

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 182**

51 Int. Cl.:

A61B 5/0275 (2006.01)

A61B 5/026 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2000** E 15160177 (0)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.02.2018** EP 2910185

54 Título: **Método para evaluar la perfusión tisular**

30 Prioridad:

24.09.1999 US 155652 P

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

03.05.2018

73 Titular/es:

**NOVADAQ TECHNOLOGIES ULC (100.0%)
8329 Eastlake Drive, Unit 101
Burnaby, BC V5A 4W2, CA**

72 Inventor/es:

**DOCHERTY, JOHN C.;
HEWKO, MARK;
MANGAT, GURPREET;
FLOWER, ROBERT W. y
CHARI, SESHADRI M.**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 666 182 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 para evaluar la perfusión tisular

5 Campo técnico de la invención

Esta invención pertenece generalmente a procedimientos para observar el flujo sanguíneo a través del sistema cardiovascular de un animal.

10 Antecedentes de la invención

15 La enfermedad y lesión que afecta el sistema cardiovascular en animales, y particularmente en humanos, son cosas comunes en la sociedad de hoy en día. Una enfermedad es la aterosclerosis. Esta enfermedad se caracteriza por el bloqueo parcial (estenosis) de un vaso sanguíneo, típicamente por un estrechamiento de una o más arterias. En su forma más severa, el vaso se estrecha al punto en que se bloquea completamente (ocluido). En las arterias coronarias, la estenosis y la oclusión con frecuencia se manifiestan en forma de dolores de pecho severos y potencialmente, infarto al miocardio (ataque cardíaco). Sin limitarse a las arterias coronarias, la aterosclerosis también puede afectar la vasculatura periférica, es decir las arterias (y venas) que circulan la sangre a través de los brazos y las piernas, las arterias carótidas, es decir, las arterias que transportan la sangre al cerebro, y las arterias intracraneales, es decir, las arterias que distribuyen la sangre dentro del cerebro.

25 Una terapia comúnmente empleada en un esfuerzo por superar los efectos de la aterosclerosis en los vasos coronarios y periféricos es cirugía e injerto de derivación. Durante este procedimiento, un injerto vascular, por ejemplo, una vena o arteria, o alternativamente un tubo artificial flexible, se inserta quirúrgicamente en una forma que permite que la sangre evite la porción estenótica u ocluida de un vaso natural. Tal vez el ejemplo mejor conocido de cirugía de injerto de derivación es la cirugía de injerto de derivación de la arteria coronaria (CABG). En la CABG, un injerto, comúnmente una vena safena o arteria mamaria interna, se saca o se disecciona del paciente, respectivamente, y después se coloca dentro del paciente para permitir que el flujo sanguíneo evite la porción del vaso estenótico u ocluido. Alternativamente, o además de esto, puede usarse un injerto para permitir que la sangre fluya directamente de la aorta a un lugar corriente abajo de una porción estenótica u ocluida de una arteria.

35 El éxito de los injertos de derivación, al menos en términos de mejora clínica, depende en gran medida de la capacidad del vaso tratado para permanecer libre de oclusiones a corto y a largo plazo. Esta libertad de oclusiones comúnmente se refiere como permeabilidad de los vasos. Se piensa que la mala permeabilidad en los primeros meses después de la cirugía es el resultado de varios factores, y se cree que los más importantes son: mala circulación sanguínea, escaso drenaje arterial coronario, lesión del injerto durante la preparación o técnica quirúrgica defectuosa.

40 Si bien la cirugía cardíaca en los últimos años se ha enfocado en estrategias para disminuir el trauma al miocardio, estas estrategias pueden aumentar la probabilidad de problemas si se usa durante los procedimientos de injerto de vasos. Por ejemplo, aunque las técnicas quirúrgicas ahora permiten que la CABG se realice en un corazón latiendo para disminuir el trauma, existe una situación con relación a la calidad del injerto resultante. El uso de incisiones de acceso limitado durante los procedimientos de la CABG se ha desarrollado para, al menos, la revascularización de la arteria descendente anterior izquierda usando una arteria mamaria interna izquierda, con la esperanza de una recuperación más rápida, una estancia hospitalaria más corta y una reducción del costo. Sin embargo, este método también ha planteado preocupaciones con relación a la calidad del injerto. De hecho, existen informes de fallas tempranas en injertos completados usando incisiones de acceso limitado.

50 Otros problemas que afectan los procedimientos de la CABG son de naturaleza diagnóstica, e incluyen identificación relativamente lenta e inexacta de los vasos estenóticos y ocluidos durante la fase inicial de los procedimientos de la CABG (ya que algunos de estos vasos se encuentran dentro del tejido cardíaco lo que inhibe la identificación visual), y la incapacidad de determinar rápida y exactamente el grado de flujo sanguíneo a través de los vasos corriente abajo relativamente más pequeños (y, más generalmente, si el injerto fue exitoso para restablecer el flujo sanguíneo al tejido afectado) después que se completa el injerto.

55 Los problemas de permeabilidad arterial pueden surgir en terapias que no incluyen injertos. Por ejemplo, la evaluación de permeabilidad se desea en arterias carótidas durante y después de una endarterectomía, en vasos craneales durante y después de la neurocirugía, y en el contexto de la hemodiálisis renal, en donde se desea una valoración de la permeabilidad de fístula de AV. Si bien la información de permeabilidad del vaso en estos contextos puede obtenerse usando la tecnología de rayos X, las desventajas mencionadas previamente permanecen.

60 El grado de flujo sanguíneo dentro de un tejido particular o porción del mismo, comúnmente referido como perfusión, es importante junto con el diagnóstico y tratamiento de una variedad de afecciones. Por ejemplo, un análisis de perfusión puede ser deseable en el contexto de un tratamiento diseñado para reducir el flujo sanguíneo no deseado dentro del tejido, por ejemplo, detener el flujo sanguíneo hacia un tumor. Actualmente, la MRI puede usarse para obtener información de perfusión, pero esta información es imprecisa y solamente está disponible después de que se completa

el tratamiento. Esto disminuye la probabilidad de que un médico pueda identificar y solucionar los problemas durante ese mismo procedimiento, lo que excluye la necesidad de un procedimiento de recuperación posterior.

Otra afección que requiere tratamiento del sistema circulatorio es la insuficiencia renal. En muchos casos de insuficiencia renal, es deseable crear una fístula AV para proporcionar acceso vascular para la hemodiálisis. La fístula se crea mediante la unión de una arteria y una vena por un procedimiento quirúrgico, proporcionando un vaso que tiene un índice relativamente elevado de flujo sanguíneo. Aunque la tecnología de rayos X puede usarse para ayudar al médico a determinar si es posible la creación de una fístula de funcionamiento adecuado, y el tipo de fístula que puede crearse, la tecnología padece de las limitaciones previamente mencionadas.

En vista de lo anterior, existe una necesidad de un procedimiento de diagnóstico que permita que un médico evalúe la permeabilidad de un vaso particular, y particularmente los vasos que han experimentado un procedimiento invasivo tal como un procedimiento de injerto de derivación. Existe una necesidad adicional de un método para colocar rápida y precisamente un vaso estenótico u ocluido particular, tal como una arteria coronaria durante la fase inicial de la cirugía de CABG. Además, se necesitan métodos mejorados para evaluar el grado de flujo sanguíneo corriente abajo de un injerto, por ejemplo, en arterias coronarias y vasculatura periférica, ya que son métodos más precisos para determinar el grado de perfusión sanguínea en el tejido corporal seleccionado. También existe la necesidad de un medio mejorado para identificar vasos candidatos para fístulas AV, y para obtener información relevante para la determinación del tipo de fístula que puede crearse en un paciente con insuficiencia renal.

Un método para evaluar la perfusión tisular de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1 es conocido a partir de RÜBBEN y otros: "Infrared videoangiography of the skin with indocyanine green -rat random cutaneous flap model and results in man", MICROVASCULAR RESEARCH, vol. 47, núm. 2, 1 de marzo de 1994, páginas 240-251.

Breve descripción de la invención

La presente invención permite a un médico determinar con precisión el grado en que una porción seleccionada de tejido corporal, por ejemplo, tejido cardíaco, tumor, se perfunde bien, para ayudar a la identificación y el diagnóstico del tejido perfundido inadecuadamente (o apropiadamente).

Un método de acuerdo con la invención se define en la reivindicación 1.

Estas y otras características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes con la revisión de la siguiente figura y descripción detallada de las modalidades preferidas de la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 ilustra una forma esquemática de una modalidad preferida del aparato de la presente invención.

Descripción detallada de la invención

Los métodos de la presente invención se reclaman y describen en la presente descripción como una serie de etapas de tratamiento. Debe entenderse que estos métodos y etapas asociadas pueden realizarse en algún orden lógico. Además, los métodos pueden realizarse solos, o junto con otros procedimientos de diagnóstico y tratamientos administrados antes, durante o después de tales métodos y etapas expuestas en la presente descripción sin apartarse del alcance de la presente invención. Además, se contempla que el término animales como se usa en la presente descripción incluya, pero no se limite a, los seres humanos.

Regresando ahora a un aspecto de la presente descripción, se proporciona un método para analizar la permeabilidad de una porción de un vaso sanguíneo de un animal. El método comprende las etapas de administrar un colorante fluorescente al animal; obtener al menos una imagen angiográfica de la porción de vaso; y evaluar al menos una imagen angiográfica para valorar la permeabilidad de la porción de vaso.

Como ejemplos de los vasos cuya permeabilidad puede evaluarse de acuerdo con el método se incluyen arterias coronarias, la vasculatura periférica, arterias carótidas, vasos intracraneales y fístulas AV. Una evaluación de la permeabilidad del vaso puede conducirse cualitativamente por una inspección visual de las imágenes y, si se desea, cuantitativamente mediante la obtención de una medición del diámetro del vaso, en donde es deseable un diámetro sustancialmente uniforme del lumen de una porción del vaso particular.

Ventajosamente, la permeabilidad del vaso puede determinarse durante un procedimiento invasivo. Para propósitos de este y otros aspectos, un procedimiento invasivo es uno en el cual se realiza una o más incisiones en el tejido de un animal, o se introduce un instrumento en un orificio de un animal, para diagnosticar o tratar una enfermedad o afección que afecta directa o indirectamente la vasculatura o tejido. Debe entenderse que el procedimiento invasivo continúa hasta que las incisiones se suturan, o el instrumento se retira del animal, respectivamente.

A manera de ejemplo, este aspecto contempla un médico, durante un solo procedimiento invasivo, obteniendo imágenes angiográficas de una arteria coronaria antes y después del tratamiento (por ejemplo, derivación). De este modo, el médico puede evaluar rápidamente la permeabilidad del vaso tratado. Esto es beneficioso porque permite que un médico, al notar un problema en el vaso tratado, tome medidas correctivas durante el mismo procedimiento invasivo, evitando que el animal se traumatice con un procedimiento invasivo correctivo posterior.

Los ejemplos de porciones de vasos que pueden beneficiarse con el uso del método de la invención incluyen, pero no se limitan a, vasos que han sido sometidos a: reparación (debido a una lesión, aneurisma y/o malformación) o derivación (de arterias coronarias o vasculatura periférica); endarterectomías; cirugía intracraneal; creación de fístulas AV; y procedimientos quirúrgicos realizados usando un endoscopio o dispositivos relacionados.

Ejemplos de los tipos de reparación incluyen, pero no se limitan a: vasos lacerados cerrados por sutura o adhesivo; remoción de un aneurisma u otra malformación de vasos al remover la porción no deseada de un vaso seguido por la unión de los dos extremos restantes del vaso entre sí, o la interposición y unión posterior de un injerto de un vaso natural o sintético a los extremos del vaso restante.

La derivación se usa comúnmente cuando una porción de un vaso sanguíneo, típicamente una porción estenótica u ocluida, requiere elusión. La derivación incluye, pero no se limita a, unir los extremos de un vaso de injerto en lugares corriente arriba y corriente abajo de la estenosis, oclusión u otro problema, así como injertar un extremo de una arteria relativamente sana en el vaso no deseado en un lugar corriente abajo de la estenosis, oclusión u otro problema. Un ejemplo específico de este último es un procedimiento en donde un extremo de una arteria sana de la pared torácica se injerta en una arteria coronaria corriente abajo de una porción estenótica u ocluida de la misma. El método de la invención se usa preferentemente en cirugía e implica la derivación de arterias coronarias, por ejemplo, cirugía de CABG.

Cuando se lleva a cabo la derivación, se crea una anastomosis, es decir, la unión de los vasos naturales y de injerto. La permeabilidad de la anastomosis es de particular interés para los médicos. En un aspecto preferido, el método de la invención contempla la evaluación de la permeabilidad de las anastomosis, con mayor preferencia durante el procedimiento invasivo, y con la máxima preferencia mientras que el corazón sigue latiendo.

Un aspecto adicional proporciona un método para evaluar el flujo sanguíneo en una porción de tejido animal en donde el tejido es un candidato para un procedimiento invasivo, que está siendo o ha experimentado un procedimiento invasivo. En el último caso, una evaluación del grado del flujo sanguíneo a través de la vasculatura localizada corriente abajo de un vaso tratado ayuda a un médico a evaluar el éxito del tratamiento. El método comprende identificar una porción de tejido animal; administrar un colorante fluorescente al animal; obtener al menos una imagen angiográfica del flujo sanguíneo a través de la porción de tejido; y evaluar al menos una imagen angiográfica para evaluar el flujo sanguíneo en la porción de tejido.

Este método puede usarse ventajosamente en la evaluación del flujo en las arterias coronarias y vasculatura periférica, y se usa preferentemente durante un procedimiento invasivo. En un aspecto preferido, el método contempla obtener una imagen angiográfica de una vasculatura localizada corriente abajo de un vaso sanguíneo particular, por ejemplo, una arteria coronaria, que ha sido sometida a tratamiento, por ejemplo, derivación, para evaluar el éxito del procedimiento de derivación. En otro aspecto preferido, el método contempla obtener una imagen angiográfica de la vasculatura localizada corriente abajo de un vaso periférico particular, que ha sido sometido a tratamiento, por ejemplo, derivación de vasos periféricos, en donde la imagen se obtiene sin hacer incisión en la piel que recubre la vasculatura corriente abajo. En el último aspecto, el vaso periférico tratado y/o la vasculatura corriente abajo se localizan preferentemente a una profundidad por debajo de la superficie de la piel que permite evaluar la vasculatura de interés. Preferentemente, esta profundidad es al menos aproximadamente 0,5, y con mayor preferencia al menos 1 cm, por debajo de la superficie de la piel.

Este aspecto contempla además la evaluación del flujo sanguíneo en otros tejidos corporales que incluyen, pero no se limitan a, tejido muscular, estomacal, hepático, intestinal, de la vejiga, esófago, pulmón, riñón y cerebro. Las imágenes angiográficas pueden obtenerse debajo de la superficie de estos tejidos a una profundidad que no exceda la que permita evaluar la vasculatura de interés. De nuevo y preferentemente, esta profundidad es al menos aproximadamente 0,5 cm desde la superficie de cualquiera de los tejidos anteriores, y más preferentemente al menos aproximadamente 1 cm, el acceso al tejido por endoscopio es una ruta preferida. Este método puede usarse junto con una variedad de procedimientos invasivos, como los que evalúan si se ha detenido el sangrado interno. Por ejemplo, un médico podrá determinar fácilmente si un tratamiento quirúrgico detuvo exitosamente el sangrado en lo que antes era una úlcera sangrante.

El método proporciona además un medio para evaluar diversas terapias, en donde el éxito de tales terapias está indicado, al menos en parte, por el grado de flujo sanguíneo en o alrededor de un tejido particular. El método contempla obtener una primera imagen angiográfica de un tejido seleccionado; administrar la terapia (por ejemplo, un compuesto terapéutico propuesto) al animal; obtener una segunda imagen angiográfica del mismo tejido seleccionado en un momento posterior (por ejemplo, horas, días, o meses después de éste); y comparar la primera y segunda imágenes para determinar si existe algún cambio en la densidad vascular y/o el flujo sanguíneo dentro del tejido. Un uso de este

método es la evaluación de agentes angiogénicos y antiangiogénicos, así como la búsqueda de terapias potenciales. Por ejemplo, un endoscopio puede usarse para evaluar el impacto, si lo hubiera, de una terapia particular al disminuir el flujo sanguíneo hacia y/o a través de tumores, tales como tumores del pulmón o colón.

5 En otro aspecto, se proporciona un método para localizar un vaso sanguíneo que reside por debajo de la superficie del tejido vascularizado, por ejemplo, una arteria o vasos estenóticos u ocluidos adecuados para la creación de una fístula AV. El método comprende las etapas de administrar un colorante fluorescente a un animal; obtener al menos una imagen angiográfica de la vasculatura localizada por debajo de la superficie del tejido; y examinar al menos una imagen angiográfica para localizar al menos un vaso que reside por debajo de la superficie del tejido.

10 Como el método permite la visualización fácil de vasos localizados por debajo de al menos aproximadamente 0,5 cm, y preferentemente por debajo de aproximadamente 1 cm por debajo de la superficie de tejido, un médico es potencialmente capaz de completar una derivación u otro procedimiento coronario que implique la localización de vasos estenóticos u ocluidos que residen por debajo de la superficie del tejido en menos tiempo, simplemente debido al tiempo ahorrado en localizar el vaso a tratar.

15 En el contexto de la falla renal, el método proporciona un medio para localizar arterias y venas que son adecuadas para la creación de una fístula AV, así como también proporcionar información que ayude a un médico a determinar qué tipo de fístula crear basándose en la estructura de la vasculatura. En un aspecto preferido, el método permite obtener imágenes angiográficas de la vasculatura periférica localizada por debajo de las profundidades previamente descritas sin requerir una incisión en la piel para exponer la vasculatura de interés.

20 Las imágenes angiográficas obtenidas en ausencia de una incisión también pueden ser útiles para evaluar una derivación de la vasculatura periférica (extremidades superior e inferior) (al evaluar el flujo sanguíneo a través de la vasculatura corriente abajo de la derivación), y para evaluar la disfunción endotelial a través del lecho ungueal (al valorar el grado de flujo sanguíneo a través de los capilares localizados por debajo del lecho ungueal).

25 Las imágenes angiográficas obtenidas de acuerdo con los diversos aspectos de la presente invención representan el lumen (espacio) dentro de las arterias y venas localizadas dentro del tejido objeto. Una línea relativamente gruesa indica una arteria principal, en donde una línea relativamente delgada indica una arteria más pequeña. Una línea de espesor sustancialmente uniforme indica un vaso que está libre de placas ateroscleróticas. Por el contrario, una línea que es irregular, o que se vuelve más delgada en ciertas secciones, indica la presencia de estenosis, mientras que la interrupción de una línea indica la presencia de una oclusión.

30 En aún otro aspecto, la presente descripción proporciona un aparato y un método relacionado para proporcionar imágenes de alta resolución que le permitan a un médico determinar los diámetros de los vasos por debajo de aproximadamente 30 m y menos. Este aspecto se discutirá con mayor detalle en los párrafos posteriores.

35 Para obtener una imagen de acuerdo con la presente invención, un agente de formación de imágenes fluorescente se administra al paciente. El agente fluorescente debe seleccionarse de manera que cuando pase a través de la vasculatura de interés, pueda obtenerse al menos una imagen útil de la vasculatura. Los colorantes fluorescentes emiten radiación de una longitud de onda conocida cuando se excitan por la radiación de una longitud de onda particular. La radiación emitida por los colorantes excitados es detectable y puede capturarse mediante un dispositivo adecuado que convierta la radiación en una imagen visible.

40 Aunque puede usarse cualquier colorante fluorescente que proporcione una imagen como se describe en la presente descripción, se usa verde de indocianina (ICG) (IC-GREEN™, CARDIO-GREEN™, comercializado por Akorn, Inc.) de acuerdo con la invención. El ICG se usa ya que se encuentra fácilmente disponible, y se ha probado por mucho tiempo para la administración a humanos para angiografía oftálmica, análisis de gasto cardíaco y otras indicaciones.

45 Las longitudes de onda para la radiación de absorción y de emisión asociadas con dichos colorantes son bien conocidas, y no se repetirán aquí. Sin embargo, a modo de ejemplo, como la absorción y emisión máximas de ICG se encuentran en el intervalo de 800-850 nm, se debe usar una fuente de radiación que emita dichas longitudes de onda para obtener una o más imágenes de los vasos o tejidos de interés.

50 Típicamente, el agente fluorescente se administra en una composición que incluye un portador farmacéuticamente aceptable. La composición debe administrarse en una cantidad, y el agente fluorescente debe estar presente en una concentración suficiente para proporcionar el grado de detalle deseado en las imágenes. Ventajosamente, el agente está presente en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg/ml, preferentemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 7 mg/ml, y con mayor preferencia a aproximadamente 5 mg/ml de la composición, donde el portador constituye el resto del mismo.

55 El portador, que se solvata ventajosamente pero que puede meramente emulsionar o suspender el agente, se proporciona para potenciar la administración del agente a un paciente. La administración se realiza típicamente a través de inyección IV parenteral u otros medios adecuados, y se prefiere la inyección intravenosa de la composición como un bolo, el portador se selecciona en vista del modo de administración deseado.

5 Los portadores ilustrativos que pueden usarse incluyen agua, solución salina, alcoholes, glicerina, polietilenglicol, propilenglicol, polisorbato 80, Tweens, liposomas, aminoácidos, lecitina, sulfato de dodecilo, sulfato de laurilo, fosfolípido, Cremophor, desoxicolato, aceite de soya, aceite vegetal, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, sorbitol, acacia, monoestearato de aluminio, ácidos grasos poliexetilados, povidonas y mezclas de los mismos. Ventajosamente, el portador comprende agua y/o solución salina.

10 Los componentes opcionales que pueden estar presentes con el agente en la composición incluyen reguladores de la tonicidad y/o del pH, por ejemplo, NaOH, HCl, amortiguadores de fosfato, amortiguador Tris y similares.

La composición que comprende el agente puede proporcionarse inicialmente en cualquier formulación adecuada, por ejemplo, como un liofilizado para la reconstitución antes del uso o como una premezcla de líquido, en un ampollita o jeringa.

15 Después de la administración del agente de formación de imágenes, se activa un dispositivo capaz de excitar cualquiera del agente que puede estar presente en la vasculatura o tejido de interés, y un dispositivo capaz de detectar la radiación emitida de cualquier agente. Aunque cada dispositivo puede proporcionarse en un alojamiento separado, también pueden combinarse en un solo alojamiento sin perjudicar la presente invención. Regresando a la Figura 1, el dispositivo para excitar el agente comprende ventajosamente un láser 1 que emite radiación en una longitud de onda que provoca que cualquiera de los agentes localizados dentro de la vasculatura o tejido de interés 3 se irradie para emitir radiación de una longitud de onda particular.

25 Los láseres que son capaces de proporcionar radiación adecuada para excitar el agente lo suficiente para permitir la detección de emisiones son bien conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, Magnum 3000, Lasiris St-Laurent, Quebec, Canadá), y como tal no se describirán en detalle en la presente. Generalmente, sin embargo, los dispositivos comprenden un impulsor de láser y diodo, y ventajosamente un filtro de paso de banda 5. El filtro 5 ayuda a optimizar la calidad de la imagen asegurando que la radiación que llega al vaso es de una longitud de onda sustancialmente uniforme, es decir, la longitud de onda que provoca que el agente brille.

30 Ya que el campo de iluminación proporcionado por el láser solo es insuficiente para irradiar una anastomosis u otra área relativamente grande, el láser incluye ventajosamente elementos ópticos 7 que desvían la luz del láser para cubrir el área de interés. A manera de ejemplo, se ha encontrado que los elementos ópticos que proporcionan irradiación uniforme de un área de 7,5 cm x 7,5 cm serán suficientes para irradiar la mayoría de la anastomosis. Tales elementos ópticos son bien conocidos, y por lo tanto no se describirán en detalle en la presente. Preferentemente, los elementos ópticos deben permitir la variación en el campo de iluminación, ya que algunas veces es deseable concentrar la radiación láser en un área relativamente pequeña para mejorar la resolución de la imagen.

35 En una mejora opcional adicional, la salida del láser puede pulsarse, sincronizarse con la velocidad de adquisición de la imagen de la cámara mediante el uso de un dispositivo tal como un generador de impulsos 18. Esto reduce la cantidad de radiación de láser recibida por el vaso o tejido, mientras que se conserva la calidad de la imagen.

40 Los dispositivos capaces de detectar emisiones de agentes de formación de imágenes, y particularmente los colorantes fluorescentes preferidos, también son bien conocidos. Ventajosamente, una cámara capaz de obtener múltiples imágenes durante un periodo de tiempo, tal como una cámara CCD 2 (por ejemplo, Hitachi KP-M2, KP-M3), puede usarse para capturar las emisiones del agente de formación de imágenes. La cámara seleccionada, por supuesto, puede ser una capaz de capturar radiación de la longitud de onda emitida por el agente de formación de imágenes. Preferentemente, la cámara puede capturar tales imágenes a una velocidad de al menos 15 imágenes/segundos, y más preferentemente a una velocidad de al menos aproximadamente 30 imágenes/segundos. La cámara también puede ajustarse con un filtro de paso de banda 6 para prevenir la captura de radiación diferente a la emitida por el agente de formación de imágenes.

45 El enfoque de la cámara puede ser automático o manual. Además, si se desea, la cámara puede incluir un sistema de lentes 8 que permita ampliar un área de interés. Preferentemente, el uso de dicho sistema de lentes se conmuta al láser para que, cuando el sistema de lentes se acople, el campo de iluminación proporcionado por el láser se reduzca correspondientemente para que coincida con el campo de visión proporcionado por el sistema de lentes. El resultado de esta coordinación es una resolución mejorada. Los filtros de polarización 14a, 14b también pueden, si se desea, ajustarse al láser y/o a la cámara para mejorar la resolución.

50 Ventajosamente, un sensor de distancia 9 (por ejemplo, WTA, 24, Sick Optic-Electronic, Inc., Eden Prairie, MU) se incluye como parte del aparato. Este sensor, que incorpora preferentemente una pantalla visual 9a, proporciona retroalimentación a un médico para que el láser y la cámara puedan localizarse a una distancia del vaso o tejido de interés que es óptimo para la captura de imágenes de alta calidad, disminuyendo de este modo la necesidad de enfocar la cámara durante el procedimiento.

65 El posicionamiento relativo de la cámara y el láser también puede afectar la claridad de la imagen, también conocido como ruido visual. Preferentemente, y como se muestra en la Figura 1, el láser se localiza a un ángulo Θ de menos de

aproximadamente 85 grados, y más preferentemente entre aproximadamente 20 grados y 70 grados, con respecto a los ejes del láser y la cámara. La introducción de la radiación láser en la cavidad del cuerpo en estos ángulos reduce la cantidad de brillo que ingresa a la cámara debido al líquido presente en la cavidad.

5 Aunque la cámara y el láser pueden estar ubicados externos al paciente, como se muestra en la Figura 1, también se contempla que se pueda usar al menos un endoscopio para obtener imágenes del tipo descrito en la presente. Por ejemplo, en este aspecto, el endoscopio podría insertarse dentro del cuerpo, a través de una incisión y/o cavidad corporal, y colocarse adyacente al área de interés. Un primer instrumento, típicamente una fibra óptica láser, pudiera insertarse en el endoscopio y usarse para proporcionar radiación en una longitud de onda apropiada para provocar que cualquier agente de formación de imágenes administrado previamente dentro del vaso o tejido objetivo emita la radiación detectable. Un segundo instrumento insertado en el endoscopio pudiera permitir que se obtenga una imagen del agente de emisión de radiación dentro del vaso o tejido. Por ejemplo, un dispositivo óptico conectado a una cámara CCD, tal como los usados para realizar una colonoscopia, puede adaptarse fácilmente para su uso junto con el procedimiento endoscópico contemplado por la presente descripción. Se cree que la fabricación de un dispositivo adecuado en vista de la descripción proporcionada en este documento está dentro de la experiencia del experto en la técnica, y no se describirá en detalle en la presente.

Preferentemente, la cámara retransmite las imágenes capturadas a un convertidor de analógico a digital 10 (típicamente una tarjeta localizada dentro de una PC 15), y después a través de un programa de captura de imágenes y de procesamiento que se ejecuta en una PC 15. Una imagen digital del agente fluorescente (que corresponde al lumen de la vena, arteria y/o anastomosis de interés) puede desplegarse después en un monitor 11, y registrarse por la PC o un dispositivo periférico en cualquier medio adecuado, por ejemplo, una unidad de disco duro, disco óptico, cinta magnética, o similares. La cámara también puede dirigir las imágenes directamente a un sistema de televisión 12/VCR 13, en donde las imágenes pueden visualizarse en tiempo real y/o registrarse para su reproducción en un momento posterior. Preferentemente, el monitor y/o la televisión se localizan en el sitio quirúrgico, permitiendo la visualización en tiempo real de varios aspectos de los vasos tratados y circundantes. También se puede conectar una impresora 16 a la cámara, PC y/o VCR para permitir una copia impresa de una o más imágenes angiográficas que se obtienen.

Los convertidores de analógico a digital son bien conocidos. Estos dispositivos, como su nombre lo indica, convierten la serie de imágenes analógicas capturadas por la cámara en imágenes digitales. El programa de procesamiento de imágenes también es bien conocido, con una variedad de programas actualmente disponibles capaces de analizar los vasos tratados y adyacentes.

En la práctica, se prefiere que la cámara, láser y monitor de video se localicen de frente al cirujano, para asegurar que el cirujano tenga máximo espacio para colocar el dispositivo con relación al paciente. Los componentes restantes pueden colocarse en cualquier posición conveniente. Preferentemente, el láser, la cámara y/o los monitores de video se montan en una o más armaduras que proporcionen libertad de movimiento a lo largo de los ejes x, y y z para proporcionar la máxima maniobrabilidad y que permanezca en una posición deseada después de la colocación.

En un aspecto preferido, el programa de captura y procesamiento de imágenes puede proporcionar una medición del diámetro de un vaso sanguíneo, por ejemplo, el diámetro de la porción tratada de un vaso y las porciones de extremo del vaso original adyacente a la porción tratada. Aunque se pueden usar varias metodologías diferentes para proporcionar esta medición, sigue un método de este tipo. Como la invención contempla que la cámara se coloque en una posición diferente para cada paciente, o para obtener imágenes de más de un vaso en un solo paciente, el programa incluye ventajosamente un algoritmo de calibración que permite que un operador asigne una distancia a un número específico de píxeles de imagen. Aunque la calibración puede completarse usando cualquier método adecuado, un método implica el uso de un tubo capilar de un diámetro interior conocido lleno con un colorante fluorescente, por ejemplo, ICG. El colorante en el tubo capilar se excita por la radiación de un láser, y la imagen resultante del líquido fluorescente detectado por la cámara, y procesado por el programa se usa para asignar una longitud al número de píxeles que corresponde al diámetro interior del tubo capilar.

El programa incluye preferentemente una característica adicional que selecciona las imágenes óptimas para su análisis. La necesidad de tener tal característica se basa en el flujo relativamente rápido del agente de formación de imágenes a través del tejido o el vaso tratado de interés bajo condiciones normales. Debido a que el tiempo del paso del agente de formación de imágenes (si es que es capaz de atravesarlo) a través del tejido o vaso de interés no puede determinarse precisamente, existe un número de imágenes iniciales y finales adquiridas antes y después de las imágenes de interés. El programa es preferentemente capaz de determinar el contraste relativo de una imagen con otra, y de este modo selecciona aquellos cuadros con el mayor contraste para su análisis, es decir, en el caso donde el agente es capaz de entrar al vaso o tejido de interés, los cuadros en los cuales el agente de formación de imagen está presente en el mismo y emite la radiación detectable. Estas series de imágenes seleccionadas puede analizarse para determinar el diámetro del vaso tratado (o cualquier otro vaso) en una posición particular, así como también la velocidad y el volumen del flujo sanguíneo a través del vaso tratado y el vaso original adyacente.

El programa también puede usarse para comparar las imágenes de los vasos de previo y posterior al tratamiento para determinar la velocidad de flujo de sangre relativo en o corriente abajo del sitio de tratamiento. Esta comparación se lleva a cabo calculando y comparando el área de fluorescencia (es decir el número de píxeles asociados con el

5 colorante fluorescente) en imágenes previas y posteriores al tratamiento asociadas con una sección preseleccionada del vaso, y/o comparando el promedio relativo de la intensidad fluorescente máxima de una sección preseleccionada del vaso en cada imagen. Un número mayor de píxeles, o un promedio mayor de la intensidad fluorescente máxima, respectivamente, en las imágenes posteriores al tratamiento indica el flujo sanguíneo mejorado en la sección del vaso preseleccionado como resultado del tratamiento.

10 Similarmente, la descripción permite calcular el diámetro de un vaso y comparar antes y después de la estimulación, por ejemplo, la administración de acetilcolina. Esta comparación es significativa, ya que un aumento en el diámetro del vaso demuestra que el vaso ha mantenido su función endotelial, lo cual es una indicación positiva de la permeabilidad futura del vaso.

Las ventajas de la presente invención se ilustran adicionalmente por el siguiente ejemplo. Los detalles particulares que se exponen en la presente no deben tomarse como una limitación de las reivindicaciones de la presente invención.

15 EJEMPLO

Este ejemplo demuestra el uso de un aparato preferido de la presente invención para observar el flujo de un colorante fluorescente a través de un vaso particular, es decir, una arteria femoral de ratón, y un corazón perfundido de Langendorff, y también demuestra la capacidad del aparato para determinar el diámetro de un vaso femoral de ratón en condiciones normales y bajo la influencia de la acetilcolina aplicada tópicamente.

20 En este ejemplo, un colorante fluorescente (ICG) se inyectó en el lecho vascular (a través de canulación yugular en el ratón: mediante una línea de infusión en el corazón perfundido de Langendorff) y se excitó usando radiación de una fuente de láser (806 nm). La fluorescencia (radiación) emitida por el colorante (830 nm) se capturó como una serie de angiogramas usando una cámara de CCD. La cámara transmitió los angiogramas al programa de conversión de analógico a digital que se ejecuta en una PC que digitalizó los angiogramas. Las imágenes digitalizadas se analizaron después cualitativamente y cuantitativamente (al ver el monitor). Un ejemplo de evaluación cuantitativa que se llevó a cabo fue la determinación del diámetro de la arteria femoral de ratón usando el programa que comprende un sistema de detección de borde de subpíxeles que se ejecuta en la PC.

30 La técnica de formación de imágenes fluorescentes anterior se usó en la arteria femoral de ratón in vivo. Una explicación más detallada de cada componente del aparato, preparación del animal, inyección de ICG, y método analítico, se exponen en los siguientes párrafos.

35 El dispositivo láser incluyó un impulsor de diodo láser SDL-820 (SDL Inc. San José, CA) que mantuvo una salida de onda continua con una corriente promedio de 3,95 A, y un diodo láser SDL-2382-P1 (SDL Inc.). El diodo láser se usó para iluminar el área de interés y excitar el colorante ICG, por lo que indujo fluorescencia en la región de la que se está formando la imagen. Se usó un diodo láser porque, a diferencia de una fuente de luz incandescente, un láser emite fotones en un intervalo de frecuencia estrecho, y de este modo elimina la necesidad de un filtro de excitación y el problema asociado de disipación de calor. Debido a que las longitudes de onda emitidas por el láser se limitaron, el filtro de excitación puede eliminarse, mejorando la fluorescencia. En consecuencia, una proporción mayor de la luz emitida desde el diodo láser es de la longitud de onda absorbida por ICG. Se encontró que el uso de un filtro de paso de banda de 800DF20 (Omega Optical Inc., Brattleboro, VT) junto con la fuente de luz láser mejoró los resultados al pasar selectivamente los fotones emitidos a 806 nm (es decir, la longitud de onda a la cual se excita ICG).

45 Las imágenes angiográficas se recolectaron usando una videocámara de KP-160 (Hitachi Denshi, Ltd., Tokio, Japón). La cámara de KP-160 se seleccionó ya que es altamente sensible en la región casi infrarroja del espectro electromagnético (el cual también es donde brilla ICG), optimizando así la captura de radiación emitida por el ICG excitado. Un filtro de paso de banda 845DF25 (Omega Optical Inc., Brattleboro, VT) se acopló a la cámara para excluir todos los fotones que no eran de la longitud de onda asociada con la fluorescencia ICG. El diodo láser se colocó a un ángulo de 45 grados con respecto al área de investigación para minimizar la reflectancia especular (es decir, el brillo) que surge del agua superficial que entra a la cámara. El brillo es una fuente mayor de ruido visual durante la formación de imágenes.

55 Se empleó un convertidor de analógico a digital (752 x 480 píxeles, procesador de imágenes de 8 bits, Modelo PIXCI-SV4, EPIX Inc., Buffalo Grove, IL) para digitalizar la producción de señales de video compuestas de la cámara.

60 Después de cada inyección IV de un bolo de colorante ICG, una serie de 264 imágenes entrelazadas se recolectó a una velocidad de 30 por segundo.

65 El ratón se preparó induciendo anestesia en una caja de inducción usando isoflurano (Ohmeda Pharmaceutical Products, Mississauga, ON, Canadá) (4 % en aire de grado médico, 4 l/min) y se mantuvo mediante el uso de una máscara que proporciona isoflurano a una velocidad de 1,5-2,0 % en aire de grado médico (400 ml/min). Durante el experimento, el ratón se colocó en una manta de agua termoestática, con monitoreo de la temperatura corporal mediante una sonda de temperatura rectal. Para facilitar la formación de imágenes de los vasos de interés, las áreas torácica, abdominal e inguinal del ratón se cortaron, el ratón se colocó sobre su espalda, y la piel sobre la vasculatura

femoral se recortó para exponer la vasculatura de interés. La vena yugular se canalizó usando una pieza de tubo PE10 estirada llena de solución salina que contenía 50 U de heparina/ml.

5 Después que se preparó el ratón, una inyección IV de bolo de 10 µl de ICG se administró, seguido por una inyección IV de 50 µl de solución salina. Para preparar el bolo, se disolvieron 4 µg/ml de ICG de grado clínico (CARDIO-GREEN™) en un disolvente acuoso estéril una hora después de la inyección. Todas las inyecciones se administraron a través de la cánula establecida en la vena yugular. La solución salina se usó para limpiar la línea y para asegurar el paso de un bolo intacto a través de la vasculatura femoral, produciendo un frente de onda agudo.

10 El análisis de la imagen se realizó usando XCAP para Windows 95/98/NT versión 1.0 (EPIX Inc., Buffalo Grove, IL). El algoritmo de procesamiento de imágenes incluyó las siguientes etapas.

15 1. Selección de vasos de interés. La anatomía de la vasculatura varía entre los animales. En consecuencia, fue necesario desarrollar criterios para la selección de un área de interés. Este proceso comenzó con el posicionamiento de la cámara. La cámara se colocó de manera que el campo de visión incluyera la arteria femoral y sus ramificaciones. Para los propósitos del análisis de imágenes, los vasos de interés fueron la arteria femoral y las ramificaciones que proporcionaron la resolución más alta y el mayor grado de ramificación, usualmente terciario o cuaternario.

20 2. Calibración. La colocación de la cámara con respecto al área que se estaba visualizando en imágenes varió con cada animal, y fue necesario por lo tanto calibrar la cámara para cada imagen recolectada. Un tubo capilar de diámetro pequeño (320 µm) (TSP320450; Polymicro Technologies, LLC, Phoenix, AZ) lleno con ICG se usó para calibrar las imágenes. El programa de procesamiento de imágenes incluye una función de calibración integrada que permite la especificación de un conjunto de coordenadas de píxeles y la asignación de un valor definido por el usuario a la distancia entre estas coordenadas. El detector de borde del programa se usó para determinar las coordenadas de los bordes del colorante fluorescente en el tubo capilar. El diámetro interior del tubo capilar en micras, se asignó después a la "longitud" de la distancia entre estos puntos. Debido a esta característica integrada del programa, todas las mediciones posteriores en todos los cuadros de la imagen se expresaron en micras, en lugar de unidades de píxeles. Para evitar las distorsiones debido al movimiento de la cámara u otro fenómeno estocástico, cada imagen se calibró. Las ventajas de esta técnica son que se usó el mismo método para medir el dispositivo de calibración ya que se usó para medir el vaso, y el dispositivo de calibración se midió en el mismo cuadro en las mismas condiciones ópticas que los vasos.

35 3. Medición del diámetro usando bordeador de subpíxeles. Todos los diámetros de los vasos se midieron usando el bordeador de subpíxeles integrado.

40 4. Selección de cuadros basándose en la resistencia del borde. El análisis de imágenes ICG implica la selección de cuadros para su análisis. La necesidad de seleccionar los cuadros es una consecuencia de la velocidad rápida del flujo de ICG a través de la arteria femoral con respecto a la velocidad de adquisición de imágenes. Esto resulta en una secuencia inicial y final de cuadros que se adquirieron antes y después de que se pudiera detectar el ICG en el área que se están formando con imágenes. La resistencia del borde, que el detector de borde calcula automáticamente en nuestro programa, es una medida de la resistencia relativa del borde, es decir la relación del valor de los píxeles en un lado del borde y el valor de aquellos en el otro lado. La relación es más alta cuando el contraste es mayor, lo que corresponde a la mayor intensidad de la fluorescencia de ICG. Los vasos que se midieron tienen dos bordes, por lo que se seleccionaron para el análisis diez cuadros en los cuales el producto de la resistencia del borde fue el mayor.

45 Después que se completó lo anterior, los diámetros de los vasos y los errores estándar se calcularon como se describió anteriormente. La prueba t de Student para valores en pareja se aplicó para determinar la significancia estadística entre las mediciones (borde de significancia, p=0,01).

50 Los datos preliminares en los efectos de diferentes tamaños de vasos en el ratón (arteria femoral) se dan en la Tabla. Los datos confirman la capacidad de monitorear los cambios en los vasos pequeños (por ejemplo, 58 micras) cuando se aplica incluso una baja concentración de acetilcolina (0,01 µM).

55 Tabla

Efectos de la acetilcolina					
	Diámetro del vaso (micras)				
Concentración de acetilcolina	control	0,01 µM	,01 µM	1,0 µM	10,0 µM
Primario	92,7 ± 1,2	58,2 ± 1,3	61,5 ± 1,7	58,3 ± 1,5	64,6 ± 1,5
Secundario	69,4 ± 0,3	67,0 ± 1,3	75,1 ± 1,2	90,0 ± 1,8	75,0 ± 1,4
Terciario	57,5 ± 0,7	42,9 ± 0,6	44,9 ± 0,6	47,1 ± 1,2	42,9 ± 0,8
p<0,05					

Lo anterior demuestra la capacidad de observar el flujo de la sangre a través de un vaso, para determinar el diámetro de un vaso, y para monitorear los cambios en la reactividad de un vaso después de la administración de acetilcolina.

5

Además, y a menos de que se indique lo contrario, las referencias a un solo componente, estructura o etapa en la presente descripción deben interpretarse también como que incluyen más de un componente, estructura o etapa, es decir, al menos una o una o más.

10

Aunque esta invención se ha descrito con énfasis en las modalidades preferidas, será obvio para los expertos en la técnica que pueden usarse variaciones de las modalidades preferidas y que se pretende que la invención pueda practicarse de otra manera que la que se describe específicamente en la presente. Por consiguiente, esta invención incluye todas las modificaciones abarcadas dentro del alcance de la invención como se define por las siguientes reivindicaciones.

15

Reivindicaciones

- 5 1. Un método para evaluar la perfusión tisular de una porción seleccionada de tejido corporal por la sangre a la que se administra un colorante fluorescente, y en donde el colorante fluorescente es colorante verde de indocianina (ICG),
el método comprende:
obtener, usando una cámara, una pluralidad de imágenes angiográficas de sangre que fluye a través del tejido seleccionado por debajo de la superficie del tejido hasta una profundidad de al menos aproximadamente 0,5 cm desde la superficie del tejido, mientras excita el colorante fluorescente; y
10 examinar las imágenes angiográficas para evaluar el grado de flujo sanguíneo dentro de la porción seleccionada de tejido corporal,
caracterizado porque las imágenes angiográficas se obtienen a una velocidad de al menos 15 imágenes por segundo.
- 15 2. El método de la reivindicación 1, en donde la pluralidad de imágenes incluye un número de imágenes iniciales y finales adquiridas antes y después de las imágenes de interés.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, que comprende además determinar el contraste relativo de una imagen con otra, y mediante un programa seleccionar de la pluralidad de imágenes las imágenes con mayor contraste para el análisis.
20
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende además visualizar las imágenes angiográficas en un monitor de video, y/o registrar la pluralidad de imágenes angiográficas en un medio registrable.
25
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la cámara captura las imágenes a una velocidad de al menos 30 imágenes por segundo.
- 30 6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que incluye excitar el colorante fluorescente por medio de un láser.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende además desviar, usando elementos ópticos, la luz de excitación del láser para cubrir el área de interés.
- 35 8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde los elementos ópticos son ajustables, y permiten la variación en un campo de iluminación.
9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6-8, en donde el láser es pulsado y sincronizado con una velocidad de adquisición de la cámara mediante el uso de un dispositivo tal como un generador de pulsos.
40
10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6-9, que comprende además limitar la luz del láser a una longitud de onda sustancialmente uniforme usando un filtro de paso de banda colocado con relación al láser.
45
11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende aumentar un área de interés usando un sistema de lentes de la cámara.
- 50 12. El método de acuerdo con la reivindicación 11 y una cualquiera de las reivindicaciones 6-10, que comprende conmutar el sistema de lentes al con respecto al láser para ajustar correspondientemente un campo de iluminación proporcionado por el láser en función del campo de visión de la cámara.
13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, que comprende además evitar que la cámara capte radiación diferente a la emitida por el colorante fluorescente usando un filtro de paso de banda.
55
14. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6-13, que comprende además indicar una distancia desde al menos una de la cámara y el láser hasta el área de interés usando un sensor de distancia.

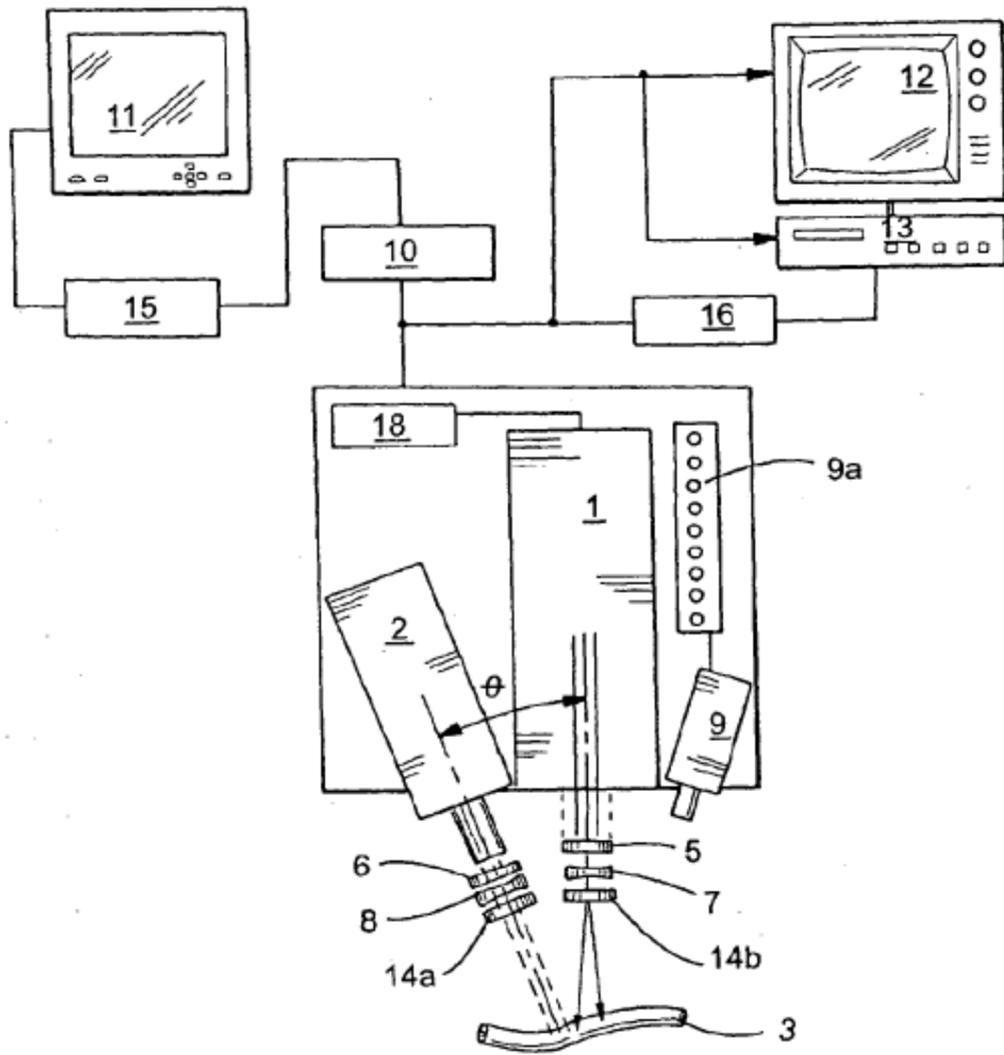


Fig. 1