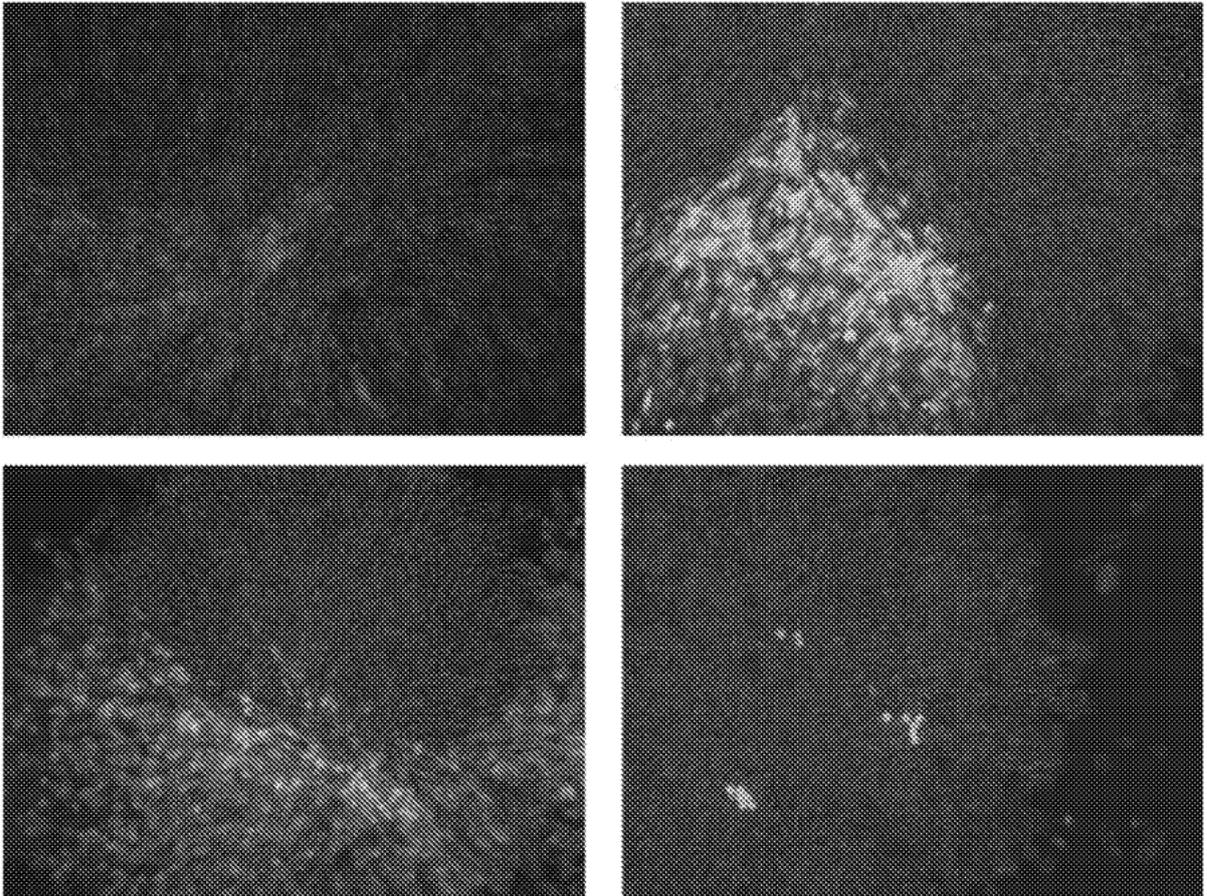


Fig. 1

Recombinación tardía de RKO36

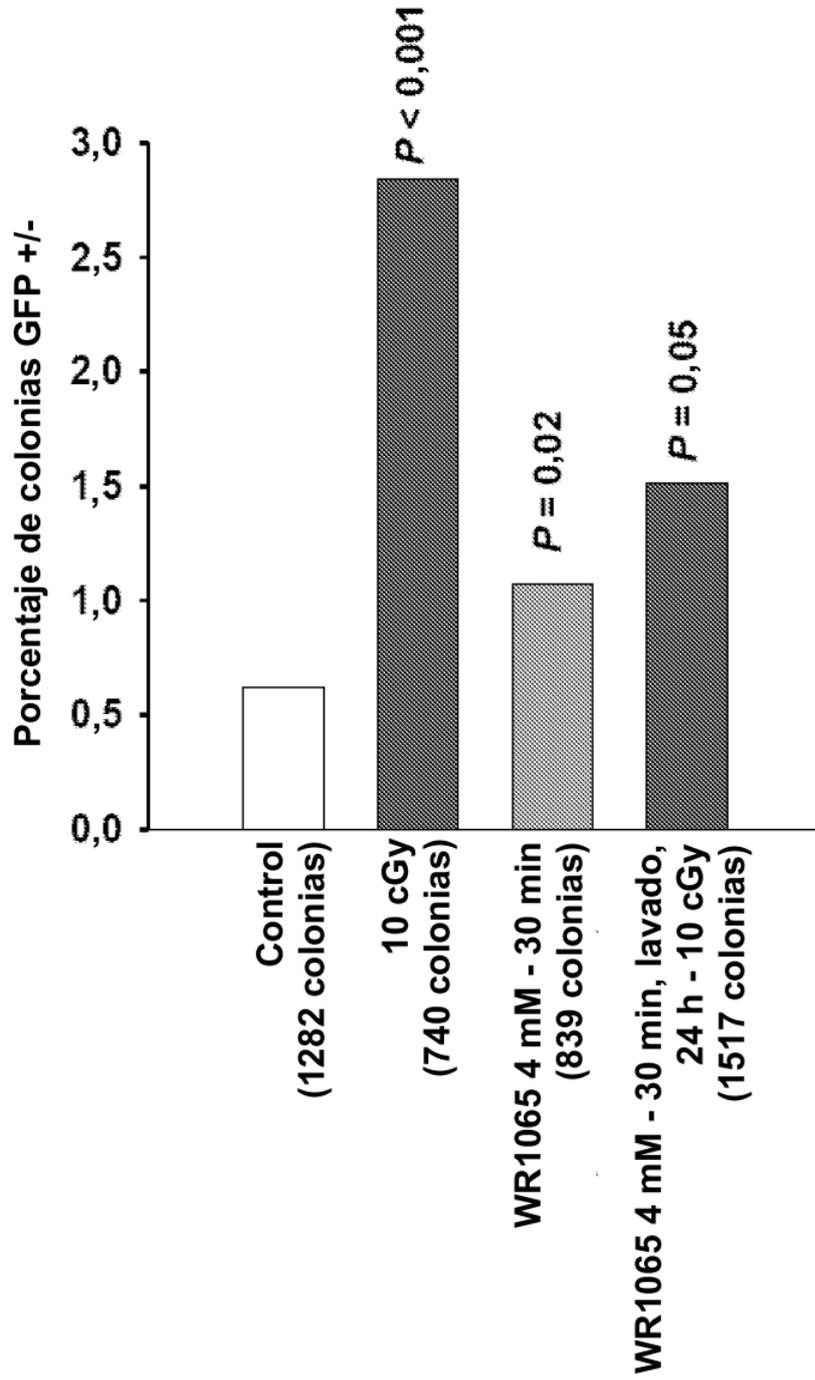


Fig. 2

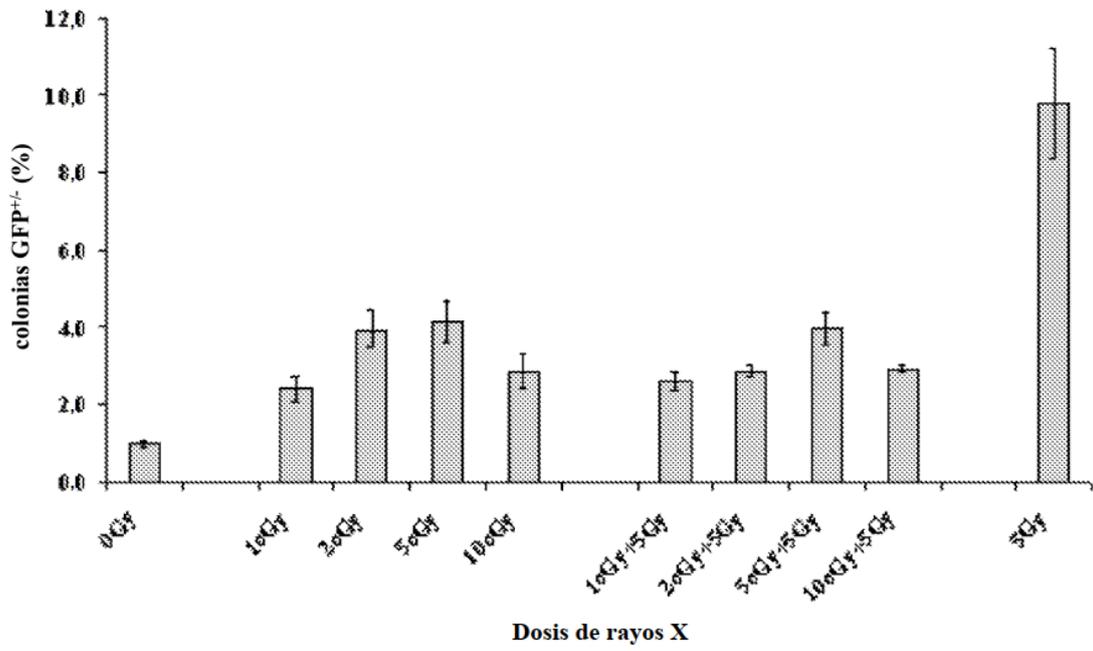


Fig. 3

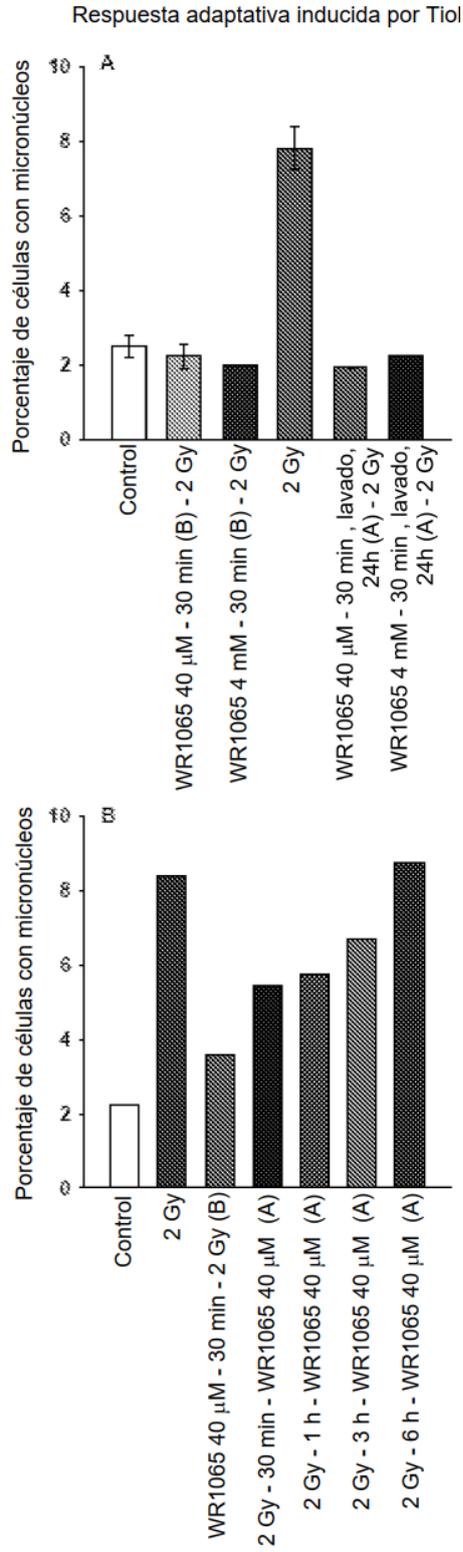


Fig. 4 A-B

Respuesta adaptativa inducida por radiación

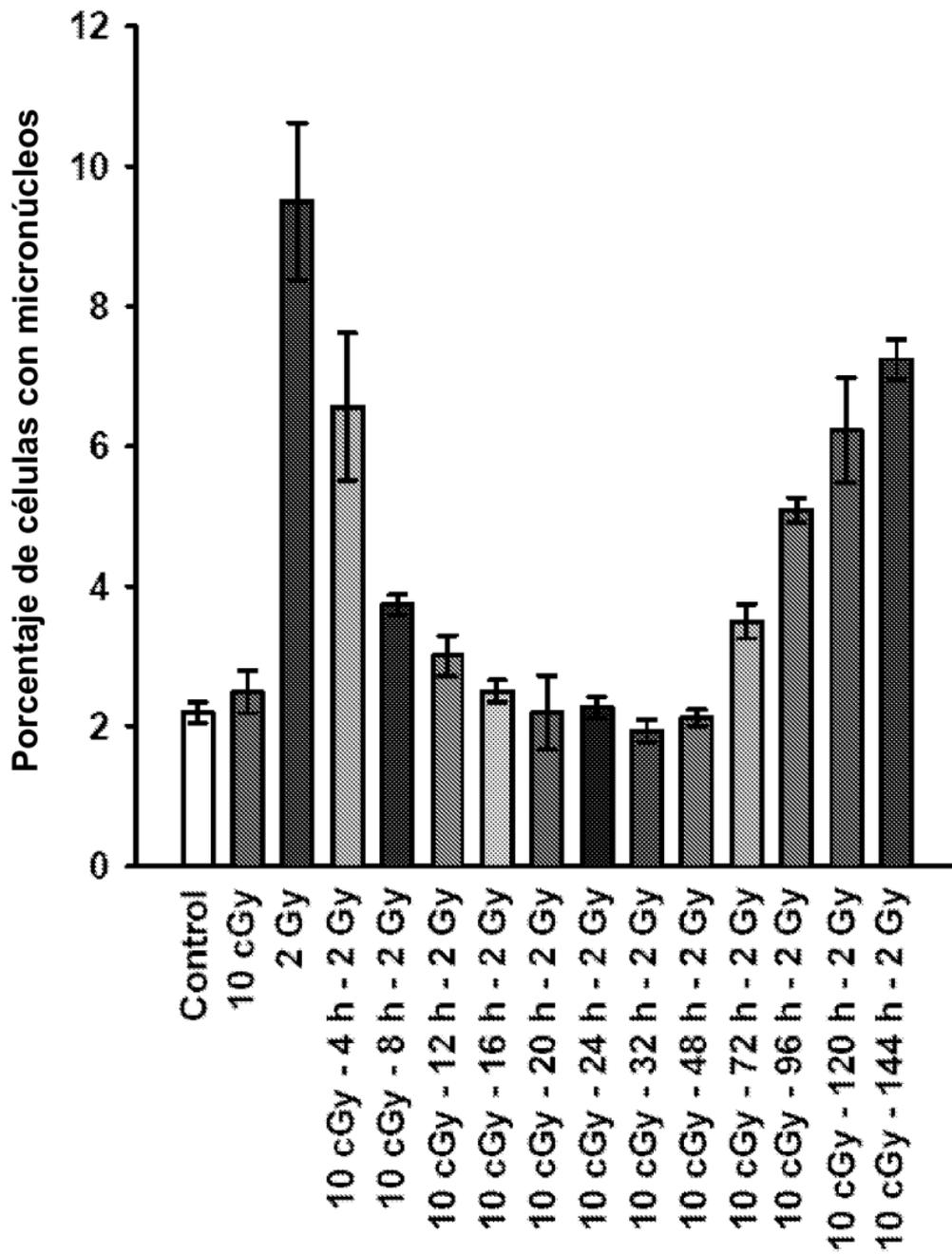


Fig. 5

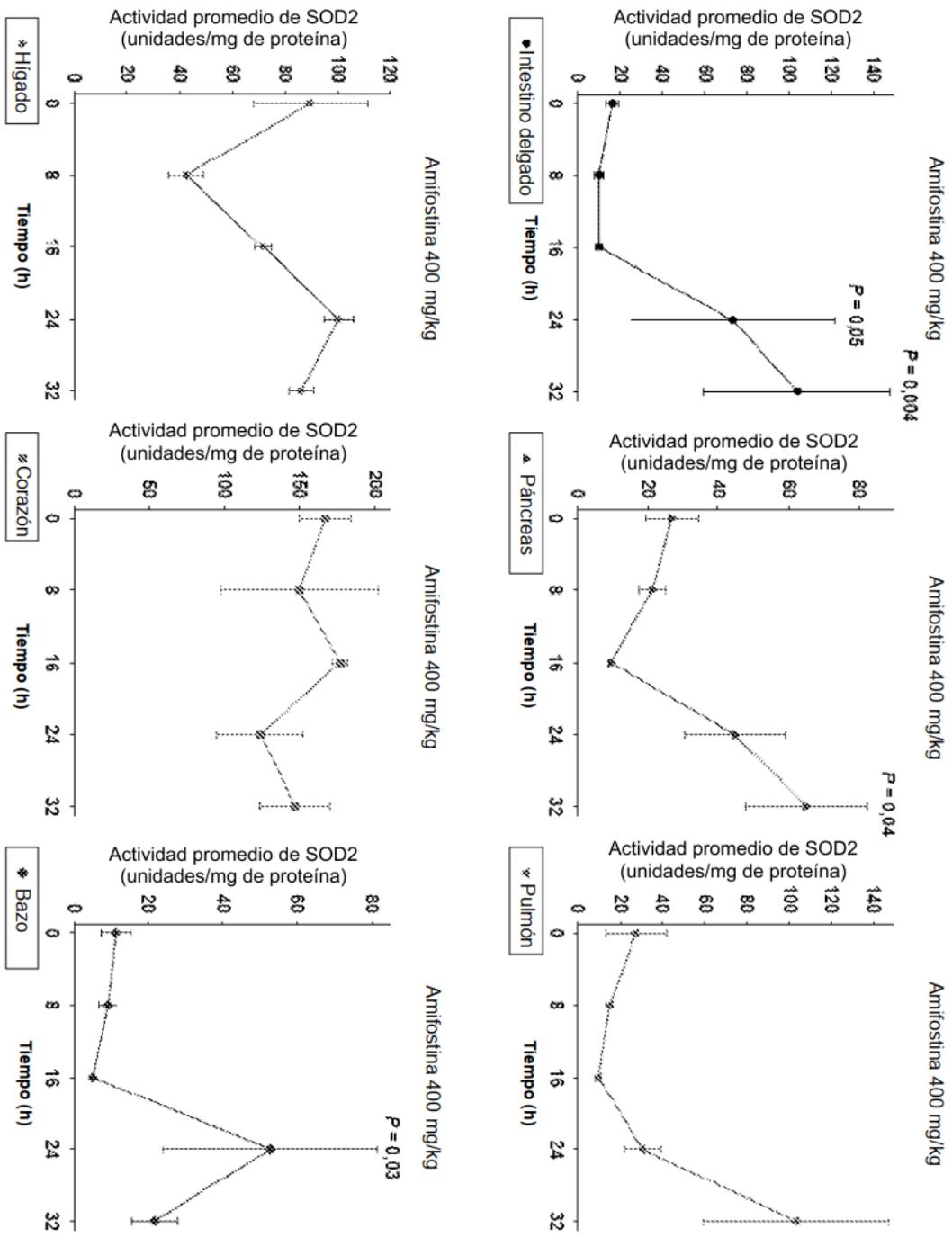


Fig. 6

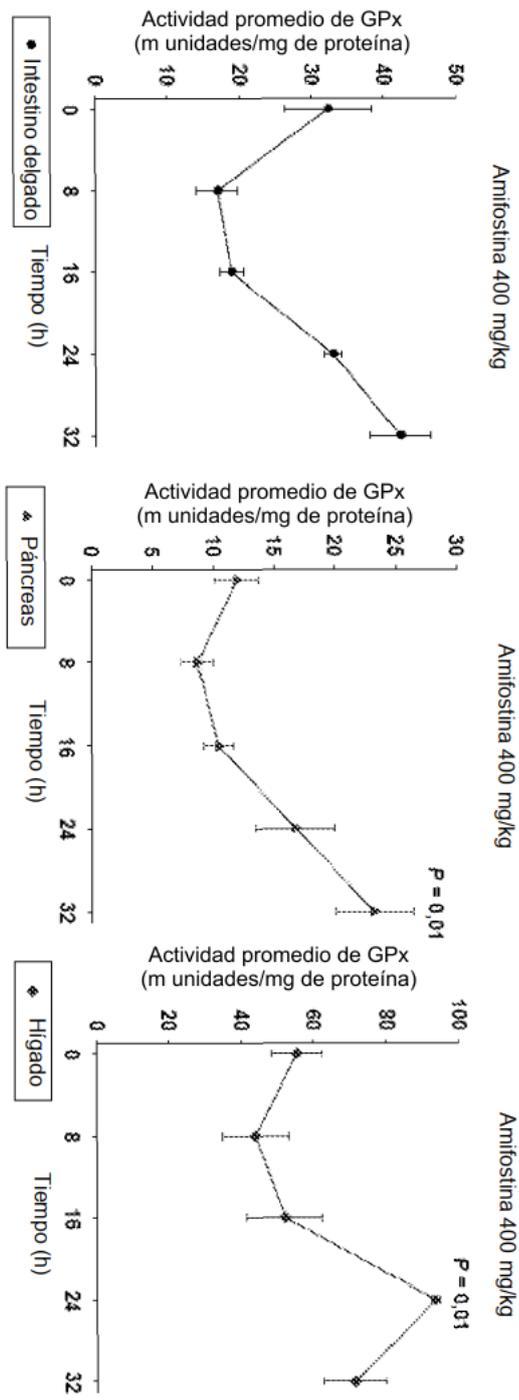


Fig. 7

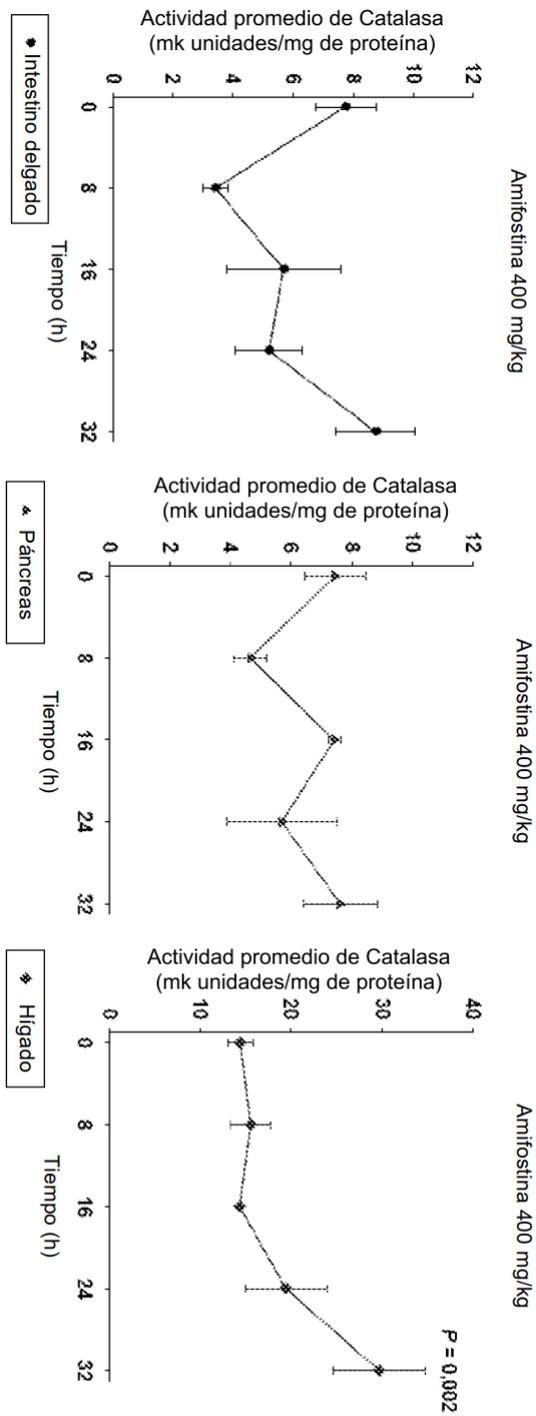


Fig. 8

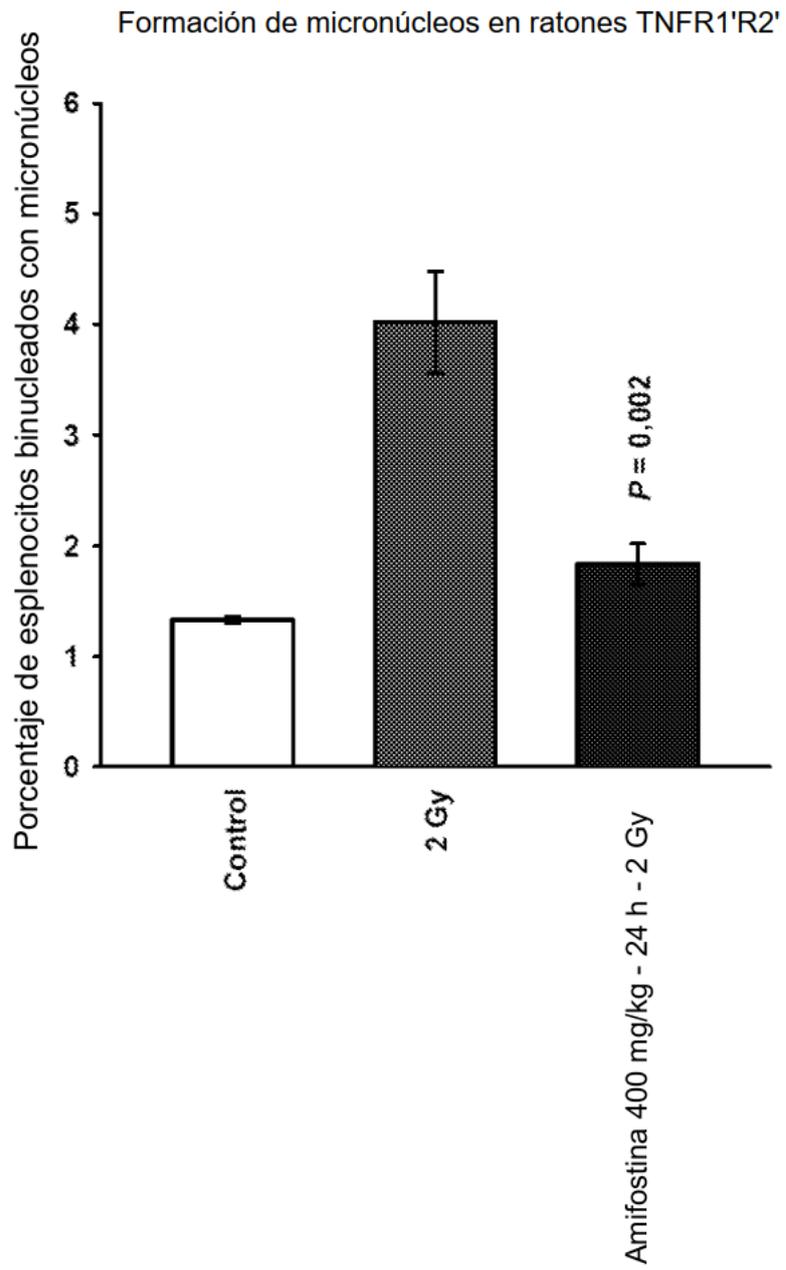


Fig. 9

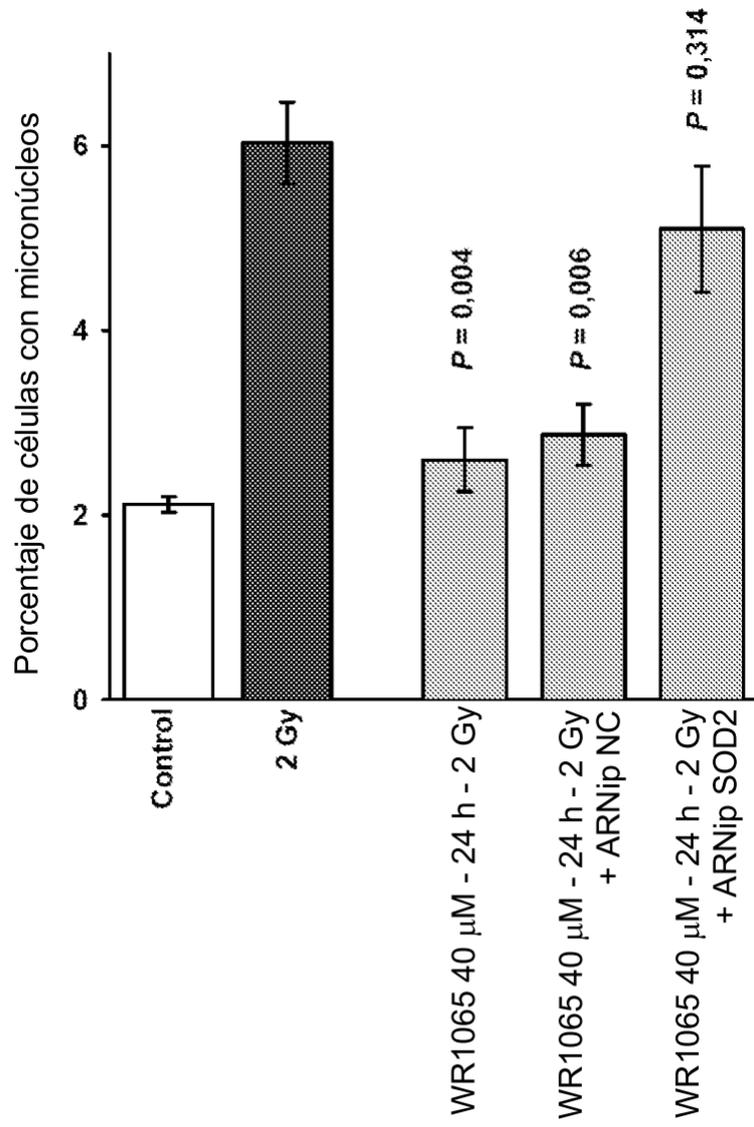


Fig. 10a

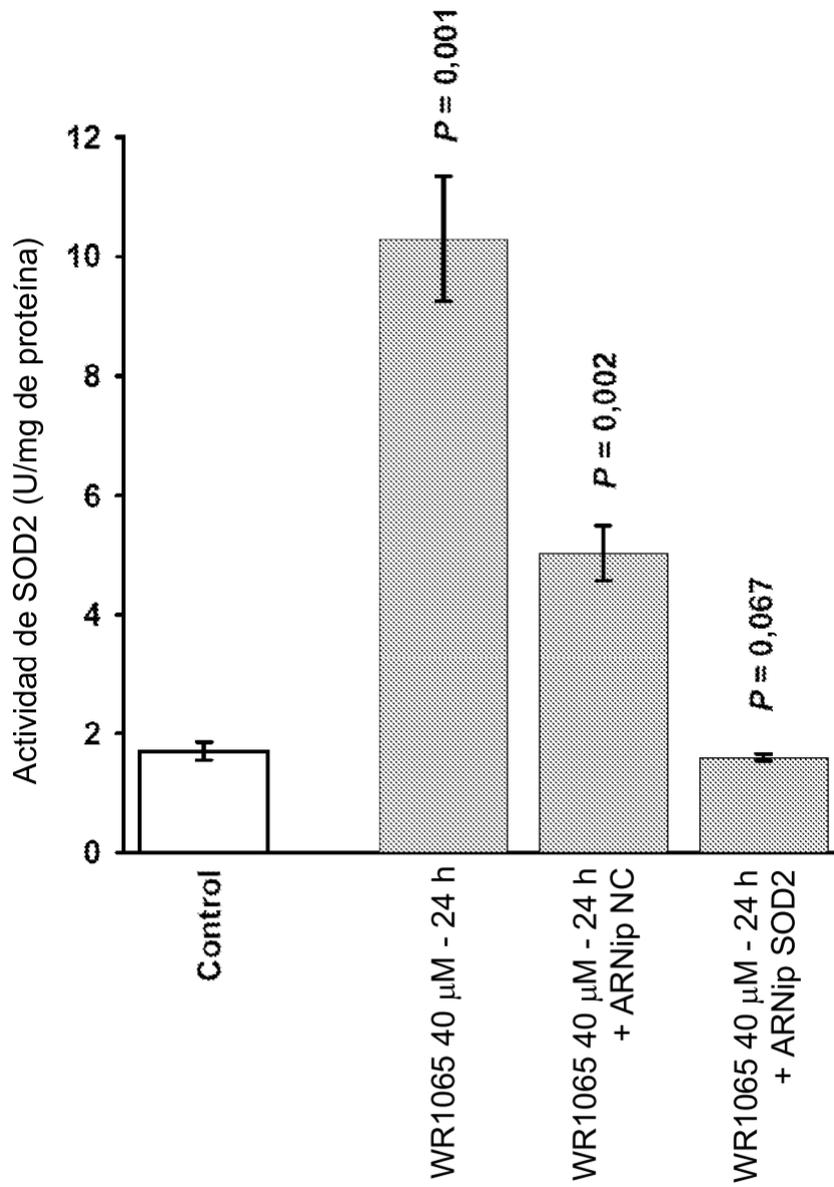


Fig. 10b