

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 425 568**

51 Int. Cl.:

A61B 5/00 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 21/47 (2006.01)

A61B 5/1459 (2006.01)

A61B 5/1455 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.01.2006 E 06704094 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.05.2013 EP 1845837**

54 Título: **Método y aparato para la medición de cambios cancerosos a partir de mediciones espectrales de reflectancia obtenidas durante la toma de imágenes endoscópicas**

30 Prioridad:

21.01.2005 US 646005 P

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

16.10.2013

73 Titular/es:

**VERISANTE TECHNOLOGY, INC. (50.0%)
Suite 306-2309 West 41st Avenue
Vancouver BC V6M 2A3, CA y
BC CANCER AGENCY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ZENG, HAISHAN y
FAWZY, YASSER SHERIF**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 425 568 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 y aparato para la medición de cambios cancerosos a partir de mediciones espectrales de reflectancia obtenidas durante la toma de imágenes endoscópicas

5 La presente invención hace referencia al campo de la espectroscopia óptica y, de modo más particular, al método para obtener información sobre la fisiología y morfología tisular mediante la utilización de la espectroscopia de reflectancia difusa. El propósito de la invención es el de desarrollar un método óptico no invasivo para la detección del cáncer.

10 El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en América del Norte y presenta la segunda incidencia entre los cánceres más comunes, tanto de hombres como de mujeres. Las investigaciones médicas indican que el cáncer puede tratarse de modo más efectivo cuando se detecta precozmente, cuando las lesiones son más pequeñas o cuando el tejido se halla en un estadio precanceroso. Desafortunadamente, la endoscopia pulmonar convencional (broncoscopia) basada en la obtención de imágenes mediante la reflectancia de luz blanca (WLR), que habitualmente se utiliza para detectar lesiones cancerosas en las vías aéreas centrales de los pulmones, sólo detecta un 25 por ciento de los cánceres de pulmón. La mayoría de estas lesiones se encuentran en el último estadio, en el que el cáncer ya ha progresado y su pronóstico es fatal. En esta tasa de detección radica la necesidad de una modalidad de detección u obtención de imágenes que acompañe a la obtención de imágenes mediante WLR y que logre un mejor rendimiento diagnóstico para la detección del cáncer.

25 Varios grupos de investigación han indagado sobre la utilización de la autofluorescencia tisular para mejorar la sensibilidad de detección de las lesiones cancerosas. Así como ciertos cambios morfológicos en el tejido pueden asociarse a enfermedad, también se pueden aprovechar los cambios químicos para la detección de la enfermedad, especialmente durante las fases precoces de la enfermedad. Cuando el tejido se ilumina (o excita) con luz visible o ultravioleta (UV) con una longitud de onda específica, las moléculas biológicas (fluoróforos) absorben la energía y la emiten en forma de luz fluorescente con longitudes de onda mayores (región verde/roja de longitud de onda). Estas longitudes de onda de la luz se seleccionan en base a su capacidad de estimular ciertos químicos en el tejido que se asocian a la enfermedad o el proceso patológico. Las imágenes o el espectro de estas emisiones (fluorescencia) pueden captarse para su observación y/o análisis. El tejido enfermo tiene señales de fluorescencia significativamente diferentes respecto al tejido sano por lo que el espectro de las emisiones de fluorescencia se puede utilizar como herramienta diagnóstica.

35 En la solicitud de patente publicada de Estados Unidos N° 2004/245350 de Zeng, titulada "Methods and Apparatus for Fluorescence Imaging Using Multiple Excitation-Emission Pairs and Simultaneous Multi-Channel Image Detection", el inventor describe la utilización de una segunda señal fluorescente independiente en la región roja/infrarroja cercana de longitudes de onda. A diferencia de las propiedades tisulares descritas con anterioridad, el tejido enfermo, tal como el tejido canceroso o precanceroso iluminado con la luz roja/infrarroja cercana, emite fluorescencia y proporciona intensidades mayores en el tejido enfermo que en el tejido normal. Estas propiedades pueden aprovecharse para mejorar la normalización de las imágenes y la utilidad diagnóstica de las imágenes.

45 Aunque la obtención de imágenes mediante fluorescencia proporciona una sensibilidad mejorada para enfermedades tales como el cáncer, también existen inconvenientes. Un sistema comercial de obtención de imágenes mediante fluorescencia ha alcanzado una sensibilidad del 67 por ciento para la detección del cáncer de pulmón. No obstante, tal incremento en la sensibilidad se logró a cambio de una disminución en la especificidad de detección, que se redujo al 66 por ciento, en comparación al 90 por ciento de la obtención de imágenes mediante la WLR sola. Como resultado se obtuvo un coste médico mayor debido al mayor número de biopsias relacionado con el aumento del número de falsos positivos.

50 Con el fin de proporcionar diagnósticos más precisos de tejido canceroso, un enfoque más conveniente ha sido el de realizar un diagnóstico adicional, no invasivo y a tiempo real de cáncer para mejorar la especificidad de detección, reducir los costes médicos y ayudar a los médicos durante la cirugía para definir la región cancerosa del tejido. Se conocen unos pocos métodos de diagnóstico no invasivo de cáncer, tal como la espectroscopia de reflectancia y la espectroscopia de fluorescencia, y ambas se basan en la detección de variaciones bioquímicas y morfológicas del tejido enfermo.

60 El tejido biológico es un medio turbio que absorbe y dispersa la luz incidente. Generalmente, cuando la luz incide sobre el tejido, ésta se dispersa múltiple y elásticamente, pero al mismo tiempo también pueden ocurrir la absorción y la fluorescencia. Una dispersión y absorción adicional pueden darse antes de que la luz emerja de la superficie del tejido, que contiene información estructural y composicional del tejido. Esta información puede utilizarse para la detección de precánceres y cánceres precoces que se acompañan de cambios metabólicos y arquitectónicos locales a nivel celular y subcelular, por ejemplo, cambios en la proporción núcleo-citoplasma de las células y cambios en la textura de la cromatina. Estos cambios afectan a las propiedades de dispersión elástica del tejido.

65 La espectroscopia de reflectancia es un análisis de una luz reflejada a partir de un tejido. La espectroscopia de reflectancia tisular puede utilizarse para derivar información sobre los cromóforos tisulares (moléculas que absorben

luz fuertemente), por ejemplo la hemoglobina. Se puede inferir la proporción entre la oxihemoglobina y la desoxihemoglobina y se puede utilizar para determinar el estado de oxigenación de un tejido, lo cual es muy útil para la detección del cáncer y el análisis del pronóstico. También se puede utilizar para derivar información sobre los dispersores en el tejido, tal como la distribución del tamaño de los núcleos celulares y la densidad celular media. En muchos casos se desea la cuantificación de la concentración de cromóforos y esto requiere la capacidad de separar los efectos de la absorción de los de la dispersión.

La espectroscopia de fluorescencia es el análisis de la emisión de fluorescencia del tejido. Los fluoróforos tisulares naturales (moléculas que emiten fluorescencia cuando se excitan con una luz de una determinada longitud de onda) incluyen la tirosina, el triptófano, el colágeno, la elastina, las flavinas, las porfirinas y dinucleótido adenina nicotinamida (NAD). La fluorescencia tisular es muy sensible a la composición química y a los cambios en el ambiente químico asociados con la transformación patológica. También pueden utilizarse cromóforos exógenos o inducidos exógenamente que han demostrado acumularse preferentemente en las áreas patológicas.

Otro tipo de técnica espectroscópica utilizada para examinar tejidos incluye la utilización de la espectroscopia Raman. Los espectros Raman aportan información específica sobre las energías vibracional, de estiramiento y de ruptura de uniones de la muestra iluminada. La espectroscopia Raman examina las vibraciones moleculares y aporta características espectrales muy específicas, de tipo huella dactilar, y presenta una precisión elevada para la diferenciación de tejidos malignos respecto a los tejidos benignos. La espectroscopia Raman también puede utilizarse para identificar diferencias estructurales y composicionales en las proteínas y el material genético de los tejidos malignos, sus precursores y los tejidos normales. No obstante, el desarrollo de una evaluación Raman in vivo de un tejido es muy complicado a nivel técnico a causa de la débil señal Raman del tejido, las interferencias de la fluorescencia tisular y la contaminación espectral causada por las señales basales Raman y de fluorescencia, generadas en la misma fibra.

Otra tecnología de obtención de imágenes no invasiva es la tomografía de coherencia óptica (OCT). Ésta se basa en el principio de la interferometría de coherencia baja en el que la información de la distancia que concierne a varias macroestructuras tisulares se extrae a partir de los retrasos temporales de las señales reflejadas. La OCT puede realizar "biopsias ópticas" de gran resolución de la microestructura tisular in situ y a tiempo real. No obstante, la resolución espacial de los sistemas comerciales de OCT aún no satisfacen los requerimientos clínicos para el diagnóstico endoscópico preciso in vivo.

A parte de estos métodos, existen estudios de investigación en marcha en el área del diagnóstico del cáncer no invasivo basados en la alteración morfológica de la estructura celular en las células cancerosas. Una de las características más prominentes que el patólogo utiliza para diagnosticar que un tejido es canceroso es la presencia de núcleos alargados y amontonados. Dado que en muchos tipos de cáncer los núcleos de las células cancerosas son significativamente mayores a los núcleos de las células normales, el objetivo de estos estudios de investigación es estimar tamaño medio de los dispersores tales como los núcleos, las mitocondrias, y otros orgánulos celulares, de forma no invasiva a través de un sistema óptico.

Cuando un haz de luz alcanza el tejido que se está investigando, parte de éste se reflejará de manera especular por parte de la superficie, mientras que el resto se refractará y se transmitirá al tejido. La luz transmitida al tejido se dispersará y se absorberá. Después de múltiples dispersiones, parte de la luz transmitida retornará a la superficie del tejido y aparecerá para su detección. La dispersión de la luz por parte de los tejidos biológicos se debe a las variaciones de los índices de refracción en el interior del tejido en los límites de varias microestructuras tales como el núcleo y los haces de colágeno. Por consiguiente, las propiedades dispersoras de un tejido cambian junto con las variaciones de la morfología y las propiedades de la microestructura de un tejido, que habitualmente se acompañan de cambios tisulares patológicos. Por ejemplo, cuando un tejido normal se vuelve canceroso, el tamaño de los núcleos de las células y el grosor de la capa epitelial aumentan, así como lo hace el volumen total ocupado por las células (microdispersores). Se ha observado que tales cambios en la microestructura y morfología tisular causa diferencias intrínsecas en las propiedades dispersoras de la luz de las lesiones normales y cancerosas.

En particular, se podrían identificar en la literatura dos enfoques de medición para obtener diferencias cuantitativas en las propiedades dispersoras de las lesiones normales y cancerosas mediante la utilización de mediciones del espectro de reflectancia. El primer enfoque es el de medir el espectro de dispersión de luz único (LSS), originado a partir de las capas superficiales del tejido, y extraer información cuantitativa sobre las estructuras dispersoras presentes a nivel celular y subcelular. La técnica LSS examina las variaciones en las propiedades dispersoras elásticas de los orgánulos celulares para inferir sus tamaños, así como otras informaciones dimensionales. Para medir las características celulares de los tejidos u otras estructuras celulares se debe distinguir la luz débil dispersada individualmente de la luz difusa, que se ha dispersado de manera múltiple y que ya no contiene información fácilmente accesible sobre los objetos dispersores. Consecuentemente, la concentración de los dispersores en suspensión debe ser baja para que pueda analizarse la información obtenida solamente a partir de la distribución angular de los fotones dispersados individualmente. El análisis del espectro de la luz retrodispersada individualmente mediante la utilización de la teoría de la dispersión de luz proporciona información sobre el tamaño y la densidad numérica de los núcleos celulares sin que sea necesaria la extracción de tejido.

No obstante, estas mediciones del LSS están limitadas debido a que el LSS no permite la obtención de información cuantitativa sobre las propiedades de absorción del tejido, tal como la concentración de cromóforos. Además, las mediciones del LSS son difíciles, sino imposibles, de llevar a cabo durante la realización de la endoscopia.

5 El otro enfoque es el de obtener información cuantitativa sobre la morfología del tejido (propiedades dispersoras tisulares) a partir del espectro de reflectancia difusa (DRS). La reflectancia difusa se basa en la proyección de un haz de luz sobre una muestra donde la luz se refleja, se dispersa y se transmite a través del material de la muestra. La luz dispersada difusamente y retrorreflejada (parte de la cual absorbe la muestra) se recoge por parte de los accesorios y se dirige a los detectores ópticos. Sólo se considera como reflexión difusa la parte del haz que se dispersa en la muestra y que retorna a la superficie.

10 Las mediciones de la reflectancia difusa son más sencillas de aplicar y permiten la obtención de información cuantitativa sobre las propiedades de absorción, así como sobre las propiedades dispersoras. No obstante, en muchos estudios, la información cuantitativa obtenida mediante mediciones del DRS se vio limitada por la estimación de las propiedades ópticas del promedio de grosor de tejido (coeficientes de dispersión y absorción reducidos) en vez de obtener información cuantitativa relacionada directamente con la microestructura y morfología tisular. Esta limitación se debe principalmente a la naturaleza compleja de la propagación de la luz (dispersión múltiple) en el tejido, tal como la microestructura y la morfología. Por consiguiente, es difícil caracterizar las propiedades dispersoras a niveles celulares a partir del DRS.

15 Además, se puede considerar que la luz retrorreflejada deriva de dos categorías, la reflectancia difusa y la reflectancia especular. La reflectancia especular es la luz que no se propaga en la muestra sino que se refleja desde la superficie anterior del tejido. Este componente contiene información sobre la superficie del tejido. Habitualmente, el componente difuso se considera más útil que el componente especular para la calificación y cuantificación del tejido.

20 Se han propuesto varios enfoques, tales como la utilización de una sonda de fibra óptica de contacto, que recoge la radiación que retorna hacia un ángulo de recogida pequeño, o la utilización de un aparato de control especular, para enfatizar el componente difuso en relación con el componente especular. Para algunos tejidos, por ejemplo la piel, es relativamente fácil obtener tales espectros mediante el mero contacto de la lesión con un haz de fibra óptica apropiado y acoplado a un espectrómetro. Sin embargo, para algunos órganos internos como el pulmón, tal configuración no sería práctica debido a las interferencias de la sonda de fibra basada en el canal del instrumento con la biopsia u otras herramientas terapéuticas.

25 Unos pocos estudios han investigado el potencial de la espectroscopia de reflectancia difusa en la detección de cambios cancerosos en el tejido. Se observaron diferencias intrínsecas en las propiedades ópticas de las lesiones malignas y benignas y los tejidos normales, y estos se relacionaron directamente con los cambios en la fisiología y la morfología tisular que ocurrieron durante la transformación cancerosa. Se han llevado a cabo análisis y mediciones espectroscópicas clínicas en varios órganos, incluido el pulmón. En particular, Bard et al. han llevado a cabo análisis y mediciones espectrales de las lesiones anormales que se identificaron durante la broncoscopia de fluorescencia y observaron cambios significativos en las propiedades morfológicas y fisiológicas relacionadas tanto con la absorción como con la dispersión cuando el tejido se volvió maligno. También han evaluado el potencial de tales mediciones espectrales para la mejora de la especificidad de la detección del cáncer de pulmón. No obstante, sus mediciones también se llevaron a cabo mediante la utilización de una sonda de fibra óptica insertada a través del canal del instrumento y estando en contacto con la superficie del tejido durante la medición.

30 En principio, el DRS tal y como se utiliza en la práctica clínica se lleva a cabo de la siguiente manera. La superficie del tejido se pone en contacto con una sonda de fibra óptica, un haz de fibra óptica que se inserta mediante el canal de biopsia del endoscopio y se acopla al espectrómetro. La sonda de fibra óptica consiste en una fibra iluminadora/haz de fibra óptica, habitualmente el núcleo central y las fibras/haces de fibra óptica que lo rodean para la captura de la radiación que retorna. La luz sale de la fibra iluminadora y entra en el tejido que se está investigando. Después de los procesos de dispersión y absorción, la luz que sale del tejido se captura mediante las fibras detectoras y se dirige al espectrómetro. Después, el espectro se puede analizar para determinar las características del tejido.

35 A pesar de que el empleo de la geometría de la sonda de contacto aporta unas mediciones difusas más controladas con menos artefactos de medición, la limitación de estos tipos de mediciones se debe a que se trata de procesos incómodos y que requieren de mucho tiempo para realizarse en la obtención de imágenes por vía endoscópica in vivo de los órganos internos.

40 Por consiguiente, existe la necesidad de un aparato para obtener información cuantitativa sobre las características fisiológicas y morfológicas de un tejido de manera directa a partir de las mediciones de reflectancia difusa para su aplicación en la endoscopia. De acuerdo con esto, la presente invención utiliza una sonda de no contacto que elimina la necesidad de una sonda de fibra a través del canal del instrumento. Así, la presente invención supera los problemas que se presentaron con anterioridad y proporciona ventajas adicionales sobre las técnicas previas.

La materia previa referente a este campo técnico puede encontrarse en el documento WO 2004/110 265 A1, que describe un "Device for measuring physical properties of the tympanic membrane".

5 La presente invención, en una realización, es un método para obtener información sobre un tejido a partir de los espectros de reflectancia difusa de acuerdo con el método de la reivindicación 1.

En otra realización, la presente invención es un aparato para obtener información sobre un tejido a partir de los espectros de reflectancia difusa, de acuerdo con la reivindicación independiente correspondiente.

10 La organización y el modo de la estructura y la operación de la invención, junto con los objetivos y ventajas adicionales de la misma, pueden entenderse mejor mediante la referencia a la siguiente descripción, en conexión con las ilustraciones acompañantes, en las que los mismos números de referencia identifican los mismos elementos, donde:

15 La figura 1 es una ilustración de un sistema de endoscopia de la realización preferible de la presente invención;

La figura 1A es una vista en sección transversal de una sonda utilizada en el sistema de endoscopia de la figura 1;

20 La figura 1B es un diagrama de un acoplamiento espectral utilizado en el sistema de endoscopia de la figura 1;

La figura 2 es un diagrama de la geometría de medición;

25 La figura 2a es un gráfico que muestra la distribución de la fluencia de luz ϕ en forma de función del grosor del tejido z ;

La figura 3 es un diagrama del proceso de normalización;

La figura 4 es un diagrama de un modelo directo de un ejemplo útil para la comprensión de la invención;

30 La figura 5 es un diagrama de flujo del proceso de una realización de la invención para la detección de la enfermedad en base a la información obtenida a partir de los análisis de los espectros de reflectancia difusa;

35 La figura 6 contiene gráficos de (a) espectros de reflectancia medidos y ajustados (líneas) a partir de dos tejidos normales/lesiones benignas y dos lesiones pulmonares malignas del mismo paciente; y (b) espectros de reflectancia difusa corregidos y derivados a partir de la ecuación (3) mediante la utilización de la corrección de los parámetros a_0 y b_0 obtenidos con el modelo desarrollado;

40 La figura 7 es un conjunto de gráficos que muestran los parámetros relacionados con la absorción y dispersión obtenidos a partir del ajuste de los dos espectros benignos y los dos malignos: (a) fracción de volumen sanguíneo (ρ), (b) parámetro de saturación de oxígeno tisular (α), (c) fracción de volumen de dispersión en ambas capas (δ_1 y δ_2), y (d) parámetro de distribución del tamaño que describe la distribución del tamaño de los dispersores en ambas capas (β_1 y β_2);

45 La figura 8 contiene gráficos del espectro de reflectancia medio ajustado, corregido y obtenido a partir de 50 tejidos normales/lesiones benignas frente al de 50 lesiones malignas;

50 La figura 9 contiene gráficos de dispersión de los parámetros fisiológicos y morfológicos de la mucosa bronquial obtenida a partir del análisis espectral de reflectancia: (a) fracción de volumen sanguíneo ρ y (b) parámetro de saturación de oxígeno α , (c) fracción de volumen de dispersión δ_1 , y (d) parámetro de distribución del tamaño β_1 ; y

La figura 10 es un gráfico binario de la (a) fracción de volumen sanguíneo frente al volumen de dispersión, y (b) la fracción de volumen sanguíneo frente al parámetro de saturación de oxígeno.

55 Descripción detallada de la invención

Mientras que la invención puede realizarse de diferentes maneras, en las ilustraciones y en la descripción en detalle se muestran realizaciones específicas y ejemplos útiles para la comprensión de la invención, con el entendimiento de que la presente descripción debe considerarse como un ejemplo de los principios de la invención y no pretende limitar la invención a lo que se ilustra y describe aquí.

60 El enfoque de la presente invención es el de obtener información cuantitativa sobre las propiedades relacionados con la absorción y/o dispersión a partir de los espectros de reflectancia difusa (DRS) obtenidos durante la toma de imágenes endoscópicas in vivo. La reflectancia difusa se basa en la proyección de un haz de luz de banda ancha sobre la muestra, en la que la luz se absorbe, se refleja, se dispersa y se transmite o se retrorefleja a través del material de muestra. La luz retroreflejada o retrodispersada se recoge con el accesorio (por ejemplo una fibra óptica) y se dirige a las ópticas detectoras. Sólo se considera como reflejo difuso la parte del haz que se dispersa en

la muestra y se retorna a la superficie.

Algunos estudios han investigado el potencial de la espectroscopia de reflectancia difusa del tejido para la detección de cambios cancerosos en el tejido. Sin embargo, las sondas utilizadas en la materia para las mediciones de la reflectancia difusa se basan en el contacto con los tejidos para derivar datos que identifiquen tejidos sospechosos de presentar cambios fisiológicos como resultado de actividad precancerosa o cancerosa. Además, no ha habido un enfoque claro de modelo que relacione los cambios en la absorción óptica y en los coeficientes de dispersión con los parámetros fisiológicos y morfológicos que reflejan los cambios cancerosos precoces en los tejidos reales.

A pesar del hecho de que el empleo de la geometría de la sonda de contacto proporciona mediciones de reflectancia difusa más precisas, la limitación de este tipo de medición es que se ve interferido por la biopsia y los otros procedimientos terapéuticos. De acuerdo con esto, la presente invención utiliza una sonda sin contacto que elimina la necesidad de un sonda de fibra a través del canal del instrumento, por lo que las aplicaciones clínicas de esta tecnología se hacen más convenientes. También crea una geometría de medición con una iluminación de haz ancho y una detección puntual estrecha, simplificando el modelo teórico del espectro medido.

La figura 1 muestra un sistema 12 para la obtención de imágenes y la espectroscopia, tal y como se utiliza en la presente invención. El sistema tiene una fuente de luz 1, un endoscopio 2 con una sonda 3 adaptada para su inserción en el paciente, un sistema de detección que incluye un aparato de captura de imágenes 4 (tal como una cámara), un acoplamiento espectral 10, y un espectrómetro 5. La fuente de luz 1 proporciona radiación de iluminación, preferiblemente luz de banda ancha, mediante un haz de fibra óptica 7, hacia un endoscopio 2. El haz de fibra óptica de iluminación 7 se extiende a lo largo del endoscopio 2 y la sonda 3 para dirigir la radiación de iluminación hacia el tejido investigado 6.

Preferiblemente, la fuente de luz 1 es una lámpara de arco de xenón que proporciona tanto luz blanca (o luz) para la obtención de imágenes con luz blanca y las mediciones espectrales de reflectancia, como una luz azul fuerte (400-450 nm) con una luz infrarroja cercana débil (NIR) para la obtención de imágenes mediante la fluorescencia y las mediciones espectrales de fluorescencia. La luz NIR se emplea para formar una imagen de reflectancia NIR utilizada para normalizar la imagen de fluorescencia verde. (Otra realización de la presente invención utiliza una segunda señal de excitación para una segunda imagen de fluorescencia, utilizada para la normalización de la imagen de fluorescencia). La fuente de luz 1 también podría ser una lámpara de mercurio, una lámpara halógena de tungsteno, una lámpara de haluro metálico, un láser o un LED. Pueden añadirse varios filtros para seleccionar un conjunto de longitudes de onda.

Una unidad de procesamiento 8 recibe datos desde un aparato de captura de imágenes 4 y un espectrómetro 5, y realiza los cálculos y procesamientos tal y como se describe aquí. Por ejemplo, la unidad de procesamiento 8 recibirá los espectros de reflectancia difusa, tal y como se describirá más adelante, y llevará a cabo las funciones de análisis, clasificación y medición descritas aquí. La unidad de procesamiento 8 es un ordenador o un microprocesador, preferiblemente un ordenador personal. La unidad de procesamiento 8 emite sus resultados a cualquier medio de emisión deseado por el usuario, tal como un monitor, una pantalla de LCD o una impresora, o transmite los resultados hacia otro ordenador para su análisis posterior, o utiliza los resultados para sus cálculos y análisis internos.

La radiación que retorna del tejido 6, que puede ser una combinación de luz de reflectancia, luz de emisión de banda estrecha por fluorescencia, otras bandas estrechas para la normalización u otros tipos de luz, se recoge mediante varias lentes y se retransmite al sistema de detección mediante el haz de obtención de imágenes 9 para la obtención de imágenes mediante un aparato de detección de imágenes 4 y la espectroscopia mediante el espectrómetro 5.

Las mediciones espectrales se llevan a cabo mediante la utilización del acoplamiento espectral 10 que se coloca entre el endoscopio 2 y el sistema de detección. Una fibra óptica 11 lleva una fracción de la radiación que retorna desde un punto en un plano de imagen hasta el espectrómetro 5 para su análisis espectral.

El extremo final de la sonda 3 se muestra con más detalle en la figura 1A. Habitualmente, la sonda del endoscopio 3, tal y como se muestra en la sección transversal de la figura 1A, contiene una a más guías de iluminación de fibra óptica 21 para llevar la radiación de interrogación al objeto diana (tal como el tejido 6 de la figura 1) y un haz de obtención de imágenes 22 para llevar la radiación de retorno des del tejido 6. La sonda 3 también contiene un canal del instrumento 23 para la biopsia u otros procedimientos quirúrgicos, un tubo de agua 24 para el levado de la diana y un tubo de aire 25 para la succión. Además, el canal del instrumento 23 puede proporcionar acceso a otros procedimientos médicos, tal como la tomografía computada óptica, la espectroscopia Raman, la microscopía confocal, la endomicroscopía, los tratamientos con láser o con fármacos, la terapia génica, las inyecciones, el marcaje, la implantación u otras técnicas médica. Se puede combinar una segunda modalidad de obtención de imágenes, tal como la obtención de imágenes mediante fluorescencia, la espectroscopia de fluorescencia, la tomografía de coherencia óptica, la espectroscopia Raman, la microscopia confocal o la obtención de imágenes mediante reflectancia de luz blanca, con la modalidad de espectroscopia de reflectancia difusa.

En una realización, se coloca una fuente de luz 26 cerca del extremo distal de la sonda del endoscopio 3, tal y como

se muestra en la figura 1A. Por ejemplo, mediante la colocación de, al menos, un LED y preferiblemente, al menos dos LED en el extremo del endoscopio, se puede eliminar la fibra óptica que lleva la iluminación o la luz de excitación. Los LED son baratos, más fiables, duraderos, más ligeros, más compactos y más eficientes que las fuentes de láser y lámpara, lo que permite un mejor control de la obtención de imágenes y la iluminación. Además, se puede colocar un aparato de captura de imágenes en miniatura 28 en el extremo distal del endoscopio 3, tal y como se muestra en la figura 1A. Esta configuración elimina la necesidad de un haz de fibra óptica para canalizar la radiación de retorno hasta el aparato de captura de imágenes. Por contra, el aparato de captura de imágenes en miniatura 28 envía señales a un procesador, tal como la unidad de procesamiento 8. Esta configuración proporciona una oportunidad para aumentar la resolución y mejorar la obtención de imágenes. En aún otra realización, las fuentes de iluminación, los detectores de imagen y otros ópticos caros pueden colocarse en la punta extraíble, que puede cambiarse de paciente a paciente. Tal y como se describe en detalle en la solicitud de patente de Estados Unidos N° 2006/217594, "Endoscopy Device with Removable Tip".

La figura 1B muestra el acoplamiento espectral utilizado en el sistema de endoscopio de la presente invención. En la patente de Estados Unidos 6.898.458 de Haishan et. al., Methods and apparatus for fluorescence and reflectance imaging and spectroscopy for contemporaneous meditions of electromagnetic radiation with multiple measuring devices, se describe un endoscopio 31 que utiliza este acoplamiento espectral, y la descripción de éste se incorpora aquí como referencia. Esta patente describe varios aparatos y configuraciones para la obtención de imágenes tanto mediante fluorescencia como con luz blanca junto con las mediciones de la espectroscopia.

La luz que sale del tejido iluminado 6 de la figura 1 se enfoca mediante la lente 36 para formar una imagen intermedia en el ensamblaje entre la fibra y el espejo 32. El centro del espejo está modificado mediante la excavación de un agujero en el centro y en este agujero se inserta una fibra óptica 33 para llevar esa fracción de la imagen al espectrómetro 35. La posición de la fibra se observa en la imagen como un punto negro, que indica exactamente dónde se llevará a cabo el análisis espectral. La fibra óptica 33 lleva la señal de reflectancia desde el punto del plano de la imagen (medición espectral puntual), que se corresponde con un área de 1mm de diámetro en la superficie del tejido cuando la punta de la sonda del endoscopio está a diez mm de la superficie del tejido, hasta el espectrómetro 35 para el análisis espectral. El facultativo puede alinear el punto negro con el área de interés y la medición espectral a la vez que se guarda la imagen en la memoria del ordenador. La imagen en vídeo y el espectro (ya sea en modo WLR o en modo FL) se muestran simultáneamente en el monitor del ordenador en directo. El procesamiento de la radiación de retorno mediante varias modalidades, tales como la obtención de imágenes mediante luz blanca y la obtención de imágenes mediante fluorescencia, o la obtención de imágenes y espectrometría, se describe con más detalle en la solicitud de patente mencionada con anterioridad.

Se coloca un espejo 37 en paralelo al acoplamiento de la fibra con el espejo 32 para devolver el haz de luz hacia su dirección original y luego, a través de la lente 38, hacia la cámara 34 para la adquisición de imágenes. Con mero propósito ilustrativo, los espejos 32 y 37 están en un ángulo de 45 grados respecto al haz de luz entrante.

Las mediciones de reflectancia realizadas por el sistema 12 de la presente invención pueden representarse mediante una geometría de medición 1-D equivalente que se muestra en la figura 2. En tal geometría, una fuente plana de onda continua irradia el tejido y la reflectancia se detecta a partir de un punto estrecho en la superficie del tejido. El tejido, representado como un medio turbio de dos capas, se ilumina con un haz ancho $S(z)$ de radiación de interrogación a través del haz de fibra óptica perpendicular de no contacto 7. El diámetro del haz de iluminación es de aproximadamente un punto de dos centímetros sobre el tejido 6. Cuando la punta de la sonda del endoscopio 3 se encuentra a diez mm de la superficie del tejido 6, para tal diámetro del haz de fibra 7, podemos calcular que la radiación de retorno o la señal de reflectancia se detecta a partir de un punto de un mm en la superficie del tejido 6.

No se describirá el método para la medición de la reflectancia difusa de la presente invención.

La señal de reflectancia in vivo $I_{m1}(\lambda)$, medida a partir del tejido, puede describirse de la siguiente manera:

$$I_{m1}(\lambda) = a_1 I(\lambda) + b_1 I(\lambda) R_{tm}(\lambda) \quad (1)$$

En el que $I(\lambda)$ es la respuesta espectral del instrumento, que incluye las características espectrales de la fuente, la transmisión del haz de fibra, y la eficiencia del detector; a_1 es una constante relacionada con la eficiencia con la que el reflejo especular de la superficie del tejido se recoge con la sonda; b_1 es una constante relacionada con la eficiencia con la que la reflectancia difusa del tejido se recoge con la sonda de medición; y $R_{tm}(\lambda)$ es la reflectancia difusa verdadera del tejido que debe derivarse.

Para eliminar la respuesta de un instrumento, se debe realizar la normalización mediante la utilización de un disco de reflectancia estándar con una reflectancia conocida. El proceso de eliminación de la respuesta del instrumento también se muestra en forma de diagrama en la figura 3.

La señal de reflectancia medida a partir del disco estándar $I_{m2}(\lambda)$ se puede describir de la siguiente manera:

$$I_{m2}(\lambda) = a_2 I(\lambda) + b_2 I(\lambda) R_s \quad (2)$$

En el que a_2 es una constante relacionada con la eficiencia con la que el reflejo especular se recoge con la sonda; b_2 es una constante relacionada con la eficiencia con la que la reflectancia difusa se recoge; y R_s es la reflectividad del disco estándar, que es una constante a lo largo de todo el rango de longitud de onda visible y se aproxima mucho al valor de uno.

La señal de reflectancia in vivo $I_{m1}(\lambda)$ medida a partir del tejido se divide por parte de la señal de reflectancia $I_{m2}(\lambda)$ medida a partir del disco estándar de reflectancia para tener en cuenta la respuesta espectral del instrumento $I(\lambda)$. Mediante la división de la ecuación 1 y la ecuación 2, y el ajuste de la ecuación se produce lo siguiente:

$$R_m(\lambda) = \frac{I_{m1}(\lambda)}{I_{m2}(\lambda)} = a_0 + b_0 R_m(\lambda) \quad (3)$$

en la que, $R_m(\lambda)$ es el espectro de reflectancia medido por el aparato 12 tras la sustracción de la respuesta del instrumento, $R_{tm}(\lambda)$ representa los espectros verdaderos de reflectancia difusa del tejido, y a_0 y b_0 son un compensador adicional y un factor multiplicador, respectivamente, que dependen de las condiciones de medición durante cada medición in vivo llevada a cabo. Esto incluye la cantidad de reflejo especular recogido, el material de disco estándar utilizado como referencia y la distancia entre la sonda y el tejido durante la medición.

Hemos llevado a cabo mediciones in vivo en la mucosa bronquial normal y en lesiones de la mucosa bronquial tanto benignas como malignas en 22 pacientes, y hemos obtenido 100 espectros. Se obtuvo una muestra de biopsia en cada medición para clasificar cada punto tisular medido como normal, benigno o maligno. El examen patológico de las biopsias reveló que 21 de los espectros de reflectancia fueron puntos de tejido normal, 29 fueron lesiones benignas (26 hiperplasias y tres displasias leves) y 50 lesiones malignas (siete cánceres de pulmón de célula pequeña, tres carcinoma de célula escamosa combinados, 30 cánceres de pulmón de célula no pequeña y diez adenocarcinomas). Nuestro análisis sirvió para desarrollar algoritmos que diferencien los espectros en dos grupos.

Grupo uno: lesiones malignas por condiciones patológicas tisulares que eran una displasia moderada o superior, y

Grupo dos: tejido normal/lesiones benignas por condiciones patológicas tisulares que eran inferiores a la displasia moderada.

Esta clasificación binaria también se encuentra en consonancia con la práctica clínica en relación a que las lesiones del grupo uno deben ser tratadas o monitorizadas, mientras que las condiciones del grupo dos podrían dejarse sin tratamiento. Además, durante el examen endoscópico clínico de rutina se debe biopsiar cualquier lesión sospechosa de malignidad (grupo uno), mientras que las condiciones del grupo dos no deben biopsiarse. Sin embargo, en este estudio especialmente diseñado, se tomo una biopsia extra aleatoriamente en cada paciente, ya sea de un área con aspecto normal o de un área sospechosa de lesión benigna para poder evaluar el rendimiento del diagnóstico espectral de manera independiente al rendimiento de del diagnóstico mediante la obtención de imágenes.

Nosotros desarrollamos un método y un aparato para la clasificación tisular mediante la utilización de la información cuantitativa sobre los cambios fisiológicos y morfológicos del tejido, obtenido mediante el análisis de los espectros de reflectancia difusa. Para lograr esto, desarrollamos un modelo directo que relaciona las propiedades ópticas de un tejido (coeficiente de absorción, coeficiente de dispersión y anisotropía de dispersión) con la reflectancia difusa (computada) y, por consiguiente, un algoritmo de inversión para extraer la información cuantitativa sobre las propiedades fisiológicas y morfológicas del tejido a partir de la reflectancia difusa tisular.

Modelo directo (ejemplo útil para la comprensión de la invención)

El modelo directo se desarrolla en el contexto de la teoría del transporte de la luz y la teoría de las partículas discretas que relacionan la reflectancia difusa R_c con los parámetros fisiológicos y morfológicos tisulares específicos relacionados con los cambios del cáncer. Se sabe que la reflectancia depende de las propiedades ópticas del medio y las condiciones de medición, tales como la distancia hasta la sonda, y el ángulo de cada medición. En cada tejido se puede describir la distribución de la luz en el tejido en función de un coeficiente de absorción, un coeficiente de dispersión, y una anisotropía de dispersión (dirección de dispersión). Por consiguiente, nosotros desarrollamos un modelo de absorción con un coeficiente de absorción óptico expresado en términos de parámetros relacionados con la absorción microvascular y un modelo de dispersión con un coeficiente de dispersión expresado en términos de los parámetros relacionados con la dispersión de la microestructura tisular.

La figura 4 representa un diagrama de bloques del modelo directo. El coeficiente de absorción óptico (entrada 1) se

expresa en términos de contenido de volumen sanguíneo, saturación de oxígeno, propiedades ópticas pulmonares in vitro (por ejemplo, el coeficiente de absorción del tejido pulmonar medido in vitro habiendo drenado la sangre) y la absorción de la oxi y la desoxihemoglobina. El coeficiente de dispersión (entrada 2) se expresa en términos de fracción de dispersión de volumen, función de distribución del tamaño de dispersión e índice refractivo tisular. Todos los parámetros enumerados son propiedades ópticas y dependientes de la longitud de onda.

Los ejemplos presentes ilustran un sistema con parámetros ópticos conocidos (parámetros de absorción y dispersión) y calculan un valor computado de la señal de reflectancia difusa (Rc) en relación a estos parámetros. La luz propagada en el tejido se ilustra mediante la utilización del modelo de aproximación de difusión general utilizado para analizar la luz retrorreflejada difusa con coeficientes ópticos tisulares estimados, que se correlacionan con la estructura morfológica y la composición química del tejido.

Teóricamente, el modelo directo utilizado para describir el espectro de reflectancia tisular $R_c(\lambda)$ en cada longitud de onda, puede obtenerse mediante la utilización de la ley de Fick:

$$R_c(\lambda) = \left. \frac{-j(z, \lambda)}{I_0} \right|_{z=0} = \gamma^{-1} \nabla \phi(z, \lambda) \Big|_{z=0} \quad (4)$$

en el que Φ es la distribución espacial de la fluidez de la luz, j es el flujo difuso, I_0 es la potencia incidente, y γ es la constante de difusión, que depende de las propiedades ópticas del tejido. La fluidez de luz Φ se obtuvo a partir del modelo de aproximación de difusión general. La ecuación de difusión general es diferente del modelo de aproximación de difusión estándar ya que ésta incluye explícitamente la fuente colimada en la aproximación de la luminosidad y utiliza la aproximación de δ -Eddington para formar la función de fase de dispersión simple, por lo que se esperaba que proporcionara mejores predicciones de la distribución de la luz visible (470-700 nm) en la capa superficial del pulmón, el cual presenta un valor albedo bajo (es decir, $\mu_a \sim \mu_s$).

El siguiente modelo de difusión se proporciona para una fuente plana de onda continua que decae exponencialmente en la dirección z :

$$\nabla^2 \phi(z) - \kappa_d^2 \phi(z) = -\gamma S(z) \quad (5)$$

$$\kappa_d^2 = 3\mu_a\mu_{tr}; \quad \gamma = -3\mu_s^*(\mu_{tr} + g^*\mu_a^*)$$

en el que Φ es la proporción de la fluidez; $S(z)$ es el término de la fuente colimada incidente, μ_{tr} es el coeficiente de atenuación de transporte equivalente a $[\mu_a + \mu_s(1-g)]$, en el que μ_a y μ_s son los coeficientes de absorción y dispersión respectivamente; μ_t^* es el coeficiente de atenuación total y es equivalente a $[\mu_a + \mu_s^*]$; μ_s^* es el coeficiente de dispersión reducido equivalente a $\mu_s(1-f)$, donde f es la fracción de luz que se dispersa hacia adelante en la aproximación de δ -Eddington a la función de la fase de dispersión; y g^* indica el grado de asimetría en la porción difusa de la dispersión. Los valores f y g^* se relacionaron con la anisotropía de dispersión simple reducida a partir del emparejamiento del segundo momento de la función de fase de δ -Eddington con la función de fase de Henyey-Greenstein, y son equivalentes a g^2 y $g/1+g$ respectivamente.

Dado que estamos interesados en la reflectancia difusa más afectada por la capa superficial de la mucosa del tejido (aproximadamente de un grosor de 0,5 mm), en la que ocurren la mayoría de cambios cancerosos precoces, ajustamos la ecuación (5) para la geometría tisular de dos capas (figura 2) con el grosor de la capa superior $l = 0,5$ mm.

La distribución de la fluidez de la luz Φ en forma de función de la profundidad del tejido z (figura 2a) se obtiene mediante la utilización de la simulación de Monte Carlo. Las propiedades ópticas del tejido pulmonar utilizado en esta simulación se obtiene a partir de Qu et al. y se describen con más detalle en Optical Properties of Normal and Carcinomatous Bronchial Tissue, 33 Solicitudo Opt. 7397-405 (1994) , y se añade un cuatro por ciento de contenido en volumen sanguíneo en el modelo del tejido. La fluidez Φ se vuelve insignificante (se reduce en un factor de e^{-1}) en profundidades mayores a 0,8 y 1,6 mm para $\lambda = 470$ nm y $\lambda = 700$ nm, respectivamente. Por consiguiente, la señal de reflectancia medida procede del volumen tisular que empieza en la superficie y que llega hasta una profundidad de 0,8 y 1,6 mm en relación a la longitud de onda de la luz.

Ajustamos la ecuación (5) en la dirección z para el modelo de aproximación (1-D) y la geometría de dos capas, para la capa 1 y la capa 2, mediante la utilización del índice de desajuste de las condiciones limítrofes de la interfaz 221 (interfaz aire-tejido) y el índice de desajuste de las condiciones limítrofes de la interfaz 222 (entre las dos capas del

tejido), tal y como se muestra en la figura 2. Mediante la sustitución de la solución de la ecuación (5) hasta la ecuación (4) obtuvimos una expresión para el espectro de reflectancia difusa $R_c(\lambda)$ en términos del coeficiente de absorción μ_a , el coeficiente de dispersión μ_s , y la anisotropía de dispersión g .

5 El coeficiente de absorción μ_a se modela en términos del contenido sanguíneo y del coeficiente de absorción del tejido pulmonar medido con la sangre drenada. Dos parámetros que se utilizan para describir el contenido de sangre en el tejido son la fracción de volumen sanguíneo ρ y la saturación de oxígeno sanguínea α . Las propiedades de absorción del tejido pulmonar in vivo se pueden describir mediante las siguientes ecuaciones:

$$\mu_a(\lambda) = \mu_{blood}(\lambda)\rho + \mu_{in\ vitro}(1 - \rho), \quad (6)$$

$$10 \quad \mu_{blood}(\lambda) = \alpha\mu_{HbO_2} + (1 - \alpha)\mu_{Hb}$$

en las que μ_{HbO_2} y μ_{Hb} son los coeficientes de absorción de la oxihemoglobina y la desoxihemoglobina, respectivamente. Los coeficientes de absorción in vitro $\mu_{in\ vitro}$, se obtienen a partir de las mediciones in vitro del tejido pulmonar realizadas previamente por Qu et al., y se describen en detalle en Optical Properties of Normal and Carcinomatous Bronchial Tissue, 33 Solicitude Opt. 7397-405 (1994).

15 El coeficiente de dispersión μ_s y la anisotropía de dispersión g se modelan en términos de las fracciones de volumen de dispersión de la microestructura y la distribución del tamaño. El modelo de dispersión tisular se desarrolla mediante la utilización del enfoque fractal, y asume que las variaciones del índice de refracción de la microestructura tisular pueden aproximarse mediante un volumen estadísticamente equivalente de partículas de microdispersión discretas con un índice de refracción constante pero con diferentes tamaños.

20 Con las partículas de microdispersión, que asumimos que tienen una forma esférica, podemos calcular los coeficientes de dispersión de transporte para un tejido voluminoso mediante la adición aleatoria y en conjunto de las ondas de luz dispersadas por cada partícula. Así, el coeficiente de dispersión de transporte μ_s y la anisotropía de dispersión g pueden modelarse mediante la utilización de las siguientes ecuaciones integrales:

$$\mu_s(\lambda) = \int_0^{\infty} [Q(x, n, \lambda)] \frac{\eta(x)}{v(x)} dx \quad (7)$$

$$g(\lambda) = \frac{\int_0^{\infty} [g(x, n, \lambda)Q(x, n, \lambda)] \frac{\eta(x)}{v(x)} dx}{\int_0^{\infty} [Q(x, n, \lambda)] \frac{\eta(x)}{v(x)} dx} \quad (8)$$

30 en las que $Q(x)$ es la sección transversal de la dispersión óptica de una partícula con un diámetro x , un índice de refracción n y longitud de onda λ ; $v(x)$ es el volumen de la partícula de dispersión con un diámetro x , y $g(x)$ es el coseno medio de los ángulos de dispersión de una partícula con un diámetro x . Para las micropartículas esféricas, $Q(x)$ y $g(x)$ se calculan a partir de la teoría Mie mediante la utilización del código de dispersión Mie descrito con más detalle en C.F. Bohren y D.R. Huffman, ABSORPTION AND SCATTERING OF LIGHT BY SMALL PARTICLES, la descripción del cual se incorpora aquí como referencia.

35 Se asume que la distribución de la fracción de volumen $\eta(x)$ sigue una distribución logarítmica asimétrica:

$$\eta(x) = \delta C_0 x^{-\beta} \exp\left(-\frac{(\ln x - \ln x_m)^2}{2\sigma_m^2}\right) \quad (9)$$

40 en la que δ es la fracción de volumen total de todas las partículas de dispersión en el tejido, β es el parámetro de distribución del tamaño (dimensión fractal) que determina la forma de la distribución del tamaño de la fracción de volumen y se relaciona directamente con el tamaño de las partículas de dispersión, x_m y σ_m representan el centro y la amplitud de la distribución respectivamente, y C_0 es un factor normalizador obtenido a partir de la condición

45

$$\delta = \int_0^{\infty} \eta(x) dx$$

5 Se asume que el valor de x_m es igual a la media geométrica de 0 (0,05 μm) y (20 μm), que representa los límites del rango de los diámetros de las partículas de dispersión que se encuentran habitualmente en los tejidos. Por consiguiente, $x_m = [(0,05)(20,0)]^{1/2} = 1,0$. Se asume que el parámetro de amplitud σ_m es una constante de 2,0 para coincidir con el rango de escala fractal de los tejidos. Habiendo establecido los parámetros x_m y σ_m , cuanto mayor sea el valor de β mayor será la contribución de las partículas de pequeño tamaño en la función de distribución del tamaño de las partículas de dispersión.

10 Se asume que el índice de refracción del medio basal circundante (n_{bkg}) es de 1,36. Se estima el índice de refracción de los dispersores dentro del tejido pulmonar en función del tipo de tejido mediante la utilización de la siguiente relación:

$$n = n_{\text{bkg}} + f_f(n_f - n_s) + (1 - f_f)(n_n - n_c),$$

(10)

15 en la que n_f es el índice de refracción de las fibras de colágeno, equivalente a 1,47; n_n es el índice de refracción de los núcleos, equivalente a 1,4; y n_s y n_c son los índices de refracción de los fluidos intersticiales y los fluidos intracelulares, equivalentes a 1,34 y 1,36 respectivamente. Se asume que el valor de la fracción de tejido fibroso f_f es un diez por ciento en la primera capa (capa epitelial y parte de la submucosa superior), y se asume que es un 70 por ciento en la segunda capa, que es la submucosa inferior y la capa de cartílago. Estas asunciones resultan en unos índices de refracción de ($n_1=1,41$) y ($n_2=1,45$) en la primera y segunda capa, respectivamente.

25 Algoritmo de inversión (realización de la inversión). El algoritmo (ajustado) de inversión basado en un esquema de interacción de tipo Newton se desarrolla para extraer información a partir de la absorción del tejido y los parámetros de dispersión, teniendo en cuenta las condiciones de medición (parámetros de corrección geométricos a_0 , b_0), de los espectros de reflectancia medidos. La inversión consiste en simulaciones con diferentes conjuntos de parámetros de absorción y dispersión para determinar la reflectancia difusa computada y determinar la reflectancia difusa del tejido para un conjunto diferente de parámetros de corrección geométricos (a_0 , b_0), y entonces comparar las simulaciones con la reflectancia difusa tisular. Cuando obtenemos la mejor concordancia nos permite determinar los valores correctos de los parámetros de absorción, dispersión y geométricos.

El algoritmo de inversión se describe mediante la función de minimización de los cuadrados mínimos:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^m [R_m(\lambda_i) - (a_0 + b_0 R_c(\lambda_i))]^2 \quad (11)$$

35 en la que $R_m(\lambda_i)$ es la reflectancia medida a una longitud de onda λ_i ; $R_c(\lambda_i)$ es la reflectancia difusa computada a la longitud de onda λ_i , de acuerdo con la ecuación (4), b_0 es un factor de calibración de intensidad para tener en cuenta las mediciones de la intensidad relativa del instrumento, y a_0 es un factor adicional para tener en cuenta la reflectancia especular recogida con la sonda del instrumento durante las mediciones in vivo. Los siguientes parámetros se utilizan como variables de ajuste libre durante el proceso de inversión:

Se asume que la fracción de volumen sanguíneo (ρ) es la misma en ambas capas del tejido,

45 se asume que el parámetro de saturación de oxígeno sanguíneo (α) es el mismo en ambas capas del tejido,

la fracción de volumen de dispersión en la capa superior (δ_1) y la capa inferior (δ_2),

los parámetros de distribución del tamaño (β_1) y (β_2) para las capa superior e inferior, respectivamente, y,

50 los términos sumatorios y multiplicadores (parámetros de corrección geométricos) en la ecuación 3 (a_0) y (b_0).

Mediante la utilización de la búsqueda en base al gradiente (esquema de regularización de tipo Marquardt), podemos obtener las actualizaciones de estos parámetros a partir del sistema de ecuaciones siguiente:

$$(\zeta^T \zeta + \nu I) \Delta \tau = \zeta^T [R_m - (a_0 + b_0 R_c)], \quad (12)$$

55

5 en el que ζ es la matriz jacobiana, $\Delta\tau$ son las actualizaciones del vector para los 8 parámetros (ρ , α , δ_1 , δ_2 , β_1 , β_2 , a_0 , b_0), I es la matriz de identidad, y v es una matriz escalar o diagonal. La matriz jacobiana ζ representa la sensibilidad de los coeficientes de reflectancia medidos en los ocho parámetros y sus elementos se computan a partir de derivadas de la ecuación (4) con respecto a estos ocho parámetros. La inclusión de a_0 y b_0 en el ajuste es esencial para tener en cuenta el componente de reflexión especular y la eficiencia de recopilación de la sonda de retrodispersión, que varía en cada medición y depende, entre otras, de la distancia entre la sonda y el tejido, y el ángulo en cada medición. Por consiguiente, se puede extraer la verdadera reflectancia difusa tisular $R_{tm}(\lambda)$ a partir del espectro de reflectancia medido $R_m(\lambda)$, obtenido mediante el aparato, utilizando los valores a_0 y b_0 , que se obtienen a partir del proceso de ajuste y mediante la sustitución en la ecuación (3). Por supuesto, el resto de los parámetros, ρ , α , δ_1 , δ_2 , β_1 y β_2 también derivan de este algoritmo de inversión.

15 La figura 5 ilustra el procedimiento descrito en la presente invención. El modelo directo y el algoritmo de inversión descritos con anterioridad se utilizan para derivar los verdaderos espectros de reflectancia difusa y extraer las propiedades fisiológicas y morfológicas del tejido relacionadas con el cáncer, que aquí se investigan. Llevamos a cabo una simulación mediante la utilización del algoritmo inverso, con un conjunto de valores conocidos de los parámetros ópticos (ρ , α , δ , β) y comparamos la reflectancia difusa computada con la verdadera reflectancia de difusión tisular, derivada de la reflectancia medida en condiciones de medición conocidas, (parámetros de corrección geométricos a_0 , b_0). Una vez se logró la mejor concordancia, obtuvimos los valores reales de los parámetros ópticos tisulares relacionados con la reflectancia difusa. Si no se obtuvo ninguna concordancia, se llevó a cabo otra simulación con un nuevo conjunto de parámetros. Utilizamos una búsqueda basada en gradiente para encontrar nuevos parámetros de repetición.

Análisis estadístico

25 Los parámetros reales obtenidos mediante la utilización del algoritmo de inversión se utilizan en el análisis estadístico. El análisis estadístico se utiliza para evaluar las diferencias significativas entre los dos grupos (benigno y maligno), para determinar qué variables diferencian a los dos grupos, y finalmente para construir funciones de clasificación para la evaluación de la clasificación predictiva del modelo desarrollado.

30 Todos los parámetros ajustados obtenidos a partir de las 100 mediciones espectrales se recogen y se guardan en grupos para el análisis estadístico. Dado que aun no estamos seguros de que los parámetros derivados siguen unas distribuciones normales, se escoge el ensayo de Kolmogorov-Smirnov para dos muestra con el fin de evaluar la significancia de las diferencias entre los dos grupos (tejido normal/benigno frente a lesiones malignas) para cada uno de los seis parámetros (ρ , α , δ_1 , δ_2 , β_1 , β_2) obtenidos a partir de nuestros resultados ajustados. Entonces, se aplica el análisis de la función de discriminación (DFA) a los parámetros identificados y significativos en cuanto al diagnóstico para construir algoritmos diagnósticos para la clasificación de los tejidos. El DFA determina la línea de la función de discriminación que maximiza la varianza en los datos entre los grupos mientras que minimiza la varianza entre los miembros de un mismo grupo. La realización del algoritmo diagnóstico proporcionado por los modelos del DFA para la predicción correcta del estado del tejido (es decir, normal/benigno frente a maligno) subyacente a cada conjunto de parámetros derivados del espectro de reflectancia se estima de manera no sesgada mediante la utilización del método de validación cruzada dejando uno fuera sobre el conjunto total de datos. En este método, se elimina un caso del conjunto de datos y se vuelve a desarrollar y optimizar el algoritmo basado en el DFA mediante la utilización de los datos de los casos restante. Entonces, se utiliza el algoritmo optimizado para clasificar el espectro retenido. Este proceso se repite hasta que se clasifican todos los casos retenidos (100 espectros/casos). La sensibilidad y la especificidad se calculan a partir de los resultados de la clasificación mediante la utilización de las siguientes expresiones:

Sensibilidad = % (verdaderos positivos – falsos negativos) / verdaderos positivos

50 Especificidad = % (verdades negativos – falsos positivos) / verdaderos negativos

Los resultados del análisis estadístico realizado para evaluar las diferencias en las medias de los seis parámetros medidos entre el grupo benigno y maligno se resumen en la tabla 1.

55 Tabla 1

Parámetro	Benigno		Maligno		Significancia (p)
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	
ρ	0,032	0,02	0,065	0,03	0,001
α	0,9	0,11	0,78	0,13	0,022
δ_1	0,077	0,057	0,048	0,046	0,013

β_1	0,97	0,15	0,91	0,12	0,095
δ_2	0,066	0,048	0,07	0,032	0,25
β_2	0,94	0,12	0,92	0,1	0,65

Tal y como se muestra en la tabla, el valor medio de la fracción de volumen sanguíneo es mayor en las lesiones malignas ($0,065 \pm 0,03$) en comparación con las lesiones benignas ($0,032 \pm 0,02$). El valor medio del parámetro de saturación de oxígeno se reduce de 0,9 (en las lesiones benignas) a 0,78 en las lesiones malignas. Para los parámetros relacionados con la dispersión, la capa mucosa muestra cambios moderados y significativos entre los tejidos normales/benignos y las lesiones malignas en las capas superficiales, con valores medios de δ_1 y β_1 en las lesiones benignas de 0,077 y 0,97 respectivamente, en comparación con 0,048 y 0,91 en las lesiones malignas.

Los parámetros de dispersión (δ_2 y β_2) de la capa inferior muestran diferencias mínimas entre el tejido normal/benigno y las lesiones malignas. Debe observarse que cuanto mayor sea el valor de β , mayor será la contribución de las partículas de tamaño pequeño en la función de distribución del tamaño de las partículas de dispersión. Por consiguiente, un aumento del valor β indica un descenso en el tamaño medio de las partículas de dispersión. El análisis estadístico, mediante la utilización del ensayo de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras, muestra que el grupo maligno presenta un aumento significativo de la fracción de volumen sanguíneo, p ($p=0,001 < 0,05$), un descenso significativo en el parámetro de saturación de oxígeno, α ($p=0,022 < 0,05$), y un descenso significativo de la fracción de volumen de dispersión de la capa mucosa, δ_1 ($p=0,013 < 0,05$) en comparación con el grupo benigno. Los resultados también muestran un descenso moderado significativo en el parámetro de distribución del tamaño de la capa mucosa (β_1) en el grupo maligno en comparación con el grupo benigno ($p=0,095 < 0,1$).

Debe observarse que el aumento significativo en la fracción de volumen sanguíneo de las lesiones malignas medido en nuestro estudio se correlaciona con las observaciones biológicas, en las que los tumores y los tejidos cancerosos presentan un aumento en la microvascularización y, de acuerdo con esto, un contenido sanguíneo aumentado. El descenso significativo de la oxigenación de la sangre en las lesiones malignas concuerda con los cambios relacionados con la hipoxia que ocurren durante el desarrollo canceroso y que pueden relacionarse con el aumento en la tasa metabólica del tejido, la peor calidad de la microcirculación tumoral y la mayor tasa de proliferación de las células cancerosas. El descenso significativo de la fracción de volumen de dispersión que se observa en las lesiones malignas evaluadas concuerda con los resultados obtenidos por Bard et al. para las lesiones de cáncer de pulmón y los resultados obtenidos por Feld et al. para los pólipos colónicos. La explicación a tal descenso en la fracción de volumen de dispersión aún no se comprende del todo debido a la naturaleza compleja del proceso de dispersión del tejido. No obstante, este descenso puede estar relacionado con el descenso del contenido mitocondrial, el cual se ha visto que contribuye más significativamente a la dispersión de la luz hacia las direcciones reversas (reflectancia) o a los cambios en el índice de refracción del citoplasma debidos a un incremento del contenido en proteínas y enzimas. La disminución del parámetro de distribución del tamaño (β_1) hace referencia a un aumento promedio de los tamaños de las partículas de dispersión en comparación con los tejidos normales/benignos. Esto concuerda con el hecho de que las células cancerosas presentan unos núcleos más grandes que las células normales y benignas.

Los resultados obtenidos mediante el análisis de 100 espectros de reflectancia medidos in vivo mediante la utilización del modelo y la curva de ajuste descritos con anterioridad se muestran en las figuras 6-10. Un ejemplo del espectro de reflectancia medido in vivo en dos lesiones malignas (dos lesiones de célula no pequeña) y dos sitios benignos (una lesión normal y una lesión difusa de hiperplasia) del mismo paciente se muestra en la figura 6a. Como podemos ver, los espectros de reflectancia medidos presentan unas diferencias de intensidad muy grandes que están relacionadas con las variaciones en la señal de reflectancia especular y la distancia entre la punta del endoscopio y la superficie del tejido en diferentes mediciones. La precisión con la que el modelo se ajusta a la reflectancia medida demuestra la validez del método desarrollado. Entonces, el verdadero espectro de reflectancia difusa en el tejido $R_{tm}(\lambda)$ se deriva mediante la corrección del espectro de reflectancia medido in vivo $R_m(\lambda)$ utilizando los resultados ajustados. Los espectros de reflectancia difusa verdadera corregida, $R_{tm}(\lambda)$, se muestran en la figura 6(b). Los componentes de la reflexión especular se sustraen con éxito y las intensidades de reflexión se encuentran entre 0 y 1 (o 100 por ciento), mientras que el espectro original no corregido, $R_m(\lambda)$, en la figura 6(a) presenta intensidades de reflectancia bastante arbitrarias, comprendidas entre el 0 y el 350 por ciento. Los resultados ajustados obtenidos a partir de los análisis de los dos espectros benignos y los dos malignos se resumen en la figura 7.

El promedio de los espectros corregidos de reflectancia (R_{tm}) tanto en el grupo normal/benigno como en el grupo maligno se muestra en la figura 8. Ésta muestra que el espectro promedio de reflectancia del grupo normal/benigno tiene intensidades mayores en el rango de longitud de onda medido (470 - 700 nm) que el grupo maligno. Estas diferencias de intensidad son significativamente mayores con longitudes de onda superiores a los 600 nm. Además los dos valles de absorción de la hemoglobina en los 550 nm y los 580 nm son mayores y más obvios en la curva espectral del grupo normal/benigno que en la curva espectral del grupo maligno. En la tabla 1 también se muestran los parámetros de ajuste promedio (ρ , α , δ_1 , β_1 , δ_2 , β_2) y sus desviaciones estándar.

La figura 9 muestra los valores de los parámetros de la capa mucosa bronquial (capa superior) (ρ , α , δ_1 , β_1) obtenidos a partir del análisis de los 100 espectros de reflectancia benignos y malignos medidos.

5 Los resultados obtenidos a partir del DFA mostraron que los tres parámetros (ρ , α , δ_1) son significativos para la discriminación entre los dos grupos. La figura 10a muestra los resultados de la clasificación basados en la medición de la fracción del volumen sanguíneo (ρ) y la fracción de volumen de dispersión (δ_1) y (la figura 10b) muestra los resultados de la clasificación basados en la medición de la fracción del volumen sanguíneo y los parámetros de saturación del oxígeno en el tejido. Como se muestra en las figuras, podemos identificar fácilmente dos espacios de dominio, con una ligera superposición, para los grupos benigno y maligno. Los resultados del DFA con el método de validación cruzada dejando uno fuera muestran que podemos diferenciar las lesiones medidas entre normales/benignas y malignas con una sensibilidad y una especificidad de un 83 por ciento y 81 por ciento, respectivamente. Por lo tanto, el método de la presente invención, que incluye la iluminación del tejido 6 con una radiación interrogativa de banda ancha, la recogida de la radiación de retorno del tejido 6 con una sonda de no contacto 3, la medición del espectro de reflectancia difusa de la radiación devuelta y el análisis del espectro de reflectancia difusa utilizando los pasos descritos anteriormente, resulta en la clasificación del tejido en benigno o maligno con una sensibilidad y una especificidad mejoradas.

20 Nótese que el método descrito con anterioridad también puede utilizarse junto a una o más de las modalidades de obtención de imágenes descritas previamente.

Aunque se muestran y se describen realizaciones preferibles de la presente invención, se prevé que los expertos en la materia puedan introducir varias modificaciones de la presente invención sin alejarse del ámbito de las reivindicaciones.

25

REIVINDICACIONES

1. Un método para obtener información sobre la fisiología y morfología tisular a partir de un espectro de reflectancia difusa medido, caracterizado por:
- 5 transmitir tales espectros de reflectancia medidos a la unidad de procesamiento (8);
 en el que la unidad de procesamiento (8) lleva a cabo los pasos de sembrar los valores de los parámetros de corrección geométricos (a_0, b_0),
 sembrar los valores de los parámetros ópticos ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$),
 10 calcular un espectro de reflectancia difusa calculado (R_c) con tales valores sembrados de dichos parámetros ópticos mediante la utilización de un modelo de transporte de luz unidimensional;
 determinar un espectro de reflectancia difusa verdadero (R_{tm}) a partir de un espectro de reflectancia medido para los valores sembrados de los parámetros de corrección geométricos;
 15 analizar la reflectancia difusa computada (R_c) y la verdadera reflectancia difusa (R_{tm}) mediante la utilización de una técnica de modelado inverso ajustando iterativamente los valores de los parámetros de corrección geométricos y los valores de los parámetros ópticos, y comparando la reflectancia difusa computada (R_c) correspondiente y la verdadera reflectancia difusa (R_{tm}) hasta obtener una concordancia entre el espectro de reflectancia difusa computado (R_c) y el espectro de reflectancia difusa verdadero (R_{tm}) para obtener, al menos,
 20 una propiedad óptica del tejido a partir de los espectros de reflectancia difusa (R_{tm}); y
 derivar la información sobre la fisiología y la morfología del tejido a partir de, como mínimo, una propiedad óptica.
2. El método de la reivindicación 1, en el que tal propiedad óptica incluye, al menos, un coeficiente de absorción óptica, un coeficiente de dispersión y/o una anisotropía de dispersión.
- 25 3. El método de la reivindicación 2, en el que dicho coeficiente de absorción se expresa en términos de contenido de sangre y parámetros ópticos in vitro del tejido.
4. El método de la reivindicación 3, en el que dicho coeficiente de absorción es, al menos, una saturación de oxígeno o una fracción de volumen sanguíneo.
- 30 5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que dicho coeficiente de dispersión es, al menos, una fracción de volumen de dispersión de la capa mucosa o un parámetro de distribución de tamaño de la capa mucosa.
- 35 6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que también incluye la clasificación del tejido en benigno o maligno en relación a tal propiedad óptica.
7. El método de la reivindicación 6, en el que dicho paso de clasificación también incluye la comparación de, como mínimo, dicha propiedad óptica y un conjunto de datos de patología conocidos.
- 40 8. El método de la reivindicación 7, en el que dicho paso de comparación incluye la utilización del análisis estadístico.
9. Un aparato para obtener información sobre la fisiología y la morfología tisular a partir de los espectros de reflectancia difusa, que incluye:
- 45 - medios para iluminar (1) un tejido con una radiación de haz amplio para producir radiación de retorno;
 - una sonda de no contacto (3) para medir dicha radiación de retorno;
 - medios para la medición de tales espectros de reflectancia (5) de dicha radiación de retorno;
 50 y se caracteriza por
 - medios (8) para sembrar valores de parámetros de corrección geométricos (a_0, b_0),
 - medios para sembrar valores de parámetros ópticos ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$),
 - medios para calcular un espectro de reflectancia difusa computado (R_c) para los valores de tales parámetros ópticos;
 55 - medios (8) para determinar un espectro de reflectancia difusa verdadera (R_{tm}) a partir de tales espectros de reflectancia medidos con valores de tales parámetros de corrección geométricos;
 - medios para analizar (8) la reflectancia difusa computada (R_c) y la reflectancia difusa verdadera (R_{tm}) mediante la utilización de una técnica de modelado inverso ajustando repetidamente los valores de los parámetros de corrección geométricos y los valores de los parámetros ópticos y comparando la reflectancia difusa computada correspondiente (R_c) y la reflectancia difusa verdadera (R_{tm}) hasta obtener una concordancia entre los espectros de reflectancia difusa computada (R_c) y los espectros de reflectancia difusa verdadera (R_{tm}) para obtener, al menos, una propiedad óptica del tejido a partir de los espectros de reflectancia difusa verdadera (R_{tm}); y
 60 - medios (8) para derivar la información sobre la fisiología y la morfología del tejido a partir de, como mínimo, una propiedad óptica.
- 65

10. El aparato de la reivindicación 9, en el que, como mínimo, dicha propiedad óptica incluye al menos un coeficiente de absorción óptica, un coeficiente de dispersión o una anisotropía de dispersión.
- 5 11. El aparato de la reivindicación 10, en el que dicho coeficiente de absorción se expresa en términos de contenido sanguíneo y propiedades ópticas in vitro del tejido.
12. El aparato de la reivindicación 11, en el que dicho coeficiente de absorción es, al menos, una saturación de oxígeno y/o una fracción de volumen sanguíneo.
- 10 13. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en el que dicho coeficiente de dispersión es, al menos, una fracción de volumen de dispersión de la capa mucosa y/o un parámetro de distribución del tamaño de la capa mucosa.
- 15 14. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-13, en el que dichos parámetros de corrección geométricos tienen en cuenta la reflectancia especular recogida mediante una sonda de no contacto y una eficiencia de recogida variable de dicha sonda de no contacto.
- 20 15. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-14, que también incluye medios para clasificar el tejido en benigno y maligno en base a la propiedad óptica de dicho tejido.
- 25 16. El aparato de la reivindicación 15, en el que dichos medios de clasificación también incluyen medios de comparación para comparar, como mínimo, una propiedad óptica con un conjunto de datos de patología conocida.
- 30 17. El aparato de la reivindicación 16, en el que dichos medios de comparación se adaptan a la utilización del análisis estadístico.
- 35 18. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-17, que también incluye medios (4, 5) para, al menos, otra modalidad de obtener información sobre la fisiología y la morfología tisular.
- 40 19. El aparato de la reivindicación 18, en el que, al menos, tal otra modalidad se escoge a partir del grupo que incluye la obtención de imágenes mediante fluorescencia, espectroscopia de fluorescencia, tomografía de coherencia óptica, la espectroscopia Raman, la microscopia confocal, o la obtención de imágenes mediante la reflectancia con luz blanca.
- 45 20. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-19, que también incluye medios para la obtención de imágenes del tejido utilizando la obtención de imágenes mediante fluorescencia, que incluye, al menos, una primera señal de excitación para una primera imagen de fluorescencia y una segunda señal de excitación para una segunda imagen de normalización de fluorescencia.
- 50 21. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-20, en el que dichos medios (4, 5) de medición se adaptan para medir dicho espectro de reflectancia esencialmente a partir de un punto en un plano de imagen de dicha radiación de retorno.
- 55 22. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-21, en el que dichos medios de iluminación (1) incluyen, al menos, una de las siguientes: una lámpara de arco de xenón, una lámpara de mercurio, una lámpara halógena de tungsteno, una lámpara de haluro metálico, un láser y un diodo emisor de luz.
- 60 23. El aparato de la reivindicación 22, en el que dichos medios de iluminación (1) también incluyen filtros de longitud de onda.
- 65 24. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 22 y 23, en el que dichos medios de iluminación (1) se encuentran en el extremo distal de dicha sonda.
25. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-21, en el que dicha sonda (3) también incluye una punta extraíble y en el que dichos medios de iluminación (1) se encuentran en la punta extraíble.
26. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-25, que también incluye, al menos, una guía de luz que acopla los medios de iluminación (1) a dicha sonda (3).
27. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-26, en el que dicha sonda (3) es un endoscopio.
28. El aparato de cualquiera de las reivindicaciones 9-27, en el que dichos medios para la medición (4, 5) de los espectros de reflectancia incluyen, al menos, un espectrómetro.

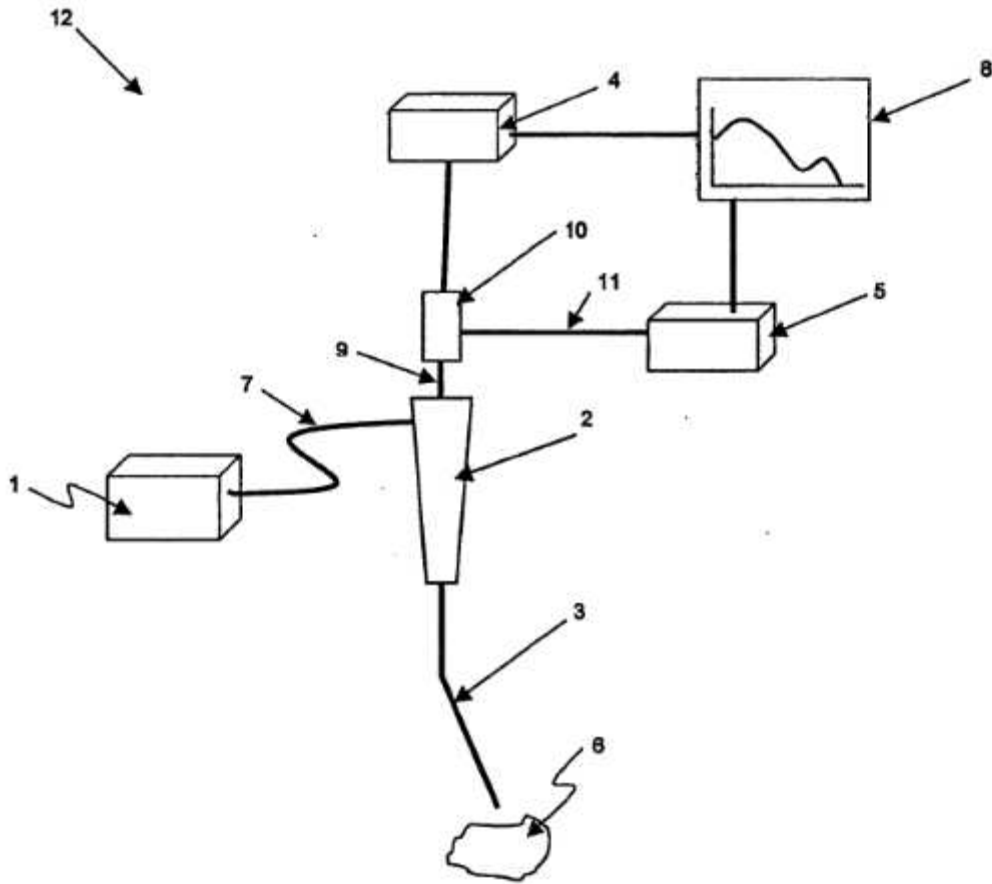


Figura 1

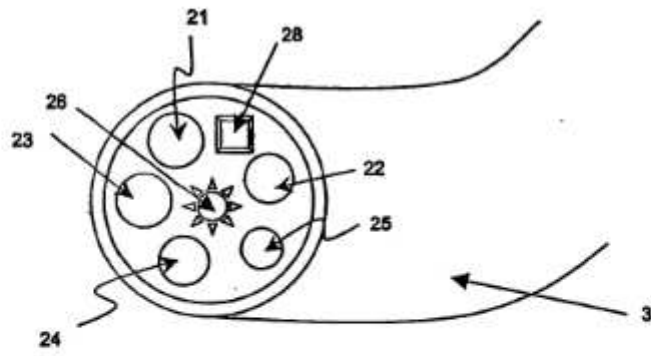


Figura 1a

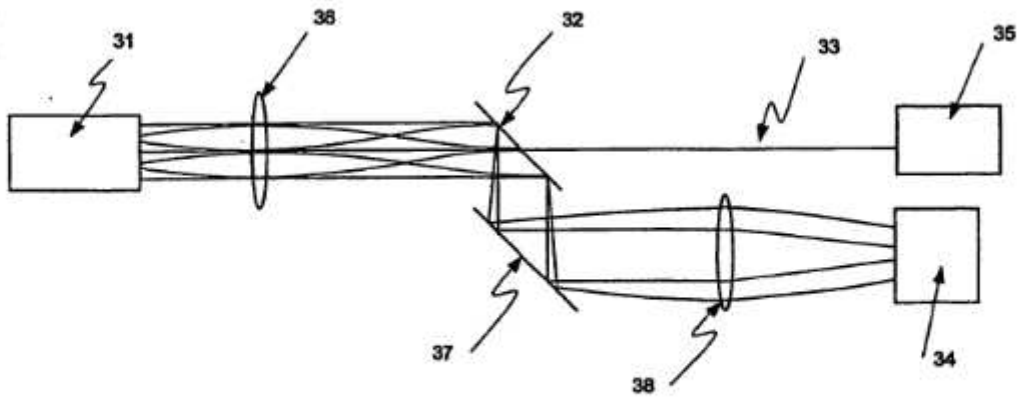


Figura 1b

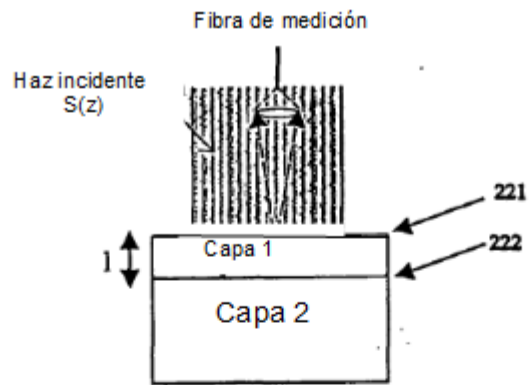


Figura 2

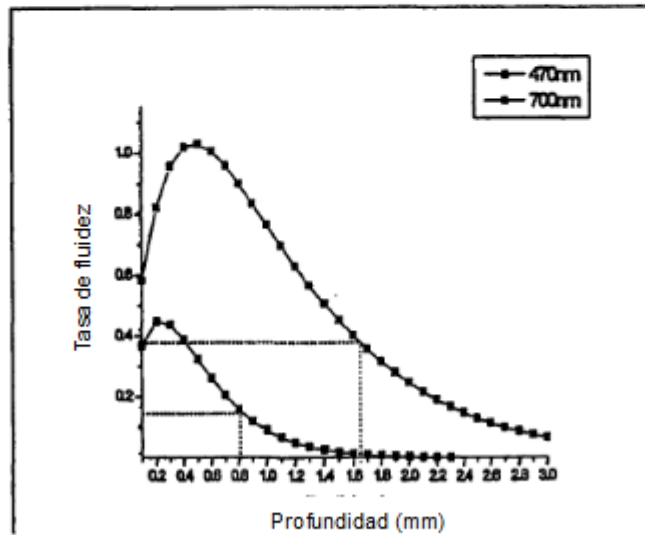


Figura 2a: Distribución de la fluidez de la luz en forma de función de la profundidad del tejido obtenida mediante la utilización de la simulación de Monte Carlo en un medio turbio con unas propiedades ópticas típicas del tejido pulmonar con un 4% de sangre añadida (a $\lambda = 470 \text{ nm}$ y a $\lambda = 700 \text{ nm}$)

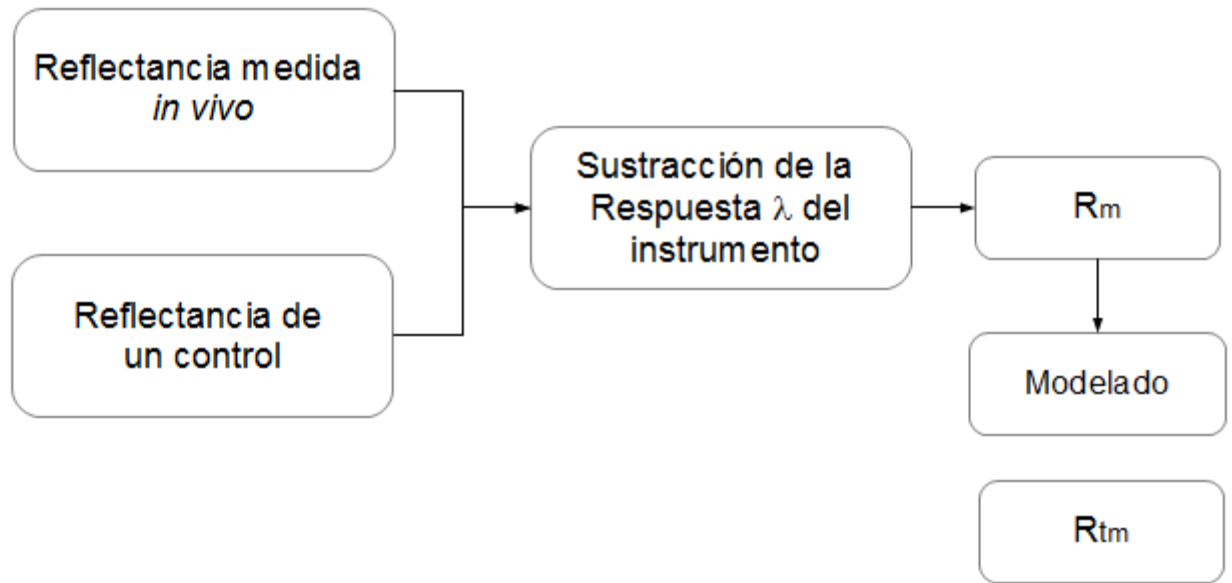


Figura 3

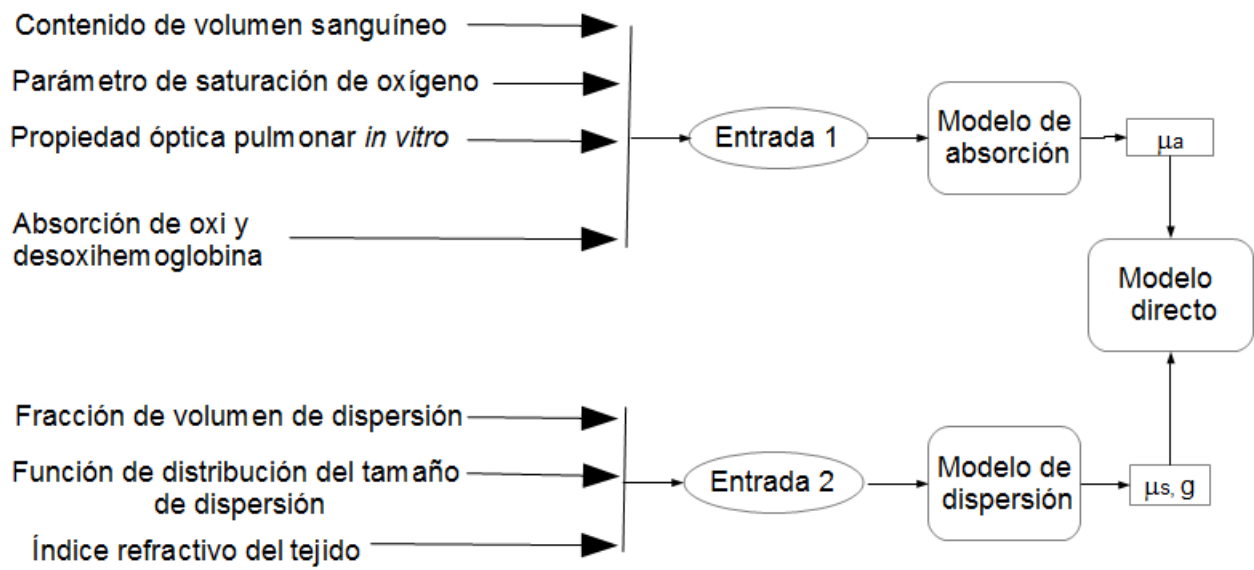


Figura 4

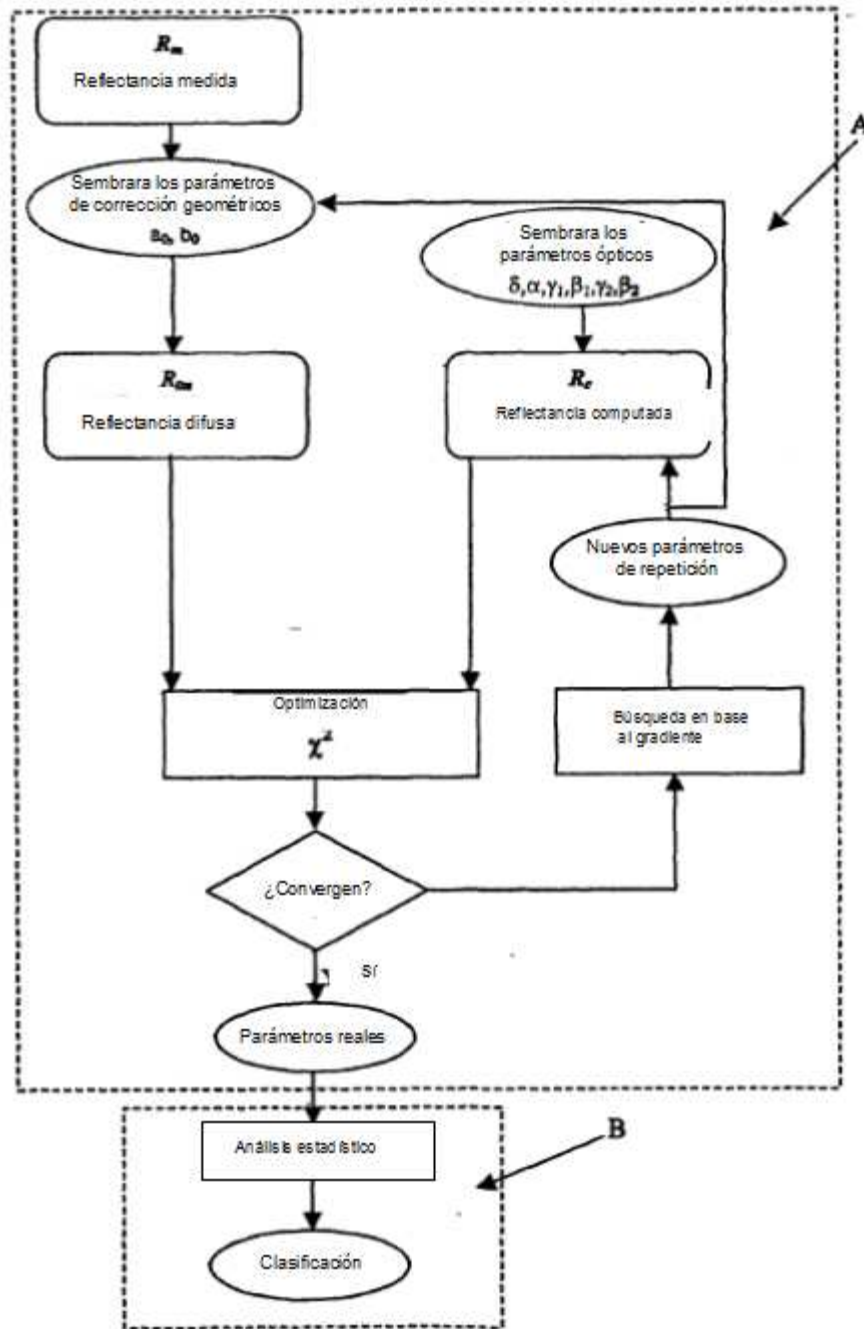


Figura 5

