



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 38 493 T2** 2009.05.20

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 051 104 B1**

(51) Int Cl.⁸: **A61B 5/00** (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 38 493.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US99/01723**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 904 331.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1999/037204**

(86) PCT-Anmeldetag: **26.01.1999**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **29.07.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **15.11.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **09.04.2008**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **20.05.2009**

(30) Unionspriorität:

72455 P 26.01.1998 US

(73) Patentinhaber:

**Massachusetts Institute of Technology,
Cambridge, Mass., US**

(74) Vertreter:

**Luderschmidt, Schüler & Partner, 65189
Wiesbaden**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**WANG, Thomas D., Cambridge, MA 02138, US;
FELD, Michael S., Newton, MA 02163, US; WANG,
Yang, Blue Bell, Pennsylvania 19422, US; VAN
DAM, Jacques Div. of Gastroent. Mailstop,
Stanford, CA 94305-5187, US; FULGHUM, Stephen
F., Marblehead, MA 01945, US**

(54) Bezeichnung: **ENDOSKOP ZUR ERFASSUNG VON FLUORESZENZBILDER**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

VERWANDTE ANMELDUNGEN

[0001] Diese Anmeldung beansprucht den Nutzen aus der vorläufigen US-Anmeldung Serien-Nr. 60/072 455, angemeldet am 26. Januar 1998.

Hintergrund

[0002] Das Folgende betrifft die Entwicklung eines laserinduzierten Fluoreszenzabbildungsendoskops zur Abbildung von krebsartigen oder vorkrebsartigen Geweben in hohlen Organen. In anfänglichen klinischen Studien an Darmpolypen wurde Ultraviolettlicht (UV) bei 370 nm verwendet, um sichtbare Fluoreszenz (400–700 nm) anzuregen, den spektralen Signaturen die es ermöglichen, zwischen normalen und abnormalen Geweben zu unterscheiden. Bisherige endoskopische Bildgebung wurde erreicht unter Verwendung eines optischen Moduls, befestigt in einem der Biopsiezugänge eines Standard(Weißlicht)-Kolonoskops mit zwei Zugängen. Das optische Modul verwendet eine optische Quarzfaser und angeschlossene Optiken, um das UV-Licht in das Gewebe zu liefern, sowie ein kohärentes optisches Glasfaserbündel, um das resultierende Fluoreszenzbild zur näheren Seite des Endoskops hin zu übertragen, wo ein Filter den großen Untergrund von reflektiertem UV-Licht entfernt, und das Fluoreszenzbild wird dann durch einen hochverstärkten CID-Detektor-Array aufgenommen.

[0003] Endoskopisch gesammelte Autofluoreszenzbilder von Darmschleimhaut können als ein Screeningwerkzeug für die Erkennung von Vorläufern für kolorektalen Krebs (CRC) verwendet werden. Fluoreszenz wurde verwendet, um zwischen normaler Schleimhaut und Adenomen zu unterscheiden. Insbesondere werden Spektren mit Einzelpunktkontaktsonden unter der Verwendung von verschiedenen unterschiedlichen Anregungswellenlängen gemessen.

[0004] Fluoreszenzspektren wurden durch optische Fasersonden mit verschiedenen Anregungswellenlängen erhalten. Eine in vitro-Studie hat eine Suche über einen breiten Bereich von Anregungswellenlängen durchgeführt und geschlossen, dass 370 nm optimal für die Unterscheidung zwischen normaler Schleimhaut und Adenom ist. Sowohl in vitro- als auch in vivo-Studien, die adenomartige Polypen als ein Modell für Dysplasie verwenden, haben gezeigt, dass bei dieser Wellenlänge Dysplasie im Vergleich zu normaler Darmschleimhaut eine geringere Spitzenintensität bei 460 nm hat und eine erhöhte Fluoreszenz bei 680 nm haben kann. Weiterhin wurde die morphologische Basis für diese spektralen Unterschiede durch Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Die verringerte Fluoreszenzintensität in Polypen wurde ihrer erhöhten Architektur, verstärktem Blutkreislauf und reduziertem Kollagen in der Lamina Propria zugeordnet. Die roten Erhöhungen resultieren aus erhöhter Fluoreszenz der Kryptzellen, was durch höhere Gehalte von Porphyrin verursacht sein kann.

[0005] US-A-5 187 572 offenbart ein elektronisches Endoskop, ausgerüstet mit einer fotoelektrisch umsetzenden Abbildungsvorrichtung im festen Zustand und einem Lichtleiter, der ein Beleuchtungslicht überträgt. Ein Videosignalverarbeitungskreis verarbeitet Signale für die Abbildungsvorrichtung im festen Zustand. Das elektronische Endoskop, der Lichtleiter und der Videosignalverarbeitungskreis sind getrennt angeschlossen und haben eine erste Lichtquelle und eine zweite Lichtquelle, um jeweils verschiedene Beleuchtungslichter zuzuführen. Wo die beiden Lichtquellen Synchronisierungssignale von dem Videosignalverarbeitungskreis erhalten und sich miteinander synchronisieren, können die beiden Lichtquellen die beleuchtenden Lichter in einen Lichtleiter übermitteln. Wenn die Verbindung des Lichtleiters geändert wird, kann die Störung eines Abbildungsbildes reduziert werden.

[0006] DE-A-195 35 114 offenbart ein Fluoreszenzdiagnoseendoskopsystem, aufweisend die Merkmale des ersten Teils aus Anspruch 1. Das Endoskop wird verwendet, um menschliches Gewebe zu beobachten. Das System hat eine Lichtquelle für die Beleuchtung des menschlichen Gewebes mit normalem Licht und Anregungslicht, das einen gewissen Wellenlängenbereich hat. Das menschliche Gewebe fluoresziert als Antwort auf die Beleuchtung mit dem Anregungslicht. Das System hat weiterhin ein paar von bildaufnehmenden Elementen für die Ausgabe bildsignale, die zu den empfangenen optischen Bildern korrespondieren. Ein Filter, der lediglich Licht überträgt, welches durch das fluoreszierende menschliche Gewebe erzeugt wird, wird vorne auf einem bildaufnehmenden Element zur Verfügung gestellt. Die Bildsignalausgabe durch die bildaufnehmenden Elemente wird selektiv verarbeitet und an eine Anzeige übertragen.

Zusammenfassung der Erfindung

[0007] Die vorliegende Erfindung betrifft Abbildungsendoskope und insbesondere ein Fluoreszenzabbildungskolonoskop unter Verwendung eines zweikanaligen elektronischen Endoskops, welches einen ladungsgekoppelten Chipbaustein (CCD) oder andere Festphasenabbildungsvorrichtung, befestigt an seinem entfernten Ende, verwendet, um das Weißlichtbild zu sammeln. Von besonderer Signifikanz für die vorliegende Erfindung ist, dass dieser Chip auch das Fluoreszenzbild aufnehmen kann und es auf dem Endoskopvideomonitor mit sehr viel größerer Signalstärke als der, die unter Verwendung des optischen Moduls und der verstärkten CID-Kamera erhalten werden kann, anzeigt. Diese Konfiguration wird dazu verwendet, um Fluoreszenzbilder von Darmdysplasie zu sammeln. Videobilder von zwei kleinen FAP-Polypen wurden mit dem Standardweißlichtbild und dem unverarbeiteten Fluoreszenzbild aufgenommen.

[0008] Der CCD-Detektor, dem Verstärkungsintensivierung fehlt, detektiert die schwachen Fluoreszenzsignale, die sechs Größenordnungen in der Intensität geringer sind als das diffus reflektierte Weißlichtbild. Zusätzlich ist es überraschend, dass reflektiertes 370 nm Anregungslicht nicht vollständig den CCD überflutet und das Fluoreszenzsignal abdunkelt. Dies resultiert aus der Tatsache, dass die spektrale CCD-Antwort schnell bei Wellenlängen unterhalb von 400 nm auf Null fällt. Somit dient der CCD wirksam als sein eigener Langpassfilter. Andere Abbildungsvorrichtungen können mit einem Filter verwendet werden, um zumindest eine Hälfte der detektierten Intensität im ultravioletten Bereich relativ zur detektierten Intensität im sichtbaren Bereich zu reduzieren.

[0009] In dieser speziellen Ausführungsform hat der CCD eine Auflösung von 270×328 Pixeln und eine Objektivlinse von 2,5 mm im Durchmesser. Die Bilder werden in 33 ms im RGB-Format gesammelt. Die Vorteile dieser speziellen Ausführungsform beinhalten, dass die in vitro-Fluoreszenzbilder ein Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) von etwa 34 bei klinischer Arbeitsdistanz von 20 mm (Abstand zwischen Spitze des Endoskops und Gewebeoberfläche) zeigen, was überragend zu dem ist, was unter Verwendung des UV-Modul/CID-Detektors erhalten wird, der ein SNR von etwa 18 beim gleichen Abstand hat. Die Verwendung des CCD eliminiert die Notwendigkeit für das Optikmodul und vereinfacht das Systemdesign stark. Zusätzlich vermeidet es Probleme, die mit der Tendenz des UV-Moduls verknüpft sind, sich in dem Biopsiekanal drehen. Unter Verwendung des gleichen Detektors und Optik für Weißlicht- und Fluoreszenzbilder kann perfekte Erkennung dieser beiden Bilder erhalten werden. Parallaxen zwischen dem Weißlichtbild des CCD und dem Fluoreszenzbild des Optikmoduls waren ein signifikantes Problem. Der CCD in dieser speziellen Ausführungsform enthält 88 560 Pixel im Vergleich zu 10 000 Fasern des UV-Moduls, was in höherer Gesamtbildauflösung resultiert. Die Objektivlinse auf dem Pentax-Kolonoskop hat bessere Abbildungseigenschaften als das UV-Modul. Die charakteristische Breite für die Linienspreizfunktion der Linse dieser Ausführungsform ist 200 µm im Vergleich zu 400 µm für das UV-Modul. Die Gesamtsteifigkeit des spektralen Endoskops wird nicht signifikant gegenüber einer einzelnen UV-Beleuchtungsfaser erhöht.

[0010] Die verwendeten diagnostischen Verfahren können auf dem Gesamtfluoreszenzintensitätsunterschied zwischen normaler Schleimhaut und Dysplasie basieren. Somit ist es in gewissen Anwendungen bevorzugt, die Fluoreszenzemission über das volle Band zwischen 400 bis 700 nm zu sammeln. Genaue Messungen können jedoch eine Punktkontaktvorrichtung verwenden, so dass diagnostische Information erhalten werden kann, indem Fluoreszenzproben bei einer Vielzahl von spezifischen Wellenlängen, wie zum Beispiel 460, 600 und 680 nm, genommen werden. Endoskopische Bildgebungsuntersuchungen mit dem elektronischen CCD-Endoskop können die Verwendung von Farb-CCDs beinhalten, welche die Fähigkeit haben, eine solche Information zur Verfügung zu stellen.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0011] [Fig. 1](#) ist eine schematische Ansicht eines endoskopischen Systems.

[0012] [Fig. 2](#) ist eine schematische Ansicht der Festphasenbildgebungsvorrichtung, wie zum Beispiel ein CCD, auf dem entfernten Ende eines Endoskops.

[0013] [Fig. 3](#) ist ein schematisches Diagramm eines endoskopischen Systems in Übereinstimmung mit der Erfindung.

[0014] [Fig. 4](#) zeigt die relativen Größen des Beleuchtungsbereiches und des Fluoreszenzbereiches.

[0015] [Fig. 5](#) ist ein schematisches Diagramm eines endoskopischen Systems.

[0016] [Fig. 6](#) ist eine graphische Veranschaulichung der mittleren Fluoreszenzintensität und des gemessenen und vorhergesagten Signal-Rausch-Verhältnisses (SNR).

[0017] [Fig. 7A](#) und [Fig. 7B](#) sind graphische Veranschaulichungen der Variation von Fluoreszenzintensität zwischen einem Mittel von 14 Einzelbildern und einem einzelnen Einzelbild für normale Kolonschleimhaut bzw. Adenom.

[0018] [Fig. 8](#) ist eine Veranschaulichung der Empfindlichkeit des Systems als eine Funktion des Detektionsgrenzwertes.

[0019] [Fig. 9](#) und [Fig. 10](#) zeigen Fluoreszenzintensitätsprofile von Gewebe mit Adenom und beinhalten die gleitenden Mittel- und prozentualen Verhältnisswerte.

[0020] [Fig. 11](#) ist die Fluoreszenzintensitätsauftragung, die Adenom-, normale und Intensitäts-Verhältnisswerte als eine Funktion des mit der Sonde auf die Stelle ausgeübten Drucks zeigt.

[0021] [Fig. 12](#) ist ein Endoskopsystem, welches den Unterschied in der Sammelgeometrie zwischen dem Endoskop und einer Kontaktsonde zeigt.

[0022] [Fig. 13](#) ist eine bevorzugte Ausführungsform eines Endoskopsystems in Übereinstimmung mit der Erfindung.

[0023] [Fig. 14A](#) ist eine bevorzugte Ausführungsform eines Fluoreszenzabbildungssystems in Übereinstimmung mit der Erfindung.

[0024] [Fig. 14B](#) veranschaulicht graphisch die Abhängigkeit von eingestrahelter Leistung auf die Eingangsleistung einer Lichtquelle, welche im Ultraviolettbereich des Spektrums emittiert.

[0025] [Fig. 14C](#) veranschaulicht ein Zeitdiagramm für ein Verfahren, welches Fluoreszenz- und Referenzbilder sammelt.

[0026] [Fig. 15](#) ist eine bevorzugte Ausführungsform eines Fluoreszenzabbildungssystems in Übereinstimmung mit der Erfindung.

Eingehende Beschreibung

[0027] Die Gleichungen, welche die Anzahl von Signalphotonen N_s beschreiben, gesammelt von einem gegebenen Pixel in einem Endoskop als eine Funktion des Separationsabstandes d und des radialen Abstandes p auf der Gewebeoberfläche, sowie das korrespondierende SNR, sind wie folgt:

$$N_s(p) = \frac{\eta_s \lambda_{em} g^2 T_f T_i T_0 f_p r_L^2 \epsilon_t(\lambda_{em}, \Delta\lambda) \tan^2 \theta_m P_0(\lambda_{ex}) \Delta t}{hc \quad 8(1 - \cos \theta_m) N_f d^2 \left(1 + \left(\frac{p}{d} \right)^2 \right)^{3,5}} \quad (1)$$

$$SNR = \frac{N_s}{\sqrt{N_s + \left(\frac{\sigma_e}{G} \right)^2}} \quad (2)$$

[0028] Die Geometrie und gewisse Symbole sind in [Fig. 1](#) definiert. Es sei auch bemerkt, dass die Emissionswellenlänge λ_{em} , Pixelarray-Größe $g \times g$, der faseroptische Übertragungseffizienz T_f , die Bandbreite der gefilterten Emissionswellenlänge $\Delta\lambda$, der Anteil der übertragenen Energie in diesem Wellenlängenbereich T_f , die gesamte Effizienz T_0 der Systemoptik, einschließlich Langpassfilter, Linse und Augenstück, einfallende Lichtenergie $P_0(\lambda_{ex})\Delta t$, h die Plancksche Konstante ist, c die Lichtgeschwindigkeit ist, f_p der Packungsanteil der Faserkerne ist, ϵ_t die Quanteneffizienz des Gewebes ist und N_f die Gesamtanzahl der auflösenden Elemente ist. Das Signalrauschverhältnis (SNR) ist eine Funktion von elektronischem Rauschen σ_e und Verstärkung G .

[0029] Kolorektaler Krebs bildet ein bedeutendes nationales Gesundheitsproblem. Die Häufigkeit und Sterblichkeit für Karzinome des Kolons und Rektums sind nach denen der Lunge in den Vereinigten Staaten an zweiter Stelle. Dies legt nahe, dass die vorliegenden Screeningverfahren zur Kontrolle der Ausbreitung von Kolonkrebs inadäquat sind und dass über einen langen Zeitraum bei der Detektion geringer Fortschritt aufgetreten ist. Die Fünfjahresüberlebensrate für alle Patienten, die diagnostiziert wurden, ist zwischen 35–49%. Kolorektalkrebs ist relativ unempfindlich für Bestrahlung und Chemotherapie, daher ist chirurgische Entfernung mit weiten Grenzen das einzige verlässliche Verfahren, um sein Wachstum zu verhindern. Diese Tumore breiten sich durch direkte Ausdehnung in benachbarte Strukturen aus und durch Metastase über die lymphatischen und Blutgefäße. Die gebräuchlichsten Stellen von metastatischer Ausbreitung in einer Reihenfolge sind regionale Lymphknoten, Leber, Lunge und Knochen.

[0030] Die Pathophysiologie dieser Erkrankung beginnt in der Epithelschicht der Kolonschleimhaut als dysplastische Veränderungen in den Kryptzellen. Dieses Gewebe kann durch ein Kolonoskop zugänglich gemacht werden und wenn prä malignante Läsionen in einem frühen Stadium detektiert werden, können sie für eine Biopsie entfernt werden. Von den meisten Karzinomen des Kolons und Rektums wird angenommen, dass sie aus sichtbaren Vorläuferläsionen entstehen, die adenomatöse Polypen genannt werden. Diese gutartigen Massen entstehen aus einer monoklonalen Expansion von Epithelzellen, die Unregelmäßigkeiten in der Größe und der Form des Kerns und Cytoplasmas entwickeln, eine Bedingung, die als Dysplasie bekannt ist. Diese Läsionen können durch Koloskopie durch ihre erhabene Architektur detektiert werden. Die medizinisch akzeptierte Adenomkarzinomsequenz schlägt vor, dass kolorektales Karzinom aus adenomatösem Gewebe entsteht, welches maligner Transformation unterliegt, wovon angenommen wird, dass sie durch einen Mehrschrittprozess auftritt, bei dem sich genetische Veränderungen akkumulieren. Die Gegenwart einer Vorläuferstufe bei der Entwicklung von CRC stellt ein Fenster für die Gelegenheit zur frühen Detektion und Entfernung dieser Läsionen dar, um weiterem Wachstum zu einem Karzinom vorzubeugen.

[0031] Das vorherrschende Screeningverfahren der Koloskopie beruht auf der Beobachtung von großen Strukturveränderungen in der Kolonschleimhaut, um adenomatöses Gewebe für die Biopsie zu lokalisieren. Diese Prozedur ist jedoch relativ unempfindlich gegenüber adenomatösem Gewebe, das flach ist. Patienten, bei denen ulcerative Kolitis (UC) diagnostiziert wurde, haben zum Beispiel ein hohes Risiko, ein Karzinom aus nichtpolypoiden Regionen von Gewebe zu entwickeln. Darüber hinaus haben neueste Studien geschlossen, dass einige Formen von Adenokarzinomen aus kleinen Superficialadenomen entstehen. Wegen diesem Risiko muss häufiges Screening durch Koloskopie mit multiplen Biopsien im Kolon ausgeführt werden. Die Wahrscheinlichkeit von Probenfehlern und Fehldiagnosen bei diesen Patienten macht diese Form der Überwachung jedoch hoch unzufriedenstellend. Die Überprüfung einer Gewebebiopsie ist auch zeitaufwendig und teuer. Darüber hinaus tritt beträchtliche Intra- und Interbeobachtervariation bei der Identifikation von Dysplasie auf. Ein Patient, der für Dysplasie als positiv diagnostiziert wurde, muss oftmals für weiteres Screening und mögliche chirurgische Entfernung des Kolons in die Klinik zurückkehren. Somit ist der derzeitige Zustand der endoskopischen Überwachung mit histologischer Interpretation eine mangelhafte Wissenschaft und verbesserte Methoden mit größerer Empfindlichkeit und Spezifität und geringerer Intra- und Inter-Beobachtervariation sind notwendig.

[0032] Das Verfahren der fluoreszenzendoskopischen Abbildung offenbart Merkmale, die die derzeitigen Screeningeinschränkungen mit Weißlichtendoskopie überwinden können. Dieses Verfahren ist empfindlich für die biochemischen Bestandteile und Mikroarchitektur unter der Gewebeoberfläche. Weiterhin können Fluoreszenzbilder in Kombination mit Endoskopen breite Bereiche scannen und können Gewebeoberflächen auf der Submillimeterskala auflösen. Wenn ausreichende Information durch die Fluoreszenz vorhanden ist, können Computer dazu verwendet werden, um die Gegenwart und den Ort von erkrankten Bereichen in Realzeit zu bestimmen. Es wurde gezeigt, dass Autofluoreszenz die Fähigkeit hat, zwischen normalem und neoplastischem menschlichem Gewebe zu unterscheiden. Die ersten Studien haben gezeigt, dass Einpunktfloreszenzspektren dazu verwendet werden können, um in vitro-Tumore von verschiedenen Typen von Gewebe zu bestimmen. Später wurden in vivo-Studien ausgeführt, um Neoplasie in Blase, Hirn, Kolon, Cervix, Speiseröhre, Lunge, oraler Schleimhaut und Haut zu detektieren. Zusätzlich wurde Fluoreszenz dazu verwendet, um normales Gewebe von erkranktem unter Verwendung von exogenen Mitteln, wie zum Beispiel Hämatoporphyrin-Derivat (HpD), zu unterscheiden.

[0033] Die volle Länge vom Rektum zum Blinddarm ist typischerweise 1,5 m. Histologisch ist die Schleimhaut die Schicht, die mit dem Lumen in Kontakt ist, und hat eine Dicke von etwa 400 µm. Das Epithel ist die äußerste Oberflächenschicht und besteht aus absorptiven Columnarzellen und in Abständen mucinherstellenden Becherzellen, die dazu dienen, Wasser zu reabsorbieren und zu schmieren. Diese Zellen unterliegen kontinuierlicher Fluktuation und werden durch sich schnell teilende Stammzellen an der Basis der Krypten ersetzt, wo

die ersten Anzeichen von Dysplasie beobachtet werden können. Die umgebende Lamina Propria enthält Blut und lymphatische Kapillaren, welche die sekretorischen, absorptiven und anderen hochaktiven Funktionen der Schleimhaut unterstützen. Sie besteht aus lose verbundenem Gewebe, insbesondere Kollagen, zusammen mit einer Vielzahl von Entzündungszellen, welche die Darmwand vor einer Invasion durch Mikroben schützen.

[0034] Die muskuläre Schleimhaut ist aus verschiedenen Schichten von glatten Muskelfasern zusammengesetzt, die sich kontrahieren, um Sekrete aus den Drüsenkrypten auszutreiben, Verstopfen zu verhindern und die Absorption zu erhöhen, indem der Kontakt zwischen Epithel und lumenalem Inhalt aufrecht erhalten wird. Die Submucosa enthält die größeren Blutgefäße, Lymphen und Nerven und ist umgeben von dichtem kollagenösem Bindegewebe, welches die Schleimhaut an die Muskularis Propria befestigt hält. Die Muskularis Propria enthält eine innere runde und äußere Längsmuskelschicht, die bei den unwillkürlichen peristaltischen Kontraktionen des Kolons zum Vorantreiben des Flusses der Fäkalmasse involviert sind. Die äußere Serosalschicht besteht aus Bindegewebe, welches die Hauptblutgefäße und Nerven enthält.

[0035] Adenomatöse Polypen sind erhöhte Vorsprünge von Schleimhaut, die unreife, schlecht differenzierte Epithelzellen mit Unregelmäßigkeiten in Größe und Form der Nuclei enthalten. Diese Läsionen sind gutartig, sie haben jedoch das Potenzial, sich zu Kolorektalkarzinomen umzuwandeln. Die verschiedenen morphologischen Typen beinhalten röhrenförmige, zottige und röhrenförmig-zottige Adenome. Obwohl alle Formen erhöht sind, kann jeder Typ entweder einen Stiel enthalten, was gestielt genannt wird, oder kann halbkugelig sein, was als sitzend bekannt ist. Das bösartige Potenzial von Polypen ist am größten bei der zottigen Form und am geringsten bei der röhrenförmigen. Die Wahrscheinlichkeit zur Karzinomentwicklung steigt auch mit der Größe des Polypen. Es gibt eine 1%ige Chance, einen invasiven Tumor bei einem Polypen von weniger als 1 cm im Durchmesser zu finden, 10% für Polypen zwischen 1 und 2 cm und 45% für Polypen größer als 2 cm. Die subzellulären Veränderungen, die mit diesen Polypen verknüpft sind, sind häufig histologisch identisch mit der Dysplasie, die bei ulcerativer Colitis gefunden wird.

[0036] Ergebnisse von molekularbiologischen Untersuchungen schlagen vor, dass die Schritte, die bei der bösartigen Veränderung von Adenom zu Karzinom beteiligt sind, die mutationelle Aktivierung eines Onkogens beinhalten, gekoppelt mit dem sequenziellen Verlust von Tumorsuppressorgenen. Es wurde auch gefunden, dass verschiedene Gene Mutationen erleiden müssen, bevor bösartige Tumore entstehen. Verschiedene spezifische genetische Veränderungen wurden während des Verfahrens der Tumorigenese identifiziert. Aktivierende Mutationen wurden in den Ras-Onkogenen von 50% von Kolorektalkarzinomen gefunden. Darüber hinaus wurden allelische Deletionen in Teilen von Chromosomen 5, 17 und 18 identifiziert, die den Verlust von Tumorsuppressorgenen beinhalten können.

[0037] Bei Patienten mit dem Vorhandensein von über 100 neoplastischen Polypen in ihrem Darm wird der Zustand, der familiäre adenomatöse Polyposis genannt wird, diagnostiziert. Diese Personen haben eine genetische Prädisposition zur Entwicklung einer Vielzahl von Polypen in ihrem Darm im Erwachsenenalter. Die meisten Patienten haben zwischen 500 und 2500 Polypen und im Mittel sind es etwa 100 Polypen. FAP ist eine seltene Erkrankung und trägt lediglich zu etwa 1% der Häufigkeit von CRC in der westlichen Welt bei. Punkte von Dysplasie werden üblicherweise bösartig und FAP-Patienten müssen ihre Därme in einem jungen Alter entfernt werden. Die Wahrscheinlichkeit für den Beginn von Darmkrebs für jemanden mit dieser Erkrankung ist 10% im Alter von 10 Jahren, 50% mit 20 Jahren und 100% im Alter von 30 Jahren. Histologisch sind die meisten der Polypen tubuläre Adenome mit einer hohen Wahrscheinlichkeit der bösartigen Umwandlung, und die Dysplasie, die mit FAP-Polypen verknüpft ist, ist identisch zu derjenigen, die bei sporadischen Polypen gefunden wird. Ein autosomal dominanter genetischer Defekt ist verantwortlich für die Entwicklung dieser Erkrankung.

[0038] Eine zweite Form von CRC, die mit familiärer Prädisposition verknüpft ist, ist erblicher kolorektaler Nichtpolyposis-Krebs (HNPCC). HNPCC ist definiert als solche Patienten mit zumindest drei Verwandten in zwei Generationen, die CRC haben, und mit zumindest einem Verwandten, der mit weniger als 50 Jahren diagnostiziert wurde. Diese Form ist sehr viel allgemeiner als FAP und trägt zu bis zu etwa 13% der Häufigkeiten von CRC in der westlichen Welt bei. HNPCC-Patienten haben keine Vielzahl von adenomatösen Polypen und es ist sehr schwierig, sie von sporadischen Fällen zu unterscheiden. Genetische Verknüpfung wurde zwischen dieser Erkrankung und anonymen Mikrosatellitmarkern auf Chromosom 2 gefunden.

[0039] Bei ulcerativer Colitis unterliegt die Schleimhaut cytologischen Veränderungen, die ohne das Vorhandensein von Polypenbildung in der Bildung von Dysplasie resultieren. Von diesen Veränderungen wird angenommen, dass sie mit wiederholten Episoden von chronischen Entzündungen und Reparatur des Kolonepithels verknüpft sind, und flache vereiterte Tumore mit schlecht definierten Grenzen sind üblich. Patienten, die

UC für über 8 Jahre haben, wird empfohlen, periodische Kolonoskopie mit zufällig genommenen Biopsien vorzunehmen. Dieses Screeningverfahren ist nicht effektiv, da weniger als 0,1 Prozent der Gesamtschleimhautoberfläche als Probe genommen wird. Es ist jedoch wichtig zu bemerken, dass lediglich 1% der neuen Fälle von CRC aus UC-Fällen entstehen.

[0040] UC ist eine entzündliche Störung der kolorektalen Schleimhaut mit unbekannter Ursache. Patienten mit UC haben ein erhöhtes Risiko, Dysplasie oder Krebs zu entwickeln. Erkennung dieses erhöhten Risikos hat in kolonoskopischen Überwachungsstrategien resultiert, die 7–10 Jahre nach der anfänglichen Präsentation von Symptomen beginnen. Darmüberwachungsstrategien beinhalten direkte makroskopische Betrachtung von Darmschleimhaut und Zugang zu Schleimhautbiopsien für mikroskopische Beurteilung von Dysplasie. Obwohl die pathologische Klassifizierung von Dysplasie 1983 standardisiert wurde, verbleiben Unterschiede und Inkonsistenzen bezüglich der Interpretation von Dysplasie.

[0041] Dysplasie ist typischerweise fokal. Trotz der Praxis, während der Überwachungskolonoskopie 12–20 Schleimhautbiopsien zu entnehmen, werden weniger als 1% der Darmoberfläche als Probe genommen, so dass die Wahrscheinlichkeit, kleine Punkte von Dysplasie zu verfehlen, hoch ist. Somit kann sich Krebs in Patienten entwickeln, ohne vorhergehende oder gleichzeitige Dysplasie. Obwohl bei allen Patienten nach der ersten Dekade der Erkrankung die prophylaktische Kolektomie die endgültige Lösung für das Krebsproblem bei UC wäre, sind Patienten mit minimalen oder geringen Symptomen der Erkrankung verständlicherweise abgeneigt, diese radikale Maßnahme durchzuführen. Kolonoskopische Überwachung mit histologischer Interpretation verbleibt eine mangelhafte Wissenschaft mit der Notwendigkeit von verbesserten Methodologien mit größerer Empfindlichkeit und Spezifität.

[0042] Weiterhin haben Studien vorgeschlagen, dass flache Dysplasie der Ursprung von sporadischem Darmkrebs sein kann, der nicht über die Adenom-Karzinom-Sequenz entsteht. Die morphologischen Charakteristiken von Adenomen, die oberflächlich in flacher, nichtpolypoider Schleimhaut proliferieren, wurden endoskopisch als kleine plättchenartige Läsionen mit vager Rötung oder Entfärbung beobachtet. In einer Vergleichsstudie wurden 33 solcher Läsionen als leicht erhöht mit einer rötlichen Oberfläche und einer zentralen Vertiefung beschrieben. Punkte von Krebs oder ernsthafte Atypien wurden in 25% der Läsionen mit einem Durchmesser von bis zu 4 mm, 40% der Läsionen, die zwischen 5 und 8 mm messen, und 80% der Läsionen mit einem Durchmesser zwischen 9 und 10 mm gefunden.

[0043] In der Praxis gibt es verschiedene Verfahren für das frühe Screening auf CRC, jedoch ist jedes in seiner Effektivität eingeschränkt. Das Ziel des Screenings ist, lokalisierte oberflächliche Massen in asymptomatischen Individuen zu finden.

[0044] Eine Sigmoidoskopie beinhaltet die klinische Anschauung des Rektums des Patienten und des Grimmdarms (sigmoid colon), entweder mit einer starren oder einer flexiblen Abbildungsvorrichtung. Diese Form des Screenings basiert auf der Erkenntnis, dass 60% von CRC innerhalb der letzten 25 cm des Darms auftreten. Diese Länge ist mit einem starren Sigmoidoskop erreichbar und ein flexibles kann bis zu 60 cm erreichen. Neuere Statistiken haben jedoch gezeigt, dass eine steigende Anzahl von Tumoren hinter der Reichweite dieser Vorrichtung gefunden wird. Ein Vorteil dieses Verfahrens ist, dass es ausgeführt werden kann, ohne dass der Patient einer Anästhesie unterliegt oder vorbereitet werden muss. Das ausführlichste Verfahren zum Screening dieser Erkrankung ist eine Kolonoskopie, wobei der Patient zunächst vorbereitet und sediert wird. Eine Kolonoskopie wird über die volle Länge des Darms eingesetzt, und die Schleimhautoberfläche wird durch den Mediziner unter Weißlicht auf Polypen und andere abnormale Massen betrachtet. Dieses Verfahren ist adäquat für die Identifikation von erhöhten Läsionen, aber flache Bereiche von Dysplasie bleiben unentdeckt.

[0045] Die Fluoreszenz von Gewebe tritt durch einen Prozess auf, bei dem die Elektronen eines biologischen Moleküls bei der Absorption von Laserlicht mit einer gegebenen Anregungswellenlänge λ_{ex} einen erhöhten Energiezustand annehmen. Der angeregte Zustand ist instabil und die Elektronen werden in den Grundzustand zurückkehren. Das meiste dieser Energie wird durch molekulare Kollisionen als Wärme verloren, aber ein kleiner Anteil der angeregten Elektronen unterliegt einer internen Konversion und strahlt bei längeren Emissionswellenlängen λ_{em} spontan Licht aus. Der Anteil der Moleküle, die Energie durch Fluoreszenz freisetzen, wird die Quanteneffizienz des Gewebes genannt, bezeichnet als ϵ_f . Die Fluoreszenzintensität hängt von dem Produkt der anfänglichen Bevölkerung des angeregten Zustands und der Gewebequanteneffizienz ab.

[0046] Die spektrale Linienform wird bestimmt durch die Fluoreszenzemission und -absorption von biochemischen Molekülen, die für die Zusammensetzung von Gewebe einzigartig sind. Die elektronischen Level des

Singulettzustands werden in Vibrations- und Rotationszustände aufgespalten, die in großen Molekülen aus kleinen Intervallen bestehen und auf Grund von molekularen Wechselwirkungen überlappen können. Die Elektronen können auf jedes der Vibrations-Rotations-Level des Grundzustandes fallen, und somit sind die Fluoreszenzspektren von Biomolekülen typischerweise breit. Dieser Mangel an Struktur in dem Spektrum schränkt die Menge an Information ein, die aus der Fluoreszenz erhalten werden kann. Die Gewebekomponenten, welche Fluoreszenz erzeugen, sind als Fluorophore bekannt, und endogene Chromophore beinhalten aromatische Aminosäuren, NADH, FAD und Porphyrine. Die lokale Umgebung kann einen großen Effekt auf die Fluoreszenzemission haben, die gequenchet oder in der Wellenlänge verschoben sein kann. Weitere Details bezüglich der Verwendung von Autofluoreszenz für die Abbildung von Gewebe kann in US-Patent Nrn. 4 193 142, 5 421 337, 5 452 723, 5 280 788 und 5 345 941 gefunden werden.

[0047] Ein erster Schritt, der bei der Bewertung der Verwendung von Fluoreszenz im Darm unternommen wurde war, die Existenz von optimalen Wellenlängen zu bestimmen, um zwischen normaler Darmschleimhaut und adenomatösen Polypen in vitro mit Einpunktmessungen auf einer Submillimeterskala zu unterscheiden. Zum Beispiel wurden die Fluoreszenzemissionen von 4 normalem Darm und 11 adenomatösen Polypen mit einem Spektrofluorimeter aufgezeichnet. Die verwendeten Anregungswellenlängen rangierten zwischen 250 bis 500 nm in 10 nm-Schritten und die Ergebnisse wurden in einem Array tabellenartig aufgetragen, der Anregungs-Emission-Matrix (EEM) genannt wurde. Ein Verhältnis wird für das mittlere EEM aus dem normalen Darm zu dem der adenomatösen Polypen genommen und es wurde gefunden, dass Anregung bei 330, 370 und 430 nm Fluoreszenzspektren erzeugen, die die größte Menge an diagnostischer Information enthalten.

[0048] Basierend auf dem Ergebnis dieser in vitro-Untersuchungen wurden klinische Versuche ausgeführt, um die Fähigkeit von Fluoreszenz zu bewerten, zwischen normalem, adenomatösem und hyperplastischem Darmgewebe bei 370 nm zu unterscheiden. In dieser Studie lieferte ein gepulster stickstoffgepumpter Farbstofflaser 370 nm Anregung durch eine optische Fasersonde mit einer Anregungs- und 6 Sammelfasern. Diese Sonde wurde durch den Biopsiekanal eines Kolonoskops eingesetzt und während der Koloskopie in Kontakt mit der Darmschleimhaut gebracht. Die Sonde besteht aus 6 individuellen 200 µm Sammelfasern, angeordnet in einem Bündel, mit einer Faser für die Anregung. Mit dieser Vorrichtung wurde Fluoreszenzemission von einem Gewebebereich von etwa 1 mm² detektiert. Die Fluoreszenzspektren wurden mit einem Spektrograph, gekoppelt an OMA, detektiert. Das Spektrum zeigt einen Unterschied bei 460 nm, wo die normale Schleimhaut etwa 6 mal größere Fluoreszenzintensität als ein Adenom erzeugt. Dieser Unterschied ist nahezu zweimal der, welcher in den in vitro-Studien gefunden wurde. Oberhalb 650 nm ist der Mittelwert der Adenome leicht größer als der des Normalen.

[0049] Von 20 Patienten wurden die Fluoreszenzintensitäten bei 460 und 680 nm auf einem Streudiagramm (scatter Plot) lokalisiert und eine gerade Linie wurde gezogen, um die Anzahl von Falschklassifizierungen im Vergleich zur Histologie zu minimieren. Die Entscheidungslinie klassifiziert korrekt 31 von 31 Adenomen, 3 von 4 hyperplastischen Polypen und 31 von 32 normalen Darmgewebeproben. Die Empfindlichkeit, Spezifität und positiven Vorhersagewerte der Technik für die Diagnose von Adenomen war 100%, 97% bzw. 94%. Da lediglich eine geringe Anzahl an hyperplastischen Polypen untersucht wurde, war es unklar, ob Adenom unter Verwendung von Fluoreszenz verlässlich von Hyperplasie unterschieden werden kann. Die beobachteten Unterschiede in der Fluoreszenz können eher aus Architekturunterschieden zwischen Polypen und der normalen Schleimhaut als von dysplastischen Veränderungen herrühren.

[0050] Der nächste Schritt war, die Daten dieser Studie zu verwenden, um vorausschauende Verfahren zur Bewertung der Leistung von Fluoreszenz zu Verfügung zu stellen. Die Daten wurden zufällig in zwei gleiche Sätze verteilt und der erste wurde dazu verwendet, um einen Algorithmus zu entwickeln, um den Gewebetyp basierend auf der Fluoreszenzintensität bei 460 nm und dem Verhältnis der Intensitäten bei 680 zu dem bei 600 nm zu unterscheiden. Eine Biopsie von Gewebe aus jedem Punkt wurde histologisch als adenomatös, hyperplastisch oder normal klassifiziert. Aus den vorausschauenden Entscheidungskriterien waren die Empfindlichkeit, Spezifität und positiven Vorhersagewerte des Algorithmus für die Diagnose von Adenomen 90%, 95% bzw. 90%.

[0051] Weitere Versuche wurden gemacht, um Fluoreszenz zu verwenden, um zwischen normaler Schleimhaut, adenomatösen Polypen und hyperplastischen Polypen in vivo bei 337 nm Anregung zu unterscheiden. Fluoreszenzspektren wurden an 86 normalen Darmstellen, 35 hyperplastischen Polypen und 49 adenomatösen Polypen mit einer einzelnen optischen Faser gemessen. Die Fluoreszenzemission zeigte Peaks bei 390 und 460 nm, die dem Kollagen in der Subschleimhaut zugeordnet wurden. Dieser Peak verringerte sich in der Intensität auch für normale Schleimhaut, hyperplastische Polypen bzw. Adenome. Es wurde gefunden, dass die Peakintensität der normalen Schleimhaut etwas weniger als das Zweifache derjenigen für Adenome ist. Un-

ter Verwendung einer MVLR-Analyse waren die Empfindlichkeit, Spezifität, positiven Vorhersagewerte und negativen Vorhersagewerte der Fluoreszenz, um zwischen adenomatösen und hyperplastischen Polypen zu unterscheiden, 86%, 77%, 86% bzw. 77%. Diese Studie schließt, dass die Unterschiede in der Fluoreszenz eher auf der Polypenmorphologie als auf den in den Polypen vorhandenen Fluorophoren begründet ist.

[0052] Andere Anregungswellenlängen wurden verwendet, um Fluoreszenz im Darm zu untersuchen. Ein He-Cd-Dauerlichtlaser wurde verwendet, um 325 nm Anregung zu liefern, um Fluoreszenzspektren von 35 normalen Schleimhäuten und 35 adenomatösen Polypen in vitro mit einer einzelnen optischen Faser durch ein OMA zu bestimmen. Die Peakintensität von normaler Schleimhaut trat bei 375 nm auf und diejenige von Adenom tauchte bei 450 nm auf. Eine multivariable lineare Regressionsanalyse (MVLR) ergab einen Satz von Treffern für jeden Datenpunkt, um ein diagnostisches Kriterium zu bestimmen. Fluoreszenzspektren von zusätzlichen 34 normalen, 16 adenomatösen und 14 hyperplastischen Stellen wurden genommen und unter Verwendung der bewährten Entscheidungskriterien vorausschauend analysiert. Die Empfindlichkeit, Spezifität und positiven Vorhersagewerte dieser Studie, um zwischen normalem und adenomatösem Gewebe zu unterscheiden, wurden zu 100%, 100% bzw. 94% gefunden. Zusätzlich wurden 15 von 16 hyperplastischen Polypen als normal eingeordnet, was die korrekte Diagnose ist, da hyperplastische Polypen aus einer Verdickung der Epithelschicht gebildet werden.

[0053] Die Fluoreszenz des Darms wurde auch mit 410 nm Anregung untersucht. Die Emission von 450–800 nm von 83 Biopsieproben, die während Kolonoskopie aus 45 Patienten entnommen wurden, wird mit einem Spektrofluorimeter gesammelt. Die Intensität der Emissionsbande von 460–530 nm nimmt von normaler zu Karzinomen zu adenomatöser Schleimhaut hin ab. Die Peakintensität bei 460 nm ist etwa 2,5 mal höher für normale Schleimhaut als für Adenome. Eine schrittweise Diskriminanzanalyse unter Verwendung von neun Variablen wurde an den Spektren ausgeführt. Die Ergebnisse, verglichen mit der Histologie zeigten, dass das Verfahren zwischen normaler Schleimhaut und Adenom mit einer Empfindlichkeit und Spezifität von 88,2% bzw. 95,2% unterscheidet. Die Fluoreszenzemission resultierte aus der Überlagerung von drei Banden, die bei etwa 475, 485 und 404 nm ihr Zentrum haben.

[0054] Somit wurden innerhalb der letzten 5 bis 10 Jahre intensive Untersuchungen durchgeführt, um die Verwendung von Gewebeautofluoreszenz abzuschätzen, um zwischen adenomatöser und normaler Schleimhaut zu unterscheiden. In vitro-Studien haben geschlossen, dass 330, 370 und 430 nm für die Anregung optimal sind. Vorläufige in vivo-Ergebnisse zeigen, dass Einzelpunktfluoreszenzdetektion eine Sensitivität, Spezifität und positiven Vorhersagewert von so hoch wie 90%, 95% bzw. 90% für eine solche Unterscheidung hat. Die Daten schlagen auch vor, dass die intrinsischen Fluorophore Kollagen, NADH und Porphyrin beinhalten. Hämoglobin ist ein absorbierender Chromophor. Um diese Technik geeignet für einen klinischen Ansatz zu machen, muss ein breiter Bereich von Fluoreszenzdetektion und Verarbeitung in Realzeit ausgeführt und an herkömmliche Weißlichtendoskopie angepasst werden. Diese Anforderungen erfordern die Entwicklung eines spektralen Abbildungsinstruments.

[0055] Fluoreszenzmikrofotografien von ungefärbten gefrorenen Abschnitten werden untersucht, um die morphologischen Strukturen in normaler Darmschleimhaut und adenomatösen Polypen, die Fluoreszenz emittieren, zu berücksichtigen. Die 351 und 364 nm-Linien von einem Argon-Innenlaser werden für die Fluoreszenzanregung verwendet und die Emission wird durch eine Serie von Barrierefiltern mit Cut-Off-Wellenlängen von 420, 475, 515, 570 und 610 nm gesammelt. Die Fluoreszenzintensität wird von einem einzelnen Beobachter halbquantitativ von 1+ bis 4+ bewertet. Bei normalem Gewebe wird die Fluoreszenz in dem Spektralband von 420 bis 700 nm von Kollagen in der Lamina Propria mit 3+ bewertet und die in der Submucosa mit 4+ bei der gleichen Emissionsbandbreite. Im Epithel wird geringfügige Fluoreszenz von absorbierenden Zellen und keine von Becherzellen beobachtet. Der mit H & E gefärbte Abschnitt identifiziert die Gewebezusammensetzung von normaler Schleimhaut. Das Fluoreszenzbild des seriell ungefärbten Abschnitts zeigt die Fluoreszenzstrukturen. Verschiedene Unterschiede werden auf dem Fluoreszenzbild des seriell ungefärbten Abschnitts beobachtet, welches die fluoreszierenden Strukturen zeigt.

[0056] Verschiedene Unterschiede werden in den Fluoreszenzmikroaufnahmen der adenomatösen Schleimhaut beobachtet. Als erstes sind weniger Collagenfasern in der Lamina Propria vorhanden, was in geringerer Fluoreszenzintensität aus dem Epithel her resultiert. Auch wird der Grad an Fluoreszenz, der im Cytoplasma der Kryptzellen beobachtet wird, mit 2+ aufgezeichnet, im Vergleich zu +/-, der bei normalen Krypten beobachtet wird. Schließlich ist eine große Anzahl von fluoreszierenden Granulen im Adenom vorhanden. Das Bild des H & E-gefärbten Abschnitts beinhaltet Kryptzellen eines adenomatösen Polypen. Die Fluoreszenz aus dem seriell ungefärbten Abschnitt zeigt einen beobachtbaren Gehalt an Fluoreszenz und die Anzahl an Eosinophilen in der Lamina Propria ist signifikant größer als die in der normalen Schleimhaut. Die Submucosa

des adenomatösen Polypen wird mit 4+ bewertet, was das gleiche ist wie normal.

[0057] Ein Verfahren wurde entwickelt, um die klinisch beobachtete Fluoreszenz im Hinblick auf ihren mikroskopischen Ursprung hin zu beschreiben. Dieses Verfahren kombiniert die intrinsische Fluoreszenz jeder Mikrostruktur mit ihrer Dichte als eine Funktion der Gewebetiefe und der optischen Trübung des einfallenden und zurückkehrenden Pfades. Die Konzentrationen jedes Fluorophoren aus dem klinischen Fluoreszenzspektrum können dann extrahiert werden. Nach diesem Verfahren beinhalten die Faktoren zur Beobachtung von größerer Fluoreszenzintensität für normale Schleimhaut im Vergleich zu der von Adenomen: (1) Die Subschleimhautfluoreszenz ist etwa 10 mal heller als die der darüber liegenden Schleimhaut. (2) Die Schleimhaut dämpft sowohl das einfallende Anregungslicht als auch die zurückkehrende Fluoreszenz. Wenn die Schleimhaut ausreichend dick ist, kann die darunter liegende Subschleimhaut nicht dazu beitragen, wenn sie jedoch dünn ist, wie bei normaler Schleimhaut, ist die Dämpfung kleiner, was in hellerer Gewebefluoreszenz resultiert. (3) Zusätzlich ist die Fluoreszenzintensität von Adenomen geringer als die von normaler Darmschleimhaut, wahrscheinlich wegen der dysplastischen Krypten, die dazu tendieren, Kollagen in der Lamina Propria zu ersetzen, welches der dominante Fluorophor ist. (4) Adenome zeigen aufgrund erhöhter hämoglobin-reicher Mikrogefäße größere Dämpfung von sowohl des 370 nm Anregungslichtes als auch der zurückkehrenden Fluoreszenz.

[0058] Ein multispektrales Abbildungssystem wurde entwickelt, welches Fluoreszenz gleichzeitig bei vier verschiedenen Emissionswellenlängen sammelt. In dieser Vorrichtung wird der Ausgang eines faseroptischen Endoskops durch 4 räumlich voneinander getrennte Interferenzfilter hindurchgeleitet. Die 4 Bilder werden auf Quadranten auf einem verstärkten CCD-Array mittels einstellbarer Segmente eines Mehrspiegelsystems angeordnet. Der CCD oder eine andere Abbildungsvorrichtung 40, wie in [Fig. 2](#) gezeigt, kann 30 000 Pixelelemente oder mehr haben. Die vier Wellenlängen werden ausgewählt, um den Kontrast in dem Fluoreszenzspektrum zwischen normalem und erkranktem Gewebe zu optimieren. Fluoreszenz von menschlicher Leichenaorta wird mit 337 nm angeregt und Emissionen von 400, 420, 450 und 480 nm werden ins Verhältnis gesetzt, um eine dimensionslose Kontrastfunktion zu erzeugen. Diese Funktion zeigt einen Wert für atherosklerotische Plaque an, der vier Mal größer ist als der für eine normale Arterie, und die Ergebnisse werden unter Verwendung einer Falschfarben-Überlagerung angezeigt. Dieses Instrument ist auch dazu fähig, zwischen Fluoreszenzspektren aus Rattentumor und umgebendem Muskel zu unterscheiden. Weitere Details bezüglich dieses Systems sind in Wang, T. D. et. al., „Real-time In Vivo Endoscopic Imaging of Fluorescence from Human Colonic Adenomas“, Proceedings of SPIE 1998, 3259, beschrieben.

[0059] Die Auflösung dieser Ausführung ist durch die Fasern in dem Abbildungsbündel eingeschränkt. Die Verwendung von 4 Fluoreszenzemissionswellenlängen stellt einen größeren Kontrast zwischen normalem und erkranktem Gewebe zur Verfügung und Flexibilität bei der Entwicklung des Krankheitserkennungsprozesses. Durch paralleles Auftrennen der Fluoreszenzemission wird das Signal jedoch um einen Faktor von 4 reduziert, was das SNR verringert. Auch müssen die 4 Spektralbilder bei verschiedenen Winkeln auf dem Detektor ausgerichtet werden, was für die Bilderfassung eine Herausforderung bedeutet. Weiterhin erhöht ein Bildverarbeitungsalgorithmus unter Verwendung von mehreren Bildern die Berechnungszeit und es ist nicht klar, dass die Fluoreszenz unabhängige Informationen in 4 Bändern enthält. Schließlich werden die Fluoreszenzbilder am nahen Ende des Endoskops erfasst, was bei der klinischen Verwendung zu Schwierigkeiten bei der Erfassung des Weißlichtbildes und bei der Navigation des Instrumentes führt.

[0060] Eine einfachere Version des multispektralen Abbildungssystems wurde entwickelt, welches lediglich 2 Emissionsbanden sammelt. Diese Ausführung spaltet die Fluoreszenzemission mit einem Strahlteiler auf zwei verstärkte CCD-Kameras auf. Ein Helium-Cadmium-Laser liefert Anregungslicht bei 442 nm über das Beleuchtungsbündel eines faseroptischen Bronchoskops. Die Fluoreszenzemission wird in 2 Banden gefiltert, eine zwischen 480 und 520 nm und die andere bei Wellenlängen von größer als 630 nm. Die zwei Spektralbilder werden ausgerichtet und die Intensitäten werden Punkt für Punkt ins Verhältnis gesetzt, um normales von erkranktem Gewebe zu unterscheiden, und ein Farbbild wird gebildet. Dieses Verfahren eliminiert die Effekte von Abstand und Winkel des Beleuchtungslichtes, sowie Gewebereflektionseigenschaften. Eine Farbkamera ist getrennt zur Beobachtung des Weißlichtbildes angebracht. Dieses System wird klinisch an 53 Patienten und 41 Freiwilligen getestet und die Ergebnisse werden mit herkömmlicher Weißlichtbronchoskopie an 328 Stellen verglichen. Die Empfindlichkeit bei Fluoreszenz ist 73%, was signifikant größer ist als die von 48%, die für Weißlicht bei der Detektion von Dysplasie und Karzinom in situ gefunden wird. Es wird gefunden, dass die beiden Verfahren die gleiche Spezifität von 94% haben.

[0061] In dem klinischen System werden die Weißlicht- und Fluoreszenzbilder mit einem elektronischen Doppelkanal-Kolonoskop (Pentax EC-3800TL) gesammelt. Dieses Model enthält zwei Biopsie-Kanäle mit Durchmesser von 3,8 bzw. 2,8 mm. Der äußere Durchmesser des Endoskops ist 12,8 mm und die Arbeitslänge ist

1,7 m. Das Gesichtsfeld der Multielementobjektivlinse hat einen Divergenzhalfwinkel von 60° mit einer Focustiefe im Bereich zwischen 5 und 100 mm. Die Weißlichtbeleuchtung wird von einer 300 W Kurzbogen-Xenonlampe erzeugt. Unter Verwendung des gleichen Detektors für sowohl Weißlicht als auch Fluoreszenzabbildung kann perfekte Erfassung erhalten werden. Dieses Merkmal ist ideal für die Erzeugung einer diagnostischen Überlagerung.

[0062] Eine Beleuchtungsprobe besteht aus einer optischen Faser mit 200 μm Kerndurchmesser mit $\text{NA} = 0,40$, gekoppelt an eine BK7-Glasmikrolinse ($F\# = -1$) mit 3 mm im Durchmesser. Die Beleuchtungssonde wird in einen der Instrumentenkanäle eingesetzt und die Spitze wird bündig mit dem distalen Ende des Kolonoskops platziert. Ein Modusmischer wird an die Anregungsfaser am nahen Ende angeklemt, um den Divergenzwinkel des Lichtes zu maximieren. Die Sonde wird an dem nahen Ende des Kolonoskops mit einem Luer-Lock befestigt, um Bewegung zu verhindern. Eine Leistung von 300 mW wird auf das Gewebe eingestrahlt. Die spektrale Antwort des CCD-Detektors (TI TC210) schneidet bei etwa 400 nm ab und ist bei den Anregungswellenlängen $\lambda_{\text{ex}} = 351$ und 364 nm vernachlässigbar, womit die Notwendigkeit für einen Langpassfilter, um Spiegelreflektion vom Anregungslicht zu blockieren, eliminiert wird. Die zwei Instrumentenkanäle ermöglichen, die optische Faserbeleuchtungs- und die Biopsiezangen gleichzeitig zu verwenden. [Fig. 1](#) zeigt eine schematische Ansicht des Endoskops **10** mit einem Abbildungsbündel **20**, Biopsieansicht des Endoskops **10** mit einem Abbildungsbündel **20**, Biopsiekanal **12**, Linse **18** und Beleuchtungsanschlüsse **14**. Das entfernte Ende der Vorrichtung wird in einem Abstand d von dem Gewebe positioniert. Ein Problem, das mit einem solchen System verknüpft ist, sind die Schatten, die durch das Beleuchtungssystem erzeugt werden. Ein wichtiges Merkmal der unten beschriebenen Erfindung ist ein Verfahren, um Schatten auf der Gewebeoberfläche **16** zu kompensieren.

[0063] Ein Fußschalter wird durch den Benutzer aktiviert, um das Anregungslicht zu blockieren, wenn das Weißlicht für die Beleuchtung verwendet wird, und umgekehrt, unter Verwendung eines Paares von computerkontrollierten Verschlüssen (Uniblit, VS14). Die Integrationszeit, um jedes Fluoreszenzbild aufzunehmen, ist 33 ms. Wie in [Fig. 3](#) gezeigt besteht das klinische Fluoreszenzabbildungssystem **40** aus einem Videoprozessor **48**, Computer **44**, Monitor **46**, Mavigraph **50**, sowie VCR **52**, Laser **42** und Kolonoskop **54**.

[0064] Ein elektronisches Kolonoskop **54** erfasst Photonen am entfernten Ende mit einem CCD-Detektor. Ein wichtiger Gesichtspunkt der vorliegenden Erfindung ist, dass die spektrale Antwort des Texas Instrument TC-210-CCD-Detektors ausreichend schnell unterhalb 400 nm abfällt, dass keine diffuse Reflektion von der UV-Anregung beobachtet wird. Tatsächlich wird offensichtlich keine spiegelnde Reflektion, die einige Größenordnungen höher in der Intensität als die diffuse Reflektion und Fluoreszenz ist, beobachtet. Ein weiterer Gesichtspunkt, der dieses System ermöglicht ist, dass der Detektor ausreichende Empfindlichkeit hat, um Fluoreszenz von Darmschleimhaut ohne die Verwendung eines Verstärkers zu erfassen. Da der Detektor sich am entfernten Ende befindet, wird die optische Übertragungseffizienz lediglich durch die Multielement-Objektivlinse bestimmt, die sich zwischen dem Detektor und dem Gewebe befindet. Ein weiteres signifikantes Merkmal dieser Ausführungsform der Erfindung ist, dass der gleiche Chip sowohl das Weißlicht als auch das Fluoreszenzbild erfasst, somit tritt perfekte Erfassung bei der Pseudo-Farbüberlagerung auf. Weiterhin sind keine Modifikationen an dem Kolonoskop notwendig, welche den Krankenhausarzt bei der Möglichkeit behindern, die Prozedur auszuführen.

[0065] Eine Einschränkung für dieses System ist die Bandbreitenselektivität und die spektrale Auflösung des Chips. Der TC 210 ist ein monochromer Detektor und sammelt Fluoreszenz über das volle sichtbare Spektrum. Es ist schwierig, einen Bandpassfilter vor dem CCD einzusetzen, da das Licht bei Winkeln von so hoch wie 60° gesammelt wird. Es existieren jedoch RGB-Detektoren, die Pixel enthalten, die empfindlich sind für rotes, grünes und blaues Licht, und Fluoreszenzbilder in drei Einzelbildern erzeugen können. Der Durchlassbereich ist jedoch durch den Hersteller des integrierten Schaltkreises des Abbildungsschaltkreises bestimmt. Es sei bemerkt, dass auch ein Ausblendungsmechanismus verwendet werden kann, der für die Verwendung von gepulsten Lasern als Anregungsquelle wünschenswert ist. Andere Anregungsquellen können CW-Laser beinhalten, sowie breit- oder schmalbandige Lichtquellen.

[0066] Das Blockdiagramm eines elektronischen Abbildungssystems, das mit Schalter **76** betrieben wird, ist in [Fig. 5](#) gezeigt. Ein Argon-Innenlaser **60** liefert UV-Licht durch einen Verschluss **62** an eine optische Quarzfaser, die an eine Mikrolinse gekoppelt ist, die sich in einem Instrumentenkanal des Kolonoskops befindet, während das Weißlicht **64** durch Verschluss **66** der Beleuchtungsfaser an Anschluss **70** geliefert wird. Das Paar Verschlüsse **62**, **66** wird mit einer digitalen Input/Output (I/O)-Karte **74** computergesteuert. Sowohl die Fluoreszenz- als auch Weißlichtbilder werden von dem CCD **72** an dem entfernten Ende erfasst. Eine Bildfangschaltung **78** digitalisiert die Fluoreszenz- und Weißlichtbilder sequentiell. Ein Hauptmikrocomputer führt den Bild-

verarbeitungsalgorithmus aus und zeigt die Pseudo-Farbüberlagerungen. Ein Mavigraph wird dazu verwendet, das Weißlichtbild mit Überlagerung in ein Format zu wandeln, welches durch den VCR aufgezeichnet werden kann.

[0067] Die Auftragung in [Fig. 6](#) zeigt die Fluoreszenzintensität aus dem Mittel von 14 Einzelbildern, gesammelt mit dem elektronischen Abbildungssystem. Eine Reihe von Pixeln von normaler Darmschleimhaut ist gezeigt. Ebenfalls aufgetragen ist das gemessene und das vorhergesagte SNR. Das SNR ist in der Mitte ungefähr 30 und fällt in der Nähe der Peripherie auf etwa 10. Somit erfüllt das vollständige Gesichtsfeld die Minimum SNR-Anforderung von 4 für die durch Instrumentenrauschen begrenzte Detektion, um zwischen normaler Darmschleimhaut und Adenomen zu unterscheiden.

[0068] Eine Bild-zu-Bild-Variation vom Mittel der Fluoreszenzbildintensitäten kann man in [Fig. 7A](#) und [Fig. 7B](#) sehen, welche die Unterschiede zwischen den Werten quer über eine Reihe von Pixeln bei einem Einzelbild im Vergleich zum Mittel von 14 Einzelbildern zeigen. Die Auftragung in [Fig. 7A](#) ist diejenige für die normale Probe, wie sie in [Fig. 6](#) gezeigt ist, und die Auftragung in [Fig. 7B](#) ist aus einer Probe Schleimhaut, welche ein Adenom im Zentrum enthält. Die Variation über den Mittelwert ist klein im Vergleich zu dem Unterschied der Fluoreszenzintensität zwischen normalem und adenomatösem Gewebe. Somit wird das Auftreten von falschen Positiven, die aus Pixel-zu-Pixel-Variation resultieren, klein.

[0069] Ein Streifenartefakt tritt in den Fluoreszenzbildern auf, die mit dem elektronischen Abbildungssystem genommen wurden. Dieses Artefakt entsteht, da das UV-Anregungslicht nicht blockiert wurde, während die CCD-Reihen elektronisch ausgelesen wurden, was unter normaler Weißlichtbeleuchtung mit einem rotierenden Rad mit räumlich voneinander getrenntem Filter ausgeführt wurde. Dieses Artefakt kann in der Verarbeitungssoftware der Bilddaten entfernt werden.

[0070] Es wird eine Untersuchung ausgeführt, um die Menge an UV-Licht zu bestimmen, die sicher auf die Darmschleimhaut geliefert werden kann. Weißlicht- und Fluoreszenzbilder werden sequentiell gesammelt. Fluoreszenzbilder von 30 Patienten mit 14 Darmadenomen und 6 hyperplastischen Polypen werden gesammelt. Schließlich werden die Fluoreszenzbilder parallel mit Einzelpunkt-EEM-Spektren gesammelt. Aus diesen Untersuchungen wird die Wirksamkeit der Realzeitimplementierung von Fluoreszenzbildsammlung, Verarbeitung und Anzeige mit Bewegung im Darm bewertet. Zusätzlich werden Artefaktquellen, die auf der Darmschleimhaut vorhanden sind, wie z. B. Schleim, Stuhl und Prep, bewertet. Auch macht die Anatomie des Darmes es wünschenswert, Bilder mit großen Einfallswinkeln zu sammeln, und die Effektivität des gleitenden Mittelwertalgorithmus mit diesen Einschränkungen wird bestimmt. Schließlich werden die Intensitäten von Fluoreszenzbildern mit denen von optischen Einzelpunkt-Faserproben verglichen.

[0071] Die verwendete Anregungsquelle ist ein Coherent Innova 328. Dieser Laser wird im UV mit 1 W klassifiziert und erfordert 60 A bei 208 V elektrische Leistung und 3 gal/min Wasser. Das Anregungslicht wird in eine optische Faservorrichtung eingekoppelt, die Längen der Faser von 12,5 m und 16,5 m beinhaltet, die erforderlich sind, um das Anregungslicht an das entfernte Ende des Kolonoskops zu liefern.

[0072] Als erstes muss die Anregungsfaser in das Kolonoskop eingebracht werden. Als nächstes wird ein Verfahren verwendet, um schnell zwischen Weißlicht- und Laserbeleuchtung umzuschalten. Schließlich muss ein Verfahren, um schnell und genau die Fluoreszenzergebnisse mit den Weißlichtbildern zu erfassen, implementiert werden.

[0073] Die Kolonoskopieprozeduren beinhalten Vorbereitung des Patienten mit 3 oz Phosphatsoda-Flotte, gemischt mit 4 oz Wasser. Es gibt keine messbare Fluoreszenz von der Vorbereitungsmischung bei Verwendung einer optischen Faserkontaktsonde auf Darmschleimhaut in vitro mit 370 nm Anregung.

[0074] Unter Verwendung des elektronischen Endoskops werden Weißlichtreflektion und Fluoreszenzbilder sequentiell in vivo während Routinekolonoskopie gesammelt. Das Weißlichtbild kann ein Gefäßmuster von Arterien in rot beinhalten und ein Konturbild einer Vene in blau. Flecken von spiegelnder Reflektion können in der unteren Hälfte des Bildes gesehen werden. Die Fluoreszenz von normaler Schleimhaut erscheint gleichförmig mit einem arteriellen Muster, das als reduzierte Fluoreszenzintensität eingestreut ist.

[0075] Dieser Effekt wird der Absorption von Fluoreszenzemission durch Hämoglobin zugeordnet. Die Vene tritt in dem Fluoreszenzbild nicht auf und es gibt anscheinend keine Spiegelreflektion vom Anregungslicht. Das Beleuchtungsfeld bei Fluoreszenz ist leicht kleiner als das von Weißlicht, wie in [Fig. 4](#) gezeigt.

[0076] Ein Beispiel veranschaulicht das Verfahren der Bildsammlung, Verarbeitung und Bewertung von adenomatösen Polypen. Ein endoskopisches Weißlicht-Bild, aufgenommen von einem sporadischen Polypen, der sich im Rektum befindet, zeigt einen Polypen mit sichtbaren Architekturmerkmalen von etwa 5 mm im Durchmesser, der sich in der unteren Hälfte des Bildes in der Nähe der Mitte befindet. In dem rohen Fluoreszenzbild erscheint das Adenom als ein Bereich von reduzierter Intensität, welcher einen helleren Zentralbereich umgibt.

[0077] Dieses Bild wird mit seinem eigenen gleitenden Mittelwertbild ins Verhältnis gesetzt und mit 100 multipliziert, um das prozentuale Verhältnisbild zu erzeugen. Grenzwerte auf den verarbeiteten Fluoreszenzbildern, genommen bei 60%, 75% und 90%, werden dazu verwendet, um die Konturlinien zu bestimmen, welche Bereiche von Schleimhaut mit verschiedenen Wahrscheinlichkeiten, Dysplasie zu enthalten, definieren. Die Konturen werden dann in Pseudofarbe gefüllt, um Bereiche von Gewebe hervorzuheben, die für die Biopsie vorgesehen werden. Die Pseudofarben rot, grün und blau bezeichnen Bereiche auf dem Weißlichtbild, die hohe, mittlere bzw. geringe Wahrscheinlichkeit haben. Bei der Histologie wird gefunden, dass der Polyp adenomatös ist.

[0078] Überlagerungsbereiche, die Erkrankung anzeigen, beinhalten einen an der Seite des Adenoms und die anderen beiden korrespondierend zu Schatten, die von Schleimhautfalten geworfen werden. Die Schatten erscheinen als Bereiche von reduzierter Intensität auf dem Fluoreszenzbild. Diese Effekte werden minimiert, indem das Endoskop normal auf die Schleimhautoberfläche gerichtet wird. Darüber hinaus verändern sich die Überlagerungsbereiche, die aus Schatten resultieren in Größe und Form, wenn sich der Winkel des Endoskops zu der Gewebeoberfläche ändert, während jene, die von dem Adenom erzeugt werden, in der Größe fixiert verbleiben.

[0079] Weißlicht- und Fluoreszenzbilder werden von einer Gesamtzahl von 30 Patienten gesammelt, die sich Routinekoloskopie unterzogen haben, was Bilder von 14 Adenomen und 5 hyperplastischen Polypen beinhaltet. Eine Biopsie wird von jedem Adenom und einer benachbarten normalen Stelle entnommen. Die Fluoreszenzbilder werden durch den gleitenden Mittelwertalgorithmus verarbeitet und die Empfindlichkeit der Erfassung wird als eine Funktion der Grenzwerte im Bereich von 55% bis 90% bestimmt. Die Ergebnisse der Empfindlichkeit sind in [Fig. 8](#) aufgetragen.

[0080] Autofluoreszenzbilder von Darmschleimhaut können endoskopisch in vivo gesammelt werden und können dazu verwendet werden, um Dysplasie in der Form von adenomatösen Polypen zu identifizieren und zu lokalisieren. Das SNR der Fluoreszenzbilder ist typischerweise oberhalb 30. Die Adenome werden korrekt durch den Fluoreszenzalgorithmus mit hoher Empfindlichkeit identifiziert. Wie in [Fig. 8](#) gezeigt, ist die Empfindlichkeit der in vivo-Erkennung, wenn die Bilder bei normalem Einfall gesammelt werden, vergleichbar zu der aus in vitro-Studien. Bei einem Grenzwert von 75% ist die Empfindlichkeit der Erfassung für Darmadenome 86%, im Vergleich zu der von 92% für die in vitro-Experimente. Um die Spezifität zu bestimmen, müssen die wahren Negativen und die falschen Positiven identifiziert werden. Wahre Negative (falsche Positive) korrespondieren jedoch zu Bereichen von normaler Schleimhaut, die bei Fluoreszenz als normal (erkrankt) gefunden wurde. Diese Ergebnisse werden nicht erhalten, da zusätzliche Biopsien mit zusätzlichem Risiko von Perforation einhergehen.

[0081] Weiterhin resultiert die Fluoreszenz aus dem gleitenden Mittelwertalgorithmus von hyperplastischen Polypen, die nicht dysplastisch sind, nicht in Bereichen von Erkrankung.

[0082] Im Vergleich der Bildgröße umfassen die in vivo-Bilder Bereiche von Schleimhaut in der Größe von $10 \times 10 \text{ cm}^2$, wohingegen die Proben der Darmschleimhaut in den in vitro-Studien lediglich $2 \times 2 \text{ cm}^2$ sind. In solchen großen Blickfeldern enthält der Darm viele Schleimhautfalten und diese Schichten von Gewebe blockieren das Anregungslicht davor, die dahinter befindliche normale Schleimhaut zu erreichen, wodurch Schatten erzeugt werden. Diese Falten waren in den in vitro-Untersuchungen nicht vorhanden.

[0083] Diagnostische Fehler bei dem verarbeiteten Fluoreszenzbild resultieren hauptsächlich aus diesen Schatten. Das verwendete Fluoreszenzverfahren basiert auf der Differenz in der Intensität zwischen normaler und dysplastischer Schleimhaut. Schatten erscheinen jedoch als Bereiche reduzierter Intensität, ohne das Dysplasie vorhanden ist. Dieses Artefakt kann durch die Fluoreszenzanregungsgeometrie erklärt werden. Die Fluoreszenzanregung wird durch eine Faser zur Verfügung gestellt, die sich der Bequemlichkeit halber im Biopsieanschluss befindet. Das Zentrum dieses Instrumentenkanals ist 8,3 mm vom Zentrum des CCD-Detektors entfernt. Auf der anderen Seite wird das Weißlichtbild von zwei Fasern beleuchtet, deren Zentren lediglich 3,8 mm von dem Detektor entfernt sind.

[0084] Somit sind die Schatten auf dem Weißlichtbild viel weniger ausgeprägt als jene bei der Fluoreszenz.

[0085] Die Fluoreszenztechnik verwendet eine einzelne Fluoreszenzemissionsbande zur Detektion von Adenomen. Dieses Verfahren arbeitet gut in vitro, wenn das Kolonoskop mit normalem Einfall auf die Läsion platziert wird und keine Schleimhautfalten vorhanden sind. Während der klinischen Verwendung des Fluoreszenzprototyps jedoch wird der Blick aus dem Endoskop oftmals auf die Seite des Adenoms eingeschränkt. Da der Darm eine röhrenförmige Struktur ist, befinden sich einige Adenome anatomisch an Stellen, wo es nahezu unmöglich ist, das Kolonoskop mit normalem Einfall auf die Läsion zu orientieren.

[0086] Als ein Ergebnis kann eine Seite der Läsion möglicherweise nicht von normaler Darmschleimhaut umgeben sein. Eine weitere Situation ist die, dass die normale Schleimhaut weit davon entfernt ist, Fluoreszenzintensitäten zu erzeugen, die ausreichend höher sind als die des Adenoms.

[0087] Die Fluoreszenzintensitäten werden von den Rohbildern gemessen. Die normalisierten Intensitätswerte und die Intensitätsverhältnisse werden an drei Seiten innerhalb des Adenoms genommen (in Tabelle 3 bezeichnet als links, Mitte und rechts). Die Auftragung in [Fig. 9](#) enthält Fluoreszenzintensitätsprofile über das Adenom hinweg, welche die rohen Fluoreszenz- bzw. prozentualen Verhältniswerte darstellen. Das Adenom ist etwa 8 mm im Durchmesser. Bei Fluoreszenz befindet sich die Läsion zwischen den 11 mm- und den 19 mm-Markierungen auf der Abszisse, die durch die vertikalen Linien in der Nähe der x-Achse in [Fig. 9](#) gekennzeichnet sind. Die meisten der Adenome zeigen ein einzelnes Fluoreszenzintensitätsminimum in der Mitte der Läsion, das mittlere Verhältnis zwischen normalen und erkrankten Pixeln ist $1,8 \pm 0,5$ in der Mitte und $2,0 \pm 0,6$ bzw. $2,0 \pm 0,7$ bei den linken bzw. rechten Mittelpunkten. Das mittlere Intensitätsverhältnis an diesen Stellen ist $2,0 \pm 0,6$. Die Ergebnisse dieses Verfahrens zeigen, dass die Differenzen zwischen normaler Darmschleimhaut und Adenomen für in vivo-Fluoreszenzbilder sehr ähnlich sind wie jene in vitro.

[0088] Ähnlich werden die Fluoreszenzintensitäten von den rohen Bildern für hyperplastische Polypen gemessen. Die normalisierten Intensitätswerte und die Intensitätsverhältnisse werden an drei Stellen innerhalb des Polypen genommen (in Tabelle 3 bezeichnet mit links, Mitte und rechts). Die Auftragung in [Fig. 10](#) zeigt die Fluoreszenzintensitätsprofile über den hyperplastischen Polypen hinweg, welche die rohen Fluoreszenz- bzw. prozentualen Verhältniswerte darstellen. Der hyperplastische Polyp ist ungefähr 5 mm im Durchmesser. Bei Fluoreszenz befindet sich die Läsion zwischen den 17 mm- und 22 mm-Markierungen auf der Abszisse, die durch die vertikalen Linien in der Nähe der x-Achse in [Fig. 10](#) gekennzeichnet sind. Die hyperplastischen Polypen zeigen eine ungefähr gleichförmige Fluoreszenzintensität quer über die Läsion, die kontinuierlich zu der normalen Darmschleimhaut ist. Das mittlere Verhältnis zwischen normalen und erkrankten Pixeln ist $1,1 \pm 0,1$ in der Mitte und $1,2 \pm 0,1$ bzw. $1,1 \pm 0,2$ an den linken bzw. rechten Mittelpunkten. Das mittlere Intensitätsverhältnis dieser Stellen ist $1,1 \pm 0,2$. Da dieser mittlere Verhältniswert nicht signifikant unterschiedlich ist von dem der normalen Schleimhaut ist es nicht überraschend, dass kein Bereich von Erkrankung mit diesem Intensitätsverfahren identifiziert werden konnte.

[0089] Bei den in vivo-Bildern wird das Gefäßmuster klar sowohl in den Weißlicht- als auch den Fluoreszenzbildern angezeigt. Die Gefäße waren bei den in vitro-Bildern nicht ersichtlich, wahrscheinlich, da die Blutzufuhr des lebenden Darms nicht mehr in Takt war. Das Hämoglobin im Blut ist ein wohlbekannter Absorber für Licht und erzeugt lineare Muster von schwacher Fluoreszenzintensität. Somit wurden die Intensitäten von den rohen Fluoreszenzbildern von Blutgefäßen gemessen. Wie in Tabelle 3 gezeigt ist das Intensitätsverhältnis der Blutgefäße $1,3 \pm 0,1$. Dieser Wert ist signifikant weniger als das Mittel von Adenomen, somit werden Blutgefäße als eine Quelle von Artefakt auf der Überlagerung nicht vorhanden sein. Weiterhin können Bildverarbeitungsverfahren verwendet werden, um die Blutgefäße aufgrund ihrer Form zu entfernen. In Tabelle 3 werden die Intensitätsverhältnisse für Adenome, hyperplastische Polypen und Blutgefäße zum Vergleich zusammengefasst.

[0090] Endoskopische Bilder und Einzelpunktspektren können beide wertvolle Information über Gewebearchitektur zur Verfügung stellen. Jedes Verfahren hat seine eigenen Vorteile und Nachteile. Das Endoskop sammelt Bilder und stellt räumliche Informationen mit Sub-Millimeter-Auflösung zur Verfügung. Die Fluoreszenzintensität zwischen normalem Gewebe und Adenomen kann mit dem gleichen Gesichtsfeld innerhalb eines Bruchteils von einem mm miteinander verglichen werden. Fluoreszenzbilder werden auch ferngesteuert gesammelt, somit ist der Druck auf das Gewebe gleichförmig über das Bildgebiet hinweg. Es ist jedoch schwierig, mit Fluoreszenz spektrale Informationen zu erhalten. Wegen der involvierten großen Bereiche kann die Fluoreszenzenergie bei jedem Pixel zu schwach werden, um ausreichendes SNR aufrecht zu erhalten, wenn nicht sehr hohe Anregungsleistung verwendet wird.

[0091] Auf der anderen Seite sammeln optische Einpunkt-Faserkontaktsonden Fluoreszenz lediglich von ei-

nem Bereich von ungefähr 1 mm im Durchmesser. Mit einem verstärkten optischen Multikanal-Analysator (OMA) können Spektren über einen breiten Bandbereich mit guter spektraler Auflösung und hohem SNR gemessen werden. Die Sonde muss jedoch an verschiedenen Stellen auf der Schleimhaut platziert werden, um Proben mit Unterschieden zwischen Normalem und Adenom zu nehmen. Typischerweise ist die gesammelt normale Schleimhaut einige cm von dem Adenom entfernt und Vergleiche der absoluten Intensität können durch biologische Variabilität über den Abstand beeinträchtigt werden.

[0092] Der Grad von Kontakt der Probe auf dem Polypen kann während der in vivo-Messungen variieren, da die Darmmuskulatur sich konstant kontrahiert und expandiert. Als ein Ergebnis wird Bewegung erzeugt, was eine Probenplatzierung schwierig macht. Das Adenom ist rund und schlüpfrig und die Bewegung der Darmwand macht vollständigen Kontakt mit der Oberfläche des Polypen sehr schwierig. Weiterhin ist das entfernte Ende der optischen Faser nicht flach, sondern es gibt eine 17° Schräge. Somit wird die Orientierung der abgescragten Seite den Grad an Kontakt ebenfalls beeinträchtigen.

[0093] Ergebnisse der Kolonoskopieprozedur zeigen, dass es sehr schwierig ist, die Probe für die 0,5 Sekunden auf dem Polypen zu platzieren, die erforderlich sind, um ein vollständiges EEM zu sammeln. Licht, welches bei verschiedenen Farben entkommt, welche die Anregungsquellen darstellen, wird auf der normalen Schleimhaut, welche das Adenom umgibt, beobachtet. Diese Beobachtung legt nahe, dass die Lieferung der Anregungsenergie auf den Polypen und das Sammeln von Fluoreszenzemission nicht vollständig ist. Probenkontakt wird durch die physiologische Bewegung der Schleimhaut und durch die Tatsache, dass die flache Sonde auf einer schlüpfrigen, halbkugelförmigen Oberfläche platziert wird, behindert. Kontakt ist kein Problem für Spektren, die an normalem Gewebe gesammelt werden, da diese Oberfläche flach ist.

[0094] Darüber hinaus können die Intensitäten von normaler Schleimhaut und Adenomen durch einen Unterschied im Druck, der auf jede Stelle ausgeübt wird, beeinträchtigt werden. Ein in vitro-Experiment wird an einer entnommenen Probe von Darmschleimhaut ausgeführt, die ein Adenom enthält. Die Fluoreszenzintensität in dem spektralen Bereich zwischen 400 und 700 nm wird als eine Funktion des durch die Sonde ausgeübten Druckes gemessen, die durch den Biopsiekanal eines Kolonoskops hindurch hineingebracht wird. Der Druck wird mit einer Waage gemessen. Wie in [Fig. 11](#) gezeigt steigt die Fluoreszenzintensität mit Druck an und das Intensitätsverhältnis verändert sich nicht, wenn gleicher Druck auf sowohl die normalen als auch die Adenomstellen ausgeübt wird. Dies ist jedoch bei der klinischen Erfassung von Spektren üblicherweise nicht der Fall. Die normale Schleimhaut ist relativ flach und Messungen können mit nahezu vollständigem Sondenkontakt mit ein paar Gramm Druck ausgeführt werden. Auf der anderen Seite kann der Druck auf den Polypen nicht gleich dem gemacht werden, wie dem auf die normale Stelle, da die Sonde abgleiten wird. Der Druck an der normalen Stelle wird auf 5 Gramm angenommen, während der auf dem Adenom als in der Nähe von Null angenommen wird. Somit kann der Unterschied im Druck, der auf die normale Schleimhaut und das Adenom ausgeübt wird, darin resultieren, dass das Intensitätsverhältnis von 2 auf 3 ansteigt, wie in [Fig. 11](#) gezeigt.

[0095] Weiterhin zeigt auf den aufgenommenen Bildern der Kolonoskopieprozeduren die normale Schleimhaut eine Einbuchtung an der Stelle, an welcher die Sonde während des Sammelns des Spektrums platziert wird. Diese Beobachtung bestätigt die Annahme, dass während der Datensammlung einige Gramm Druck auf normale Schleimhaut ausgeübt werden. Auf der anderen Seite sieht man, dass die Probe von dem Polypen abgleitet, wenn irgendein signifikanter Druck ausgeübt wird, was aus der Feuchtigkeit der Oberfläche resultiert. Somit ist der Druck auf Adenome signifikant gering.

[0096] Ein weiteres Verfahren wird in vitro ausgeführt, um das Fluoreszenzintensitätsverhältnis zwischen normaler Schleimhaut und Adenom, wie es durch Abbildung und Einzelpunkt gemessen wird, zu vergleichen. Weißlicht- und Fluoreszenzbilder einer entnommenen Probe Darmschleimhaut, enthaltend zwei Adenome, werden erhalten. Die Intensitäten werden von 7 normalen Stellen, direkt benachbart zu den Adenomen, sowohl durch Bildgebung als auch durch Einzelpunkt gemessen. Die Ergebnisse beinhalten die Intensitäten, die normalisiert wurden, sodass der Mittelwert für jedes System **100** ist.

[0097] Dieser Schritt erlaubt direkte Vergleiche mit jedem Punkt zu machen und ergibt, dass die Intensitäten innerhalb etwa 10% voneinander sind. Weiterhin rangieren die normalisierten Intensitätswerte von 68 bis 155 bei der Bildgebung und von 63 bis 136 beim Einzelpunkt. Somit hängen die gemessenen Intensitäten bei normaler Schleimhaut bei beiden Verfahren von der Entnahmestelle ab und können über einen Faktor von 2 variieren.

[0098] In Tabelle 4 werden die normalisierten Intensitäten und die Intensitätsverhältnisse für die zwei Adenome bei Bildgebung und Einzelpunkt bestimmt. Diese Werte werden bei den Zentren und den linken und rechten

Mittelpunkten der Adenome bestimmt. Für das linke Adenom ist das mittlere Intensitätsverhältnis 1,43 bei der Bildgebung und 1,54 bei Einzelpunkt. Für das rechte Adenom ist das mittlere Intensitätsverhältnis 1,52 bei Bildgebung und 1,72 bei Einzelpunkt. Diese Ergebnisse zeigen, dass es in vitro nur eine geringe Differenz in den Intensitätsverhältnissen zwischen Bildgebung und Einzelpunkt gibt.

[0099] Das Fluoreszenzintensitätsverhältnis wird aus Monte-Carlo-Simulationen berechnet, um das Fluoreszenzintensitätsverhältnis bei den gegebenen unterschiedlichen Anregungs- und Sammelgeometrien des Abbildungssystems und von Einzelpunkt zu bestimmen. In [Fig. 12](#) ist ein Diagramm für die Sammelgeometrie für das Endoskop **100** und die Einzelpunktsonde **102** gezeigt. Das Endoskop enthält eine Objektivlinse **104** mit 2,5 mm Durchmesser und befindet sich in Luft mit einem Abstand **20** von der Oberfläche des Gewebes. Diese Geometrie korrespondiert zu einem Sammelwinkel von 40° . Die Sonde enthält eine Quarzabschirmung **106**, die mit dem Gewebe **16** in Kontakt ist. Die optischen Fasern befinden sich durch dieses Schild **106** in einem Abstand von 2 mm von der Gewebeoberfläche und sammeln Licht bei $NA = 0,22$, was zu einem Sammelwinkel von $12,7^\circ$ korrespondiert. Die optischen Parameter von Darmschleimhaut für diese Anregungs- und Emissionswellenlängen sind in Tabelle 2 gezeigt.

[0100] Die verwendete Anregung in der Simulation ist ein unendlich dünner Strahl mit einem Divergenzwinkel von 0° . Die Fluoreszenzintensität an einem Punkt auf dem Gewebe durch einen gleichförmig dicken Anregungsstrahl kann aus der Fluoreszenz bestimmt werden, die aus einer Überlagerung von unendlich dünnen Anregungsstrahlen gesammelt wird, die inkrementell im Abstand zu dem Punkt, der zu messen ist, gesetzt werden. Dieses Ergebnis ist jedoch äquivalent zur Integration der Fluoreszenzintensität über das Gesichtsfeld. Der LSF des Gewebes fällt schnell innerhalb einiger mm ab, somit integriert die Simulation über einen 2 mm-Bereich innerhalb des Sammelwinkels, der in Tabelle 5 spezifiziert ist. Die Ergebnisse der Simulation sind bezüglich des Intensitätsverhältnisses zwischen dem gesammelten Licht auf der Gewebeoberfläche mit jenem der Anregung gezeigt. In Tabelle 5 ist das Intensitätsverhältnis zwischen normaler Darmschleimhaut und Adenomen 3,0 bzw. 2,9 für das Endoskop bzw. die Sonde. Das Intensitätsverhältnis ist für das Endoskop und die Sonde ähnlich, ein Ergebnis, das mit den in vitro-Untersuchungen konsistent ist. Das Intensitätsverhältnis für das Endoskop ist leicht höher als das der Sonde, was damit konsistent ist, dass der Sammelwinkel des Endoskops kleiner ist. Es ist wahrscheinlicher, dass Licht von der hoch fluoreszierenden Subschleimhaut den Detektor mit einem kleineren Sammelwinkel erreicht.

[0101] Es wird ein Modell entwickelt, um die Anzahl von Photonen zu quantifizieren, die durch das endoskopische Abbildungssystem über den Sichtbereich bei normalem Einfallswinkel gesammelt werden. Dies Ergebnis ist gültig sowohl für die Weißlichtreflektion als auch die Fluoreszenzbilder und kann sowohl auf die faser-optischen Abbildungsbündel als auch elektronische Abbildungssysteme angewendet werden. Die räumliche Verteilung der Beleuchtung und Emission profiliert sich im Zentrum und fällt in Richtung der Peripherie des Bildes ab. Wenn man es mit den Detektor-Rauschstatistiken kombiniert, kann auch das SNR des Bildes bestimmt werden. Diese Analyse zeigt, dass Abstand und optische Sammelgeometrie ein Profil erzeugen, in welchem das SNR an der Peripherie immer niedriger ist als im Zentrum. Dieser Parameter ist notwendig, um Algorithmen zur Identifizierung von Gewebeläsionen zu entwickeln. Es wird auch gefunden, dass die gesammelte Lichtintensität mit dem Quadrat des Abstands zwischen dem entfernten Ende des Endoskops und dem Gewebe abfällt. Weiterhin ist das Sammeln von Licht durch kohärente Abbildungsbündel durch die numerische Apertur der optischen Faser eingeschränkt. Dieses analytische Werkzeug kann dazu verwendet werden, um die optischen Parameter des Fluoreszenzabbildungssystems auszulegen und die Art der erforderlichen Lichtquelle zu identifizieren, um die Fluoreszenz anzuregen.

[0102] Die Verfahren, die für endoskopische Abbildungsmodelle entwickelt wurden, werden dazu verwendet, um die Anregungsquelle, Optiken und Detektoren, die zum Aufbau von zwei Fluoreszenzabbildungssystemen notwendig sind, zu bestimmen. Das erste Design besteht aus einem faseroptischen Kolonoskop, welches das Fluoreszenzbild am nahen Ende mit einer verstärkten CID-Kamera erfasst. Ein 400 nm Langpassfilter wird dazu verwendet, um das reflektierte Anregungslicht zu blockieren, eine optische Quarzfaser, die sich außen am Kolonoskop befindet, wird für die Bildanregung verwendet. Das zweite Design ist eine Modifikation des ersten, um den Anforderungen für klinische Verwendung Rechnung zu tragen. Dieses System verwendet ein elektronisches Kolonoskop mit doppelten Instrumentenkanälen und erfasst Fluoreszenzbilder am entfernten Ende. Der Cutoff bei der spektralen Empfindlichkeit des CCD-Detektors unterhalb von 400 nm wird dazu verwendet, um das reflektierte Anregungslicht zu vermeiden. Eine Beleuchtungssonde mit einer optischen Hoch-NA-Quarzfaser wird an eine Mikrolinse gekoppelt und in einen Instrumentenkanal zur Bildanregung eingesetzt. In beiden Systemen ist die Anregungsquelle ein Argon-Ionenlaser, der etwa 300 mW bei $\lambda_{ex} = 351$ und 364 nm liefert, und ein Mikrocomputer mit einer Bildfangschaltung wird dazu verwendet, um die diagnostischen Bilder zu gewinnen, zu verarbeiten und anzuzeigen.

[0103] Autofluoreszenzbilder von menschlichen Darmadenomen werden mit dem faseroptischen System mit hohem SNR in vitro gesammelt. Für großflächige Überwachung der Darmwand müssen Bereiche der Schleimhaut in der Größe von 100 mm² beleuchtet werden. Weiterhin werden endoskopische Bilder ferngesteuert gesammelt und die gesammelte Intensität fällt mit dem Abstand d im Quadrat. Zuvor wurden Fluoreszenzspektren von Kontaktproben gesammelt, die einen Bereich von etwa 1 mm² beleuchten. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass Anregungsquellen, Optiken und Detektoren, die in dieser Ausführung verwendet werden, Autofluoreszenzbilder mit ausreichendem SNR sammeln können, um zwischen normaler Darmschleimhaut und Adenomen zu unterscheiden. In dem faseroptischen System wird ein SNR von über 30 erreicht, was die minimale SNR-Anforderung von 7 überschreitet.

[0104] Fluoreszenzbilder werden dann aus Proben von entnommener Darmschleimhaut in vitro gesammelt, um das Potential der Verwendung dieser Technik für großflächige Überwachung von Dysplasie zu bewerten. Kolektomie-Proben von drei Patienten mit familiärer adenomatöser Polyposis enthaltend polypoide und nicht-polypoide Adenome werden untersucht. Jedes Rohbild wird auf Unterschiede in Abstand und Instrumentenlicht-Sammeleffizienz durch Normalisieren auf ein räumlich gemittelttes Bild korrigiert. Intensitätsgrenzwertbildung wird dann verwendet, um erkrankte Bereiche von Schleimhaut zu identifizieren. Die Empfindlichkeit und Spezifität zur Erfassung eines Bereiches von Dysplasie hängt von dem gewählten Grenzwert ab. Wenn der Grenzwert auf 75% der mittleren normalen Intensität gesetzt wird, wird eine Empfindlichkeit von 90% und eine Spezifität von 92% erreicht. Es wird gefunden, dass die mittlere Fluoreszenzintensität von normaler Schleimhaut um einen Faktor von $2,2 \pm 0,6$ größer als die der Adenome ist. Diese Ergebnisse zeigen das Potential dieser Technik, um Biopsiestellenauswahl zu lenken.

[0105] Die Ergebnisse aus den in vitro-Studien stellen Motivation zur Ausführung einer in vivo-Studie zur Verengung. Das elektronische System wird dazu verwendet, Autofluoreszenzbilder von Darmadenomen in vivo zu sammeln. In diesem System wird ebenfalls ein SNR von über 30 erreicht, was die minimale SNR-Anforderung von 4 überschreitet. Fluoreszenzbilder werden von 14 Adenomen und 6 hyperplastischen Polypen von 30 Patienten gesammelt, die sich Routinekolonoskopie unterzogen haben. Die Fluoreszenzbilder werden in 33 ms-Einzelbildern gesammelt und werden durch teilen des Rohfluoreszenzbildes durch ein gleitendes Mittelwertbild verarbeitet. Die verarbeiteten Bilder zeigen Bereiche von Schleimhaut mit einer Wahrscheinlichkeit, Dysplasie in der Form von Adenomen zu enthalten, wie durch Histologie verifiziert wird. Wenn der Grenzwert auf 75% der mittleren normalen Intensität gesetzt wird, wird eine Empfindlichkeit von 86% zur Erfassung von Adenomen erreicht und eine Spezifität von 100% für Hyperplastiken wird erhalten. Im Mittel ist das Verhältnis zwischen der Fluoreszenzintensität von normaler Schleimhaut zu der von Adenomen $2,0 \pm 0,6$ und zu der von hyperplastischen Polypen $1,1 \pm 0,2$. Die erkrankten Bereiche korrespondieren bei Fluoreszenz am Besten zu dem Adenom bei Weißlicht, wenn das Kolonoskop normalen Einfallswinkel hat. Bei höheren Winkeln gibt es größere Effekte von Schatten. Diese Ergebnisse zeigen, dass Dysplasie mit Fluoreszenzbildern in vivo identifiziert werden kann.

[0106] Bei den optischen Einzelpunkt-Faserkontaktsondenuntersuchungen wurde gefunden, dass das mittlere Intensitätsverhältnis zwischen der Fluoreszenz bei 460 nm von normaler Darmschleimhaut und Adenomen etwa 3 ist, während bei endoskopischer Abbildung dieses Verhältnis mit $2,0 \pm 0,6$ gemessen wurde. Direkter Vergleich von Fluoreszenzabbildung und Einzelpunktmessungen in vitro ergab, dass es einen geringen Unterschied zwischen dem Intensitätsverhältnis, das bei der Abbildung gemessen wurde, im Vergleich zu dem, welches bei Einzelpunkt gemessen wurde, gibt. Es gibt zwei Möglichkeiten, die für den Unterschied im Intensitätsverhältnis zwischen den beiden Verfahren verantwortlich sein können. Als erstes wird das Verhältnis von 3, welches durch das Einzelpunktverfahren gemessen wurde, in vivo ausgeführt. Ein geringeres Verhältnis kann in vitro aufgrund des Verlustes von Blutfluss resultiert haben, von dem bekannt ist, dass er Licht absorbiert.

[0107] Alternativ kann der Unterschied in den Verhältnissen aus Kontakt- und Druckartefakten resultieren. Videobänder der Kolonoskopieprozedur zeigen, dass es sehr schwierig ist, die Sonde auf dem Polypen für die 0,5 Sekunden zu platzieren, die erforderlich sind, um ein vollständiges EEM zu sammeln. Licht mit verschiedenen Farben, welches die Anregungsquellen darstellt, wird beobachtet, was anzeigt, dass die Lieferung von Anregungsenergie an den Polypen und das Sammeln von Fluoreszenzemission nicht vollständig ist. Sondenkontakt wird durch die physiologische Bewegung der Schleimhaut behindert und durch die Tatsache, dass eine flache Sonde auf einer schlüpfrigen, halbkugelförmigen Oberfläche platziert wird. Kontakt ist für Spektren, die an normaler Schleimhaut gesammelt werden, kein Problem, da diese Oberfläche flach ist. Weiterhin wird gefunden, dass erhöhter Druck die gesammelte Fluoreszenzintensität erhöht. Höhere Drücke werden auf die normale Schleimhaut im Vergleich zu demjenigen auf den Polypen ausgeübt. Man kann sehen, dass die Probe von dem Polypen abgeleitet, wenn irgendein signifikanter Druck ausgeübt wird. Beide Unterschiede in Kontakt und Druck in vivo resultieren in einem höheren Verhältnis zwischen normaler Schleimhaut und Adenom. Auf

der anderen Seite werden die Fluoreszenzbilder im entfernten Zustand gesammelt und die Druck- und Kontaktparameter sind für normale Schleimhaut und Adenom identisch.

[0108] Schließlich haben die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen zukünftige Richtungen aufgezeigt, um die Empfindlichkeit und die klinische Eignung von Fluoreszenz-Endoskop-Abbildung zu verbessern. Das Schattenartefakt kann durch Beleuchtung des Gewebes durch den zweiten Weißlichtanschluss hindurch reduziert werden. Diese Modifikation kann erreicht werden, indem die Glasfasern durch Quarz ersetzt werden, was erlaubt, sowohl Weiß- als auch Anregungslicht zu übertragen. Weiterhin können das Schattenartefakt, Einfallswinkel und Detektionsausbeute alle verbessert werden, indem Multispektralbilder, bestehend aus zwei oder mehr Fluoreszenzbildern, gesammelt werden. Schließlich kann das gleichzeitige Sammeln von EEM-Spektren dazu verwendet werden, neue Anregungswellenlängen zu identifizieren, die in höheren Intensitätskontrastverhältnissen resultieren.

[0109] Dysplastisches Gewebe zeigt einen Anstieg in roter Fluoreszenz, der erfasst werden kann, um die Empfindlichkeit der Erkrankungserkennung zu verbessern. Somit beinhaltet eine weitere Ausführungsform das Sammeln von mehreren Emissionswellenlängen. Ein Verfahren zum Sammeln von mehreren Fluoreszenzemissionswellenlängen ist, ein elektronisches Endoskop (z. B. Olympus, Model CF I OOTL) mit einem CCD-Detektor zu verwenden, der empfindlich in roten, grünen und blauen Bereichen (RGB) des sichtbaren Spektrums ist. Fluoreszenzbilder aus jedem RGB-Einzelbild können aufgenommen und verarbeitet werden, wodurch detailliertere Information für die Verwendung in einer diagnostischen Prozedur zur Verfügung gestellt wird. Weiterhin reduziert die Verwendung von spektraler Linienforminformation von Bildern bei unterschiedlichen Wellenlängen alle geometrischen Verzerrungen. Der TI TC244 hat eine Quanteneffizienz von 30% bei 640 nm und 15% bei 480 nm (TI Handbuch, 1994). Aus der Extrapolation der 370 nm-Abbildungsdaten und der EEM-Daten wird ein SNR von 10:1 bei rot und 50:1 bei blau erwartet.

[0110] Ausführung der Erkennung am entfernten Ende des elektronischen Kolonoskops hat viele praktische Vorteile. Zunächst kann der gleiche Detektor sowohl für Weißlicht- als auch Fluoreszenzabbildung verwendet werden. Ein einzelner Detektor resultiert nicht nur in perfekter Registrierung der beiden Bilder, sondern vermeidet auch die Notwendigkeit, Kameras auszutauschen, was mühsam sein kann. Als zweites resultieren weniger optische Elemente in einer Übertragungseffizienz von Fluoreszenzphotonen, die signifikant höher ist als die eines faseroptischen Abbildungsbündels. Drittens ermöglicht die Packungsgeometrie von CCD-Pixeln minimalen Verlust an Oberflächenbereich für die Erkennung, im Gegensatz zu faseroptischen Abbildungsbündeln, die einen hexagonalen Packungsbereich haben.

[0111] Während es Vorteile bei der Erkennung des Fluoreszenzbildes mit einem entfernt angeordneten CCD gibt, hat ein faseroptisches Abbildungsbündel mit Erkennung in der Nähe ebenfalls Vorteile. Die Spektralbanden des entfernten CCD sind auf die RGB-Antwort des entfernten Detektors beschränkt, während die Fluoreszenz, die durch ein faseroptisches Abbildungsbündel gesammelt wird, zu einer unbeschränkten Anzahl von Spektralbildern gefiltert werden kann. Auch kann die Erkennung des Fluoreszenzbildes in der Nähe die Erkennung mit einem gesteuerten Verstärker (gated intensifier) ermöglichen. Diese Vorrichtung ermöglicht die Verwendung eines gepulsten Lasers.

[0112] Die EEM-Studie stellt wertvolle Anleitung für neue Abbildungsstrategien zur Verfügung. Die Ergebnisse zeigen, dass Anregung in der Nähe von 410 nm geeignet ist. Der Kontrast zwischen normalen und Adenom-Geweben, der durch die blaue Fluoreszenz zur Verfügung gestellt wird, wird im Vergleich zu jenem, der mit unserer derzeitigen Anregungswellenlänge erhalten wird, stark erhöht (10:1 gegenüber 2:1). Zusätzlich ist die rote Fluoreszenz für Adenome recht ausgeprägt. Die Extrapolation der Schlussfolgerungen aus dem morphologischen Modell, welches unter Verwendung von $\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$ entwickelt wurde, auf diese neue Anregungswellenlänge schlägt vor, dass die blaue Fluoreszenz Information über sowohl das Zusammendrängen der Krypten als auch die Schleimhautdicke enthält und dass die rote Fluoreszenz Information über Kryptzelendysplasie enthält. Somit sollte das Sammeln von Bildern bei roten und blauen Emissionswellenlängen sowohl diagnostische Bilder mit hohem Kontrast als auch signifikante neue histologische Information zur Verfügung stellen. Zusätzlich kann das Verhältnisbild dazu verwendet werden, um Schatteneffekte auszunormalisieren. Die nächste Phase der Abbildungsuntersuchungen wird 410 nm Anregung verwenden. Ein Krypton-Innenlaser (Coherent Innova Model 302) wird 500 mW Leistung bei den beiden Linien 407 und 413 nm zur Verfügung stellen. Diese Menge an Leistung ist ausreichend, um große Fluoreszenzsignale sowohl bei roten als auch blauen Banden zu erhalten. Dieser Laser wird im BWH-Laser-Labor zusammen mit dem existierenden 365 nm Argon-Ionenlaser eingebaut.

[0113] Zusätzlich können mehrere Anregungswellenlängen verwendet werden. Ein Ansatz wäre, Anregung

aus den 407 und 413 nm-Linien eines Krypton-Innenlasers zu verwenden, um die rote Fluoreszenz anzuregen, und die 365- und 351-Lauflinien des Argon-Ionenlasers beizubehalten, um die blaue Fluoreszenz anzuregen. Zwei Hardware-Anordnungen beinhalten (1) ein Faserendoskop mit einem umschaltbaren Filterrad zwischen dem Scope und der Kamera und (2) ein Doppelchipendoskop. Ein solches System wurde z. B. von American Hospital, Inc., für Stereobetrachtung während Endoskopie entwickelt. Man kann eines der Fenster auf dem Chip mit einem spektralen Cutoff-Mechanismus modifizieren.

[0114] Die Zeitsteuerung des rot-empfindlichen Abbildungskanal kann mit dem Anregungslicht synchronisiert werden.

[0115] Das diffuse Reflektionsbild bei 407–413 nm kann untersucht werden, um Information über den Gewebähämoglobingehalt zu erhalten. Dieses Bild kann erhalten werden, indem ein Filter mit einer geeigneten Bandbreite auf dem rotierenden Rad vor der Weißlichtquelle eingebaut wird. Dieser Ansatz dient dazu, dieses Reflektionsbild mit den Fluoreszenzbildern in den roten und blauen Einzelbildern ins Verhältnis zu setzen. Um den erforderlichen Algorithmus zu entwickeln, um zu entscheiden, wie die gesammelte spektrale Information zu optimieren ist, kann eine intensive Kontaktsondenuntersuchung bei 410 nm Anregung ausgeführt werden.

[0116] Das unter Verwendung des breitbandigen Intensitätsalgorithmus mit 365 nm Anregung erhaltene Schattenartefakt kann durch Verwendung einer verbesserten Anregungsgeometrie stark reduziert werden. Derzeit wird Anregungslicht durch eine einzelne Quarzfaser, die sich in dem Biopsiekanal befindet, der sich 8,3 mm von dem CCD-Detektor befindet, geliefert. Die Verwendung eines einzelnen Beleuchtungsstrahls, der sich in einer großen Entfernung von dem CCD-Chip befindet, tendiert dazu, Schatten zu erhöhen. Im Gegensatz dazu werden bei den herkömmlichen Weißlichtbildern, die durch dieses Kolonoskop erzeugt werden, Schatten durch die Verwendung von zwei nahe beieinander liegenden Weißlicht-Beleuchtungsstrahlen minimiert, die symmetrisch auf gegenüberliegenden Seiten des CCD-Chips positioniert sind. Durch Ersetzen der Beleuchtungsfasern durch Quarzfasern kann das UV-Licht durch die zwei Weißlicht-Beleuchtungsanschlüsse geliefert werden, die lediglich 3,8 mm von dem CCD-Detektor entfernt sind. Dies auszuführen erfordert Modifizierung des Videoprozessors, um alternative Kopplung von Weißlicht und Laseranregung in die Beleuchtungsfasern zu ermöglichen.

[0117] Andere spektrale Endoskopverbesserungen können beinhalten: (i) Regulieren der Anregungslichtintensität auf der Gewebeoberfläche über Rückkopplungskontrolle. Dies stellt konstante Beleuchtung zur Verfügung, unabhängig von dem Beobachtungsabstand, und ist auch wichtig für die Patientensicherheit. (ii) Minimieren des Streifeneffekts der Fluoreszenzanregung auf der Weißlichtendoskop-Abbildungsanzeige, indem die Fluoreszenzanregung zeitlich so gesteuert wird, dass sie während den „leeren“ Zeiträume des Filterrades auftritt, welches in der Endoskop-Weißlichtquelle verwendet wird. Rückkopplungskontrolle des Anregungslichtes kann durch Messung der mittleren Intensität auf dem Fluoreszenzbild ermöglicht werden. Die Intensität dieses Mittelwertes wird dazu verwendet, um den Öffnungszeitraum auf dem Verschluss oder dem Filterrad zu modellieren. Der Streifeneffekt kann vollständig durch Einführen des identischen Filterrades für das Blockieren des Anregungslichtes entfernt werden, das dazu verwendet wird, um die RGB-Beleuchtung im Weißlichtmodus zu erzeugen.

[0118] Wie oben beschrieben wird ein großer Argon-Ionenlaser als eine Nah-LTV-Anregungsquelle für die Abbildungsuntersuchungen verwendet. Obwohl geeignet für diese Untersuchungen ist diese Lichtquelle teuer und sperrig und arbeitet lediglich bei wenigen diskreten Wellenlängen. Ein solches Lasersystem mit seinen speziellen elektrischen und Wasserkühlungs-Anforderungen kann nicht leicht bewegt werden, was eine Verwendung an mehreren Stellen verhindert. Alternative Anregungsquellen können in Betracht gezogen werden, was einen gepulsten Laser und eine Weißlichtquelle mit Filtern beinhaltet, die beide kompakt und transportabel sind.

[0119] Für Anwendungen, bei denen Nah-UV-Anregung geeignet ist, wird ein gepulster ND: YAG-Laser verwendet, da er dritte harmonische Strahlung bei 355 nm mit ausreichender Leistung für spektrale Abbildung zur Verfügung stellen kann. Sowohl in den in vitro- als auch in den in vivo-Studien wurde gutes SNR mit 300 mW Laserleistung erhalten, was zu 10 mJ Energie pro Einzelbild korrespondiert. Daher wird ein in der Frequenz verdreifachter ND: YAG-Laser mit einer Pulsdauer von 5–10 ns, betrieben bei 30 Hz, mit einer mittleren Leistung von 300 mW bei 355 nm geeignet sein. Unter Verwendung einer CCD-Kamera, die mit etwa 10 ns angesteuert wird, ermöglicht dieser kurze Anregungspuls gleichzeitige Aufnahme von Weißlicht- und Fluoreszenzbildern. Innerhalb dieses kurzen Zeitfensters ist der Weißlichthintergrund vernachlässigbar, was der Notwendigkeit, die Weißlichtbeleuchtung abzuschneiden, vorbeugt. Es gibt keine speziellen Leistungs- oder Wasseranforderungen für Laser dieser Art und ein Fluoreszenzendoskopsystem mit einem solchen Laser wird

leicht transportierbar sein.

[0120] Eine Quecksilberlampe kann ebenfalls als eine Anregungsquelle verwendet werden. Eine solche Quelle ist kompakt und leichtgewichtig und kann eine helle, schmalbandige Beleuchtung bei einer Anzahl von Anregungswellenlängen zur Verfügung stellen. Einsatz dieser Lichtquelle vereinfacht Systemdesign und reduziert Kosten, was ermöglicht, weniger teure Einheiten für die Verwendung an mehreren Stellen herzustellen. Das Schlüsselmerkmal ist, ob genug Licht in dem gewünschten Wellenlängenbereich in die Beleuchtungsfaser(n) eingekoppelt werden kann. Eine kommerzielle Weißlichtquelle mit einer 150 W Xenon-Lampe ist dazu fähig, so viel wie 80 mW Weißlicht am entfernten Ende zu liefern. Bei Verwendung einer 50 Durchlauf-Anregungsbandbreite kann etwa 20 mW Licht dazu verwendet werden, um Gewebefluoreszenz zu induzieren.

[0121] Bei ausgewählten Wellenlängen haben Quecksilberlampen 5 bis 10 Mal höhere Ausgangsleistungen als die von Xenon. Dies legt nahe, dass mit einer 500 W Quecksilberlampe mit einem relativ kleinen Faden zumindest 300 mW geeigneten Anregungslichtes am entfernten Ende der Beleuchtungsfaser erhältlich sein sollten und zum Sammeln von Fluoreszenzbildern von Darmgewebe mit guter Qualität ausreichend sein sollten. Zusätzlich kann zur weiteren Verbesserung des SNR entweder die Gesamtfläche der Beleuchtung reduziert oder Abbildungselemente übereinander gelagert werden. Eine Lampe und eine Stromversorgung können für diese Anwendung mit der geeigneten Helligkeit, Stabilität und minimaler elektrischer Interferenz ausgewählt werden.

[0122] Derzeit basiert das Bildverarbeitungsschema darauf, das Rohbild zu einem räumlich gemittelten Bild ins Verhältnis zu setzen und ein Grenzwertkriterium zur Klassifizierung eines Bereichs eines Gewebes als normal oder erkrankt anzuwenden. Das Mittelwertbildungsfenster und Detektionsgrenzwerte sind vorgegeben, unabhängig von der Polypengröße, Blickwinkel und Abstand. Diese vorherbestimmten Werte schränken den Bereich der Polypengrößen ein, die genau vermessen werden können. Verbesserte Bildverarbeitungs- und Grenzwertverfahren werden variable Fenstergrößen für die räumliche Mittelwertbildung und variable Grenzwerte verwenden. Information aus dem roh digitalisierten Bild über den Durchmesser der größten Läsion in dem Bild werden dazu verwendet, um diese Parameter zu bestimmen. Diese Veränderung der Fenstergröße als eine Annahme aus der Läsion im Abbildungsgebiet wird das Intensitätsverhältnis maximieren und die Leistung des Fluoreszenzverfahrens optimieren.

[0123] Abbildungsanalyseverfahren zur Extraktion von Informationen aus multivarianten Bildern können ebenfalls erforscht werden. Ein multivariantes Bild ist eine Sammlung von kongruenten Bildern des gleichen Objekts, gemessen mit unterschiedlichen Variablen, wie z. B. reflektierten Wellenlängen oder Fluoreszenz- oder Ramanbanden-Intensitäten. Viele Verfahren sind für die Analyse von multivarianten Bildern verfügbar und sie können für Bildanalyse angepasst werden. Im Allgemeinen werden drei Schritte verfolgt, Bildverarbeitung, Objektsegmentierung und Kontrastmessung. Die Bilder werden zunächst basierend auf der ausgewählten Operation verarbeitet, wie z. B. dem gleitenden Mittelwert-Fenster, dem Intensitätsunterschied oder Verhältnis. Das verarbeitete Bild wird dann basierend auf sowohl Frequenz- als auch Intensitätsinformation segmentiert. Dies kann entweder durch Grenzwerte, Schnell/Langsam-Abfall oder Bereichswachstum durchgeführt werden. Diese Verfahren können an die gleichzeitige Identifizierung und Anzeige einer Läsion, basierend auf einem Wahrscheinlichkeitsschema, gekoppelt werden.

[0124] Wenn Techniken zum Sammeln von multispektralen Bildern entwickelt werden und eine Datenbasis für solche Bilder aufgebaut wird, können mehrere fortschrittliche Bildanalyseverfahren, wie z. B. prinzipielle Komponentenanalyse und Regressionsanalyse, verwendet werden. Prinzipielle Komponentenanalyse nimmt nicht eine (a priori) bekannte Verteilung an, sondern verwendet stattdessen einen Satz von kalibrierten Daten, um Information über Strukturen zu extrahieren, die vormalignante Veränderungen zeigen. Die Regressions-technik basiert auf dem Prinzip des Aufbaus eines mathematischen Verhältnisses zwischen zwei Gruppen von Variablen, d. h. zwischen einer Anzahl von unabhängigen Variablen und einer oder mehreren abhängigen Variablen. Ein Beispiel ist eine logistische Regression, um spektrale Intensitäten in den Bildern mit Histopathologie von dysplastischen Läsionen zu korrelieren.

[0125] Die Entwicklung des Fluoreszenzabbildungsendoskops hat das Potential gezeigt, überwachende Kolonoskopie unter Verwendung von Fluoreszenz in weiten Bereichen auszuführen. Das Fluoreszenzbild kann in Realzeit analysiert werden und kann den Endoskopisten mit einer sofortigen Interpretation der Wahrscheinlichkeit von Dysplasie, die unter Verwendung eines zuvor validierten Algorithmus bestimmt wurde, versorgen. Zusätzlich kann die Fähigkeit, Biopsie zu lenken, zusammen mit der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Bei Patienten mit FAP kann Fluoreszenzabbildung dazu verwendet werden, um Schleimhautbiopsien in Bereiche zu führen, die endoskopisch normal ausschauen (nicht-polypoid), aber basierend auf ihren spektralen

Charakteristiken erhöhte Wahrscheinlichkeit haben können, dysplastisch zu sein. Histopatologische Bewertung von Schleimhautbiopsien werden mit spektralen Daten korreliert, um die Erkennung von „flacher“ Dysplasie zu bestätigen.

[0126] Das folgende Verfahren kann zur Erkennung der Fähigkeit des Fluoreszenzabbildungssystems, um Biopsie zu führen, verfolgt werden. Die vollständige Oberfläche der Darmwand wird sowohl mit Koloskopie als auch unter Verwendung von herausgeschnittenen Proben bei einer Kolektomie systematisch abgebildet und isolierte Bereiche, die als dysplastisch diagnostiziert wurden, werden für gezielte Biopsie ausgewählt. Zufälligen Bereichen, die als gutartig diagnostiziert wurden, können ebenfalls Proben entnommen werden und die spektrale Diagnose durch histologische Analyse bestätigt werden. Wiederum können die Wirkungen von Komplikationen, wie z. B. Entzündung, untersucht werden. Wenn einmal ein Abbildungsalgorithmus validiert wurde, kann er für die Erkennung von Dysplasie bei Patienten mit UC angepasst werden. Wie in dem Fall der Kontaktprobenuntersuchungen müssen diagnostische Algorithmen für UC dazu fähig sein, Patienten mit verschiedenen Graden an Hintergrundentzündung zu bewerten. Die gleichen Patientengruppen, die mit Kontaktproben EEMs untersucht werden, werden mit Fluoreszenzabbildung untersucht. Ein wichtiger möglicher Vorteil der großflächigen Fluoreszenzüberwachung ist, dass ein oder mehrere andernfalls zufällige Biopsien, die während herkömmlicher Überwachungskolonoskopie erhalten wurden, durch die Ergebnisse der Fluoreszenzabbildung zielgerichtet werden können. Diese Biopsien können von dem Rest der zufälligen Biopsien abgetrennt werden, um zu bewerten, ob Fluoreszenzabbildung die Ausbeute an Dysplasieerkennung gegenüber zufälliger Probenahme erhöhen kann.

[0127] Die Entwicklung von schnellem EEM und spektralen Abbildungssystemen stellt zwei sehr wichtige Vorteile bei der Instrumentierung dar. Die beiden Systeme sind komplementär. Das Abbildungssystem überblickt weite Bereiche der Schleimhaut in Realzeit und das EEM-System stellt vollständige spektrale Charakterisierung von gegebenen Stellen der Darmschleimhaut zur Verfügung. Die beiden Instrumente können gleichzeitig angewendet werden, wo dies geeignet ist. Die EEM-Sonde wird durch den zweiten Kanal eines Zweikanal-Koloskops platziert. Somit kann jedes System dazu verwendet werden, das andere zu verifizieren. Ebenfalls interessant ist die hier beigefügte Veröffentlichung, die mit „Real-Time in vivo endoscope imaging of fluorescence from human colonid adenomas“ betitelt ist.

[0128] Die folgende Tabelle vergleicht die Signalgröße, die für Weißlichtabbildung erwartet wird, Fluoreszenzabbildung, beobachtet mit dem Endoskop-CCD, sowie Fluoreszenzabbildung unter Verwendung des optischen Moduls, mit der verstärkten CID-Kamera. Die unten aufgezählten Parameter sind entweder der Herstellerspezifikation oder aus experimentellen Messungen entnommen.

Abbildungsvorrichtungsmodule	Definition	Pentax (Weißlicht)	Pentax (Fluoreszenz)	UV
λ_{ex} (nm)	Ex-Wellenlänge	-	356	356
λ_{em} (nm)	Em-Wellenlänge	-	460	460
$\Delta\lambda$ (nm)	Em-Bandbreite	400–700	400–700	400–700
P_0 (mW)	Leistung	1	300	300
Δt (s)	Integrationszeit	0,011	0,011	0,033
D (mm)	Abstand	20	20	20
Durchmesser (mm)	beleuchtete Fläche	70	70	28
θ_m (Grad)	max. Winkel	60	60	35
N_f (Pixel/Fasern)	Zahl	88 560	88 560	10 000
r_L Linse (mm)	Radius	1,25	1,25	0,3
ϵ_t	Gewebeeffizienz	1	5,00E–05	5,00E–05
f_0	Packungsanteil	1	1	0,6
T_f	% Durchlässigkeit Filter	1	1	0,8
T_i	% Durchlässigkeit Abbildung	1	1	0,9
T_0	% Durchlässigkeit Optiken	1	1	0,9
η_s	Photokathoden-Effizienz	0,2	0,2	0,1
g	Gruppenfaktor	1	1	1
N_s	Signalphotonen	$1,7 \times 10^5$	2 500	338
O_e	elektronisches Rauschen	55	55	50
G	Verstärkung	1	1	10 000
SNR	Signal/Rauschen	407	34	18

TABELLE 1

TABELLE 2

	Normal		Adenom	
λ (nm)	$\lambda_{\text{ex}} = 370$	$\lambda_{\text{em}} = 460$	$\lambda_{\text{ex}} = 370$	$\lambda_{\text{em}} = 460$
μ_a	0,9	0,45	2,1	1,1
μ_s	15,0	9,5	8,5	5,9
g	0,9	0,9	0,9	0,9
Schleimhautdicke (μm)	450	450	1 00	1 000
Quanteneffizienz (Schleimhaut)	0,1	0,1	0,8	0,8
Quanteneffizienz (Subschleimhaut)	0,1	0,1	0,8	0,8

TABELLE 3

	Adenom	hyperplastisch	Blutgefäße
Normalisierte Intensität			
Normal	100,00 \pm 27,5	100,0 \pm 8,1	100,00 \pm 16,1
Links	54,0 \pm 16,3	87,9 \pm 16,3	
Mitte	59,9 \pm 16,7	95,9 \pm 16,7	75,3 \pm 5,1
Rechts	54,4 \pm 17,7	98,1 \pm 17,7	
Intensitätsverhältnis (normal/Läsion)			
Mittelwert	2,0 \pm 0,6	1,1 \pm 0,2	1,3 \pm 0,1
Links	2,0 \pm 0,6	1,2 \pm 0,1	
Mitte	1,8 \pm 0,5	1,1 \pm 0,1	
Rechts	2,0 \pm 0,7	1,1 \pm 0,2	

TABELLE 4

	Abbildung		Einzelpunkt	
	Normalisierte Intensität	Intensitätsverhältnis	Normalisierte Intensität	Intensitätsverhältnis
Linkes Adenom				
Links	65	1,54	58	1,72
Mitte	74	1,35	74	1,35
Rechts	71	1,41	65	1,54
Mittelwert	70	1,43	66	1,54
Rechtes Adenom				
Links	61	1,64	57	1,75
Mitte	81	1,23	67	1,49
Rechts	59	1,69	52	1,92
Mittelwert	67	1,52	59	1,72

TABELLE 5

	Endoskop		Sonde	
	Normal	Adenom	Normal	Adenom
d (mm)	20	20	2	2
θ_m (deg)	4	4	12,7	12,7
n_0	1,0	1,0	1,4	1,4
n_1	1,4	1,4	1,4	1,4
370	2,8E-02	2,8E-02	4,2E-03	6,2E-04
460	8,8E-05	2,9E-05	2,8E-03	9,7E-04
Verhältnis	3,0		2,9	

[0129] **Fig. 13** zeigt eine schematische Skizze des Systems, das in der klinischen Praxis in einem Format gezeigt wurde, welches den Vergleich mit den unten beschriebenen verbesserten Systemen ermöglicht. Die gezeigte Ausführungsform verwendet eine Ultraviolett-Laserquelle **200**, geschaltet über einen Verschluss **202** und fokussiert mit einer Linse **204** in eine Quarzglasfasersonde **206**, eingesetzt in einen Biopsiekanal eines Endoskops **208**, um sie zu einer Gewebestelle **210** zu liefern, sodass sie das Gewebe über einen Bereich **212** beleuchten kann. Die UV-Beleuchtung kommt somit aus einer Apertur **214**, die von den eigenen Beleuchtungsanschlüssen **216** des Endoskops verschieden ist. Bei den in der Klinik verwendeten Doppelkanal-Pentax-Endoskopen lässt dieses Verfahren einen Biopsiekanal **218** frei.

[0130] Die Endoskopkamera **220** erhält ihre Weißlichtbeleuchtung durch ihre eigene faseroptische Beleuchtungseinrichtung **222** aus einer Breitband-Xenon-Bogenlampe **224** und Sammeloptiken **226**. Ein nicht standardisierter Verschluss **228** der Computer **230** -kontrolliert **232** ist, ist daran befestigt, um zu ermöglichen, dass die Weißlichtbeleuchtung abgeschaltet wird, während Fluoreszenzbilder genommen werden. Das Fluoreszenzbildsignal **234** wird durch den Videoprozessor **236** des Endoskops verarbeitet, um ein Standardvideosignal **238** zu erzeugen, das durch einen Bildsammler in Computer **230** digitalisiert wird. Das verarbeitete Bildsignal **240** mit seiner Information über den Zustand des beobachteten Gewebes wird an Monitor **242** gesendet. Die vollständige Diagnoseprozedur wird von einem Fußschalter **244** initiiert, der an dem Computer mit einem Kabel **246** befestigt ist.

[0131] **Fig. 14A** zeigt eine Auslegung für das Fluoreszenzabbildungssystem, welches die Tendenz des vorherigen Systems eliminiert, Schatten in dem Bild als Bereiche von Dysplasie zu identifizieren. Das verbesserte Design verwendet eine 100 W Quecksilber (Hg)-Bogenlampen-Lichtquelle **302**, dichroitische Spiegel **304** und **306**, Wellenlängenfilter **308** und **310** und rotierende Verschlüsse **312** und **314**, um präzise zeitgesteuerte Gewebebeleuchtungspulse in zwei getrennten Wellenlängenbändern zur Verfügung zu stellen. Das erste Wellenlängenband befindet sich im Zentrum der Nahultraviolett(365 nm)-Quecksilber-Resonanzlinie und wird dazu

verwendet, das UV-Autofluoreszenzbild zu erhalten. Das zweite Wellenlängenband ist am roten Ende des sichtbaren Spektrums und wird dazu verwendet, ein gleichzeitiges oder nahezu gleichzeitiges Reflektionsbild zum Zweck der Identifizierung von Schatten und dem Ausmaß des UV-Beleuchtungsfeldes zu erhalten.

[0132] Ein Reflektions(nicht-fluoreszierendes)-Bild, das mit einem endoskopischen Kamerasystem genommen wird, misst die Helligkeit der Gewebeoberfläche **316** in seinem Blickfeld. Zu dem Ausmaß, zu dem die Gewebeoberfläche ein lampertianischer (nicht-spiegelnder) Reflektor ist (allgemein der Fall) gibt dieses Bild den Abstand des Gewebes von einer einzelnen Beleuchtungsquelle an (oder einen gewichteten Abstand von mehreren Quellen). Wenn diese Beleuchtungsquellen nicht in direkter Sichtlinie der Kamera auf die Gewebequelle sind, werden Schatten darauf sein. Ein Reflektionsbild kann somit dazu verwendet werden, sowohl die UV-Beleuchtung **318** auf der Gewebeoberfläche als auch die Gegenwart von Schatten in dem Fluoreszenzbild zu messen, solange die UV-Beleuchtung und die sichtbare Beleuchtung von der gleichen Apertur **320** mit der gleichen Winkeldivergenz ausgehen. Es sei bemerkt, dass diese Bedingung entweder durch eine zweifarbige Beleuchtungsfaser **322**, die durch einen Biopsiekanal eines Endoskops **324** hindurchgeführt wird, oder durch die zweifarbige Beleuchtung, die durch das Beleuchtungsbündel **326** des Endoskops hindurchgeführt wird, erfüllt wird. Ein Verschluss **328** schaltet die normale Weißlichtbeleuchtung des Endoskops während die beiden diagnostischen Bilder erhalten werden ab. Das Verschließen des Verschlusses **328** unter Computerkontrolle **329** tritt zur gleichen Zeit auf, wie das Öffnen des Verschlusses **330** durch Kontrollleitung **331**. Diese Aktion ermöglicht, dass das zweifarbige Licht die Faser **322** erreicht und somit das Gewebe **316**.

[0133] Der Algorithmus für die Verwendung des sichtbaren Referenzbildes zusammen mit dem Fluoreszenzbild ist wie folgt. Die Videosignale **332** von der CCD-Kamera an der entfernten Spitze des Endoskops **324** werden durch den Videoprozessor **334** in ein Standard NTSC-Farbvideosignal **336** umgewandelt und an einen Videobildsammler in Computer **338** gesendet. Die beiden Bilder werden zunächst durch den Videoprozessor um den Gammafaktor, der auf das Videosignal angewendet wird, korrigiert, um sicher zu stellen, dass die durch den Bildsammler in dem Computer aufgenommenen digitalisierten Bilder lineare Messungen der Gewebeoberflächenhelligkeit sind. Dies wird in Realzeit durch die Bildsammlerinput-Nachschlagetabelle ausgeführt. Die beiden Bilder werden dann auf ihre Peaks normalisiert, was üblicherweise ein Bereich von nicht-dysplastischem Gewebe im sichtbaren Gebiet ist. Dies normalisiert die beiden Beleuchtungsfelder. Auf einer Pixel-zu-Pixel-Basis wird dann der Fluoreszenzbildwert durch den sichtbaren Referenzbildwert geteilt. Wenn das Verhältnis unterhalb eines vorherbestimmten Grenzwertes fällt (typischerweise ein Halb bis ein Drittel), dann stellt das Pixel in dem Bild einen Bereich von reduzierter Fluoreszenz dar, was für eine Dysplasie indikativ ist. Dieses Pixel kann dann in einem Ausgabe-Videosignal **340**, welches an einen Monitor **342** gesendet wird, in einen Falschfarbzustand versetzt werden, um dem Krankenhausarzt die Wahrscheinlichkeit von Dysplasie anzuzeigen. Eine vorherige Grenzwertanforderung für beide Bilder stellt sicher, dass das erhaltene Verhältnis signifikant ist und eliminiert Falschfarbausgabe in Bereichen von Schatten oder geringer Beleuchtung an den Kanten des Videogebiets. Diese vollständige Arbeitsweise tritt für jedes Drücken des Fußschalters **344** auf, der mit dem Computer über Kabel **346** verbunden ist.

[0134] In dem verbesserten Design werden sowohl der UV-Anregungslichtpuls als auch der sichtbare Referenzlichtpuls durch die gleiche optische Faser **322** in das Gewebe geliefert, die durch einen Biopsiekanal des Endoskops eingesetzt wird. Die Bedingung, dass die beiden Beleuchtungsquellen die gleiche Winkelverteilung haben, wird sicher gestellt durch das Design der Lichtsammelapparatur, die in [Fig. 14A](#) gezeigt ist. Eine einzelne Hg-Bogenlampe **302** wird als die Quelle für beide Wellenlängen verwendet. Ein dichroitischer Spiegel **304** reflektiert den UV-Teil des Spektrums und lässt den sichtbaren Anteil hindurch. Filter in jedem Pfad filtern weiterhin die Bandbreite der beiden Strahlen. Der UV-Filter **308** muss sichtbares Licht zu einem hohen Grad reflektieren, da die Effizienz der 460 nm-Gewebefluoreszenz lediglich etwa 0,1% ist. Der Filter **310** in dem roten Pfad ist weniger kritisch, jedoch sollte die gewählte Mittenwellenlänge Hämoglobinabsorptionsbanden vermeiden, um das beste Referenzbild zur Verfügung zu stellen. Es sei bemerkt, dass das Design der Strahlteileroptiken und Strahlkombinationsoptiken eine gerade Zahl von Reflektionen sowohl in den UV- als auch den sichtbaren Armen hat. Dies stellt sicher, dass jede Winkelabweichung der Ausgangsstrahlen aufgrund der Bewegung der Lampe zu einander passt. Es macht auch die Richtungen der Austrittsstrahlen invariant gegenüber Translationen und kleinen Rotationen der Strahlaufteilungs- und -rekombinationsoptiken als ein Ganzes

[0135] Bei dem verbesserten Quellendesign wird der Strom durch die Hg-Lampe **302** zu geeigneten Zeitpunkten verstärkt, um die Lampenausgabeleistung für die UV-Bestrahlung zu erhöhen. Dies ermöglicht, einen größeren Bereich des Gewebes in einem einzelnen Bild auf Dysplasie zu scannen. Die Daten in [Fig. 14B](#) zeigen, dass die UV-Ausgabeleistung einer 100 W Hg-Lampe bis zumindest einem Faktor von 3 über ihrer nominal angegebenen Leistung eine lineare Funktion ihrer Eingangsleistung ist. Da die Lampenentladung einen konstanten Spannungsabfall über den Bogen unabhängig vom Strom aufrecht erhält, ist die Lampenausgangsleistung

tung im Wesentlichen proportional zum Strom. Zumindest 50% der Leistung der Lampe müssen jedoch immer aufrecht erhalten werden, um das Quecksilber in der Dampfphase zu halten. Die Lampenstromversorgung **348** in dem verbesserten Fluoreszenzsystem verwendet einen DC-Stromabschnitt, um den Blindstrom aufrecht zu erhalten, und einen computerkontrollierten **350**, gepulsten Stromabschnitt, der schnell zu mehreren Konstant-Stromquellen umschalten kann, um die Ausgangsleistung der Lampe wie von dem Abbildungssystem gefordert zu variieren. Wenn der Blindstrom unterhalb der angegebenen Leistung liegt und die Strompulse auf einem ausreichend kleinen Arbeitsfaktor gehalten werden, dann kann der gepulste UV-Ausstoß kontinuierlich fortgesetzt werden.

[0136] Der rotierende Verschluss in dem UV-Pfad **312** und in dem Rotpfad **314** der Lichtquelle sind so ausgelegt, um gepulstes Beleuchtungslicht gemäß dem Zeitablaufdiagramm in [Fig. 14C](#) zur Verfügung zu stellen. Dieses Diagramm zeigt, wie das Fluoreszenzabbildungssystem mit einer monochromen Kamera verwendet wird, die eine Xenon-Bogenlampe **352** zur Beleuchtung und ein rotierendes Blau-Grün-Rot-Filterrad **354** verwendet, um ein Farbbild aus 3 Monochrombildern herzustellen. In dieser Art von System beleuchtet ein Puls mit blauem Licht zunächst das Gewebe für etwa 6 Millisekunden und das resultierende Gewebereflektionsbild wird für die nächsten 6 Millisekunden digitalisiert. Die Beleuchtung muss während des Auslesezeitraums abgeschaltet werden, da die Monochromkamera damit fortfährt, Photostrom in den Pixeln zu sammeln, wenn sie durch die Ausleseelektroniken linierverschoben werden. Beleuchtung während des Auslesens verursacht ein schmierendes Artefakt in dem Bild. Die UV-Beleuchtung wird während des normalen Blaubestrahlungszeitraums eingeschaltet und die Rotlichtbeleuchtung wird während des Rotbestrahlungszeitraums eingeschaltet. Der Grünbestrahlungszeitraum wird allgemein nicht verwendet, kann jedoch dazu verwendet werden, um ein zusätzliches Referenzbild oder ein zusätzliches UV-Fluoreszenzbild zu erhalten. Die Verschlüsse werden so gesteuert, dass das Videoaufnahmesystem unter Verwendung eines LM1881 Video Sync Separator-Schaltkreises einen geraden/ungeraden Einzelbildsynchronisationspuls **356** aus dem Standard-Komposit-Videooutputsignal entwickelt. Phasenregelkreise (PLL) **358** und **360** synchronisieren die Phase des Chopperrades auf dieses Signal, indem eine Spannung für ihre DC-Antriebsmotoren **362** und **364** variiert wird. Dieses Signal wird auch dazu verwendet, um den Strompulsierer **348** zu synchronisieren. In dem Schema von [Fig. 14A](#) sind die Chopperräder in kollimierten Teilen des Strahls gezeigt. In der Praxis werden diese Chopperräder in einem inneren Focuspunkt in den beiden Armen des Optikzuges (nicht gezeigt) platziert, um schnelle Anstiegs- und Abfallzeiten für den Lichtpuls zur Verfügung zu stellen.

[0137] Es sei bemerkt, dass das Doppelwellenlängen-Beleuchtungsverfahren auch mit Standard-Farb-CCD-Kamera-Endoskopen verwendet werden kann. In diesem Fall sind die UV-Lichtbeleuchtung und Rotlichtreferenzbeleuchtung gleichzeitig vorhanden. Die UV-induzierte Fluoreszenz (hauptsächlich bei 460 nm) wird dann durch die blau antwortenden Pixel in der CCD-Kamera erfasst und das Referenzreflektionsbild wird durch die rot antwortenden Pixel erfasst. Es sei bemerkt, dass das sichtbare blaue Licht noch aus der diagnostischen Beleuchtung entfernt werden muss, um den Kontrast des Fluoreszenzbildes nicht zu verringern. Die geringe Menge an roter Gewebefluoreszenz, die in dysplastischem Gewebe aufgrund der UV-Anregung gesehen werden kann, ist sehr viel geringer als die Menge der direkten roten Beleuchtung. Der geringe Anstieg bewirkt auch, dass das Fluoreszenz/Referenz-Verhältnis reduziert wird, was die gemessene Wahrscheinlichkeit für Dysplasie korrekt (leicht) erhöht.

[0138] [Fig. 15](#) zeigt eine bevorzugte Ausführungsform des Fluoreszenzabbildungssystems, in welches Doppelwellenlängen-Beleuchtungsfähigkeit sowie Weißlicht-Beleuchtungsfähigkeit in das Videoendoskopsystem selbst **400** eingebaut ist. Dies erfordert, dass das Beleuchtungsbündel **402** des Endoskops **404** bei UV-Wellenlängen durchlässig ist, was bei derzeitigen kommerziellen Systemen nicht üblicherweise der Fall ist. Ein solches Design erfüllt die Designanforderung, dass die UV-Anregung und sichtbare Referenzbeleuchtung von der gleichen Apertur oder Aperturen **406** ausgehen. Ein solches System wird für einen Betreiber leichter zu verwenden sein, da die Beleuchtungsfaser nicht in den Biopsiekanal **408** hinunter eingezogen werden muss und solche Kanäle für ihre Standardverwendungen frei bleiben. Die Gewebeoberfläche **410** wird über einen großen Bereich **412** mit weniger Schatten beleuchtet, da Doppelbeleuchtungsanschlüsse **406** Standard sind. Das Videosignal **414** wird durch das Endoskopsystem **416** verarbeitet, zu einem Standardsignal **416** formatiert und durch den Computer **420** verarbeitet. Das Ausgabevideosignal mit der Falschfarbenüberlagerung **422** wird an einen Monitor **424** gesendet, sodass der Klinikarzt dies in Realzeit sehen kann. Das diagnostische Beleuchtungssystem wird von einem Fußschalter **426** ausgelöst, der durch ein Kabel **428** an den Computer **420** angeschlossen ist, wobei die Lichtpulse durch Signalleitungen **430** und **432** an die Verschlüsse in der Lichtquelle gesteuert werden.

[0139] Während diese Erfindung insbesondere mit Bezugnahme auf ihre bevorzugten Ausführungsformen beschrieben wurde, wird der Fachmann verstehen, dass verschiedene Veränderungen in Form und Detail hier-

in vorgenommen werden können, ohne vom Umfang der Erfindung, wie sie in den anhängenden Ansprüchen definiert ist, abzuweichen.

Patentansprüche

1. Fluoreszenzabbildungssystem, aufweisend ein Endoskop, eine Lichtquelle, die an einen optischen Leiter ankoppelt, der sich durch das Endoskop hindurch erstreckt und einen einzelnen Abbildungssensor (**220**) an einem entfernten Ende des Endoskops angeordnet, um ein Fluoreszenzbild und ein Reflexbild von Gewebe zu detektieren, wobei die Lichtquelle eine erste Breitbandlichtquelle (**224**) und eine zweite schmalbandige Lichtquelle (**200**) aufweist, die Licht mit einer Wellenlänge in dem Bereich von 350 nm bis 420 nm emittiert, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Abbildungssystem weiterhin aufweist: einen Prozessor (**230**), der so eingerichtet ist, dass er das reflektierte Bild und das Fluoreszenzbild verarbeitet und um ein kompensiertes Fluoreszenzbild zu erzeugen.
2. Abbildungssystem aus Anspruch 1, weiterhin aufweisend eine Faseroptikvorrichtung, die optisch an die Lichtquelle gekoppelt ist.
3. Abbildungssystem aus Anspruch 1, weiterhin aufweisend einen Verschluss, der entlang eines optischen Pfades zwischen der Lichtquelle und einer optischen Faser (**222**), die sich durch das Endoskop hindurch erstreckt, positioniert ist.
4. Abbildungssystem aus Anspruch 1, wobei der Bildsensor (**220**) reduzierte Empfindlichkeit in einem ultravioletten Spektralbereich relativ zur Empfindlichkeit in einem sichtbaren Spektralbereich hat.
5. Abbildungssystem aus Anspruch 1, wobei der Bildsensor (**220**) einen Filter aufweist, der die Sensorempfindlichkeit unterhalb von 400 nm reduziert.
6. Abbildungssystem aus Anspruch 4, wobei die Sensorempfindlichkeit im ultravioletten Spektralbereich weniger als die Hälfte der Empfindlichkeit im sichtbaren Bereich ist.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

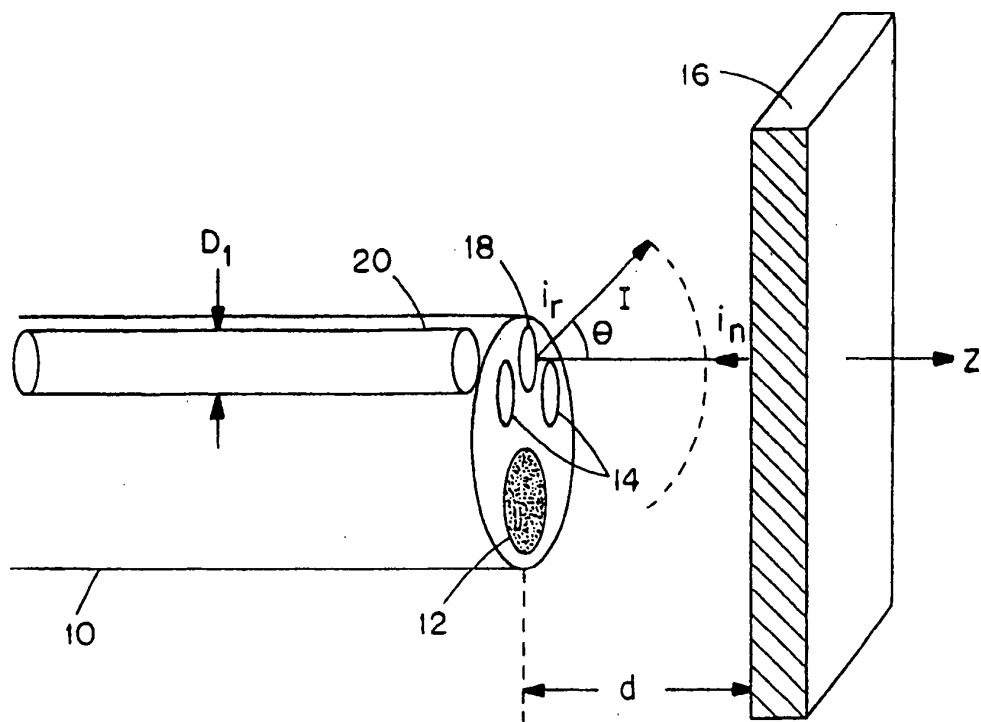


FIG. 1

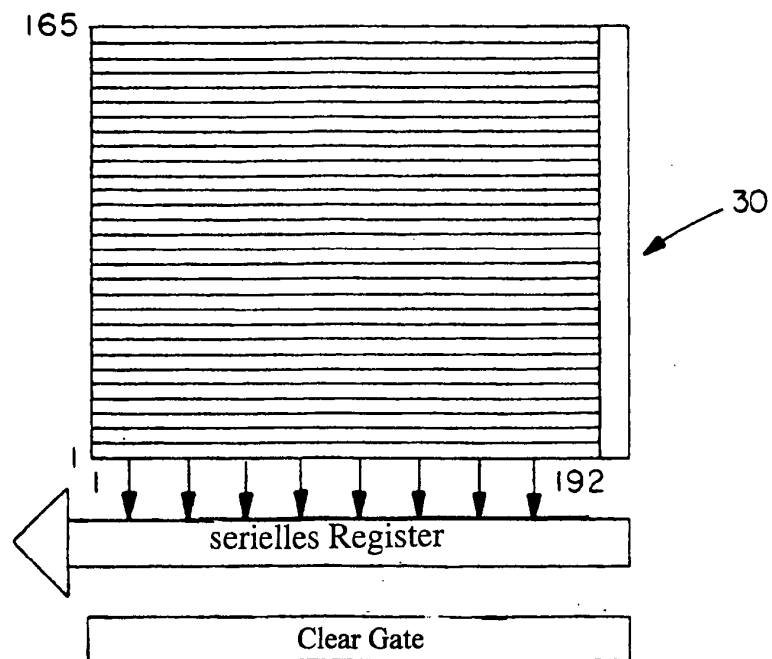


FIG. 2

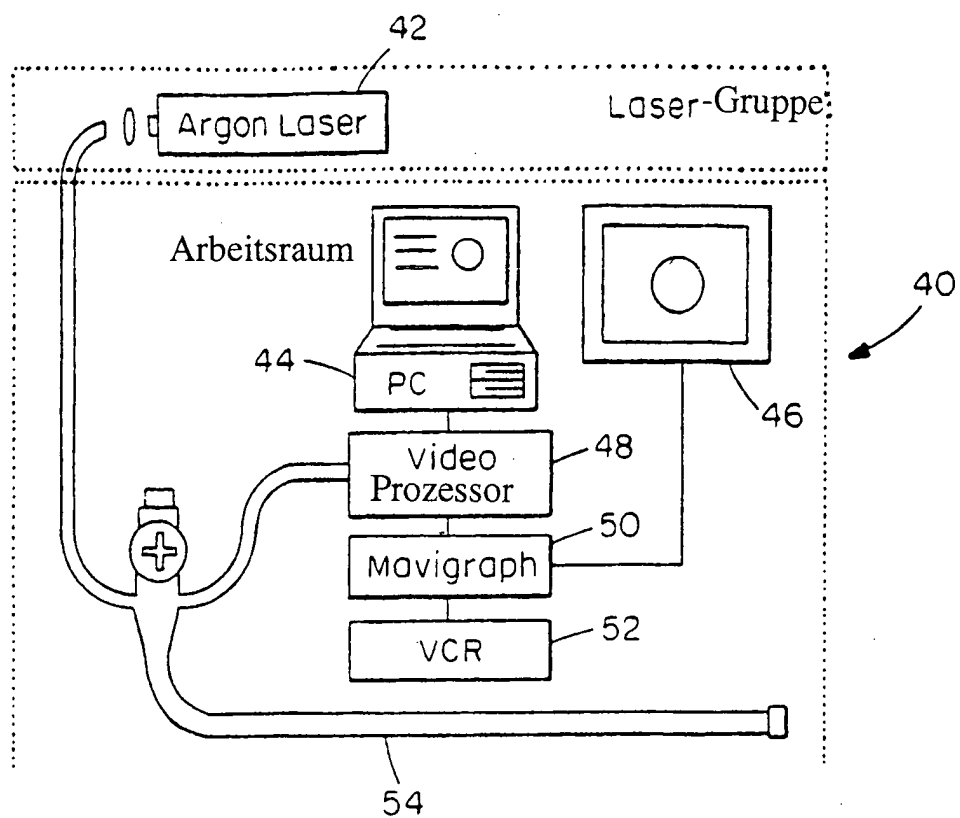


FIG. 3

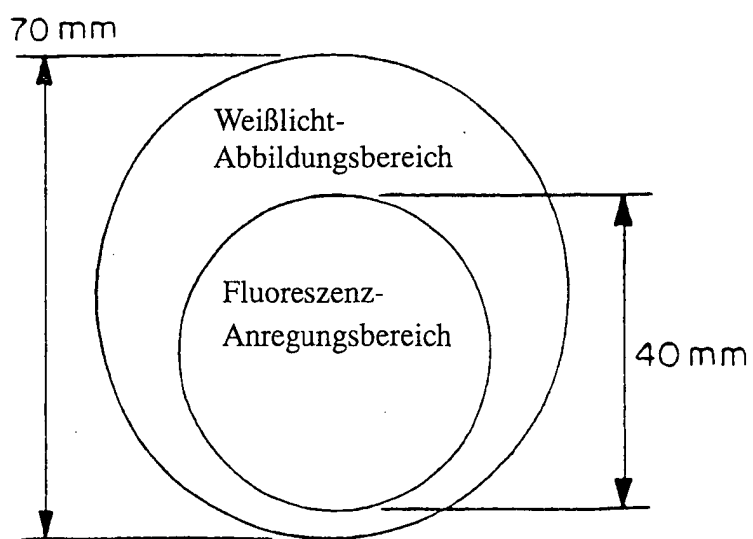


FIG. 4

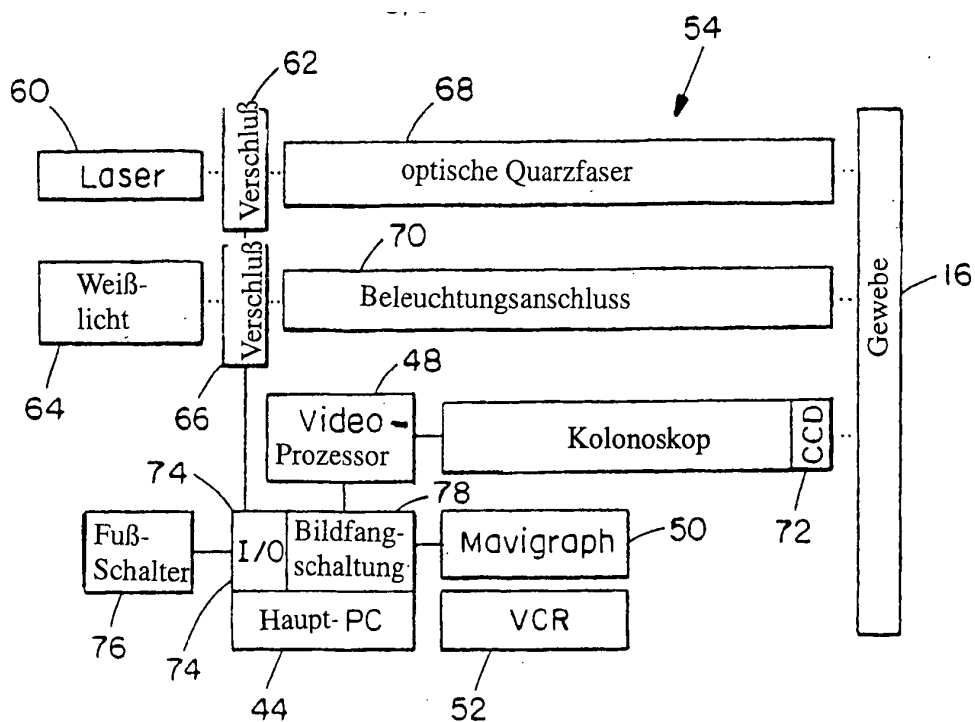


FIG. 5

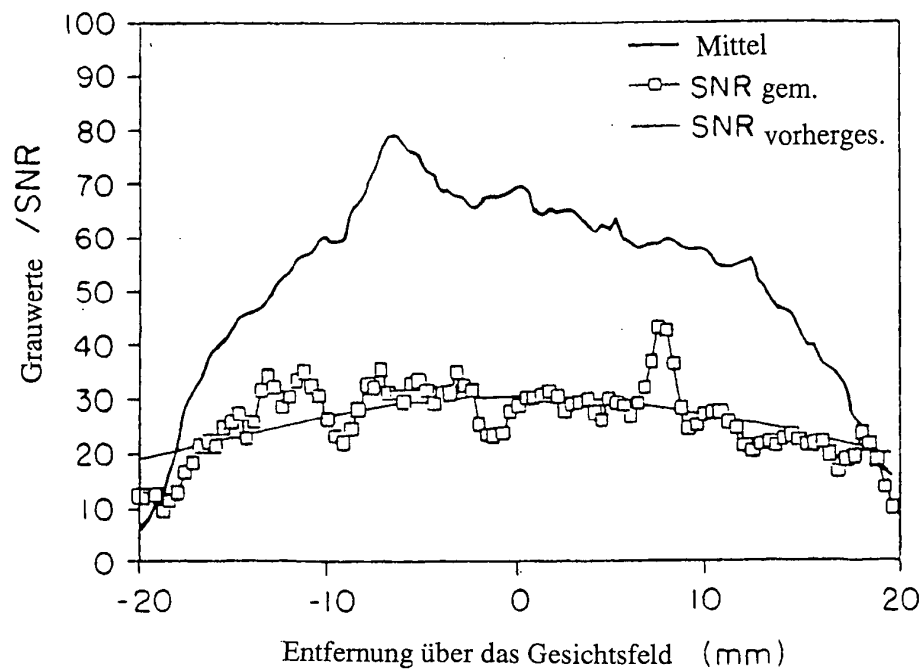


FIG. 6

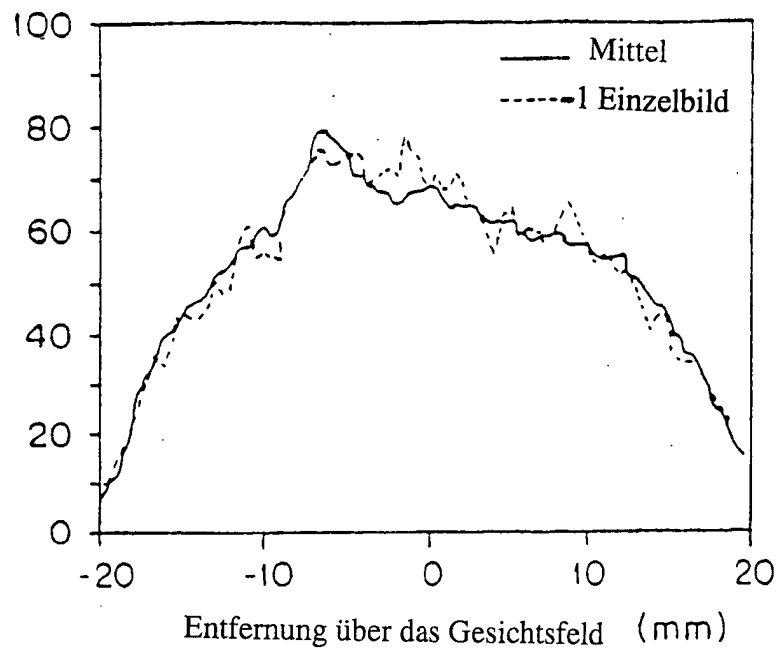


FIG. 7A

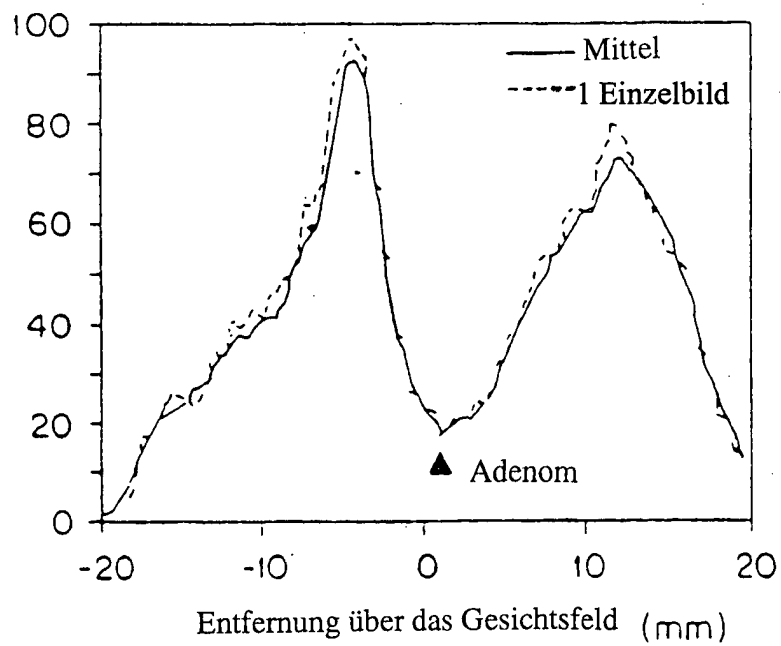


FIG. 7B

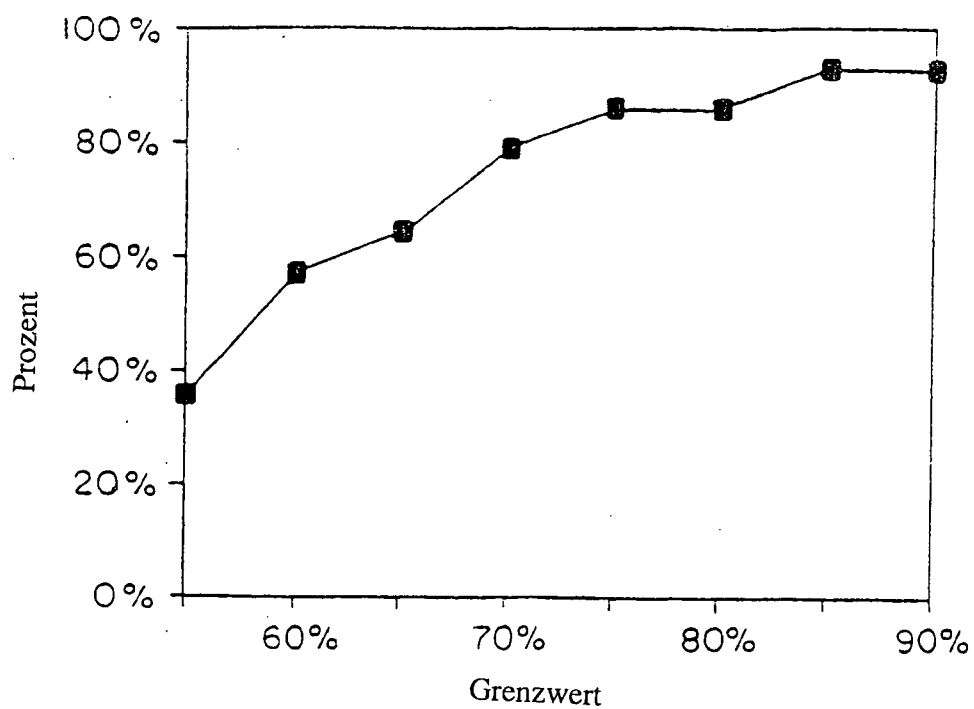


FIG. 8

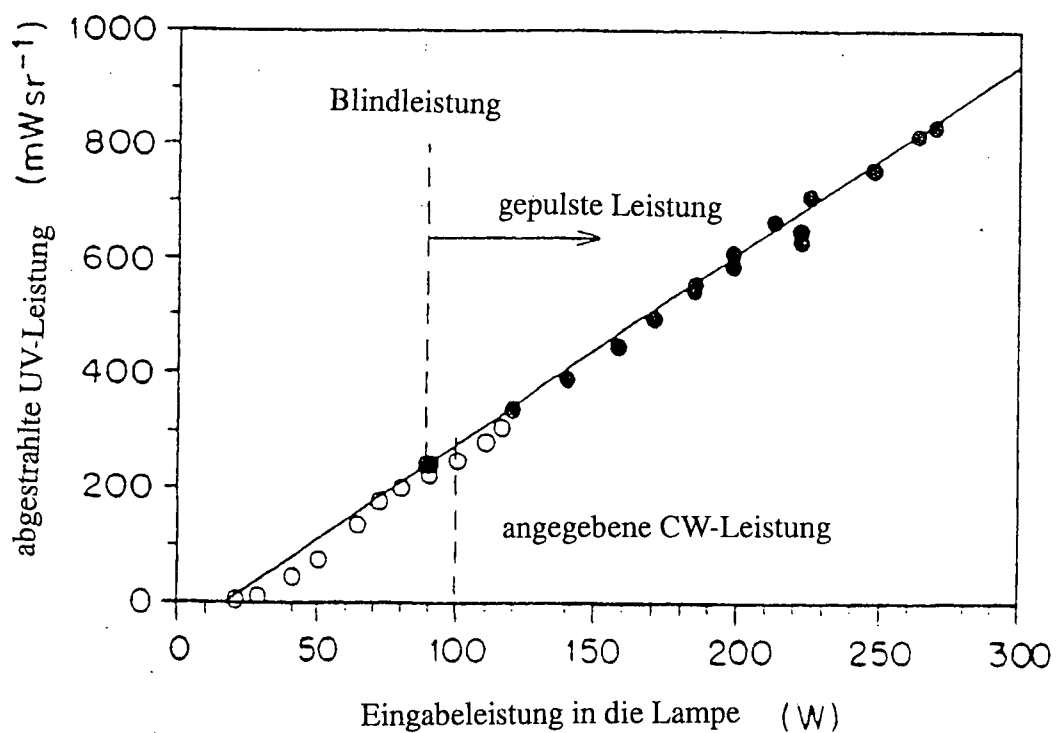
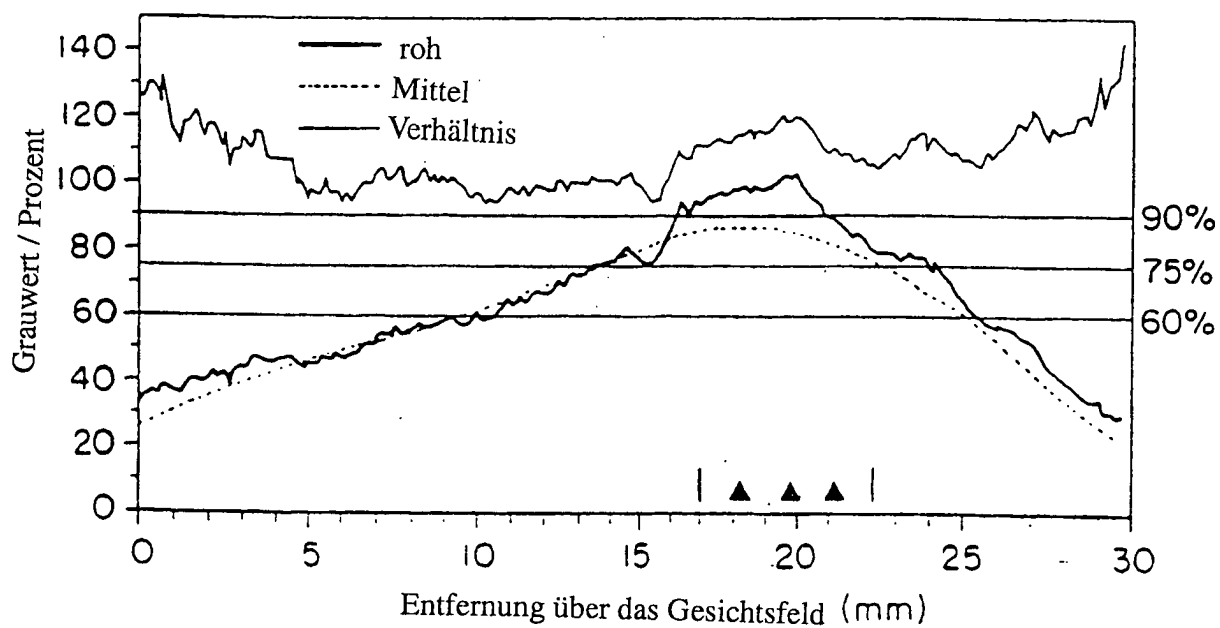
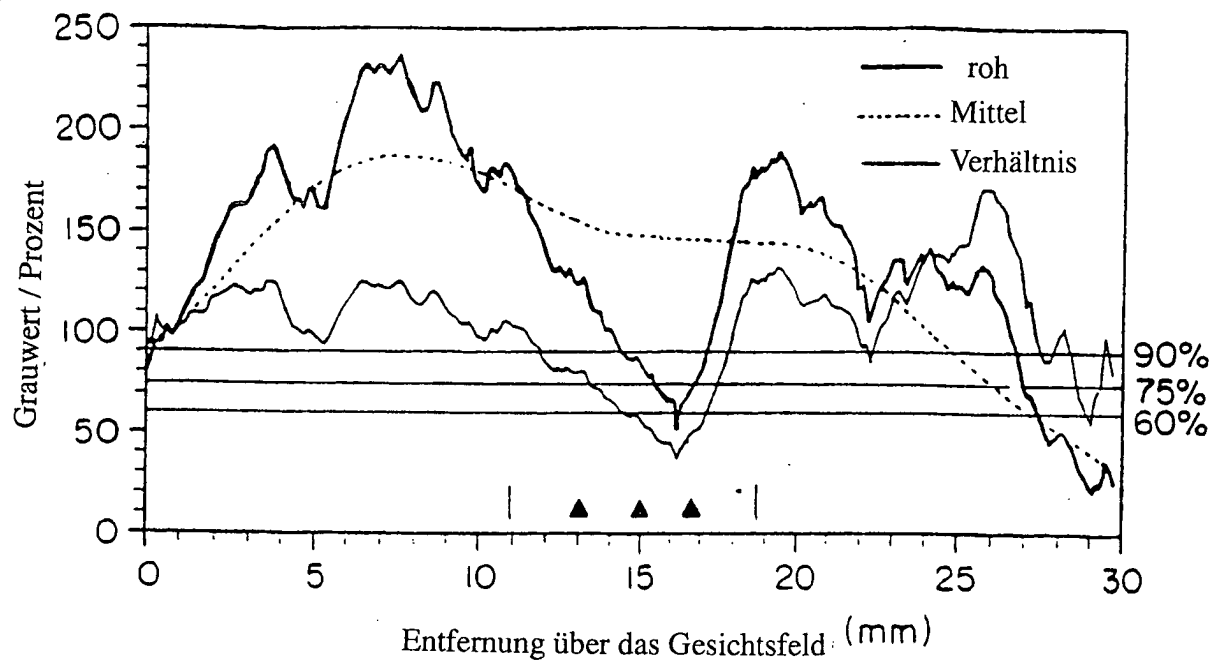


FIG. 14B



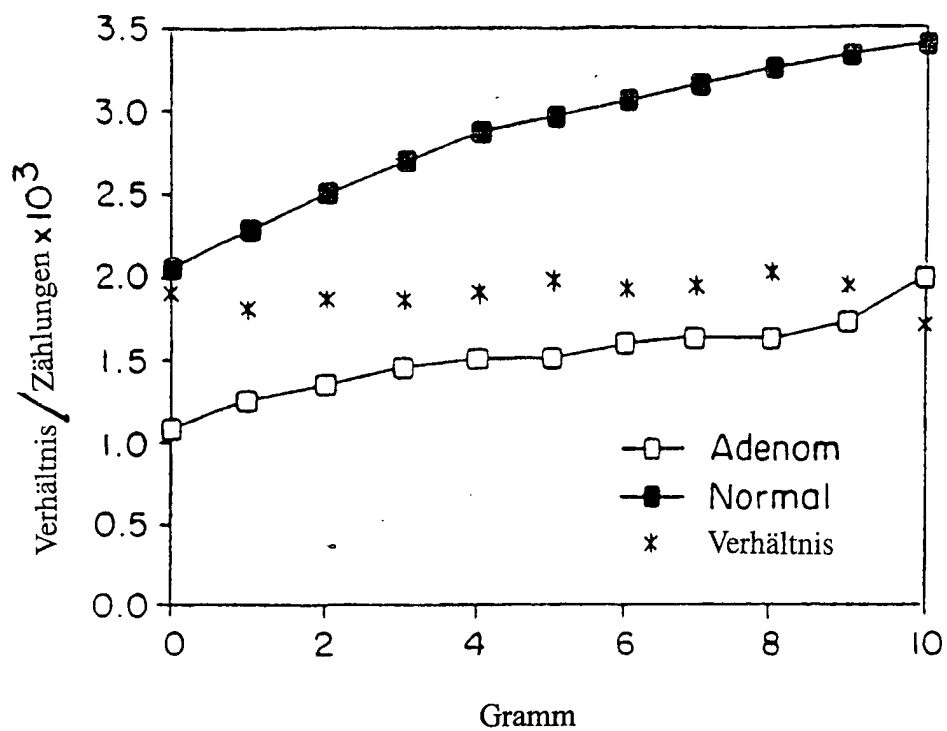


FIG. 11

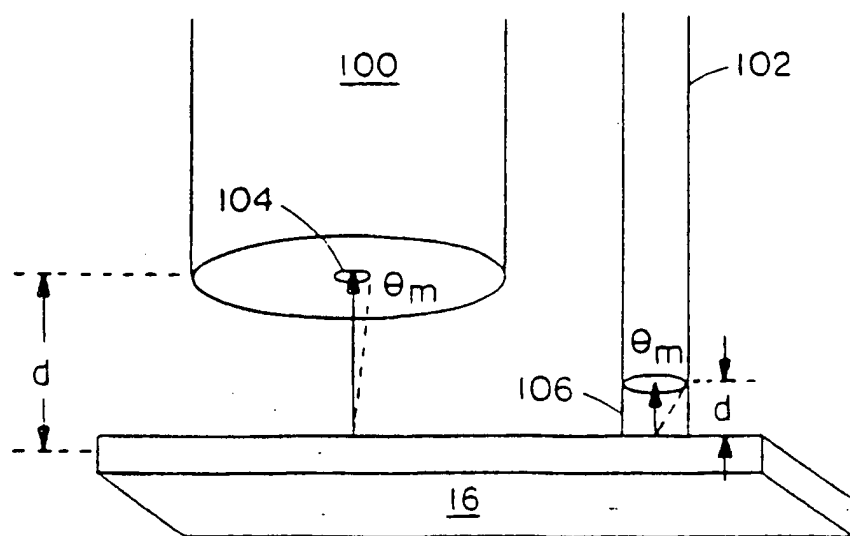


FIG. 12

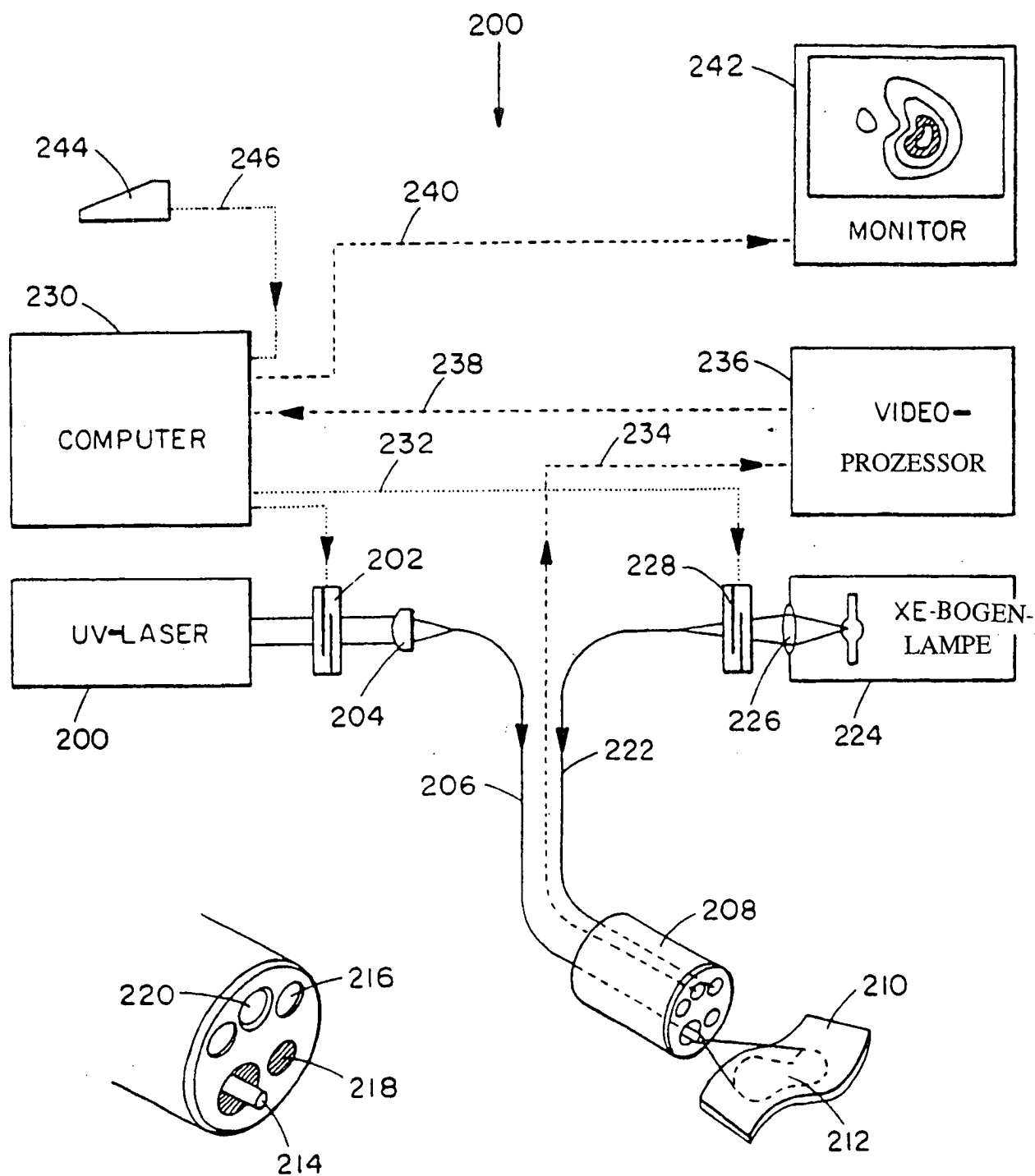


FIG. 13

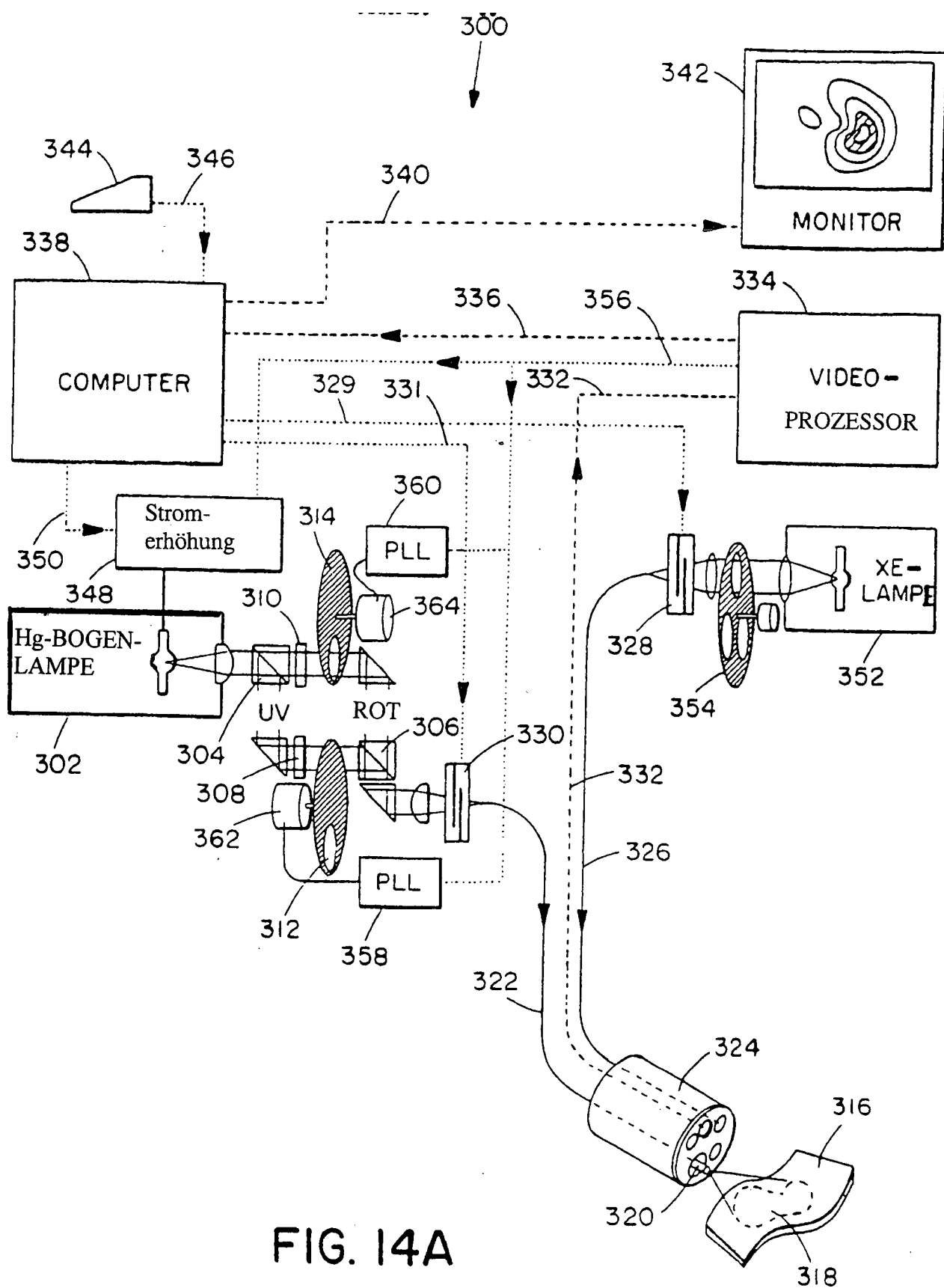


FIG. 14A

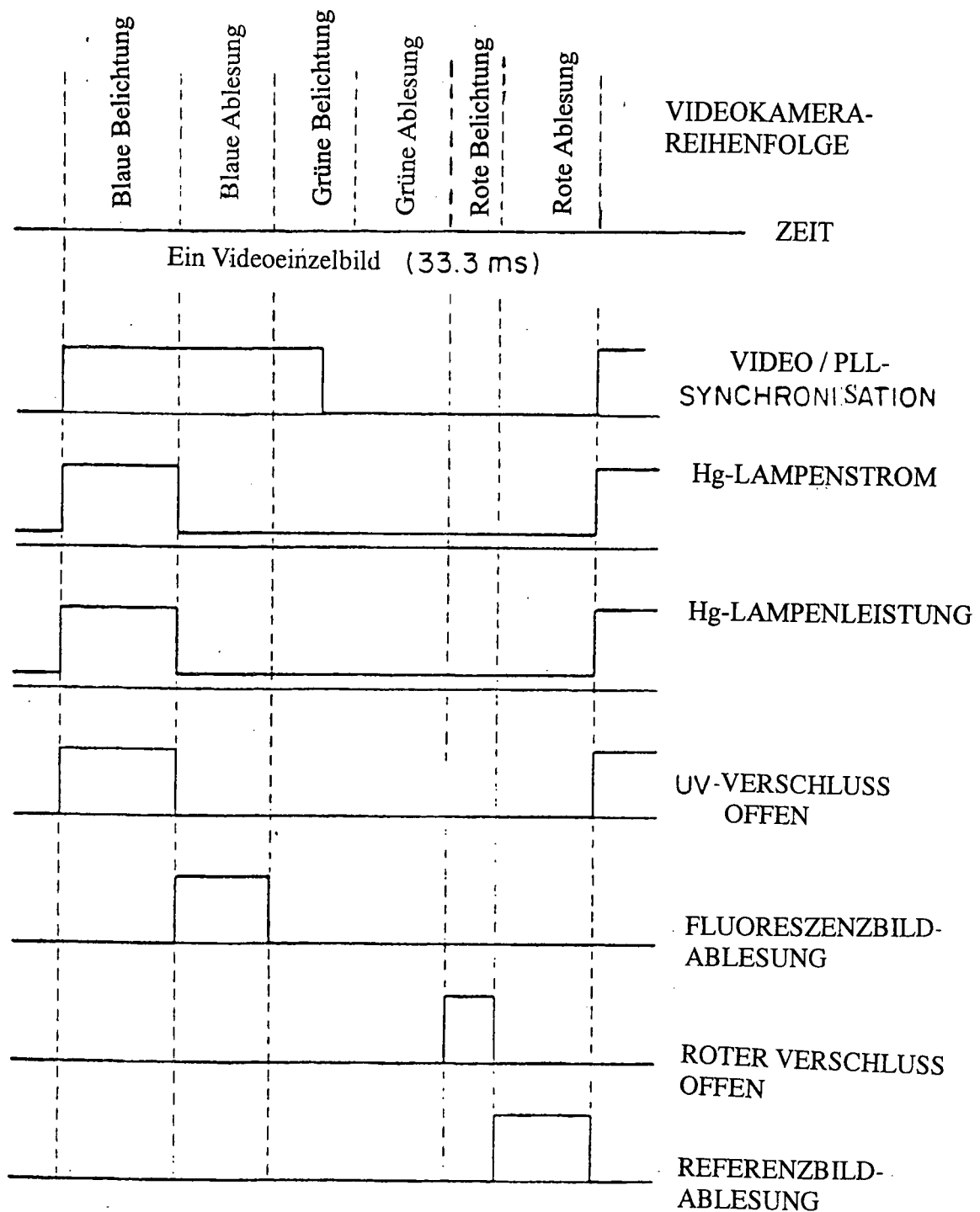


FIG. 14C

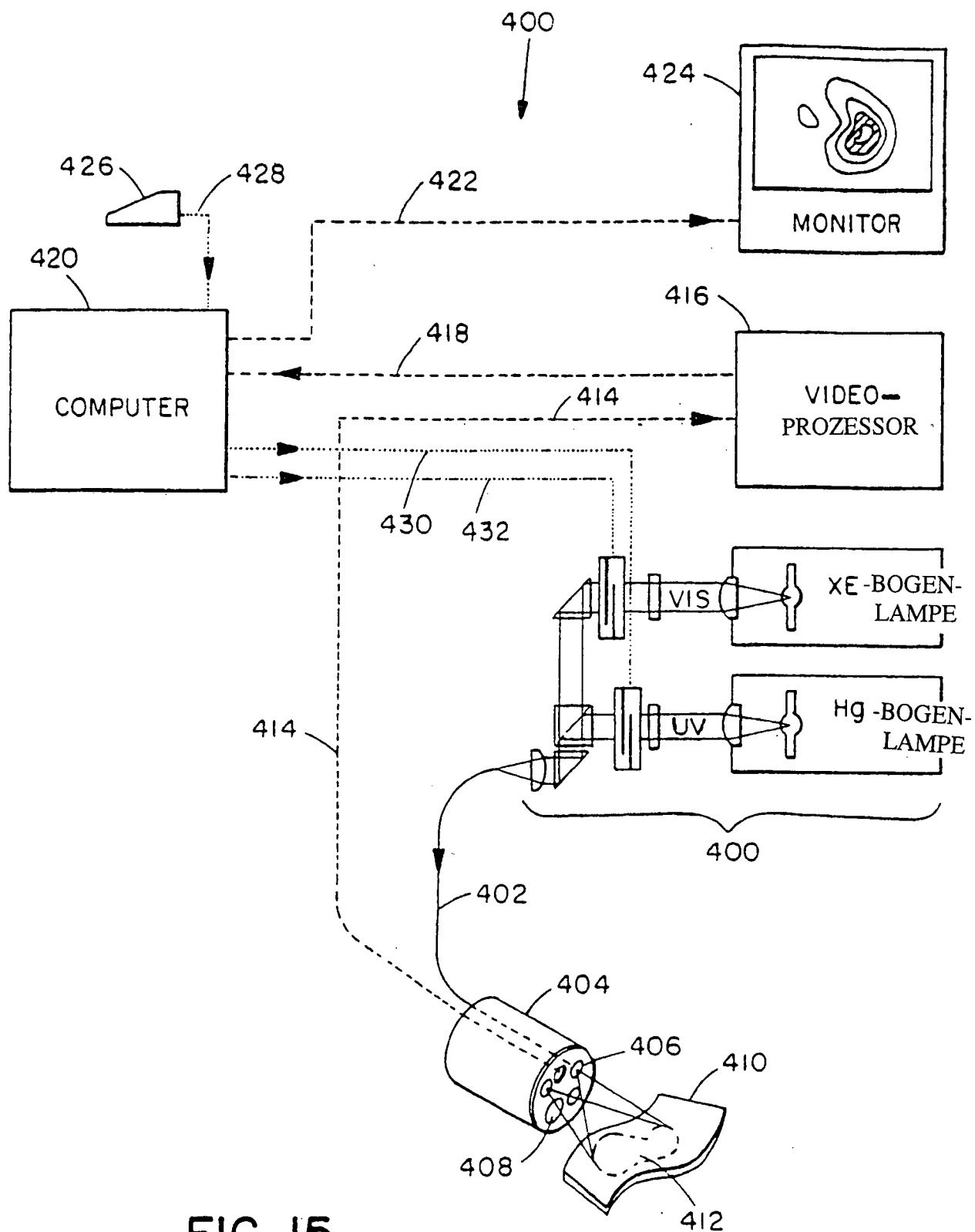


FIG. 15