

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 464 718**

51 Int. Cl.:

**A61B 1/303** (2006.01)

**A61B 5/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2001 E 09001994 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.05.2014 EP 2057936**

54 Título: **Método y sistema para caracterización y cartografía de lesiones tisulares**

30 Prioridad:

**28.03.2000 GR 2000100102**  
**15.12.2000 US 739089**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.06.2014**

73 Titular/es:

**FORTH PHOTONICS LIMITED (100.0%)**  
**1 London Wall**  
**London EC2Y 5AB, GB**

72 Inventor/es:

**BALAS, KONSTANTINOS y**  
**PELECOUDAS, DEMETRIOS**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 464 718 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 sistema para caracterización y cartografía de lesiones tisulares

5 **Campo de la Invención**

La presente invención se dirige a un aparato para la detección y cartografía *in vivo* no invasiva de alteraciones patológicas bioquímicas y/o funcionales de tejidos humanos.

10 **Antecedentes de la Invención**

Los signos precursores del cáncer son los denominados estados precancerosos, que con frecuencia son curables si se detectan en una fase temprana. Si no se trata, el estado precanceroso se puede convertir en cáncer invasivo, que posteriormente puede metastatizar. En esta fase, las posibilidades de terapia exitosa se reducen enormemente. Por consiguiente, la detección temprana y la identificación objetiva de la gravedad del estado precanceroso son de crucial importancia.

Los métodos convencionales que utilizan instrumentos ópticos son muy limitados en su capacidad de detectar lesiones tisulares cancerosas y precancerosas. Esto se debe al hecho de que los cambios estructurales y metabólicos, que tienen lugar durante el desarrollo de la enfermedad, no alteran significativamente ni específicamente las características espectrales del tejido enfermo.

Para obtener un diagnóstico más preciso, se obtienen muestras de biopsia de áreas sospechosas, que se remiten para examen histológico. Sin embargo, las biopsias presentan varios problemas, tales como a) un riesgo de errores de muestreo asociado con las limitaciones visuales en la detección y localización de áreas sospechosas; b) una biopsia puede alterar la historia natural de la lesión intra-epitelial; c) la cartografía y la supervisión de la lesión requieren múltiples muestreos de tejido, lo cual está sometido a varios riesgos y limitaciones y d) el procedimiento de diagnóstico realizado con muestreo de biopsia y evaluación histológica es cualitativo, subjetivo, requiere mucho tiempo, costoso y requiere mucho trabajo.

En los últimos años, se han desarrollado algunos métodos y sistemas para superar las desventajas de los procedimientos de diagnóstico convencionales. Estos métodos se pueden clasificar en dos categorías: a) métodos que se basan en el análisis espectral de tejidos *in vivo*, en un intento de mejorar la información de diagnóstico y b) métodos que se basan en la excitación química de tejidos con la ayuda de agentes especiales, que pueden interactuar con el tejido enfermo y alterar sus características ópticas selectivamente, potenciando de ese modo el contraste entre el tejido de lesión y sano.

En el primer caso, el uso experimental de técnicas espectroscópicas ha estado motivado por la capacidad de estas técnicas de detectar alteraciones en las características bioquímicas y/o estructurales de tejidos a medida que la enfermedad evoluciona. En particular, la espectroscopía de fluorescencia se ha usado ampliamente en diversos tejidos. Con la ayuda de una fuente de luz (habitualmente láser) de longitud de onda corta (intervalo azul-ultravioleta), en primer lugar el tejido se excita. A continuación, se mide la intensidad de la luz fluorescente emitida por el tejido como una función de la longitud de onda de la luz.

Garfield y Glassman en la Patente N° US 5.450.857 y Ramanajum et al. en la Patente N° US 5.421.339 han presentado un método basado en el uso de espectroscopía de fluorescencia para el diagnóstico de lesiones cancerosas y precancerosas del cervix. La desventaja principal de la espectroscopía de fluorescencia es que las modificaciones bioquímicas existentes asociadas con la evolución de la enfermedad no se manifiestan de una manera directa como modificaciones en los espectros de fluorescencia medidos. Los espectros de fluorescencia contienen información de diagnóstico limitada por dos razones básicas: a) los tejidos contienen cromóforos no fluorescentes, tales como hemoglobina. La absorción por tales cromóforos de la luz emitida a partir de fluoróforos puede dar como resultado depresiones y picos artificiales en los espectros de fluorescencia. En otras palabras, los espectros tienen información enrevesada de varios componentes y, por lo tanto, es difícil evaluar alteraciones en características de tejidos de importancia diagnóstica y b) los espectros son amplios porque un gran número de componentes de tejidos se excitan ópticamente y contribuyen a la señal óptica medida. Como resultado, los espectros no tienen información específica de las alteraciones patológicas y, por tanto, son de valor diagnóstico limitado. En resumen, la técnica fluorescente mencionada anteriormente sufre de sensibilidad y especificidad bajas en la detección y clasificación de lesiones tisulares.

Con el objetivo de mejorar la sensibilidad y especificidad del método precedente, Ramanujan et al. en la Patente N° WO 98/24369 han presentado un método basado en el uso de redes neurales para el análisis de los datos espectrales. Este método se basa en la capacitación de un sistema informático con un gran número de patrones espectrales, que se han tomado de tejidos normales y de tejidos enfermos. El espectro que se mide cada vez se compara con los datos espectrales almacenados, facilitando de esta manera la identificación de la patología tisular.

65

R.R. Kortun et al., en la Patente N° US 5.697.373, tratando de mejorar la calidad de la información de diagnóstico medida, han presentado un método basado en la combinación de espectroscopía de fluorescencia y dispersión Raman. Este último tiene la capacidad de proporcionar más información analítica; sin embargo, la espectroscopía Raman requiere instrumentos complejos y condiciones experimentales ideales, que sustancialmente obstaculizan el uso clínico del mismo.

Generalmente se conoce que los tejidos se caracterizan por la carencia de homogeneidad espacial. Por consiguiente, el análisis espectral de puntos espaciales distribuidos no es suficiente para la caracterización de su estado.

Dombrowski en la Patente N° US 5.424.543, describe un sistema de formación de imágenes de longitud de onda múltiple, capaz de capturar imágenes de tejidos en varias bandas espectrales. Con la ayuda de un sistema de este tipo es posible cartografiar en general características de importancia diagnóstica basándose en sus características espectrales particulares. Sin embargo, debido a la insignificancia de las diferencias espectrales entre tejido normal y enfermo, que en general es el caso, la inspección en bandas espectrales estrechas no permite que estas características se destaquen y aún más, la identificación y determinación de la fase del área patológica.

D.R. Sandison et al., en la Patente N° US 5.920.399, describe un sistema de formación de imágenes, desarrollado para la investigación *in vivo* de células, que combina formación de imágenes de multibanda y excitación de luz del tejido. El sistema también emplea un haz de fibra óptica dual para transmitir luz desde la fuente al tejido y después desde el tejido hasta un detector óptico. Estos haces se ponen en contacto con el tejido y se combinan diversas longitudes de onda de excitación y formación de imágenes en un intento de potenciar la diferenciación espectral entre tejido normal y enfermo.

En la Patente N° US 5.921.926, J. R. Delfyett et al. han presentado un método para el diagnóstico de enfermedades del cervix, que se basa en la combinación de Interferometría Espectral y Tomografía de Coherencia Óptica (OCT). Este sistema combina formación de imágenes tridimensionales y análisis espectral del tejido.

Además, se han presentado varias versiones mejoradas de colposcopios, (D. R. Craine et al. Patente N° US. 5.791.346 y K. L. Blaiz Patente N° US 5.989.184) en la mayoría de las cuales, se han integrado sistemas de formación de imágenes electrónicos para captación de imágenes y análisis de imágenes de tejidos, que incluyen la evaluación cuantitativa del tamaño de la lesión. Para la potenciación de la diferenciación óptica entre tejido normal y enfermo, se usan agentes especiales en diversos campos de diagnósticos biomédicos, que se administran por vía tópica o sistémica. Tales agentes incluyen solución de ácido acético, azul de toluidina y diversos fotosensibilizantes (porfirinas) (S. Anderson Engels, C. Klinteberg, K. Svanberg, S. Svanberg, *In vivo* fluorescense imaging for tissue diagnostics, *Phys Med. Biol.* 42 (1997) 815-24). La tinción selectiva de los tejidos enfermos surge de la propiedad de estos agentes de interaccionar con las características metabólicas y estructurales alteradas del área patológica. Esta interacción potencia progresivamente y reversiblemente las diferencias en las características espectrales de reflexión y/o fluorescencia entre tejido normal y enfermo. A pesar del hecho de que la tinción selectiva del tejido enfermo es un fenómeno dinámico, en la práctica clínica la intensidad y el alcance de la tinción se evalúan cualitativamente y estáticamente. Además, en varios casos de afecciones patológicas tempranas, el fenómeno de tinción temporal después de administrar el agente, es de corta duración y, por tanto, el examinador no es capaz de detectar las alteraciones ni incluso, de evaluar su intensidad y alcance. En otros casos, la tinción del tejido progresa muy lentamente, dando como resultado la incomodidad del paciente y la creación de problemas para que el examinador evalúe la intensidad y alcance de las alteraciones, ya que están cambiando continuamente. Lo anterior tiene como consecuencia directa la disminución del valor diagnóstico de estos procedimientos de diagnóstico. Por tanto, su utilidad está limitada a facilitar el emplazamiento de áreas sospechosas para obtener muestras de biopsia.

Resumiendo lo anterior, se extraen las siguientes conclusiones:

- a) Se han propuesto y usado experimentalmente diversas técnicas espectroscópicas de dispersión de luz convencionales (fluorescencia, dispersión elástica, no elástica, etc.) para la detección *in vivo* de alteraciones en las características estructurales de tejido enfermo. La desventaja principal de estas técnicas es que proporcionan información puntual, que es inadecuada para el análisis del tejido espacialmente no homogéneo. La formación de imágenes multibanda tiene el potencial de resolver este problema proporcionando información espectral, por norma con una resolución menor, en cualquier punto espacial del área que se está examinando. Sin embargo, estas técnicas de formación de imágenes y de no formación de imágenes, proporcionan información de valor diagnóstico limitado porque las alteraciones estructurales de tejidos, asociadas con el desarrollo de la enfermedad, no se manifiestan como alteraciones significativas y características en los espectros medidos. Por consiguiente, la información espectral capturada no se puede correlacionar directamente con la patología tisular, un hecho que limita la utilidad clínica de estas técnicas.
- b) Las técnicas de formación de imágenes convencionales (no espectrales) proporcionan la capacidad de cartografiar características de importancia diagnóstica en dos o tres dimensiones. Las mismas se usan básicamente para medir características morfológicas y como herramientas de documentación clínica.
- c) Los métodos de diagnóstico que se basan en la tinción selectiva de tejido enfermo con agentes especiales permiten la potenciación del contraste óptico entre tejido normal y enfermo. Sin embargo, los mismos

proporcionan información limitada para la identificación y determinación de fase *in vivo* de la enfermedad.

La interacción selectiva de tejido enfermo con los agentes, que potencian el contraste óptico con tejido sano, es un fenómeno dinámico. Por lo tanto, es razonable sugerir que la medición y análisis de propiedades cinéticas podría proporcionar información importante para la detección, identificación y determinación de fase *in vivo* de lesiones tisulares. En una publicación previa, en la que uno de los inventores es un coautor, (C. Balas, A. Dimoka, E. Orfanoudaki, E. Koumandakis, "In vivo assessments of acetic acid-cervical tissue interaction using quantitative imaging of back-scattered light: Its potencial use for the *in vivo* cervical cancer detection grading and mapping", SPIE-Optical Biopsies and Microscopic Techniques, Vol. 3568 págs. 31-37, (1998)), se presentan mediciones de las alteraciones en las características de la luz difusa retrógrada como una función de longitud de onda y tiempo. Estas alteraciones ocurren en el cervix por la administración tópica de solución de ácido acético. En este caso particular, se usó un sistema de formación de imágenes multi-espectral de uso general construido alrededor de un monocromador de cristal líquido sintonizable para medir las variaciones en intensidad de la luz difusa retrógrada como una función de tiempo y longitud de onda en puntos espaciales seleccionados. Se observó que las formas de línea de curvas de intensidad de luz difusa retrógrada frente a tiempo proporcionan información adelantada para la identificación y determinación de fase directa de neoplasias de tejidos. Los resultados no publicados del mismo equipo de investigación indican que también se pueden obtener resultados similares con otros agentes, que tienen la propiedad de potenciar el contraste óptico entre tejido normal y enfermo. Sin embargo, el método experimental empleado en el artículo publicado se caracteriza por bastantes desventajas, tales como: El monocromador de formación de imágenes requiere tiempo para cambiar la longitud de onda de formación de imágenes y como consecuencia es inapropiado para formación de imágenes multi-espectrales y análisis de fenómenos dinámicos. No constituye un método para la cartografía del grado de las lesiones tisulares, ya que las curvas presentadas ilustran las alteraciones temporales de intensidad de la luz difusa retrógrada en puntos seleccionados. La carencia de conformación de datos y análisis paramétrico de datos de cinética en cualquier punto espacial del área de interés limita la utilidad del método en estudios experimentales y obstaculiza su aplicación clínica. Los componentes ópticos usados para la formación de imágenes del área de interés son de uso general y no cumplen con los requerimientos técnicos especiales para la aplicación clínica del método. La aplicación clínica del sistema presentado también está obstaculizada por el hecho de que no integra medios apropiados para asegurar la estabilidad de la posición relativa entre la superficie del tejido y el módulo de captación de imagen durante el procedimiento de formación de imágenes de foto. Esto es muy importante ya que movimientos pequeños del paciente (es decir, respiración) siempre están presentes durante el procedimiento de examen. Si, después de la aplicación del agente, suceden micro-movimientos mientras se está registrando una imagen, entonces las características espaciales de las imágenes captadas pueden no ser precisas. Esto puede reducir sustancialmente la precisión del cálculo de las curvas en cualquier punto espacial que expresa la cinética de la interacción marcador-tejido.

### Sumario de la Invención

La presente invención se define en las reivindicaciones.

En ciertas realizaciones, los microscopios usados en exámenes de diagnóstico clínico, microscopios quirúrgicos y colposcopios pueden incluir un lente de objetivo reflector que reemplaza un lente refractivo. El lente de objetivo reflector se contrae para colocar un segundo espejo de reflexión en la parte central de su abertura frontal óptica. En la parte posterior no reflectora de este espejo, se sujetan medios de iluminación a partir de los cuales se emite luz hacia el objeto. Con o sin componentes ópticos de ampliación o reducción y enfoque de iluminación, el rayo central del cono de luz emitido es coaxial con el rayo central del haz de luz que entra en el lente de formación de imágenes. Con la ayuda de componentes ópticos de ampliación o reducción y enfoque de iluminación, que se pueden ajustar simultáneamente y automáticamente con el mecanismo para variar el aumento del sistema óptico de formación de imágenes, el área iluminada y el campo de visión del sistema de formación de imágenes puede variar simultáneamente y proporcionalmente. Cualquier disminución en el brillo de la imagen causado por incrementar el aumento se compensa con la ampliación o reducción y enfoque simultáneos del haz de iluminación.

Otras características y ventajas de la invención serán aparentes a partir de la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

### Breve Descripción de los Dibujos

La Figura 1 ilustra un aparato óptico de formación de imágenes que comprende una fuente de luz localizada en la parte central de su abertura frontal.

### Descripción Detallada de la Invención

La presente invención se dirige a un aparato óptico de formación de imágenes que comprende a) un lente de objetivo reflector (RO) que incorpora un primer espejo de reflexión (1RM) y un segundo espejo de reflexión (2RM) se coloca en la parte central de la abertura óptica frontal del lente de objetivo reflector (RO); y b) medios de iluminación (LS) dispuestos en la parte trasera del segundo espejo de reflexión (2RM) de manera tal que el rayo central del cono de luz emitido desde los medios de iluminación (LS) es coaxial con el rayo central del haz de luz que entra en el

lente de objetivo reflector (RO) seguidamente a la reflexión de la luz emitida por la superficie de un tejido (T) bajo examen.

Las fuentes de luz para iluminar el tejido incluyen diodos emisores de luz, y láseres.

Para el uso clínico de la invención, las diferentes implementaciones de formación de imágenes se pueden integrar a dispositivos de diagnóstico de formación de imágenes ópticas convencionales. Tales dispositivos son los varios microscopios, colposcopios y endoscopios médicos, que se emplean rutinariamente para la inspección diagnóstica *in vivo* de tejidos. La formación de imágenes de tejidos internos del cuerpo humano requiere en la mayoría de los casos que la iluminación y los rayos formadores de imágenes viajen por el mismo camino óptico, a través de las cavidades del cuerpo. Como resultado, en los dispositivos de diagnóstico óptico convencionales la reflexión de la superficie de los tejidos contribuye sustancialmente a la imagen formada. Esto limita la formación de las imágenes para las características bajo la superficie, que es en general de gran importancia diagnóstica. Este problema llega a ser especialmente grave en tejidos epiteliales tales como el de cérvix, laringe y cavidad oral, que están cubiertos de fluidos como moco y saliva. La reflexión superficial también obstruye la detección y la medida de las alteraciones en las propiedades ópticas del tejido, inducidas tras la administración de agentes, que mejoran el contraste óptico entre tejido normal y enfermo. Más específicamente, cuando el agente altera selectivamente las características de dispersión del tejido enfermo, la fuerte reflexión de la superficie que tiene lugar tanto en zonas de tejido patológico (que responde al agente) y normal (que no responde al agente), ocluye la señal diagnóstica que se origina a partir de la interacción del agente con las características debajo de la superficie del tejido. En otras palabras, la reflexión de la superficie constituye un ruido óptico en la señal diagnóstica, degradando sustancialmente el contraste percibido entre zonas de tejido que responden al agente y que no responden al agente.

Para diagnósticos precisos empleando los dispositivos anteriormente mencionados, se pueden usar ópticas adecuadas para eliminar el ruido que surge de la reflexión de la superficie.

El examen de diagnóstico de tejidos que no son directamente accesibles localizados en cavidades del cuerpo humano (oído, cérvix, cavidad oral esófago, colón, estómago) se realiza con la ayuda de microscopios clínicos comunes. En estos dispositivos, los rayos de formación de imágenes e iluminación son casi coaxiales. Más específicamente, la línea perpendicular al punto de salida de luz hacia el aire y la línea perpendicular al lente de objetivo, forman un ángulo de pocos grados. Como resultado, estos microscopios funcionan a una distancia específica del sujeto (distancia de trabajo), donde el área de tejido iluminada coincide con el campo de visión del sistema de formación de imágenes. Se observa que estos microscopios son inapropiados en casos en los que se requiere formación de imágenes de tejido a través de cavidades del cuerpo humano de diámetro pequeño y a distancias cortas de trabajo. Estas limitaciones técnicas obstaculizan la aplicación clínica satisfactoria del método descrito en este documento. Como se ha descrito anteriormente, la eliminación de la reflexión superficial da como resultado una mejora sustancial de la información diagnóstica obtenida a partir de la evaluación cuantitativa de la cinética de interacción de marcador-tejido. Si se emplea un microscopio clínico común como el módulo óptico de formación de imágenes, entonces como resultado de la geometría de formación de imágenes e iluminación mencionada anteriormente, suceden reflexiones múltiples en las paredes de la cavidad antes de que la luz alcance el tejido que se está analizando. En colposcopia son más numerosas las reflexiones múltiples debido a las paletas altamente reflectoras del espéculo, que se inserta en la vagina para facilitar la inspección del cérvix. Si el iluminador del aparato de formación de imágenes emite luz polarizada linealmente, las reflexiones múltiples aleatorizan el plano de polarización de la luz incidente. Como se ha descrito anteriormente, si la luz que incide sobre el tejido no está polarizada linealmente, entonces puede no ser eficaz la eliminación de la contribución de la reflexión superficial a la imagen.

La Figura 1 ilustra un aparato óptico de formación de imágenes que incluye una fuente de luz localizada en la parte central de su abertura frontal. Con este orden, el rayo central del cono de luz emitida es coaxial con el rayo central del haz de luz que entra en el aparato de formación de imágenes. Esto permite que los rayos de iluminación alcancen directamente la superficie del tejido que se está examinando antes de que ocurran reflexiones múltiples con la pared de la cavidad o el espéculo. Se usa un lente de objetivo reflector, que incluye un espejo de primera reflexión (1RM) y uno de segunda reflexión (2RM). Se coloca una fuente de luz (LS) en la parte posterior del espejo de segunda reflexión (2RM), junto con, si se requiere, componentes ópticos para manipulación del haz de luz tal como ampliación o reducción y enfoque (SO). El lente de objetivo reflector (RO), mediante el reemplazo del objetivo refractivo común usado en microscopios convencionales, proporciona capacidad de formación de imágenes en cavidades de diámetro pequeño con la libertad de elegir la distancia de trabajo. Los componentes ópticos de ampliación o reducción y de enfoque del haz de luz se pueden ajustar simultáneamente con el mecanismo para variar el aumento del sistema óptico de formación de imágenes para que el área de iluminación y el campo de visión del sistema de formación de imágenes varíen simultáneamente y proporcionalmente. Por tanto, el brillo de imagen se conserva independientemente del nivel de aumento de los lentes. La geometría de formación de imágenes e iluminación incorporada en este aparato óptico de formación de imágenes, junto con las opciones de manipulación del haz de luz, ayuda a eliminar la contribución de reflexión superficial a la imagen y por consiguiente ayuda a aplicar eficazmente el método descrito en este documento.

**Equivalentes**

5 Los especialistas en la técnica reconocerán o serán capaces de determinar usando no más de un experimento de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descrita en este documento. Las siguientes reivindicaciones tienen por objeto abarcar tales equivalentes.

**REIVINDICACIONES**

1. Un aparato de formación de imágenes ópticas que comprende
  - 5 (a) un lente de objetivo reflector (RO) que incorpora un primer espejo de reflexión (1 RM) y un segundo espejo de reflexión (2RM) en donde el segundo espejo de reflexión (2RM) se coloca en la parte central de la apertura óptica frontal del lente de objetivo reflector (RO); y
  - 10 (b) un medio de iluminación (LS) colocado en la parte trasera del segundo espejo de reflexión de forma tal que el rayo central del cono central de luz emitido desde los medios de iluminación (LS) es coaxial con el rayo central del haz de luz que entra en el lente de objetivo reflector (RO) seguidamente a la reflexión de la luz emitida por la superficie de un tejido (T) bajo examen.
2. El aparato de formación de imágenes ópticas de la reivindicación 1 en donde el medio de iluminación comprende un diodo emisor de luz.
- 15 3. El aparato de formación de imágenes ópticas de la reivindicación 1 o 2 que además comprende ópticas (SO) para la manipulación de los haces de luz.
4. El aparato de formación de imágenes ópticas de la reivindicación 3 en donde las ópticas (SO) para la manipulación del haz de luz permite la ampliación y enfoque del haz de luz.
- 20 5. Un microscopio o colposcopio que comprende el aparato de obtención de imágenes ópticas de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 25 6. El microscopio de la reivindicación 5 el cual es un microscopio quirúrgico o un microscopio empleado en exámenes de diagnóstico clínico.

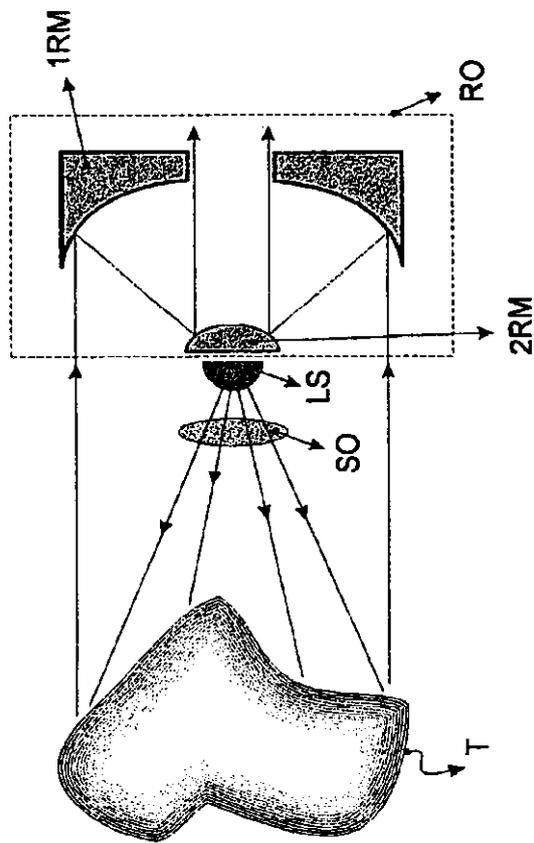


Figura 1