

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 198**

51 Int. Cl.:

A61B 18/20 (2006.01)

A61B 18/00 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.09.2015** **PCT/US2015/049666**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2016** **WO16040791**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2015** **E 15771355 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2024** **EP 3191005**

54 Título: **Sistemas y métodos para formación de imágenes y manipulación de tejido**

30 Prioridad:

12.09.2014 US 201462049955 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
03.07.2024

73 Titular/es:

**RESEARCH DEVELOPMENT FOUNDATION
(100.0%)
402 North Division Street
Carson City, NV 89703, US**

72 Inventor/es:

**FELDMAN, MARC, D. y
MILNER, THOMAS, E.**

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 975 198 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sistemas y métodos para formación de imágenes y manipulación de tejido

5 Información de antecedentes

Las técnicas y los aparatos quirúrgicos tradicionales han utilizado sistemas y componentes independientes para la formación de imágenes y la manipulación de tejido. Por ejemplo, puede usarse un primer sistema para la formación de imágenes del área en la que se va a realizar la técnica quirúrgica, mientras que pueden usarse sistemas separados para coagular y cortar el tejido.

El uso de múltiples sistemas independientes puede reducir la precisión del procedimiento, ya que el cirujano no es capaz de manipular el tejido en registro espacial y/o temporal con visualización de tejido preferida. Además, el uso de sistemas separados para funciones independientes realizadas durante los procedimientos quirúrgicos puede dar como resultado tiempos quirúrgicos aumentados, ya que cada sistema debe introducirse y retirarse del sitio quirúrgico, aumentando la morbilidad y la mortalidad de los pacientes. Otros problemas que surgen del uso de múltiples sistemas quirúrgicos incluyen acceso limitado a sitios quirúrgicos para múltiples sistemas y costes aumentados.

Los sistemas y las técnicas tradicionales también pueden usar componentes mecánicos para la manipulación de tejidos que pueden provocar traumatismos en los tejidos circundantes y tiempos de recuperación más largos para los pacientes. Además, la incapacidad de generar imágenes y cortar simultáneamente ha dado como resultado la incapacidad de realizar ciertas operaciones, o de realizar operaciones inadecuadamente que requieren procedimientos repetidos en el futuro.

Muchas cirugías de cáncer neurológico requieren herramientas especializadas que mejoren la formación de imágenes para un corte y eliminación precisos de células y tejidos tumorales sin dañar las estructuras benignas adyacentes. Por ejemplo, los tumores cerebrales son accesibles a través de los ventrículos pero no pueden operarse porque el cirujano no puede obtener imágenes del límite entre el tumor y el tejido sano al mismo tiempo y establecer un margen seguro. Aunque los procedimientos quirúrgicos y de formación imagen de preestadificación han mejorado considerablemente en las últimas dos décadas, las tasa de resultados exitosos (es decir, pacientes sin cáncer) no han mejorado significativamente. Una hipótesis principal para la alta tasa de recurrencia existente y los correspondientes malos resultados es que las células cancerosas se dejan dentro del paciente debido a una selección inadecuada de los márgenes tumorales. Los métodos actuales utilizados para la selección del margen tumoral usando biopsia tradicional durante la cirugía son limitados y requieren mucho tiempo. La práctica actual requiere que el cirujano marque físicamente las regiones de tejido para la biopsia, realizar la biopsia, transferir manualmente tejido a un laboratorio de patología, creación de secciones congeladas y seccionamiento, tefir la sección congelada, observación diagnóstica de secciones de tejido congelado bajo un microscopio por un patólogo de cáncer y, finalmente, la comunicación oral de los resultados de diagnóstico de vuelta al cirujano, un proceso que requiere aproximadamente treinta minutos y es perjudicial para el flujo de trabajo preferido del cirujano.

En consecuencia, se desean sistemas y métodos que superen estas y otras limitaciones asociadas con los sistemas y métodos existentes.

El documento US 5.451.221 A divulga un sistema de suministro de luz endoscópica para suministrar luz al tejido que incluye una fuente láser para generar luz. Las fibras ópticas están ópticamente acopladas a la fuente láser para transportar la luz generada por la fuente láser. Se forma una superficie de enfoque en un extremo de la fibra óptica. La superficie de enfoque de la fibra óptica está conformada para redirigir la luz transmitida por la fibra óptica en una dirección lateral a la fibra óptica para cortar tejido. Puede usarse una única fibra óptica o un haz de fibra óptica para transmitir una pluralidad de longitudes de onda de luz para apuntar el corte y la coagulación.

El documento US 2011/257641 A1 divulga una disposición de fibra óptica para coagular y extirpar tejido diana por un sistema de OCT.

Sumario

La presente invención se refiere a un sistema como se define en la reivindicación independiente 1 y a un método de manipulación de tejido *ex vivo* como se define en la reivindicación 13. Las realizaciones preferidas se definen en las reivindicaciones dependientes.

La presente divulgación incluye sistemas y métodos capaces de obtener imágenes y manipular tejido usando luz, incluyendo, por ejemplo, coagular y romper los enlaces moleculares (por ejemplo, cortar) del tejido. Las realizaciones particulares pueden configurarse para su uso en neurocirugía, procedimientos de oídos, nariz y garganta (ENT), obstetricia, ginecología, gastroenterología, procedimientos pulmonares, cirugía de nervio periférico u otras aplicaciones.

Las realizaciones ilustrativas utilizan las ventajas de la energía luminosa para la formación de imágenes y la

- manipulación del tejido, incluyendo simultáneamente la formación de imágenes y la manipulación en algunas realizaciones. Por ejemplo, la luz tiene la capacidad de transmitir grandes cantidades de información codificada (por ejemplo, 300 THz) a escalas espaciales subcelulares (1 μm). Además, la luz puede penetrar las capas de tejido epitelial sin una incisión, ya que la luz puede modificar una diana deseada por absorción de fotones o transferencia de impulso de fotones (dispersión). Las realizaciones particulares utilizan sistemas y componentes de tomografía de coherencia óptica (OCT, por sus siglas en inglés) y luminiscencia multifotónica (MPL, por sus siglas en inglés) para la formación de imágenes del tejido, y láseres para proporcionar luz para manipular el tejido, incluyendo coagular y romper los enlaces moleculares del tejido.
- Los aspectos ilustrativos de la presente divulgación integran tres tecnologías láser novedosas para formación de imágenes, coagulación (por ejemplo, interrupción del flujo sanguíneo) y extracción de tejido (por ejemplo, "corte" de tejido) e inspirar un nuevo paradigma quirúrgico. La capacidad para la eliminación de tejido de alta velocidad guiada por imágenes con una precisión de corte de unas pocas capas de células no tiene precedentes en la técnica quirúrgica. Los aspectos ilustrativos permitirán el acceso para eliminar tumores previamente inoperables y otros tejidos patológicos en pequeños espacios confinados. En consecuencia, los nervios circundantes, los músculos especializados y las glándulas importantes pueden salvarse, mejorando de esta manera sustancialmente el pronóstico de un paciente después de la cirugía.
- Las realizaciones ilustrativas pueden utilizarse para la extirpación quirúrgica de muchas lesiones complejas en estrecha proximidad con nervios especializados, músculos, glándulas y otros órganos normales y estructuras de soporte. Por ejemplo, la endometriosis se asocia frecuentemente con el ovario, el intestino y la vejiga y otras estructuras abdominales, y la extracción mediante procedimientos quirúrgicos convencionales supone un riesgo de disminución de la longevidad de la fertilidad de la paciente debido a la pérdida de óvulos o huevos, o a la contaminación del abdomen con heces u orina. Las realizaciones ilustrativas pueden eliminar rápidamente, de manera segura y más precisa, las lesiones ováricas respetando los folículos ováricos normales y eliminar el tejido endometrial sin el riesgo de contaminación bacteriana de la cavidad abdominal estéril.
- La invención incluye un sistema como se define en la reivindicación 1, que comprende, entre otras cosas: una primera fuente de luz configurada para proporcionar una señal para su uso en la formación de imágenes de tejido cuando la primera fuente de luz incide sobre el tejido; una segunda fuente de luz configurada para coagular tejido (por ejemplo, vasos sanguíneos circundantes); y una tercera fuente de luz configurada para romper los enlaces moleculares del tejido coagulado por la segunda fuente de luz cuando la tercera fuente de luz incide sobre el tejido. En realizaciones particulares, la primera fuente de luz, la segunda fuente de luz y la tercera fuente de luz emiten luz a través de una sola fibra (o estructuras más grandes tales como un endoscopio o laparoscopia) en el mismo momento. En algunas realizaciones, la primera fuente de luz, la segunda fuente de luz y la tercera fuente de luz emiten luz a través de una sola fibra (o estructuras más grandes tales como un endoscopio o laparoscopia) en diferentes momentos. En algunas realizaciones la fibra única puede ser un componente de un endoscopio o laparoscopia. La señal obtenida de la primera fuente de luz puede usarse para orientar o colocar la fuente o fuentes de luz usadas para realizar las funciones de interrupción del flujo sanguíneo y eliminación de tejido. En algunos ejemplos, las funciones de interrupción del flujo sanguíneo (por ejemplo, coagulación) y extracción de tejido pueden realizarse mediante una segunda y tercera fuentes de luz separadas, mientras que en otros ejemplos, las funciones de interrupción del flujo sanguíneo y eliminación de tejido pueden realizarse por la misma fuente de luz (por ejemplo, la segunda fuente de luz).
- La primera fuente de luz comprende una fuente de luz de OCT. En otras realizaciones, la primera fuente de luz puede comprender una fuente de luz de pulsos cortos adecuada para MPL y, en otras realizaciones más, la primera fuente de luz puede utilizarse tanto para OCT como para MPL. En determinadas realizaciones, la tercera fuente de luz es una fuente amplificada de fibra sembrada con láser de diodo que está configurada para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 1800 nm a 2200 nm. En algunas realizaciones, la fuente amplificada de fibra sembrada con láser de diodo puede configurarse para emitir energía que tiene un perfil de pulso, una energía de pulso y una tasa de repetición de pulso. En realizaciones particulares, al menos uno del perfil de pulso, la energía de pulso y la tasa de repetición de pulso pueden controlarse para ajustar una tasa de eliminación de tejido.
- En determinadas realizaciones, la tercera fuente de luz es una fuente amplificada de fibra sembrada con láser semiconductor ajustable, que está configurado para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 1800 nm a 2200 nm. En algunas realizaciones, la fuente amplificada de fibra sembrada con láser semiconductor ajustable puede configurarse para emitir energía que tiene un perfil de pulso, una energía de pulso y una tasa de repetición de pulso. En realizaciones específicas, al menos uno del perfil de pulso, la energía de pulso y la tasa de repetición de pulso pueden controlarse para ajustar una tasa de eliminación de tejido.
- En determinadas realizaciones, la tercera fuente de luz puede configurarse para romper los enlaces moleculares del tejido coagulado por la segunda fuente de luz cuando la tercera fuente de luz incide sobre el tejido. En realizaciones particulares, la tercera fuente de luz puede configurarse para alterar la estructura cuaternaria de las proteínas del tejido cuando la tercera fuente de luz incide sobre el tejido.
- La señal o señales obtenidas de la primera fuente de luz se introduce o introducen en un procesador informático. El procesador informático proporciona datos de salida usados para controlar una orientación o posición de la segunda

fuentes de luz y la tercera fuente de luz. En algunas realizaciones, el procesador informático proporciona datos de salida usados para controlar el perfil de pulso, la energía de pulso y la tasa de repetición de pulso de la tercera fuente de luz. En determinados ejemplos, la segunda fuente de luz es un láser que emite energía en un intervalo de longitudes de onda que son absorbidas por la sangre. En ejemplos específicos, la sangre comprende una mezcla de oxihemoglobina, desoxihemoglobina y agua. En algunos ejemplos, la sangre contiene hemoglobina que comprende oxihemoglobina pura. En determinados ejemplos, la sangre contiene hemoglobina que comprende desoxihemoglobina pura. En realizaciones particulares, la segunda fuente de luz es un láser de fibra de iterbio, un láser de granate de itrio y aluminio (YAG), un láser de fibra de iterbio de frecuencia duplicada, un láser YAG de frecuencia duplicada, un láser de colorante o un láser de fibra Tm.

En determinadas realizaciones, la segunda fuente de luz puede ser un láser de fibra de iterbio de frecuencia duplicada. En realizaciones particulares, la tercera fuente de luz puede ser un amplificador de potencia de oscilador maestro de fibra dopada Tm (MOPA). En algunas el láser semilla MOPA dopado con Tm puede ser un láser de diodo semiconductor. En realizaciones específicas, el láser de semilla puede ser un láser ajustable.

La segunda fuente de luz está configurada para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 350 nm a 2200 nm. En determinadas realizaciones, la segunda fuente de luz está configurada para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda incluyendo 532 nm, 585 nm, 1064 nm y/o 1940 nm

En algunas realizaciones, la fuente de luz de tomografía de coherencia óptica está configurada como una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica de fuente barrida. En realizaciones específicas, la fuente de luz de tomografía de coherencia óptica está configurada como una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica de banda ancha. En algunas realizaciones, la primera fuente de luz comprende una fuente de luz de luminiscencia multifotónica y, en realizaciones particulares, la primera fuente de luz comprende una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica y una fuente de luz de luminiscencia multifotónica. En determinadas realizaciones, la segunda fuente de luz está configurada para emitir energía a una amplitud y frecuencia suficientes para modificar al menos la estructura cuaternaria de las proteínas del tejido sin romper sustancialmente los enlaces moleculares del tejido. En realizaciones particulares, la tercera fuente de luz es un láser configurado para emitir energía a una amplitud y frecuencia suficientes para romper los enlaces moleculares del tejido.

La presente divulgación incluye un sistema que comprende: una fuente de luz de formación de imágenes configurada para proporcionar datos para su uso en la formación de imágenes de tejido cuando la primera fuente de luz incide sobre el tejido; una fuente de luz de coagulación configurada para emitir luz de coagulación para coagular tejido cuando la luz de coagulación incide sobre el tejido; y una fuente de luz de ruptura de enlaces configurada para emitir luz de ruptura de enlaces para romper los enlaces moleculares del tejido coagulado por la segunda fuente de luz cuando la fuente de luz de ruptura de enlaces incide sobre el tejido. En algunos ejemplos, la fuente de luz de formación de imágenes comprende una fuente de luz de coherencia óptica o de luminiscencia multifotónica y, en ejemplos particulares, la fuente de luz de formación de imágenes comprende una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica y una fuente de luz de luminiscencia multifotónica.

En determinados ejemplos, la luz de coagulación y la luz de ruptura de enlaces se originan a partir de una fuente de luz común. En ejemplos particulares, la fuente de luz común es una fuente amplificada de fibra sembrada con láser de diodo. En algunos ejemplos, la fuente amplificada sembrada con láser de diodo puede configurarse para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 1800 nm a 2200 nm. En ejemplos específicos, la fuente amplificada de fibra sembrada de diodo puede configurarse para emitir energía que tiene un perfil de pulso, una energía de pulso y una tasa de repetición de pulso. En determinados ejemplos, al menos uno del perfil de pulso, la energía del pulso y la tasa de repetición del pulso pueden controlarse para ajustar la coagulación del tejido. En determinados ejemplos, al menos uno del perfil de pulso, la energía de pulso y la tasa de repetición de pulso pueden controlarse para ajustar una tasa de eliminación de tejido.

En ejemplos específicos, la fuente de luz común puede ser una fuente amplificada de fibra sembrada con láser semiconductor ajustable. En ejemplos particulares, la fuente amplificada de fibra sembrada con láser semiconductor ajustable puede configurarse para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 1800 nm a 2200 nm. En algunos ejemplos, la fuente amplificada de fibra sembrada con láser semiconductor ajustable puede configurarse para emitir energía que tiene un perfil de pulso, una energía de pulso y una tasa de repetición de pulso. En ejemplos específicos, al menos uno del perfil de pulso, la energía de pulso y la tasa de repetición de pulso pueden controlarse para ajustar una tasa de coagulación de tejido. En ejemplos específicos, al menos uno del perfil de pulso, la energía de pulso y la tasa de repetición de pulso pueden controlarse para ajustar una tasa de eliminación de tejido. En determinados ejemplos, la fuente de luz de ruptura de enlaces puede configurarse para romper enlaces moleculares de tejido coagulado por la fuente de luz de coagulación cuando la fuente de luz de ruptura de enlaces incide sobre el tejido.

En ejemplos particulares, la fuente de luz de coagulación y la fuente de luz de ruptura de enlaces se originan a partir de una fuente de luz común en el mismo momento durante el uso. En algunos ejemplos, la fuente de luz de coagulación y la fuente de luz de ruptura de enlaces se originan a partir de una fuente de luz común en diferentes momentos durante el uso. En ejemplos específicos, la fuente de luz de coagulación y la fuente de luz de ruptura de enlaces se

originan a partir de fuentes de luz separadas.

La presente divulgación se refiere además a un método de manipulación de tejido, en el cual el método comprende: obtener señales de imagen iniciales de una primera porción de tejido, en donde una primera fuente de luz incide sobre la primera porción de tejido; colocar una segunda fuente de luz sobre una segunda porción de tejido, en donde la segunda fuente de luz coagula la segunda porción de tejido; y romper los enlaces moleculares de una tercera porción de tejido a través de la energía luminosa. En algunos aspectos, la primera fuente de luz comprende una fuente de luz de coherencia óptica o una de luminiscencia multifotónica y, en realizaciones particulares, la primera fuente de luz comprende una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica y una fuente de luz de luminiscencia multifotónica.

En determinados aspectos, la segunda porción de tejido comprende la primera porción de tejido y la tercera porción de tejido. Algunos aspectos comprenden además obtener datos de imagen adicionales de la primera porción de tejido después de colocar la segunda fuente de luz sobre la segunda porción de tejido y antes de romper los enlaces moleculares de la primera porción de tejido. En aspectos específicos, la energía luminosa usada para romper los enlaces moleculares de la tercera porción de tejido se emite desde una tercera fuente de luz. En determinados aspectos, la primera fuente de luz, la segunda fuente de luz y la tercera fuente de luz emiten luz a través de una sola fibra o estructuras más grandes tales como un endoscopio o laparoscopio. En aspectos específicos, la fibra única puede ser un componente de un endoscopio o laparoscopio. En aspectos particulares, la energía luminosa usada para romper los enlaces moleculares de la tercera porción de tejido se emite desde la segunda fuente de luz.

Los ejemplos adicionales incluyen un método de modificación de tejido, en el cual el método comprende: dirigir energía luminosa a una primera porción de tejido y registrar señales de imagen de la primera porción de tejido; dirigir la energía luminosa a una segunda porción de tejido y coagular la segunda porción de tejido; y dirigir la energía luminosa a una tercera porción de tejido y romper los enlaces moleculares de la tercera porción de tejido. En algunos ejemplos, dirigir la energía luminosa a una primera porción de tejido comprende dirigir la energía luminosa desde una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica o una fuente de luz de luminiscencia multifotónica. En ejemplos particulares, dirigir la energía luminosa a una primera porción de tejido comprende dirigir la energía luminosa desde una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica y una fuente de luz de luminiscencia multifotónica. En determinados ejemplos, la segunda porción de tejido comprende la primera porción de tejido y la tercera porción de tejido.

En ejemplos particulares, la energía luminosa dirigida a la primera porción de tejido se emite desde una primera fuente de luz y la energía luminosa dirigida a la segunda y tercera porciones de tejido se originan desde una fuente de luz común. En algunos ejemplos, la energía luminosa dirigida a la primera porción de tejido se emite desde una primera fuente de luz; la energía luminosa dirigida a la segunda porción de tejido se emite desde una segunda fuente de luz; y la energía luminosa dirigida a la tercera porción de tejido se emite desde una tercera fuente de luz.

Otros ejemplos incluyen un método de modificación de tejido, en el cual el método comprende: colocar una primera fuente de luz de tal manera que la primera fuente de luz incida sobre una primera porción de tejido; obtener señales de imagen iniciales de la primera porción de tejido; colocar una segunda fuente de luz de tal manera que la segunda fuente de luz incida sobre una segunda porción de tejido, en donde la segunda fuente de luz coagula la segunda porción de tejido; y romper enlaces moleculares de una tercera porción de tejido. En algunos ejemplos, la primera fuente de luz comprende una fuente de luz de coherencia óptica o una de luminiscencia multifotónica y, en ejemplos particulares, la primera fuente de luz comprende una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica y una fuente de luz de luminiscencia multifotónica. En algunos ejemplos, la formación de imágenes de la primera porción de tejido comprende dirigir la energía luminosa desde una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica o una fuente de luz de luminiscencia multifotónica a la primera porción de tejido.

Determinados ejemplos incluyen un método de modificación de tejido, en el cual el método comprende: obtener imágenes de una primera porción de tejido; coagular una segunda porción de tejido con energía luminosa; y romper los enlaces moleculares de una tercera porción de tejido con energía luminosa. En algunos ejemplos, la formación de imágenes de la primera porción de tejido comprende dirigir la energía luminosa desde una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica o una fuente de luz de luminiscencia multifotónica a la primera porción de tejido. En determinados ejemplos, la formación de imágenes de la primera porción de tejido comprende dirigir la energía luminosa desde una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica y una fuente de luz de luminiscencia multifotónica a la primera porción de tejido. En ejemplos particulares, la primera porción de tejido, la segunda porción de tejido y la tercera porción de tejido contienen tejido común. En determinados ejemplos, la primera porción de tejido incluye la segunda porción de tejido y la tercera porción de tejido. En ejemplos particulares, la energía luminosa usada para coagular la segunda porción de tejido y la energía luminosa usada para romper los enlaces moleculares se originan a partir de una fuente de luz común. En algunos ejemplos, la energía luminosa usada para coagular la segunda porción de tejido y la energía luminosa usada para romper los enlaces moleculares se originan a partir de fuentes de luz separadas.

Determinados ejemplos incluyen un sistema que comprende: una primera fuente de luz configurada para proporcionar datos para su uso en la formación de imágenes de tejido cuando la primera fuente de luz incide sobre el tejido; y una segunda fuente de luz configurada para coagular tejido y configurada para romper enlaces moleculares cuando la segunda fuente de luz incide sobre tejido. En algunos ejemplos, la primera fuente de luz comprende una fuente de luz de coherencia óptica o una de luminiscencia multifotónica y, en ejemplos particulares, la primera fuente de luz

comprende una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica y una fuente de luz de luminiscencia multifotónica. En ejemplos particulares, la primera fuente de luz y la segunda fuente de luz están configuradas para emitir luz a través de una única fibra en el mismo momento. En algunos ejemplos, la fibra única puede ser un componente de un endoscopio o laparoscopio. En ejemplos específicos, la primera fuente de luz y la segunda fuente de luz están configuradas para emitir luz a través de una única fibra en diferentes momentos. En ejemplos particulares, la fibra única puede ser un componente de un endoscopio o laparoscopio. En algunos ejemplos, los datos obtenidos de la primera fuente de luz pueden usarse para orientar o colocar la segunda fuente de luz y la tercera fuente de luz. En ejemplos específicos, los datos obtenidos de la primera fuente de luz pueden ser una entrada en un procesador informático.

En determinados ejemplos, el procesador informático puede proporcionar datos de salida usados para controlar una orientación o posición de la segunda fuente de luz. En ejemplos particulares, la segunda fuente de luz es un láser que emite energía en un intervalo de longitudes de onda que son absorbidas por la sangre. En ejemplos específicos, la sangre comprende una mezcla de oxihemoglobina, desoxihemoglobina y agua. En algunos ejemplos, la sangre comprende oxihemoglobina pura. En ejemplos particulares, la sangre comprende desoxihemoglobina pura. En determinados ejemplos, la segunda fuente de luz puede ser un MOPA de fibra dopada con Tm. En ejemplos particulares, la segunda fuente de luz puede ser un MOPA de fibra dopada Tm ajustable. En ejemplos particulares, la segunda fuente de luz puede configurarse para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda que incluye 1940 nm. En determinados ejemplos, la segunda fuente de luz puede configurarse para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 450 nm a 2200 nm. En ejemplos particulares, la primera fuente de luz puede configurarse como una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica de fuente barrida. En algunos ejemplos, la primera fuente de luz puede configurarse como una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica de banda ancha tal como un diodo superluminiscente. En determinados ejemplos, la primera fuente de luz puede comprender una fuente de luz MPL y ejemplos particulares, la primera fuente de luz puede comprender fuentes de luz tanto de OCT como de MPL. En ejemplos específicos, la segunda fuente de luz puede configurarse para emitir energía a una amplitud y frecuencia suficientes para modificar al menos la estructura cuaternaria de las proteínas tisulares y suficientes para romper los enlaces moleculares del tejido.

Determinados ejemplos incluyen un sistema de procesamiento de tejido que comprende: una cámara de procesamiento asistida por vacío configurada para recibir una muestra de tejido; un primer accionador de microposición configurado para colocar la muestra de tejido dentro de la cámara de procesamiento asistida por vacío; un segundo accionador de microposición configurado para colocar la muestra de tejido dentro de la cámara de procesamiento asistida por vacío; y un láser configurado para eliminar una porción de la muestra de tejido dentro de la cámara de procesamiento asistida por vacío. En ejemplos particulares, el láser es un láser pulsado de femtosegundos. En algunos ejemplos, el primer accionador de microposición y los segundos accionadores de microposición son ortogonales entre sí. En ejemplos específicos, la cámara de procesamiento de tejido comprende solución salina tamponada con fosfato y, en algunos ejemplos, la cámara de procesamiento de tejido comprende una ventana ópticamente transparente. En determinados ejemplos, la cámara de procesamiento de tejido es desechable.

En ejemplos particulares, la cámara de procesamiento de tejido comprende un primer tabique autosellante para formar un sello hermético para el acoplamiento del primer accionador de microposición; y la cámara de procesamiento de tejido comprende un segundo tabique autosellante para formar un sello hermético para el acoplamiento del segundo accionador de microposición. En algunos ejemplos, el primer accionador de microposición comprende una aguja configurada para perforar el primer tabique autosellante, y el segundo accionador de microposición comprende una aguja configurada para perforar el segundo tabique autosellante.

En ejemplos específicos, el primer accionador de microposición está acoplado a un primer motor paso a paso, y el segundo accionador de microposición está acoplado a un segundo motor paso a paso. En determinados ejemplos, el primer y el segundo motores paso a paso pueden hacerse funcionar para rotar la muestra de tejido dentro de la cámara de procesamiento asistida por vacío.

Los ejemplos particulares incluyen un método para analizar tejido, en donde el método comprende: recoger una muestra de tejido de un espécimen a través de un instrumento asistido por vacío; transportar la muestra de tejido a través de un canal fluido de presión positiva a una cámara de procesamiento de tejido; cortar una sección de la muestra de tejido; realizar un ensayo óptico de luminiscencia multifotónica - tomografía de coherencia óptica (MPL-OCT) en la sección; y procesar datos del ensayo óptico de MPL-OCT. En algunos ejemplos, el tiempo transcurrido entre la recogida de la muestra de tejido y el procesamiento de los datos del ensayo óptico de MPL-OCT es menos de cinco minutos. En ejemplos específicos, una matriz de puertas programables en campo (FPGA) procesa a partir del ensayo óptico de MPL-OCT. En determinados ejemplos, procesar datos del ensayo óptico de MPL-OCT comprende establecer un margen tumoral dentro de la sección de la muestra de tejido. En algunos ejemplos, el margen tumoral comprende superponer una primera imagen de la sección y una segunda imagen de la sección. En ejemplos específicos, la sección tiene un espesor de aproximadamente 500 μm . En ejemplos particulares, el ensayo óptico de MPL-OCT se realiza en un primer lado de la sección y en un segundo lado de la sección. En algunos ejemplos, la muestra de tejido tiene un volumen de entre 1,0 y 4,0 milímetros cúbicos. En determinados ejemplos, el instrumento asistido por vacío está integrado en un bisturí. En ejemplos particulares, el instrumento asistido por vacío está integrado en un cauterio.

En lo sucesivo, el término "acoplado" se define como conectado, aunque no necesariamente de forma directa, y no necesariamente de forma mecánica.

- 5 El uso de la palabra "un/uno" o "una" cuando se usa junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva puede significar "uno/una", pero también es consistente con el significado de "uno/una o más" o "al menos uno/una". El término "aproximadamente" significa, en general, el valor indicado más o menos el 5 %. El uso del término "o" en las reivindicaciones se usa para significar "y/o" a menos que se indique explícitamente que se refiera a alternativas solamente o las alternativas sean mutuamente exclusivas, aunque la divulgación apoya una
- 10 definición que se refiere únicamente a alternativas e "y/o".

Los términos "comprender" (y cualquier forma de comprender, tales como "comprende" y "que comprende"), "tener" (y cualquier forma de tener, tales como "tiene" y "que tiene"), "incluir" (y cualquier forma de incluir, tales como "incluye" y "que incluye") y "contener" (y cualquier forma de contener, tales como "contiene" y "que contiene") son verbos de enlace abiertos. Como resultado, un método o dispositivo que "comprende", "tiene", "incluye" o "contiene" una o más etapas o elementos, posee esas una o más etapas o elementos, pero no se limita a poseer solo esos uno o más elementos. Igualmente, una etapa de un método o un elemento de un dispositivo que "comprende", "tiene", "incluye" o "contiene" una o más características, posee esas una o más características, pero no se limita a poseer solo esas una o más características. Adicionalmente, un dispositivo o estructura que está configurado de cierta manera está configurado al menos de esa manera, pero también puede configurarse de formas que no se enumeran.

15

20

Otros objetos, características y ventajas de la presente invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Debería entenderse, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones específicas de la invención, se dan a modo de ilustración únicamente.

25

Breve descripción de los dibujos

El expediente de patente o solicitud contiene al menos un dibujo ejecutado en color. La Oficina proporcionará copias de esta patente o publicación de solicitud de patente con dibujos en color previa solicitud y pago de la tarifa necesaria.

30

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

35

La FIG. 1 muestra un esquema de un aparato de acuerdo con una realización ilustrativa.

La FIG. 2 muestra un esquema de un aparato de acuerdo con una realización ilustrativa.

40 La FIG. 3 muestra un esquema de un aparato de acuerdo con una realización ilustrativa.

La FIG. 4 muestra un esquema de un aparato de acuerdo con una realización ilustrativa.

Las FIG. 5A-5C muestran un esquema de una fuente de luz de acuerdo con una realización ilustrativa de una fuente de luz

45

La FIG. 6 muestra un esquema de componentes de la fuente de luz de la FIG. 5A.

50 La FIG. 7 muestra un esquema de componentes de la fuente de luz de la FIG. 5A.

La FIG. 8 muestra un esquema de componentes de la fuente de luz de la FIG. 5A.

La FIG. 9 muestra un esquema de un aparato de acuerdo con una realización ilustrativa con un galvanómetro de barrido X-Y.

55

La FIG. 10 muestra una realización particular del sistema de suministro de acuerdo con una realización ilustrativa.

La FIG. 11 muestra imágenes tomadas de acuerdo con realizaciones ilustrativas.

60 La FIG. 12 muestra un esquema de un aparato que comprende un microaplicador endoscópico o laparoscópico de acuerdo con una realización ilustrativa.

La FIG. 13 muestra un esquema de un sistema de biopsia óptica basado en láser.

65 La FIG. 14 muestra un esquema de un sistema de procesamiento de tejido.

Descripción detallada de realizaciones ilustrativas y ejemplos

Las realizaciones ilustrativas de la presente divulgación incluyen sistemas y métodos, como se definen en las reivindicaciones, que utilizan luz para formar imágenes de tejido, coagular tejido (por ejemplo, vasos sanguíneos) y romper enlaces moleculares (por ejemplo, cortar) el tejido. La luz usada para realizar cada una de estas tareas puede producirse por componentes independientes y separados, incluyendo, por ejemplo, láseres. En otras realizaciones, un único componente (por ejemplo, un láser) puede configurarse para producir energía luminosa que se usa para realizar múltiples tareas, incluyendo coagular el tejido y romper los enlaces moleculares del tejido. Se entiende que las realizaciones descritas en el presente documento son meramente ilustrativas, y que otras realizaciones están incluidas dentro del alcance de la invención que se define por las reivindicaciones.

Como se usa en el presente documento, el término "coagular" (y términos relacionados, tales como "que coagula", "coagulación", etc.) se usa para referirse a un proceso de interrupción del flujo sanguíneo (por ejemplo, dañando los vasos sanguíneos de tal manera que cuando se cortan, la sangre no fluye fuera del tejido) y reorganizar y/o reestructurar los enlaces moleculares en el tejido sin romper completamente la mayoría de los enlaces moleculares. También como se usa en el presente documento, el término "cortar" (y términos relacionados como "que corta", etc.) se usa para referirse a un proceso de ruptura de los enlaces moleculares en el tejido.

Como se usa en el presente documento, se entiende que la expresión "fuente de luz" incluye cualquier fuente de radiación electromagnética, incluyendo, por ejemplo, un láser. También se entiende que una "primera fuente de luz" y una "segunda fuente de luz" pueden originarse a partir de un único láser. Por ejemplo, un láser configurado para funcionar bajo un primer conjunto de parámetros (por ejemplo, longitud de onda, amplitud, onda continua o modo de pulso continuo) puede considerarse una "primera fuente de luz", mientras que el mismo láser configurado para operar bajo un segundo conjunto de parámetros puede considerarse una "segunda fuente de luz".

Haciendo referencia ahora a la FIG. 1, una realización ilustrativa de un sistema 50 comprende una primera fuente de luz 100, una segunda fuente de luz 200 y una tercera fuente de luz 300. En la realización mostrada, la primera fuente de luz 100 (con los componentes ópticos asociados descritos más completamente a continuación) está configurada como un sistema de tomografía de coherencia óptica (OCT) configurado para emitir luz 110 y proporcionar una señal para su uso en la formación de imágenes del tejido 350 cuando la primera fuente de luz 100 incide sobre el tejido 350.

Además, la segunda fuente de luz 200 puede configurarse para emitir luz 210 y coagular el tejido 350 cuando la segunda fuente de luz 200 incide sobre el tejido 350. También mostrado en el sistema 50, la tercera fuente de luz 300 puede configurarse para emitir luz 310 y romper los enlaces moleculares del tejido 350 coagulado por la segunda fuente de luz 200 cuando la tercera fuente de luz 300 incide sobre el tejido 350.

En determinadas realizaciones, el sistema 50 puede configurarse de tal manera que la primera fuente de luz 100, la segunda fuente de luz 200 y la tercera fuente de luz 300 emiten luz a través de una única fibra 500 (por ejemplo, una fibra de cristal fotónico) en el mismo momento (por ejemplo, simultáneamente) o en diferentes momentos durante el uso. Una señal 190 obtenida de la primera fuente de luz 100 puede usarse para orientar o colocar la segunda fuente de luz 200 y la tercera fuente de luz 300 (y/o para orientar o colocar la luz emitida desde la segunda fuente de luz 200 y la tercera fuente de luz 300). La señal 190 obtenida de la primera fuente de luz 100 es una entrada en un procesador informático 360.

El procesador informático 360 proporciona datos 620 de salida al módulo 630 de control de óptica de barrido usado para controlar una orientación o posición de la segunda fuente de luz 200 y la tercera fuente de luz 300 (o una orientación o posición de luz emitida desde tales fuentes de luz). En determinadas realizaciones, las señales de la primera fuente de luz 100 también pueden usarse para controlar la duración del pulso, la energía de pulso o la tasa de repetición de pulso de cualquiera de la segunda fuente de luz 200 o de la tercera fuente de luz 300.

La primera fuente de luz 100 puede producir luz infrarroja cercana, y el uso de luz de longitud de onda relativamente larga permite una penetración más profunda en el medio de dispersión tal como el tejido 350. La primera fuente de luz 100 puede configurarse para proporcionar luz a una longitud de onda de aproximadamente 1310 nm.

Como la luz en la trayectoria 120 de muestra se dirige al tejido 350, se recoge una pequeña porción de esta luz que se refleja desde las características subsuperficiales del tejido 350. Durante el funcionamiento, una porción significativa de luz en la trayectoria 120 de muestra no se refleja, sino, en su lugar, se retrodispersa desde la muestra. Aunque la luz retrodispersada contribuye al fondo que oscurece una imagen en la formación de imágenes convencional, esta luz puede usarse beneficiosamente en sistemas de OCT a través de interferometría. Por ejemplo, el detector 155 equilibrado puede usarse para registrar la longitud de la trayectoria óptica de los fotones recibidos, permitiendo el rechazo de la mayoría de los fotones que se multiplican por dispersión en el tejido antes de la detección. Esto puede permitir grabar imágenes tridimensionales de muestras gruesas que se van a construir rechazando la señal de fondo mientras se recoge la luz reflejada directamente desde las regiones de interés en el tejido 350. En un ejemplo, la formación de imágenes de OCT se limita generalmente a uno o dos milímetros por debajo de la superficie en la dispersión del tejido biológico 350. A mayores profundidades, la proporción de luz que vuelve a la abertura de recogida con un único evento de retrodispersión se reduce, lo que hace que la detección sea más desafiante.

En ejemplos en los cuales la primera fuente de luz 100 comprende una fuente de luz MPL, como la luz en la trayectoria 120 de muestra se dirige al tejido 350, se recoge una pequeña porción de esta luz que es una emisión de fluorescencia endógena de las características subsuperficiales del tejido 350. Al recopilar esta señal de emisión fluorescente multifotónica endógena, pueden detectarse componentes de tejido específicos.

En determinados ejemplos, la segunda fuente de luz 200 es un láser que emite energía en un intervalo de longitudes de onda, incluyendo aquellos que son absorbidos por la sangre. En determinados casos, la sangre puede comprender desoxihemoglobina pura y agua, oxihemoglobina pura y agua o una mezcla de oxihemoglobina, desoxihemoglobina y agua.

En algunos ejemplos, la tercera fuente de luz 300 puede emitir luz en un intervalo entre aproximadamente 600 nm y 2200 nm. La fuente de luz 300 también puede usarse junto con un amplificador 305, que puede ser un amplificador de pulsos chirriado compensado por dispersión. En ejemplos particulares, la luz emitida desde la fuente de luz 300 puede pasar a través de una placa 315 de media onda antes del amplificador 305.

Durante el funcionamiento, por lo tanto, el sistema 50 puede dirigir la luz configurada para formar imágenes, coagular y romper los enlaces moleculares (por ejemplo, cortar) del tejido 350. Específicamente, la luz 110 de la fuente de luz 100, la luz 210 de la fuente de luz 200 y la luz 310 de la fuente de luz 300 pueden permitir que un usuario, respectivamente, forme imágenes, coagule y rompa los enlaces moleculares del tejido 350 en un solo sistema sin cambiar los sistemas.

Esto puede proporcionar numerosas ventajas sobre los sistemas existentes. Por ejemplo, un usuario puede ser capaz de formar imágenes, coagular y cortar tejido con mayor precisión cuando el usuario no tiene que utilizar sistemas separados para realizar funciones separadas durante un procedimiento quirúrgico. La precisión puede mejorarse, por ejemplo, debido a que no se requiere que el usuario retire un componente de formación de imágenes del sitio de interés y después introduzca un segundo componente para coagular el tejido, seguido de un componente de corte. La introducción y la reintroducción sucesivas de componentes para formar imágenes, coagular y cortar tejido pueden destruir el registro espacial y temporal entre estos procesos y comprometer el resultado quirúrgico.

Además, el uso de un único sistema para realizar múltiples funciones puede reducir la cantidad de tiempo requerido para realizar el procedimiento quirúrgico, lo que puede resultar en una seguridad aumentada (por ejemplo, al reducir la cantidad de tiempo que se requiere que el paciente esté bajo anestesia) y morbilidad y mortalidad mejoradas. Reducir la cantidad de tiempo requerido para el procedimiento quirúrgico también puede reducir los costes asociados. Por último, la formación de imágenes simultáneas, la coagulación para mantener el campo de formación de imágenes libre de sangre obstructiva y el corte también puede permitir igualmente operaciones en patologías previamente inoperables.

Haciendo referencia ahora a la FIG. 2, se ilustra un sistema 55 que es generalmente equivalente al sistema 50 descrito anteriormente de la FIG. 1. Sin embargo, el sistema 55 difiere del sistema 50 en que la segunda fuente de luz 200 dirige la luz 260 a través de una fibra 550 que es independiente de la fibra 500. La fibra 550 (en lugar de la fibra 500) puede dirigir la luz 260 al módulo 630 de control óptico de barrido. Otros aspectos de la FIG. 2 son generalmente equivalentes a los mostrados en la FIG. 1 y los componentes equivalentes están marcados de acuerdo con la nomenclatura usada en la FIG. 1.

Haciendo referencia ahora a la FIG. 3, se ilustra un sistema 60 que es similar en muchos aspectos al sistema 50 descrito anteriormente de la FIG. 1. Por ejemplo, como el sistema 50, el sistema 60 utiliza luz para formar imágenes, coagular y romper los enlaces moleculares del tejido 350. Sin embargo, el sistema 60 no comprende láseres separados para que las fuentes de luz proporcionen luz para coagular y romper los enlaces moleculares del tejido 350. En cambio, el sistema 60 utiliza un único láser 250 (por ejemplo, un láser de semilla) que puede controlarse para funcionar como fuente de luz 200 para proporcionar luz para la función de coagulación y como fuente de luz 300 para proporcionar luz para la función de ruptura de enlaces moleculares. El láser 250 puede ser un láser de frecuencia ajustable, incluyendo, por ejemplo, un láser semiconductor ajustable en frecuencia que comprende un elemento de ajuste intracavitario. Un ejemplo específico de un láser de este tipo se divulga en la Patente de EE.UU. 7.415.049.

El uso de un láser de frecuencia ajustable puede proporcionar ventajas para la extracción de tejido. Por ejemplo, ajustar el láser 250 puede permitir proporcionar diferentes profundidades de ablación para que la tasa de eliminación de tejido pueda controlarse dinámicamente. Los láseres ajustables configurados para tal uso están disponibles a un coste relativamente bajo y en un tamaño relativamente pequeño. En determinados ejemplos, el láser 250 puede controlarse para proporcionar haces de luz separados usados para coagular tejido y para romper los enlaces moleculares del tejido. En otros ejemplos más, la misma fuente de láser puede emitir haces de luz usados para coagular el tejido y también romper los enlaces moleculares del tejido (por ejemplo, cortar o extirpar el tejido). En determinados ejemplos en los cuales se usa la misma fuente láser para coagular y romper enlaces moleculares del tejido, los parámetros (por ejemplo, energía de pulso y duración de pulso) de los haces de luz usados para coagular el tejido pueden ser diferentes de los usados para romper enlaces moleculares del tejido.

En determinados ejemplos, el láser 250 puede configurarse para proporcionar energía luminosa en un intervalo de 600-2200 nm. La luz emitida por el láser 250 puede manipularse (por ejemplo, a través de la placa 251 de media onda, divisores 252 de haz polarizados y ajuste 253 de pulso de dispersión) para proporcionar luz 260 adecuada para coagular el tejido 350. En ejemplos particulares, la luz 260 se proporciona a una amplitud y frecuencia suficientes para

5 modificar al menos la estructura cuaternaria de las proteínas del tejido sin romper sustancialmente los enlaces moleculares del tejido 350.

Además, la luz emitida por el láser 250 también puede amplificarse mediante la amplificación 254 de pulsos de chirrido compensada por dispersión para proporcionar una luz adecuada 270 para romper los enlaces moleculares del tejido 350. Similar a lo descrito anteriormente, la luz 110, 260 y 270 pueden dirigirse a través de una sola fibra 500. Además, el procesador informático 360 puede proporcionar datos de salida 620 al módulo 630 de control óptico de barrido usado para controlar una orientación o posición del láser 250 y (y/o una orientación o posición de la luz 260 y 270 emitidas desde dicho láser 250).

10

Haciendo referencia ahora a la FIG. 4, se ilustra un sistema 70 que es similar al sistema 60 mostrado y descrito anteriormente en la FIG. 3. En este ejemplo, sin embargo, el sistema 70 comprende el láser 255 que funciona con un convertidor de frecuencia (por ejemplo, duplicador de frecuencia) 265. Otros aspectos de la FIG. 4 son generalmente equivalentes a aquellos en la FIG. 3 y los componentes equivalentes están marcados de acuerdo con la nomenclatura usada en la FIG. 3.

15

La fuente de luz 200 (por ejemplo, la fuente de luz configurada para coagular tejido) puede comprender un láser de fibra de iterbio, un láser de iterbio de frecuencia duplicada, un láser de granate de itrio y aluminio (YAG), un láser YAG de frecuencia duplicada, un láser de fibra Tm o un láser de colorante. La fuente de luz 200 puede configurarse para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda que incluye de aproximadamente 350 nm a 2200 nm y, en realizaciones específicas, 532 nm, 585 nm, 1064 o 1940 nm. En ejemplos particulares, la fuente de luz configurada para coagular tejido puede configurarse como un láser de onda continua (por ejemplo, emitiendo luz continuamente a un nivel casi constante o pulsando continuamente).

20

Se entiende que la primera fuente de luz 100, la segunda fuente de luz 200 y la tercera fuente de luz 300 pueden dirigir la luz a diferentes porciones del tejido 350. Por ejemplo, la primera fuente de luz 100 y la segunda fuente de luz 200 pueden dirigir la luz a una porción de tejido 350 que cubre un área más grande que la porción de tejido en la que la fuente de luz 400 dirige la luz.

30

Una consideración de diseño para ejemplos de la presente divulgación es que el nivel de energía luminosa que se transmite a través de un conducto de transmisión (por ejemplo, una fibra óptica) debe ser lo suficientemente bajo como para que no dañe la fibra (por ejemplo, la fibra 500).

35

Por ejemplo, una fibra óptica típica puede tener un umbral de daño de aproximadamente 1 GW/cm². Si se supone una duración de pulso de 1 picosegundo y un diámetro de núcleo de fibra de 35 µm, la energía de pulso máxima que podría pasar a través de la fibra sin provocar daños sería de 38 nJ. En consecuencia, es posible que los láseres de pulsos muy cortos (por ejemplo, picosegundos o femtosegundos) puedan tener dificultades para proporcionar suficiente suministro de energía de pulso dentro del cuerpo a través de una fibra requerida para una tasa de eliminación de tejido deseada. En estos casos, la energía luminosa de pulso corto puede suministrarse a través del aire usando un brazo reticulado. El suministro de luz usando brazos reticulados es bien conocido en la técnica y se ha usado durante décadas para suministrar, por ejemplo, 10,6 µm de luz emitida por un láser de dióxido de carbono.

40

Las especificaciones de diseño adicionales del "haz de corte" (por ejemplo, el haz de luz usado para romper enlaces moleculares) pueden incluir, por ejemplo, energía de pulso (E_p), potencia promedio (P_{ave}), frecuencia de repetición de pulso (f_R), duración del pulso (τ_p), suministro de microaplicador a sitios internos del cuerpo, co-propagación con haces de formación de imágenes y coagulación, y eliminación rápida del tumor sin dañar las estructuras adyacentes. Una especificación de diseño de viga de corte primaria es la tasa de eliminación de tejido (V_R en mm³/s). Es necesario soportar una tasa de eliminación de tejido suficientemente alta para que los cirujanos usen eficazmente ejemplos de la presente divulgación con tiempos de procedimiento que no sean excesivos.

50

Para proporcionar tiempos de procedimiento aceptables, una especificación de diseño diana inicial para la tasa de eliminación de tejido es $V_R \geq 100$ mm³/s. Una tasa tal permitiría eliminar una masa tumoral o tejido patológico de 1 cm³ en menos de 10 segundos. Aunque pueden ser posibles tasas de eliminación de tejido tumoral o patológico más rápidas, un valor de $V_R \geq 100$ mm³/s representa un compromiso razonable entre restricciones de diseño opuestas.

55

Una consideración adicional en la configuración de sistemas y métodos ilustrativos es que la fuente o fuentes de luz usadas para la manipulación de tejido deberían proporcionar una tasa de eliminación de tejido suficiente mientras que también proporcionan un control preciso de la eliminación de tejido. Las tasas de eliminación de tejido más altas pueden proporcionar tiempos de procedimiento reducidos, lo que puede reducir el riesgo de complicaciones durante el procedimiento y mejorar la morbilidad y la mortalidad. El control preciso sobre la fuente de luz (y/o la luz emitida desde la fuente de luz) puede permitir que un cirujano extraiga el tejido que se desea extraer, sin eliminar el tejido circundante. A continuación se proporciona una fórmula para la eliminación de tejido:

60

65

$$V_R = \frac{\pi D_C^2 f_r}{4 \mu_a} \cdot \ln \left(\frac{\Phi_o}{\Phi_{th}} \right) \quad (1)$$

Donde V_R es la tasa de eliminación de tejido (mm^3/s), D_C es el diámetro de la fuente de luz usada para la manipulación de tejidos en mm, f_r es la frecuencia de repetición de pulsos de la fuente de luz en Hz, μ_a es la tasa de absorción de tejido (por ejemplo, $0,0463 \text{ mm}^{-1}$), Φ_o es la fluencia incidente de la fuente de luz (J/cm^2) en el tejido a eliminar y Φ_{th} es la fluencia umbral (por ejemplo, $4,3 \text{ J}/\text{cm}^2$) para la ablación de tejidos.

La ecuación (1) mostrada anteriormente puede usarse para establecer especificaciones de diseño de haz de luz. Por ejemplo, asumir una V_R de $100 \text{ mm}^3/\text{s}$ y un amplificador de potencia de oscilador maestro (MOPA) de tulio (Tm) con una energía de pulso de $6,4 \text{ mJ}$ para proporcionar una fluencia de incidencia $3\times$ ($\Phi_o = 12,9 \text{ J}/\text{cm}^2$) por encima del umbral. En función de estos parámetros, se calcula que el diámetro del haz de corte en el tumor o tejido patológico es $D_C = 220 \text{ }\mu\text{m}$. Una Tm MOPA que proporciona $12,9 \text{ J}/\text{cm}^2$ puede eliminar un tumor o un espesor de tejido patológico de aproximadamente $216 \text{ }\mu\text{m}$ por cada pulso absorbido.

Para un ejemplo con una tasa de eliminación de tejido (V_R) que excede $100 \text{ mm}^3/\text{s}$, es necesaria una frecuencia de repetición de pulso de $f_r = 15,4 \text{ kHz}$. Las especificaciones de diseño del Tm MOPA pueden establecerse, incluyendo haz de corte que incluye energía de pulso (E_p), potencia promedio (P_{ave}), y duración del pulso (τ_p) que permiten tasas rápidas de eliminación de tumores ($V_R \geq 100 \text{ mm}^3/\text{s}$) sin dañar las estructuras adyacentes, suministro de microaplicadores a sitios internos del cuerpo y copropagación con haces de formación de imágenes y de interrupción del flujo sanguíneo. Determinados ejemplos pueden configurarse de tal manera que el haz de corte pueda cortar (por ejemplo, romper enlaces moleculares de) tejido por debajo de los tejidos superficiales sin perturbar la capa de tejido superficial.

Haciendo referencia ahora a la FIG. 5A, se ilustra una fuente de luz 555 ilustrativa de acuerdo con los principios descritos anteriormente. La fuente de luz 555 está configurada para romper los enlaces moleculares del tejido cuando la fuente de luz incide sobre el tejido (por ejemplo, la fuente de luz 555 está configurada para proporcionar luz que puede servir como un "haz de corte"). En el ejemplo mostrado en la FIG. 5A, la fuente de luz 555 es un láser de amplificador de potencia de oscilador maestro (MOPA) de tulio (Tm) que comprende un oscilador maestro 510, que está configurado para proporcionar un pulso de semilla (a, por ejemplo, $1,95 \text{ }\mu\text{m}$). Además esta fuente de luz ilustrativa 555 comprende un primer preamplificador 520 y un segundo preamplificador 530, así como un amplificador 540 de potencia.

En ejemplos, el oscilador maestro 510 puede configurarse en una de varias disposiciones diferentes. Por ejemplo, en determinados ejemplos, el oscilador maestro 510 puede comprender como un láser 511 de fibra Tm con conmutación Q, un aislador óptico 529 y una cizalla de pulsos 519 como se muestra en la FIG. 5A. En determinados ejemplos, la duración del pulso emitido desde el láser de fibra Tm con conmutación de Q puede ser de aproximadamente 100 nanosegundos de duración. La cizalla de pulsos puede extraer un subpulso de menor duración del pulso de 100 nanosegundos . Por ejemplo, la cizalla de pulsos puede extraer un pulso de 6 nanosegundos del pulso emitido desde el láser 511 de fibra Tm con conmutación de Q. En el ejemplo mostrado en la FIG. 5A, el pulso de 6 nanosegundos entra entonces en el primer preamplificador 520 y en el segundo preamplificador 530 para aumentar la potencia. En determinados ejemplos, la potencia puede aumentarse a una potencia promedio de $P_{ave} = 100 \text{ W}$ con una energía de pulso de $E_p = 6,4 \text{ mJ}$ y una frecuencia de repetición de pulsos de $f_r = 15,4 \text{ kHz}$.

Haciendo referencia ahora a la FIG. 5B, en otros ejemplos, el oscilador maestro 510 puede configurarse como un láser 551 de diodo semiconductor que puede conmutarse en ganancia con una fuente de corriente pulsada para lograr la duración de pulso deseada. Mediante la conmutación de ganancia del láser 551 de diodo semiconductor (por ejemplo, InGaAs/InP o InSb) pueden lograrse duraciones de pulso de picosegundos y nanosegundos y la tasa de repetición de pulso puede variarse fácilmente. Se han utilizado láseres de diodo semiconductor con conmutación de ganancia para sembrar los amplificadores de fibra 520, 530 y proporcionar niveles de potencia promedio de varios cientos de vatios con potencias máximas de hasta 270 kW y duraciones de pulso en el intervalo de picosegundos a nanosegundos. Por otro lado, el uso de un láser de diodo semiconductor conmutado por ganancia permite conformar el pulso de luz ajustando la variación de tiempo de la corriente de inyección. El uso de un láser de diodo semiconductor para proporcionar el pulso de semilla puede permitir que la duración del pulso sea programable, ya que está controlada por la corriente de inyección impulsada por la electrónica del sistema. Por ejemplo, si se desea un pulso de 3 nanosegundos con un perfil dado, el láser de diodo semiconductor puede conmutarse en ganancia durante un período de tiempo suficientemente corto para que el pulso de semilla amplificado sea de 3 nanosegundos . Si se desea un pulso más corto, por ejemplo 200 picosegundos , el láser de diodo semiconductor puede conmutarse en ganancia durante la duración de tiempo apropiada. En consecuencia, el láser 551 de diodo semiconductor puede controlarse con precisión para proporcionar el perfil de pulso deseado y la energía de pulso de duración y la tasa de repetición de pulso. Véase Alexander M. Heidt, Zhihong Li y David J. Richardson, "High Power Diode-Seeded Fiber Amplifiers at $2 \text{ }\mu\text{m}$ —From Architectures to Applications" IEEE J. Select. Topics Quantum Electron., Vol. 20, N.º 5, sep./oct. de 2014. La selección del perfil de pulso, energía de pulso [es decir, tamaño de punto (D_C)] y la tasa de repetición de pulsos (f_r) permite el control de la tasa de eliminación de tejido (V_R).

Haciendo referencia ahora a la FIG. 5C, en otros ejemplos de fuente de luz 555, el oscilador maestro 510 puede configurarse como un láser 561 de diodo semiconductor de frecuencia ajustable (por ejemplo, InGaAs/InP o InSb) que puede hacerse funcionar en una configuración de ganancia conmutada o modo bloqueado para lograr una duración de pulso deseada que varía de femtosegundos, a picosegundos a tiempos más largos. Un láser de diodo semiconductor de frecuencia ajustable incorpora un filtro ajustable en la cavidad láser que restringe el láser para que oscile en un intervalo de longitud de onda estrecho controlado por el usuario (véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. 7.415.049). El uso de un láser de frecuencia ajustable puede proporcionar ventajas importantes para la extracción de tejido. Por ejemplo, el coeficiente de absorción del tejido varía en un factor de aproximadamente 20x en el intervalo espectral de 1800 - 2200 nm. El ajuste de la emisión láser a una longitud de onda en el intervalo espectral de 1800 - 2200 nm permite diferentes profundidades de ablación en el tejido y puede usarse para optimizar la tasa de coagulación y/o eliminación de tejido ajustando las restricciones de funcionamiento del láser, incluyendo la longitud de onda de emisión, la tasa de repetición de pulso y la energía de pulso. La selección del perfil de pulso, energía de pulso, tamaño de punto [es decir, tamaño de punto (D_c)], tasa de repetición de pulso (f_R) y longitud de onda de emisión láser [es decir, coeficiente de absorción tisular, $\mu_a(\lambda)$] permite el control de la tasa de eliminación de tejido (V_R).

Haciendo referencia ahora a la FIG. 6, las porciones de la fuente de luz 555 de la FIG. 5A se muestran con más detalle para ilustrar componentes particulares del oscilador maestro 510 y el láser 511. En este ejemplo, el oscilador maestro 510 comprende un láser 511 de fibra de Tm con conmutación de Q (por ejemplo, 1,95 μm) con la cavidad formada entre un reflector alto (HR) 512 y una red de Bragg 513 de fibra de mantenimiento de polarización en línea (PM FBG) mostrada en la FIG. 6. El ejemplo mostrado también comprende un modulador 517 acústico-óptico (AOM), un diodo 514 láser (por ejemplo, un diodo de 973 nm de láser acoplado a fibra de 35 W), un combinador de bomba de mantenimiento de polarización 515 y una fibra dopada de Tm de mantenimiento de polarización con núcleo de 10 μm y revestimiento de 130 μm (PM TDF) 516. El ejemplo mostrado también comprende un cortador de pulsos 519 que incluye un modulador electroóptico (EOM) 518. Los ejemplos ilustrados también comprenden un amplificador 521 de alta tensión (HVA), un generador 522 de pulsos, un reloj 523, un generador 524 de retardo digital (DDG) y un generador 525 de forma de onda arbitraria (AWG).

En el ejemplo mostrado, el AOM 517 está configurado para funcionar como el conmutador Q que puede volcar el oscilador a una frecuencia de repetición de pulso $f_R = 15,4$ kHz. Además, el aislador óptico 529 puede evitar inestabilidades de pulso resultantes de la retroalimentación parásita en la cavidad. El retardo y la duración de cada corte de pulso pueden fijarse por el EOM 518 accionado por el AWG 525 según se activa por el DDG 524. En determinados ejemplos, los controles de diseño basados en riesgo (por ejemplo, de acuerdo con FDA 21 CFR QSR 820.30) pueden implementarse monitorizando diagnósticos de pulso y la temperatura de PC 515 y PM TDF 516.

Haciendo referencia ahora a la FIG. 7, se proporciona una arquitectura ilustrativa para las etapas de ganancia de preamp-1 y -2 mostradas en la FIG. 5. En este ejemplo, el preamp-1 comprende fibra dopada de mantenimiento de polarización Tm (PM TDF) 616 con un núcleo de 10 μm y un revestimiento de 130 μm bombeado por un diodo láser acoplado a fibra de 35 W (973 nm) LD1 614. De manera similar, en este ejemplo, el preamp-2 puede comprender una fibra dopada de mantenimiento de polarización Tm (PM TDF) con un núcleo de 50 μm y un revestimiento de 250 μm bombeado por un diodo láser acoplado a fibra de 80 W (973 nm) LD2 615. El ejemplo mostrado también comprende un combinador 611 de bomba, un aislador 612 y un adaptador 613 de campo de modo de mantenimiento de polarización.

Haciendo referencia ahora a la FIG. 8, se proporciona un esquema del amplificador 540 de potencia (mostrado en la FIG. 5). En este ejemplo, una varilla de fibra Tm 716 proporciona la etapa final de amplificación de pulsos que proporciona, por ejemplo, pulsos $E_p = 6,4$ mJ a $f_R = 15,4$ kHz correspondiente a $P_{ave} = 100$ W de potencia promedio. En ejemplos particulares, la varilla de fibra Tm 716 puede encapsularse en una ranura en V con epoxi 717 térmicamente conductor en una placa 718 de cobre refrigerada por agua. En el ejemplo mostrado, la etapa de ganancia de amplificador de potencia de varilla de fibra dopada Tm es bombeada por un diodo láser (LD1) 714 de 200 W (973 nm) y un diodo láser (LD2) 715 de 100 W (973 nm) reflejado desde los espejos dicróicos (DM) 721, 722.

Las especificaciones de diseño de fuentes de luz de extracción de tejido ilustrativas (por ejemplo, fuentes de luz de "corte") incluyen energía de pulso (E_p), potencia promedio (P_{ave}), frecuencia de repetición de pulso (f_R), duración del pulso (τ_p) y la tasa de eliminación de tejido (V_R). La energía de pulso (E_p) puede determinarse, por ejemplo, midiendo la potencia media (P_{ave}) y la frecuencia de repetición de pulsos (f_R). Además, la duración del pulso (τ_p) de la luz que sale del amplificador de potencia de varilla de fibra Tm puede medirse usando un fotodiodo InGaAs de alta velocidad y un osciloscopio PicoScope 9211A.

La tasa de eliminación de tejido tumoral o patológico (V_R en mm^3/s) puede medirse usando tejido *ex vivo*. Por ejemplo, los especímenes de tejido patológico pueden colocarse en una platina de traslación de dos ejes y se escanean en ráster en un área de 5×5 mm^2 en un período de tiempo de 5 segundos mientras la fuente de luz de extracción de tejido realiza una operación de corte. Después de cortar, los tejidos patológicos pueden colocarse bajo un sistema de formación de imágenes de OCT y la tasa de extracción de tejido se determinará midiendo la profundidad (A_z , mm) de tejidos de ablación usando la relación, $V_R = 20 \cdot \Delta z$ (mm^3/s). Procediendo de esta manera, puede verificarse el rendimiento de la fuente de luz de extracción de tejido. Pueden realizarse estudios similares en modelos animales de tejidos patológicos establecidos.

La validación de los parámetros del sistema ilustrativos puede emplear en primer lugar un aplicador de volumen antes de que se realice la cirugía a través de un microaplicador endoscópico o laparoscópico. Por ejemplo, las especificaciones de diseño del aplicador a granel pueden establecerse antes de la construcción y la verificación de un microaplicador endoscópico o laparoscópico. Además, las especificaciones de diseño de una interfaz de usuario (cirujano) pueden establecerse y después validarse. Por último, el funcionamiento y el rendimiento de los ejemplos para la extracción de tejido patológico en un modelo animal de tejidos patológicos establecidos pueden realizarse para validar el dispositivo.

Las especificaciones de diseño del aplicador a granel incluyen diámetros de formación de imágenes (D_{OCT}), interrupción del flujo sanguíneo (D_G) y haces de corte (D_C) en la superficie del tejido. El diámetro del haz de corte ($D_C = 220 \mu\text{m}$) puede establecerse a partir de la tasa de eliminación de tejido ($V_R \geq 100 \text{ mm}^3/\text{s}$), mientras que D_{PTU} puede determinarse por la profundidad de barrido requerida por el usuario (por ejemplo, 2 mm) y el intervalo de Rayleigh correspondiente de la luz de formación de imágenes ($1,31 \mu\text{m}$) dando $D_{OCT} = 25 \mu\text{m}$. D_G puede determinarse por la potencia disponible (W) del láser de interrupción del flujo sanguíneo (por ejemplo, 0,532 μm) y otros requisitos de diseño para evitar el sangrado.

En ejemplos la fuente de luz de coagulación (por ejemplo, la fuente de luz configurada para interrumpir el flujo sanguíneo) puede configurarse para tratar vasos a lo largo de la profundidad de corte diana (por ejemplo, los 200 μm superiores de un tumor u otro tejido diana) correspondiente a un solo paso del tejido fuente de luz de retirada (por ejemplo, el haz de corte). Haciendo referencia ahora a la FIG. 9, la fuente de luz de coagulación 200 (por ejemplo, un láser de 10 W y 0,532 μm) puede proporcionar 5 W de potencia óptica incidente en el tejido 350 a eliminar (por ejemplo, un tumor o tejido patológico). Un aumento de temperatura en un vaso de gran diámetro (30 μm) colocado 200 μm por debajo de la superficie de tejido previamente extirpada después de una exposición de 25 μs sugiere que $D_G = 50 \mu\text{m}$ es un parámetro de diseño adecuado para interrumpir el flujo sanguíneo en los vasos tumorales.

Para lograr los diámetros de haz especificados en la superficie del tejido 350 ($D_C = 220 \mu\text{m}$, $D_{OCT} = 25 \mu\text{m}$ y $D_G = 50 \mu\text{m}$) en el aplicador a granel, cada haz debe colimarse e incidir en un galvanómetro 390 de barrido X-Y como se muestra en la FIG. 9. El haz 310 de eliminación de tejido y el haz 110 de formación de imágenes se reflejan desde los espejos dicróicos 311 (DM1) y 111 (DM2), respectivamente, y están co-alineados con el haz 210 de coagulación. A partir de los diámetros especificados definidos por el usuario sobre la superficie del tejido 350, se determinan los diámetros de haz colimados en la lente 301, 101 y 201 de barrido (por ejemplo $f = 18 \text{ mm}$) para los haces de eliminación de tejido (0,2 mm), de formación de imágenes (12 mm) y de coagulación (0,25 mm) respectivamente. Los componentes de aplicador a granel que incluyen galvanómetros, espejos dicróicos y lentes de colimación pueden montarse en un recinto de acero inoxidable, por ejemplo, fabricado mediante prototipos rápidos en 3D.

El funcionamiento del aplicador a granel puede verificarse midiendo los diámetros de los haces de corte, de formación de imágenes y de interrupción en el plano focal posterior de la lente de barrido para diferentes posiciones de campo usando una técnica de filo de cuchillo. La velocidad de barrido del aplicador a granel se verificará colocando una placa de vidrio esmerilado en el plano focal de la lente de barrido y registrando el tiempo de vuelo del punto de haz láser de coagulación con una cámara de alta velocidad.

En algunas aplicaciones se desea un aplicador de tal manera que el tamaño del punto de los haces de formación de imágenes, de coagulación y de corte que inciden sobre el tejido tienen una apertura numérica similar que está restringida por la óptica de suministro del haz. Por ejemplo, cuando los haces de formación de imágenes, de coagulación y de corte se propagan a través de una fibra común, el tamaño de punto de cada haz en el tejido está limitado por la óptica de suministro. En este caso, el diámetro del haz de formación de imágenes de OCT en el tejido está limitado por la profundidad de formación de imágenes que está dada aproximadamente por el doble del intervalo de Rayleigh del haz. Por ejemplo, para una longitud de onda del haz de formación de imágenes de 1,31 μm y un intervalo de barrido de aproximadamente 2 mm, el diámetro del haz de formación de imágenes en el tejido es de aproximadamente 20 μm . Para una fluencia de haz de corte de 8,6 J/cm² se requiere una energía de pulso de 35,8 μJ . Mediante el uso de un láser de diodo semiconductor conmutado por ganancia como fuente de semilla seguido de amplificadores de fibra Tm por etapas, puede lograrse una tasa de repetición de pulso de aproximadamente 1 MHz dando una tasa de eliminación de tejido volumétrica de más de 250 mm³/s. Una configuración de este tipo tiene ventajas importantes sobre un microaplicador endoscópico o laparoscópico, ya que los haces de formación de imágenes, de coagulación y de corte pueden suministrarse a través de una fibra óptica común para que pueda utilizarse un aplicador sustancialmente más pequeño y más flexible.

Un ejemplo particular del sistema 800 de suministro se muestra en la FIG. 10. Una fibra 801 (por ejemplo, fibra de cristal fotónico) propaga los haces de formación de imágenes, de coagulación y de corte colimados. Un prisma reflectante 802 dirige la luz sobre un espejo de exploración MEMS X-Y 803 que se coloca en el plano focal posterior de la lente. El colimador 804 y la lente de exploración 805 forman un sistema de formación de imágenes 4f de tal manera que la punta de fibra se conjuga al plano focal posterior de la lente de exploración 805 con una ampliación que proporciona el tamaño de punto direccionado del haz 806 de formación de imágenes en el tejido. El espejo 803 de barrido MEMS X-Y desvía el haz de modo que el haz se explora a través del tejido para formación de imágenes, interrupción del flujo sanguíneo o corte de tejido.

En determinados ejemplos de la presente divulgación, puede implementarse una interfaz de usuario para que un cirujano haga funcionar el sistema. En ejemplos particulares, la interfaz de usuario puede presentarse en una pantalla táctil que permite al cirujano examinar imágenes de OCT y/o MPL del tejido (por ejemplo, un tumor como se muestra en las FIG. 11A y 11B, que representan imágenes en sección transversal en cara y barrido B, respectivamente, de un tumor de cáncer de piel) y especificar una región tridimensional para su eliminación (por ejemplo, las líneas discontinuas 171 y 172 como se muestra en las FIG. 11C y 11D). Después de que el cirujano especifique una región de tejido para su extracción, el procedimiento puede comenzar interrumpiendo (por ejemplo, coagulando) el flujo sanguíneo en la capa más superficial de 200 μm escaneando en trama el haz de coagulación de 0,532 μm sobre la región seleccionada. Directamente después de interrumpir el flujo sanguíneo, la misma capa de 200 μm se elimina escaneando en trama el haz de corte sobre la misma región (FIG. 11E). El proceso puede repetirse para que el flujo sanguíneo en la capa de tejido posterior de 200 μm se interrumpa primero y después se elimine el tumor. El sistema quirúrgico también puede hacerse funcionar en un modo de tal manera que después de que el cirujano especifique una región de tejido para su extracción, el procedimiento puede comenzar interrumpiendo (por ejemplo, coagulando) el flujo sanguíneo en la capa más superficial de 200 μm escaneando en trama el haz de coagulación de 0,532 μm sobre la región seleccionada. Directamente después de interrumpir el flujo sanguíneo, el haz de corte puede ejecutar un corte de circuncisión con tejido dentro del corte extraído mecánicamente como se practica en la técnica quirúrgica.

El funcionamiento y el rendimiento de los ejemplos pueden validarse en un modelo animal con un tejido patológico. Por ejemplo, usando un modelo de tumor de xenoinjerto subcutáneo en ratones desnudos. Las células cancerosas HCT 116 pueden cultivarse en medio 5A de McCoy con suero bovino fetal al 10 % a 37 °C en CO₂ al 5 %. Cuando el cultivo alcanza la confluencia, las células pueden separarse del matraz con tripsina-EDTA al 0,25 %, centrifugarse y resuspenderse en solución salina tamponada con fosfato estéril. Aproximadamente 2×10^6 células/50 μl pueden inyectarse después por vía subcutánea en el área dorsal del ratón. Después de que los tumores crezcan hasta 1 cm de diámetro (aproximadamente 2 semanas), puede montarse una cámara de pliegue cutáneo dorsal alrededor de la región tumoral para colocar al animal para la cirugía.

Antes de la cirugía, la piel dorsal que contiene el tumor puede elevarse desde la sección media del cuerpo y suturarse a una cámara de pliegue cutáneo dorsal de aluminio para colocar la piel lejos del cuerpo. Puede crearse un modelo de cámara de pliegue cutáneo dorsal que lleva xenoinjertos tumorales en 30 ratones desnudos hembra (NU/NU, Harlan, TX) divididos en tres grupos. Los animales del grupo 1 (N=10) pueden servir como control negativo (sin cirugía). Los animales del Grupo 2 (N=10) pueden servir como control positivo y someterse a una resección del tumor con cirugía convencional usando un bisturí, tijeras o electrocauterio Bovie. Los animales del Grupo 3 (N=10) se someten a cirugía usando ejemplos de acuerdo con la presente divulgación. Después de dos semanas, todos los animales en los tres grupos pueden sacrificarse con regiones tumorales cortadas para histología para comparar los resultados del tratamiento. La efectividad de la cirugía usando ejemplos de la presente divulgación frente a la cirugía convencional puede evaluarse examinando la histología para detectar la presencia de cualquier cáncer residual y determinando la cantidad de tejido sano dañado para ratones en los Grupos 2 y 3, tiempo de funcionamiento y facilidad para completar los respectivos procedimientos quirúrgicos. Procediendo de esta manera, el funcionamiento y el rendimiento de los ejemplos pueden validarse frente al procedimiento quirúrgico convencional.

En otro ejemplo, también puede validarse la configuración para la extirpación de neuroma femoral. La extirpación quirúrgica de tumores dentro de la cavidad corporal puede lograrse, por ejemplo, utilizando un microaplicador endoscópico.

Las especificaciones de diseño óptico de las realizaciones que utilizan un microaplicador endoscópico son similares al aplicador a granel descrito anteriormente. En particular, los diámetros de los haces de formación de imágenes ($D_{OCT} = 25 \mu\text{m}$), de coagulación ($D_G = 50 \mu\text{m}$) y de extracción de tejido ($D_C = 220 \mu\text{m}$) en la superficie del tumor son equivalentes a las especificaciones del aplicador a granel.

Determinados ejemplos pueden emplear un relé de Hopkins modificado para el diseño del microaplicador endoscópico. Usando el software de diseño óptico Zemax, un diseño de relé Hopkins modificado puede tolerarse y optimizarse para los haces de formación de imágenes (1,32 μm), de coagulación del flujo sanguíneo (0,532 μm) y de eliminación de tejido (1,95 μm). Pueden fabricarse microlentes de varilla a partir de trozos en bruto de vidrio (por ejemplo, por Optical Technology, Boston, MA). Antes del montaje de la lente, las microlentes de varilla pueden tener un recubrimiento antirreflectante (por ejemplo, por Materion, Boston, MA). Un recubrimiento AR de alta calidad (por ejemplo, < 0,2 %, disponible de Materion) puede usarse para las longitudes de onda de los haces de interrupción del flujo sanguíneo, de formación de imágenes y de corte (0,532 μm , 1,32 μm , y 1,95 μm). Después del recubrimiento, las microlentes de varilla pueden ensamblarse en un tubo de acero inoxidable de 5 mm de diámetro (por ejemplo, con un diámetro interior de 3 mm). El tubo de acero inoxidable puede sujetarse a un cabezal de acero inoxidable fabricado mediante creación rápida de prototipos en 3D. El cabezal de acero inoxidable puede alojar un conjunto de barrido similar al usado para el aplicador a granel, pero que incluye un relé telescópico para el barrido de los haces de formación de imágenes colimadas, de coagulación y de eliminación de tejido en el plano focal frontal del conjunto de microlentes de varilla. Haciendo referencia ahora a la FIG. 12, puede construirse un microaplicador endoscópico 900 integrando el combinador de haces y el escáner con el conjunto de microlentes endoscópicas. Un conjunto combinador de haces se interconecta con el endoscopio o laparoscopio formando imágenes de un plano conjugado de los galvanómetros

de exploración con el plano focal frontal del endoscopio o laparoscopio usando un sistema focal. El funcionamiento del microaplicador endoscópico o laparoscópico puede verificarse usando el protocolo empleado para el aplicador a granel.

- 5 Si bien una aplicación ilustrativa incluye la extracción de tejido patológico en espacios confinados rodeados por estructuras óseas (por ejemplo, colesteatomas en el oído interno y tumores cerebrales inoperables), una validación inicial puede utilizar un modelo simple para minimizar las complicaciones con la preparación y supervivencia de los animales después de la cirugía. Un modelo de cáncer de conejo VX2 se propuso por primera vez en 1933 y se usa ampliamente. Los fragmentos de tumor VX2 se usan para establecer una serie de modelos de tumor de conejo. El
- 10 nervio femoral en la ingle puede identificarse y distinguirse fácilmente del músculo circundante y representa un sitio diana atractivo para inducir un neuroma. Esta validación propone inducir un neuroma femoral en un modelo de conejo para completar estos estudios.

- Treinta y dos conejos machos blancos de Nueva Zelanda adultos que pesaban de 3,8 a 4,3 kg (Charles River, TN) se proponen que se inscriban en este estudio y se dividan en cuatro grupos. Los conejos del Grupo 1 (N = 2) sirven como donantes de tumores. Los conejos del Grupo 2 (N = 10) y del Grupo 3 (N = 10) se someten a la implantación percutánea del tumor y a la extirpación del tumor usando un enfoque convencional (Grupo 2) o el bisturí láser inteligente guiado por imágenes (Grupo 3) de los inventores. Los conejos del Grupo 4 (N = 10) sirven como controles. Para obtener
- 15 fragmentos de tumor para la implantación, a los conejos del Grupo 1 se les inyectarán 125 ml de suspensión de células de carcinoma VX2 (NCI, MA) en cada músculo del muslo. Los tumores sólidos distintos que crecen en cada músculo del muslo se recolectarán en dos semanas, se ponen en solución salina equilibrada de Hanks a 4 °C, y después se cortan suavemente en fragmentos de 1 mm³. El sitio diana para la implantación de fragmentos de tumor puede seleccionarse después en la región de la ingle en el músculo adyacente al nervio femoral. Para inyectar fragmentos de tumor, los animales de los Grupos 2 y 3 se someterán a una laparotomía convencional a través de una incisión de
- 20 1 cm en la región de la ingle. Se inyectará una aguja de calibre 18 que consiste en una cánula y un núcleo que contiene fragmentos de tumor VX2 en el músculo que rodea el nervio femoral y se suturará la incisión y se permitirá que los animales se recuperen. Aproximadamente una semana después de la implantación cuando los diámetros del neuroma son de aproximadamente 1 cm, los conejos del Grupo 2 se someterán a una laparotomía convencional con neuromas extirpados empleando un enfoque quirúrgico convencional usando un bisturí, tijeras o electrocauterio Bovie. Los
- 25 conejos del Grupo 3 también se someterán a laparotomía convencional con neuromas extraídos usando ejemplos de la presente divulgación a través de un microaplicador endoscópico. Después de suturar las incisiones, los conejos de los Grupos 2 y 3 se observarán y se evaluarán para determinar el deterioro de la locomoción y la continencia y se compararán con los controles. Después de dos semanas, se sacrificarán todos los conejos y se cortarán las regiones de tejido que contienen el nervio femoral para histología para comparar los resultados del tratamiento. La eficacia de los ejemplos para eliminar los neuromas femorales a través del microaplicador endoscópico se evaluará en relación con el procedimiento quirúrgico convencional examinando el daño del nervio femoral, la presencia de cualquier célula cancerosa residual y los tiempos de operación para completar los respectivos procedimientos quirúrgicos. Procediendo de esta manera, la operación y el rendimiento de los ejemplos para eliminar neuromas a través de un microaplicador endoscópico pueden validarse frente al procedimiento quirúrgico convencional.

- Los ejemplos de la presente divulgación también comprenden sistemas y métodos para establecer rápidamente márgenes tumorales con alta sensibilidad y especificidad. Haciendo referencia ahora a la FIG. 13, se proporciona un esquema de un sistema 600 de biopsia óptica basado en láser. Una visión general del ejemplo mostrado en la FIG. 13 proporciona las siguientes etapas de procedimiento. Inicialmente, en el comando del cirujano (por ejemplo, activación por voz, pedal o pulsador) un espécimen 605 de tejido pequeño (por ejemplo, 1-4 mm³) se recolecta con
- 45 una herramienta 601 asistida por vacío. La herramienta de recolección asistida por vacío puede integrarse con bisturíes quirúrgicos y/o cauterización de uso común (por ejemplo, electrocauterio Bovie) para aglizar y mantener el flujo de trabajo preferido del cirujano. A continuación, después de la recolección asistida por vacío, el espécimen 605 de tejido puede transportarse a través de un canal 602 fluido de presión positiva a una cámara 603 de procesamiento de tejido. Una vez en la cámara 603 de procesamiento de tejido, un láser 604 (por ejemplo, un láser de femtosegundo ultrarrápido) puede cortar el espécimen 605 de tejido en una sección 607 de placa de 500 µm de espesor para el ensayo basado en imágenes. Después puede realizarse un ensayo óptico de MPL-OCT 608 en la placa de tejido 607. Los datos registrados por el ensayo basado en imágenes de MPL-OCT 608 pueden procesarse a continuación por una matriz de puertas programables en campo (FPGA) 609 que permite un diagnóstico de alta velocidad de la muestra de tejido ensayada. El resultado del análisis de diagnóstico puede comunicarse a continuación al cirujano proyectando una superposición del diagnóstico en cualquiera de las diversas modalidades de imagen existentes utilizadas por el cirujano. Por lo tanto, en lugar de solo poder procesar varias secciones congeladas como es la práctica actual, la
- 50 cámara óptica descrita podría procesar muestras de un orden de magnitud mayor, superponiendo los resultados en una pantalla de ordenador de todo el campo operativo, proporcionando al cirujano conocimiento de la presencia de cáncer residual a lo largo de todo el margen quirúrgico, actualmente no es posible usando secciones congeladas tradicionales.

- El sistema 600 puede reducir el tiempo necesario para completar un diagnóstico (por ejemplo, menos de tres minutos) en comparación con los sistemas de diagnóstico existentes. En consecuencia, los tiempos de operación quirúrgica pueden acortarse, reforzarse el flujo de trabajo preferido del cirujano y mejorarse el pronóstico del paciente después de la cirugía porque todo el margen quirúrgico puede mapearse para detectar cáncer residual. Por otro lado, debido a

que el diagnóstico basado en imágenes ópticas usado en el sistema 600 no es destructivo, la biopsia e histología tradicionales pueden realizarse posteriormente en cada placa de tejido recolectado para validar el diagnóstico del sistema 600.

El ensayo basado en imágenes de MPL usado en el sistema 600 requiere especímenes de tejido de tamaño y forma adecuados. En la medida en que los ensayos basados en imágenes de MPL y OCT utilizan enfoques de barrido de puntos rectilíneos, la forma óptima para las muestras de tejido compatibles con estas modalidades de formación de imágenes es una geometría de placa. Una geometría de placa de tejido procesada también es compatible con el procesamiento histológico convencional que puede completarse después del diagnóstico en el sistema 600.

Debido a que la profundidad de formación de imágenes de MPL es de aproximadamente 200-300 μm , la formación de imágenes desde ambos lados de la placa restringe el espesor de la muestra de tejido para este enfoque a aproximadamente 500 μm . El procesamiento de la muestra de tejido recolectada debe preservar la microestructura del tejido para que no se introduzcan artefactos de procesamiento en el ensayo basado en imágenes de MPL-OCT.

La FIG. 14 muestra un esquema de un sistema de procesamiento de tejido 700 para procesar el tejido recogido en placas de tamaño adecuado para el ensayo basado en imágenes de MPL-OCT. El sistema 700 comprende un láser 701 de femtosegundo de fibra ultrarrápido en combinación con unos accionadores 702 y 703 de microposición y sujeción de tejido asistidos por vacío. Debido a que la acción de corte del láser ultrarrápido 701 usará ablación por plasma, las placas 704 de tejido con el tamaño y la forma adecuados tendrán una región modificada insignificante en las superficies de la placa y reducirán la probabilidad de la introducción de artefactos en el ensayo basado en imágenes de MPL-OCT. Se propone una cámara 705 de procesamiento de tejido desechable usando accionadores 702 y 703 de microposición y sujeción de tejido asistidos por vacío para su uso en combinación con el barrido del haz láser ultrarrápido para que el tejido extraído pueda procesarse rápidamente en placas de tamaño adecuado para el ensayo TPL-OCT basado en imágenes.

Como el transporte de tejido resecado se realizará hidráulicamente, la cámara 705 de procesamiento de tejido puede llenarse con solución salina tamponada con fosfato 706. El transporte de los especímenes 704 de tejido dentro y fuera de la cámara 705 de procesamiento de tejido puede tener lugar a través de un puerto 707 de entrada en una cara y un puerto 708 de salida en el lado opuesto. Puede usarse una unión en T (no mostrada) anteriormente a la entrada y posteriormente a la salida para purgar la cámara 705 según sea necesario para lograr la transparencia óptica requerida. La cámara 705 puede tener una ventana 709 ópticamente transparente para la formación de imágenes y el suministro del haz desde el láser ultrarrápido 701. La cámara 705 puede ser desechable para evitar la contaminación cruzada de la biopsia del paciente actual por biopsias de pacientes anteriores. Por lo tanto, los accionadores 702 y 703 de microposición y sujeción de tejido pueden acoplarse y desacoplarse de la cámara tras el reemplazo. Pueden incorporarse dos tabiques 722 y 723 de goma autosellantes en las facetas ortogonales de la cámara 705 para formar un sello hermético para el acoplamiento/desacoplamiento.

Los accionadores 702 y 703 pueden alojarse en agujas 712 y 713 de acero inoxidable que penetrarán en los tabiques 722 y 723 de goma autosellantes integrados en la cámara 705 de procesamiento de tejido. Dos unidades de accionador/aguja pueden penetrar en los lados ortogonales de la cámara 705 y pueden trabajar juntas para mover el tejido en cualquier orientación. Una vez que el tejido está en la cámara, un solo accionador puede penetrar en el tabique y puede desplegarse un vacío. El accionador puede girarse y trasladarse linealmente a través de motores paso a paso de precisión para proporcionar un posicionamiento preciso y exacto de la muestra.

La succión de vacío puede aplicarse al accionador de tubo hueco al mismo tiempo que se añade solución salina para mantener un volumen de líquido constante. Una vez anclado al accionador, la muestra puede girarse completamente alrededor del eje del accionador desplegado y obtener imágenes usando una cámara de longitud de onda visible. El segundo accionador puede desplegarse mientras el primer accionador está desacoplado y pueden obtenerse imágenes del tejido a lo largo del segundo eje del accionador.

Los sistemas ópticos que interactúan con la cámara de procesamiento de tejido pueden incluir un láser ultrarrápido, cámara y OCT. Un láser ultrarrápido (que incluye, por ejemplo, los disponibles de Uranus-mJ, PolarOnyx Laser, EE.UU.) que proporciona pulsos de 1030 nm 500 fs a una energía de pulso de 0,5 mJ y una tasa de repetición de 100 kHz en la muestra se utiliza para la ablación rápida de tejido con plasma. El haz del láser ultrarrápido puede combinarse con el haz de excitación OCT-MPL mediante un espejo dicróico antes de los galvanómetros. Una cámara CCD (que incluye, por ejemplo, acA1300-30gc, Basler, Alemania) en la abertura posterior del objetivo puede usarse para la alineación de espécimen de tejido en el plano lateral, mientras que OCT puede emplearse para la alineación de espécimen en el plano axial. El haz del láser ultrarrápido puede escanearse en combinación con el movimiento del accionador para recortar los bordes de la muestra de tejido para crear una geometría de placa plana con un espesor de 500 μm .

El sistema de procesamiento de tejido 700 puede proporcionar un procesamiento eficiente de muestras de tejido y tiempos de procesamiento reducidos. Una muestra de tejido puede procesarse en una geometría de placa plana de 500 μm de espesor con dos superficies de corte en menos de sesenta segundos (donde el tiempo de procesamiento se mide desde el momento en que el tejido entra en la cámara de procesamiento hasta el momento en que el láser

ultrarrápido termina de cortar la segunda interfaz plana).

Los sistemas de formación de imágenes basados en fibra de OCT-MPL combinados (por ejemplo, que comprenden módulos de formación de imágenes de OCT y MPL de origen barrido y ópticas de exploración) pueden utilizarse para completar el ensayo de OCT-MPL basado en imágenes.

Puede realizarse un ensayo de OCT-MPL basado en imágenes para demostrar la detección simultánea de estructura y composición de placas de tejido procesadas y diagnosticar si hay cáncer presente. Los tejidos tumorales pueden obtenerse de pacientes que se someten a cirugía de cáncer y las imágenes de MPL se registran desde ambos lados de la placa de tejido procesada y se fusionan en una única imagen volumétrica.

Las imágenes de MPL pueden indicar la presencia de constituyentes de tejido que incluyen lípidos, fibras de calcio y colágeno/elastina. El estado de energía del tejido también puede analizarse a partir de la señal de MPL que incluye NADH y FAD+, que están implicados en el ciclo de Krebs, ya que los cánceres tendrán un estado metabólico aumentado en comparación con los tejidos normales. Los espectros de emisión de MPL registrados (por ejemplo, por fotodetectores tales como PMT) pueden distinguir adicionalmente estos tipos de tejido y estados redox. Cada imagen OCT corregistrada *en face* puede fusionarse con la imagen de MPL para superponer la composición bioquímica en la imagen estructural de OCT de tejido. Dado que las señales de OCT y MPL se deben a dos tipos complementarios de contraste óptico (por ejemplo, dispersión y absorción/emisión multifotónica, respectivamente), las regiones con emisión de MPL fuerte/débil corresponden a una señal de OCT débil/fuerte, proporcionando una interpretación integral del bloque de tejido procesado. Un conjunto de datos de OCT tridimensional también puede fusionarse con imágenes de MPL correspondientes, demostrando distribuciones tridimensionales de constituyentes de tejido y estados de energía en relación con el perfil y la estructura de la superficie.

Después de completar el ensayo de MPL-OCT basado en imágenes, las placas de tejido pueden procesarse usando histología convencional para la presencia de cáncer por un patólogo. Comparando el diagnóstico histológico con el ensayo de MPL-OCT basado en imágenes, puede determinarse un conjunto de entrenamiento que identifica parámetros de diagnóstico en imágenes de MPL-OCT usando análisis de componentes principales (PCA). Varios estudios recientes sugieren que la luminiscencia multifotónica (MPL) y la tomografía de coherencia óptica (OCT) pueden usarse para detectar cáncer.

REFERENCIAS:

Heidt A, *IEEE J. Select. Topics Quantum Electron*, **20 (5)**, 2014.

El-Sherif A, *Lasers Med Sci*, **18**, 139-147, 2003.

Richardson D, *J. Opt. Soc. Am. B*, **27**, B63-B92, 2010.

Yusuf S, *Circulation*, **104**, 2746-2753, 2001.

Libby P, *Circulation*, **105**, 1135-1143, 2002.

Libby P, *Circulation*, **111**, 3481-3488, 2005.

Lucas AR, *Circulation*, **113**, e728-732, 2006.

Virmani R, *J Interv Cardiol*, **16(3)**, 267-272, 2003.

Davies MJ, *Br Heart J*, **69**, 377-381, 1993.

Sary HC, *Circulation*, **92**, 1355-1374, 1995.

Jonasson L, *Arteriosclerosis*, **6**, 131-138, 1986.

Johnson JL, *Proc Natl Acad Sci*, **102**, 15575-15580, 2005.

Henney AM, *Proc Natl Acad Sci*, **88**, 8154-8158, 1991.

Galis ZS, *J Clin Invest*, **94**, 2493-2503, 1994.

Nikkari ST, *Circulation*, **92**, 1393-1398, 1995.

Libby P, *Curr Opin Lipidol*, **7**, 330-335, 1996.

Taubman MB, *Heart*, **78**, 200-204, 1997.

Kolodgie FD, *Heart*, **90**, 1385-1391, 2004.

van Zandvoort M, *J Vasc Res*, **41**, 54-63, 2004.

Zoumi A, *Biophys J*, **87**, 2778-2786, 2004.

Boulesteix T, *Cytometry Part A*, **69A**, 20-26, 2006.

Le TT, *J Biomed Opt*, **12(5)**, 0540071-05400710, 2007.

Lilledahl MB, *J Biomed Opt*, **12(4)**, 0440051-04400512, 2007.

Wang T, *J Biomed Opt*, **17(3)**, 0360091-03600910, 2012.

Wang T, *Lasers Surg Med*, **44(1)**, 49-59, 2012.

Xue P, *Chinese Science Bulletin*, **53(13)**, 1963-1966, 2008.

Ryu SY, *Opt Quant Electron*, **37(13-15)**, 1191-1198, 2005.

Fu L, *Opt Lett*, **31**, 1471-1473, 2006.

Liu G, *J Biophoton*, **4**, 34-39, 2011.

Fu L, *Opt Exp*, **14**, 1027-1032, 2006.

Wu Y, *Opt Lett*, **34**, 953-955, 2009.

Kim, EH, *Optics Communications*, **249**, 351-356, 2005.

Park J, *Opt Exp*, **16(3)**, 1590-1599, 2008.

- V. L. Roger, *Circulation*, **123(4)**, e18-e209, 2011.
 E. Falk, *Circulation*, **92(3)**, 657-671, 1995.
 F. D. Kolodgie, *Heart*, **90(12)**, 1385-1391, 2004.
 N. B. Hao, *Clin. Dev. Immunol.*, **2012**, 948098-948108, 2012.
- 5 B. Ruffell, *Trends Immunol.*, **33(3)**, 119-126, 2012.
 R. Shukla, *Langmuir*, **21(23)**, 10644-10654, 2005.
 M. M. Janat-Amsbury, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **77(3)**, 417-423, 2011.
 S. Lal, *Acc. Chem. Res.*, **41(12)**, 1842-1851, 2008.
 X. Ji, *J. Phys. Chem. C*, **111(17)**, 6245-6251, 2007.
- 10 S. E. Skrabalak, *Nanomedicine (Lond)*, **2(5)**, 657-668, 2007.
 M. Longmire, *Nanomedicine (Lond)*, **3(5)**, 703-717, 2008.
 L. L. Ma, *ACS Nano*, **3(9)**, 2686-2696, 2009.
 T. Wang, *Lasers Surg. Med.*, **44(1)**, 49-59, 2012.
 T. S. Hauck, *Small*, **4(1)**, 153-159, 2008.
- 15 T. Niidome, *J. Control Release*, **114(3)**, 343-347, 2006.
 A. Mooradian, *Phys. Rev. Lett.*, **22(5)**, 185-187, 1969.
 J. Zheng, *Phys. Rev. Lett.*, **93(7)**, 077402-077405, 2004.
 G. Wang, *J. Am. Chem. Soc.*, **127(3)**, 812-813, 2005.
 J. P. Wilcoxon, *J. Chem. Phys.*, **108(21)**, 9137-9143, 1998.
- 20 Y. Fang, *ACS Nano*, **6(8)**, 7177-7184, 2012.
 P. K. Jain, *Plasmonics*, **2(3)**, 107-118, 2007.
 M. A. El-Sayed, *Acc. Chem. Res.*, **34(4)**, 257-264, 2001.
 C. Sönnichsen, *Phys. Rev. Lett.*, **88**, 077402-077405, 2002.
 M. B. Mohamed, *Chem. Phys. Lett.*, **317(6)**, 517-523, 2000.
- 25 S. Link, *J. Phys. Chem.*, **B 106(16)**, 3073-3077, 1999.
 S. S. Verma, *J. Optics*, **41(2)**, 89-93, 2012.
 P. K. Jain, *Acc. Chem. Res.*, **41(12)**, 1578-1586, 2008.
 E. T. Castellana, *Langmuir*, **26(8)**, 6066-6070, 2010.
 H. Wang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102(44)**, 15752-15756, 2005.
- 30 L. Tong, *Photochem. Photobiol.*, **85(1)**, 21-32, 2009.
 T. Y. Ohulchanskyy, *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.*, **2(2)**, 162-175, 2010.
 D. Nagesha, *Int. J. Nanomedicine*, **2(4)**, 813-819, 2007.
 Y. Zhang, *J. Biomed. Opt.*, **15(2)**, 0205041-0205043, 2010.
 C. L. Chen, *Biomaterials*, **31(14)**, 4104-4112, 2010.
- 35 H. Okamoto, *J. Mater. Chem.*, **16(40)**, 3920-3928, 2006.
 K. Imura, *J. Phys. Chem. B*, **109(27)**, 13214-13220, 2005.
 W. H. Ni, *ACS Nano*, **2(4)**, 677-686, 2008.
 C. Xu, *JOSAB*, **13(3)**, 481-491, 1996.
 R. Gans, *Ann. Phys.*, **47(10)**, 270-284, 1915.
- 40 M. A. Albota, *Appl. Opt.*, **37(31)**, 7352-7356, 1998.
 G. T. Boyd, *Phys. Rev. B*, **33(12)**, 7923-7936, 1986.
 S. Eustis, *J. Phys. Chem. B*, **109(34)**, 16350-16356, 2005.
 M. Guerrisi, *Phys. Rev. B*, **12(2)**, 557-563, 1975.
 X. Huang, *Adv. Mater.*, **21(48)**, 4880-4910, 2009.
- 45 K. S. Lee, *J. Phys. Chem. B*, **109(43)**, 20331-20338, 2005.
 C. Sönnichsen, *Nano Lett.*, **5(2)**, 301-304, 2005.
 S. Link, *J. Phys. Chem. B*, **104(26)**, 6152-6163, 2000.
 A. Bouhelier, *Phys. Rev. Lett.*, **95(26)**, 2674051-2674054, 2005.
 R. E. Hummel, *Electronic Properties of Materials*, 37-61, 2011.
- 50 R. Rosei, *Phys. Rev. B*, **12(2)**, 557-563, 1975.
 Vakoc, Benjamin J., *Nature medicine*, **15,10**, 1219-1223, 2009.
 Perry, Seth W., *Annals of biomedical engineering*, **40.2**, 277-291, 2012

REIVINDICACIONES

1. Un sistema que comprende:

5 una primera fuente de luz (100) configurada para proporcionar una señal para su uso en la formación de imágenes de tejido cuando la primera fuente de luz incide sobre el tejido, en donde la primera fuente de luz (100) comprende una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica;
 10 una segunda fuente de luz (200) configurada para coagular tejido cuando la segunda fuente de luz incide sobre el tejido, en donde la segunda fuente de luz (200) está configurada para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 350 nm a 2200 nm; y
 una tercera fuente de luz (300) configurada para romper los enlaces moleculares del tejido cuando la tercera fuente de luz incide sobre el tejido; en donde
 15 la tercera fuente de luz (300) es una fuente amplificada de fibra sembrada por láser de diodo o una fuente amplificada de fibra sembrada por láser de semiconductor ajustable que está configurada para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda de 1800 nm a 2200 nm y por que la señal obtenida de la primera la fuente de luz (100) es una entrada en un procesador informático (360), y en donde el procesador informático (360) proporciona datos de salida usados para controlar una orientación o posición de la segunda fuente de luz (200) y la tercera fuente de luz (300), en donde la fuente amplificada de fibra sembrada por diodos o la fuente amplificada de fibra sembrada por láser semiconductor ajustable está configurada para emitir energía que tiene un perfil de pulso, una energía de pulso y una tasa de repetición de pulso, en donde al menos uno del perfil de pulso, la energía de pulso y la tasa de repetición de pulso pueden controlarse para ajustar una tasa de eliminación de tejido.

2. El sistema de la reivindicación 1, en donde la tercera fuente de luz (300) es un amplificador de potencia de oscilador maestro de fibra dopada Tm (MOPA), preferentemente el láser de semilla MOPA dopado Tm es un láser de diodo semiconductor o un láser ajustable.

3. El sistema de la reivindicación 1, en donde la tercera fuente de luz (300) está configurada para (a) romper los enlaces moleculares del tejido coagulado por la segunda fuente de luz (200) cuando la tercera fuente de luz (300) incide sobre el tejido o (b) alterar la estructura cuaternaria de las proteínas de tejido cuando la tercera fuente de luz (300) incide sobre el tejido.

4. El sistema de la reivindicación 1, en donde la primera fuente de luz (100), la segunda fuente de luz (200) y la tercera fuente de luz (300) emiten luz a través de una única fibra (500) en el mismo momento o en diferentes momentos, en donde la fibra única es preferentemente un componente de un endoscopio o laparoscopio.

5. El sistema de la reivindicación 1, en donde la segunda fuente de luz (200) es un láser de fibra de iterbio o un láser de fibra de iterbio de frecuencia duplicada.

6. El sistema de la reivindicación 1, en donde la segunda fuente de luz (200) está configurada para emitir energía en un intervalo de longitudes de onda incluyendo 532 nm, 585 nm, 1064 nm y/o 1940 nm.

7. El sistema de la reivindicación 1, en donde la primera fuente de luz (100) comprende (a) una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica de fuente barrida o una fuente de luz de tomografía de coherencia óptica de banda ancha y/o (b) una fuente de luz de luminiscencia multifotónica.

8. El sistema de la reivindicación 1, en donde la segunda fuente de luz (200) está configurada para emitir energía a una amplitud y frecuencia suficientes para modificar al menos la estructura cuaternaria de las proteínas tisulares sin romper sustancialmente los enlaces moleculares del tejido o en donde la tercera fuente de luz (300) es un láser configurado para emitir energía a una amplitud y frecuencia suficientes para romper los enlaces moleculares del tejido.

9. El sistema de la reivindicación 1, en donde la segunda fuente de luz (200) y la tercera fuente de luz (300) se originan (a) a partir de fuentes de luz separadas o (b) a partir de una fuente de luz común.

10. El sistema de la reivindicación 9, en donde la segunda fuente de luz (200) y la tercera fuente de luz (300) se originan a partir de una fuente de luz común en el mismo momento durante el uso o desde una fuente de luz común en diferentes momentos durante el uso.

11. Un método de manipulación de tejido *ex vivo*, comprendiendo el método:

60 obtener señales de imagen iniciales de una primera porción de tejido, en donde una primera fuente de luz (100) incide sobre la primera porción de tejido;
 colocar una segunda fuente de luz (200) sobre una segunda porción de tejido, en donde la segunda fuente de luz (200) coagula la segunda porción de tejido; y
 65 romper los enlaces moleculares de una tercera porción de tejido a través de la energía luminosa, en donde la señal de imagen inicial obtenida se usa para colocar la segunda fuente de luz (200);
 en donde las etapas de obtener señales de imagen, posicionar la segunda fuente de luz (200) y romper enlaces

moleculares se realizan usando el sistema de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

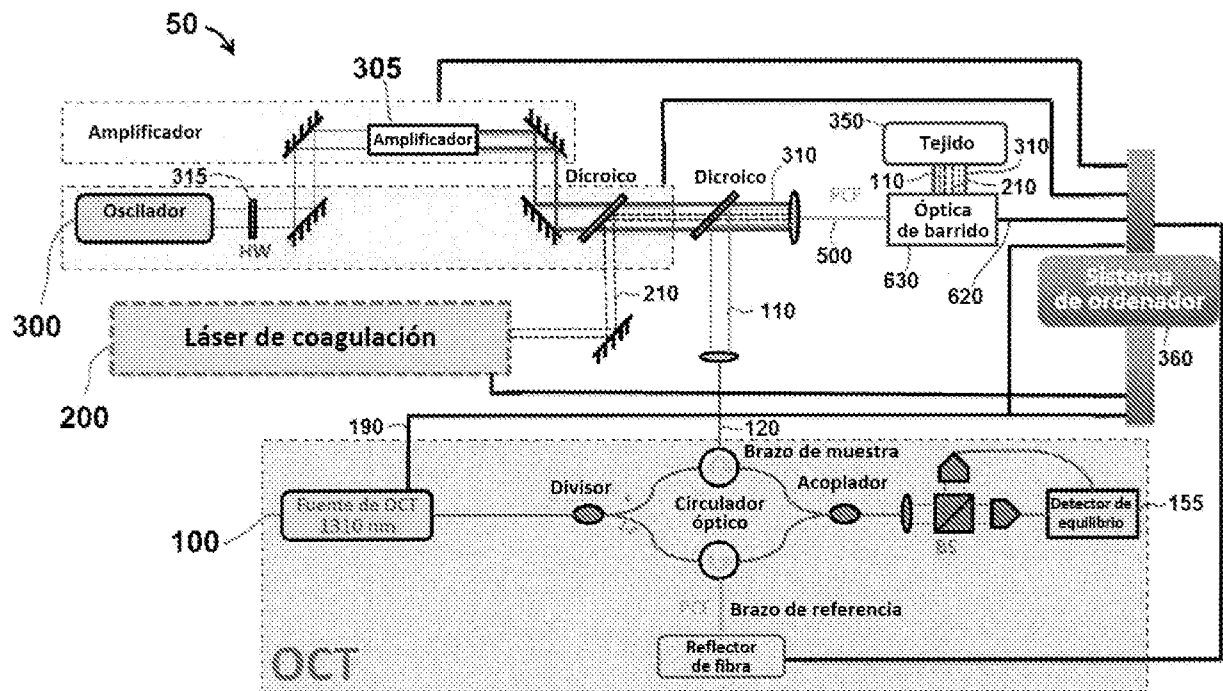


FIG. 1

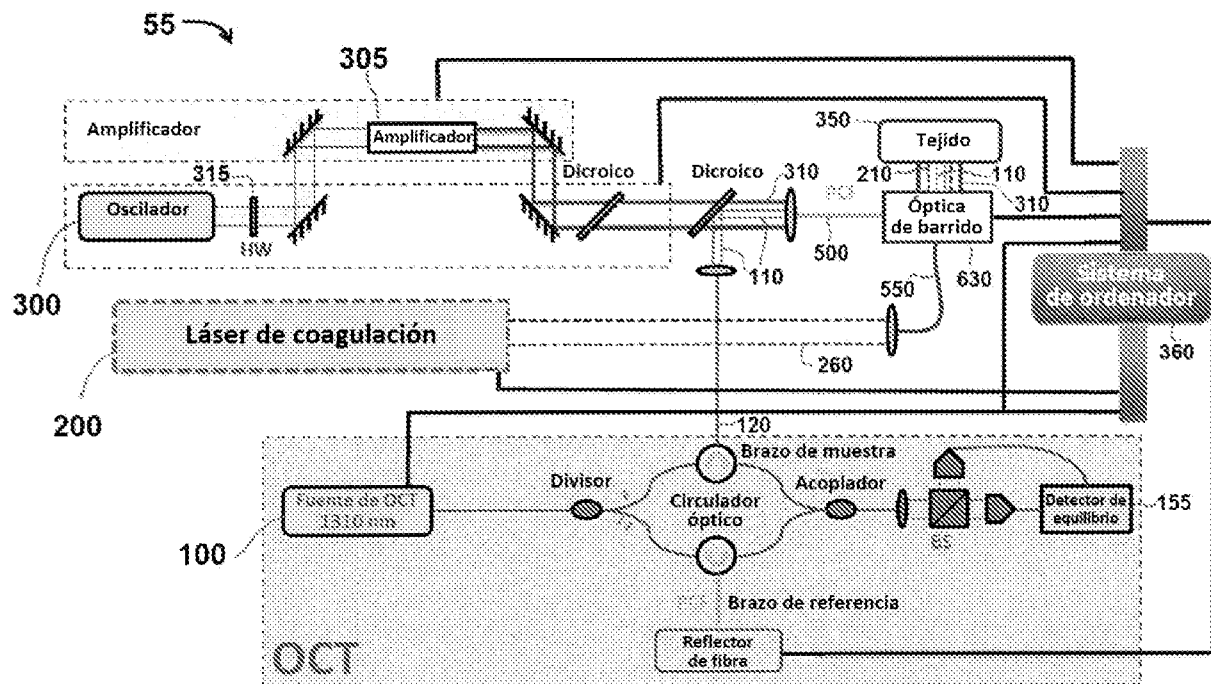


FIG. 2

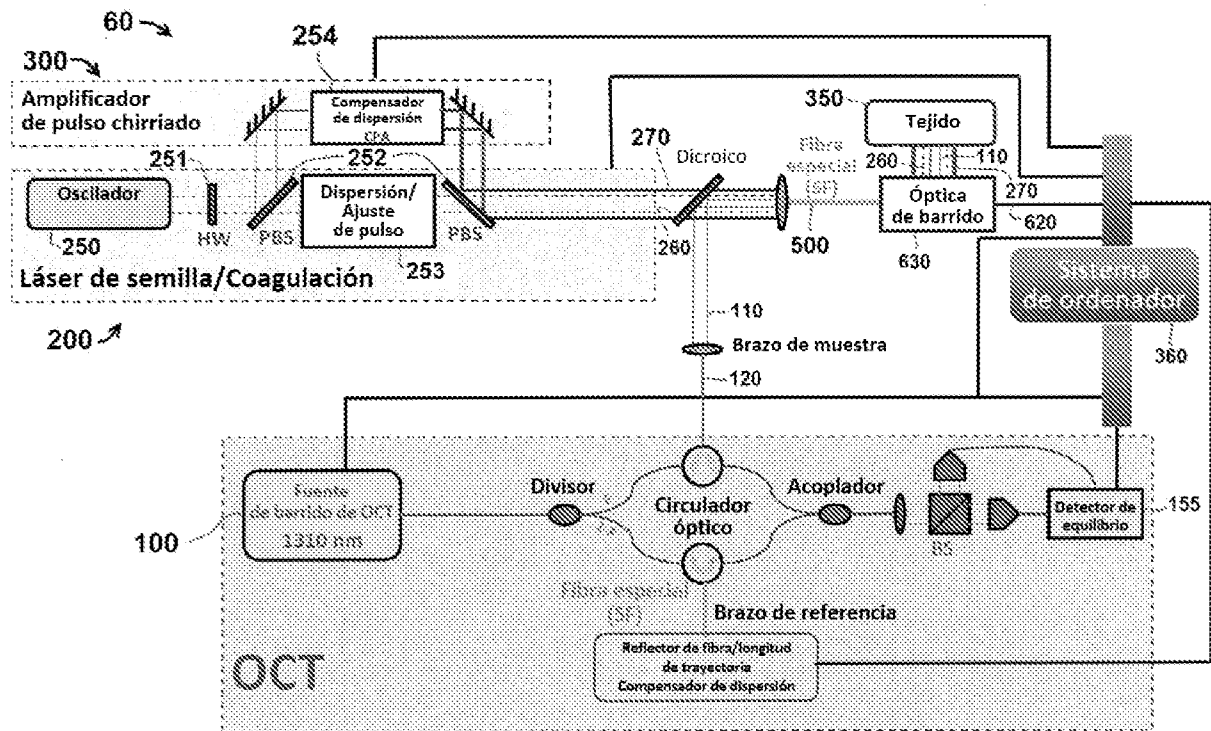


FIG. 3

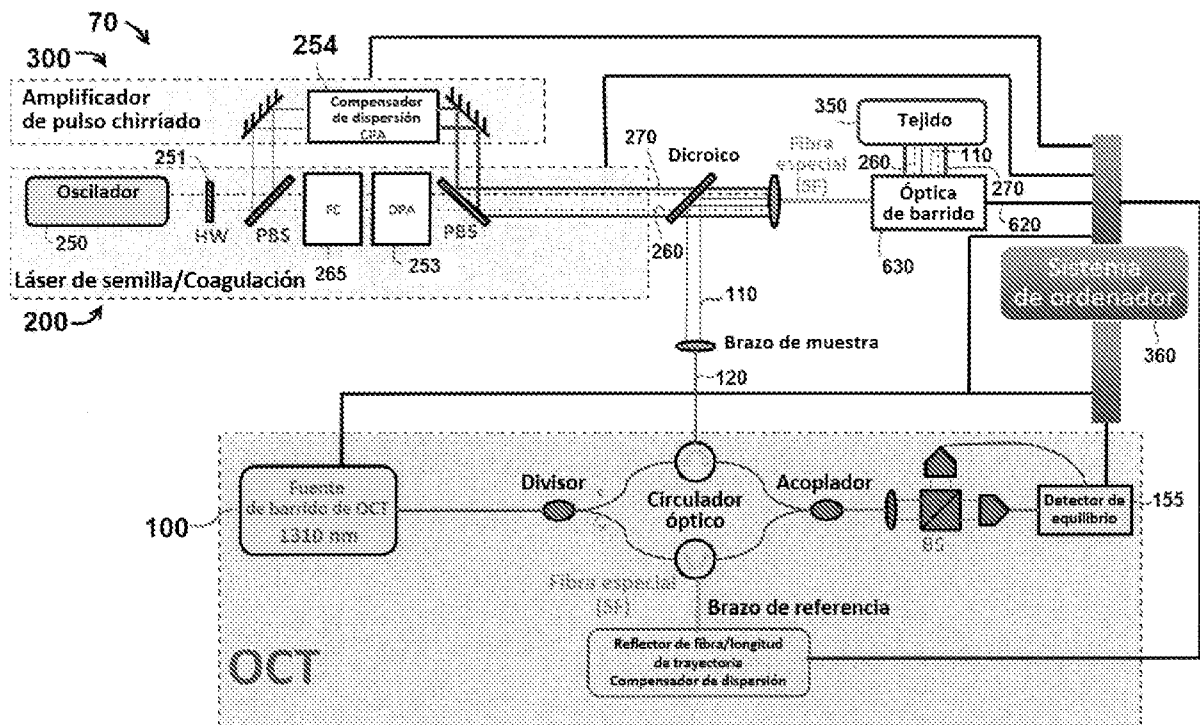


FIG. 4

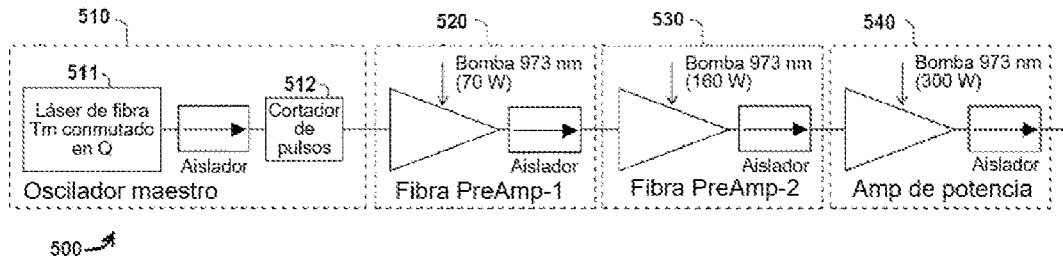


FIG. 5A

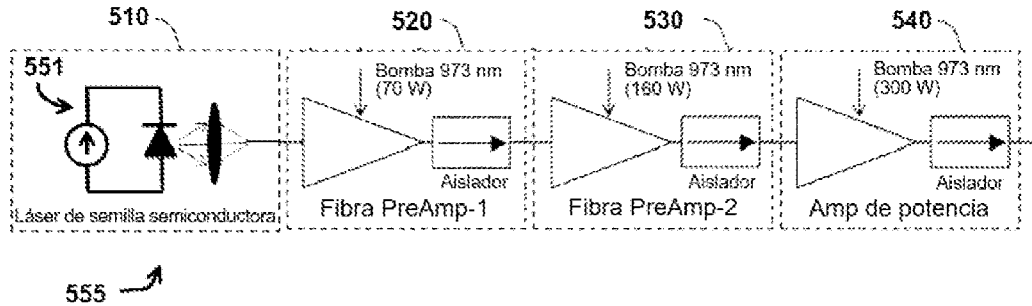


FIG. 5B

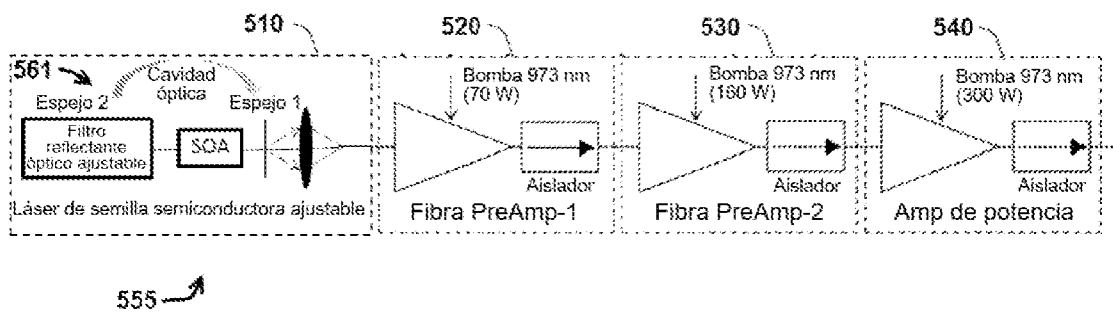


FIG. 5C

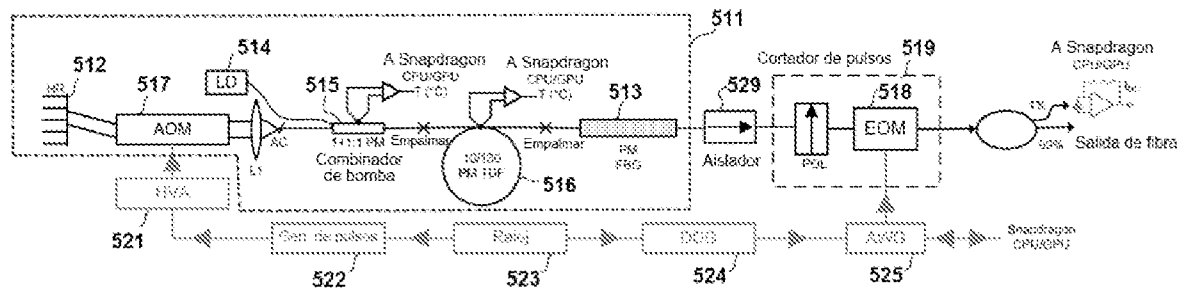


FIG. 6

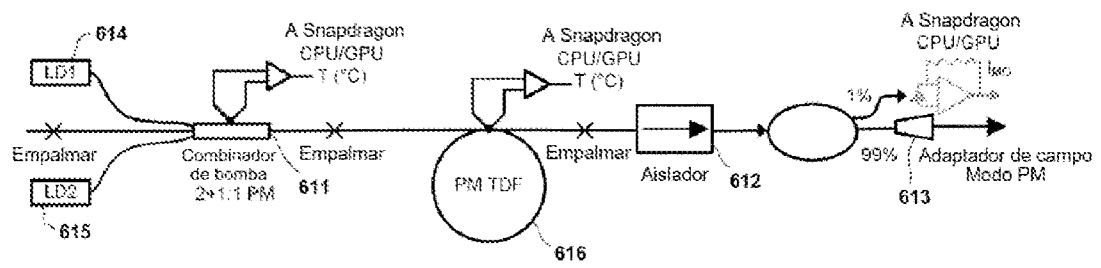


FIG. 7

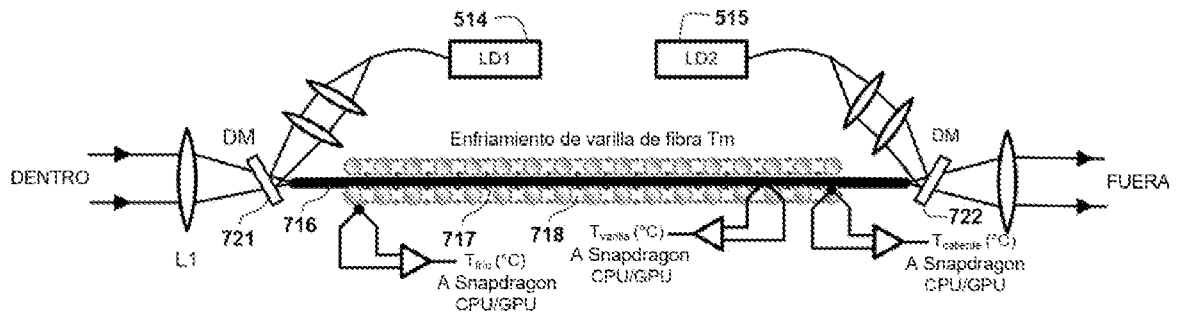


FIG. 8

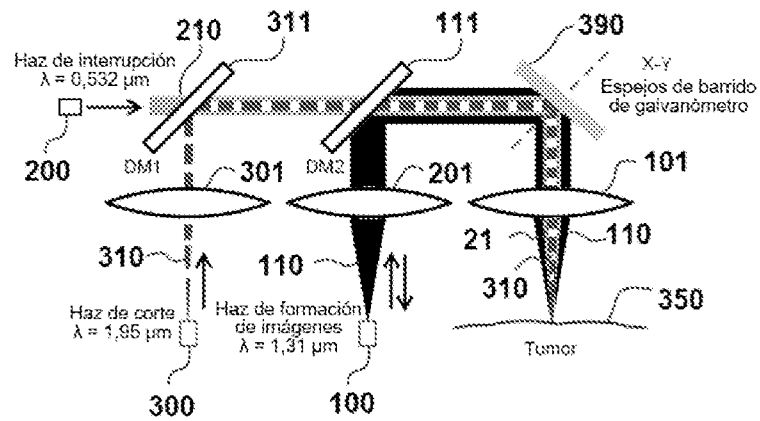


FIG. 9

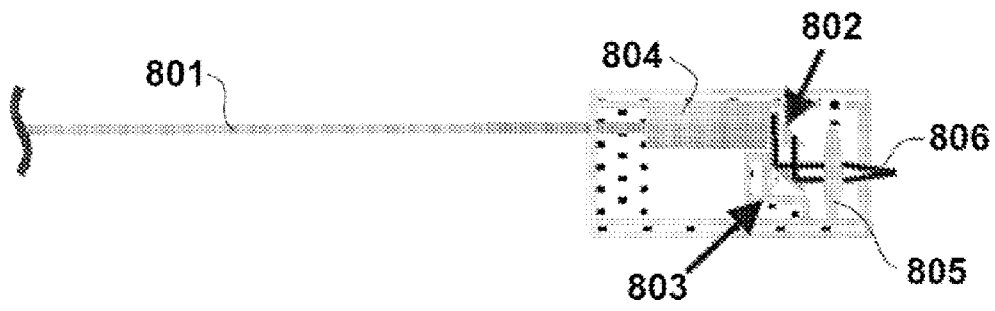


FIG. 10

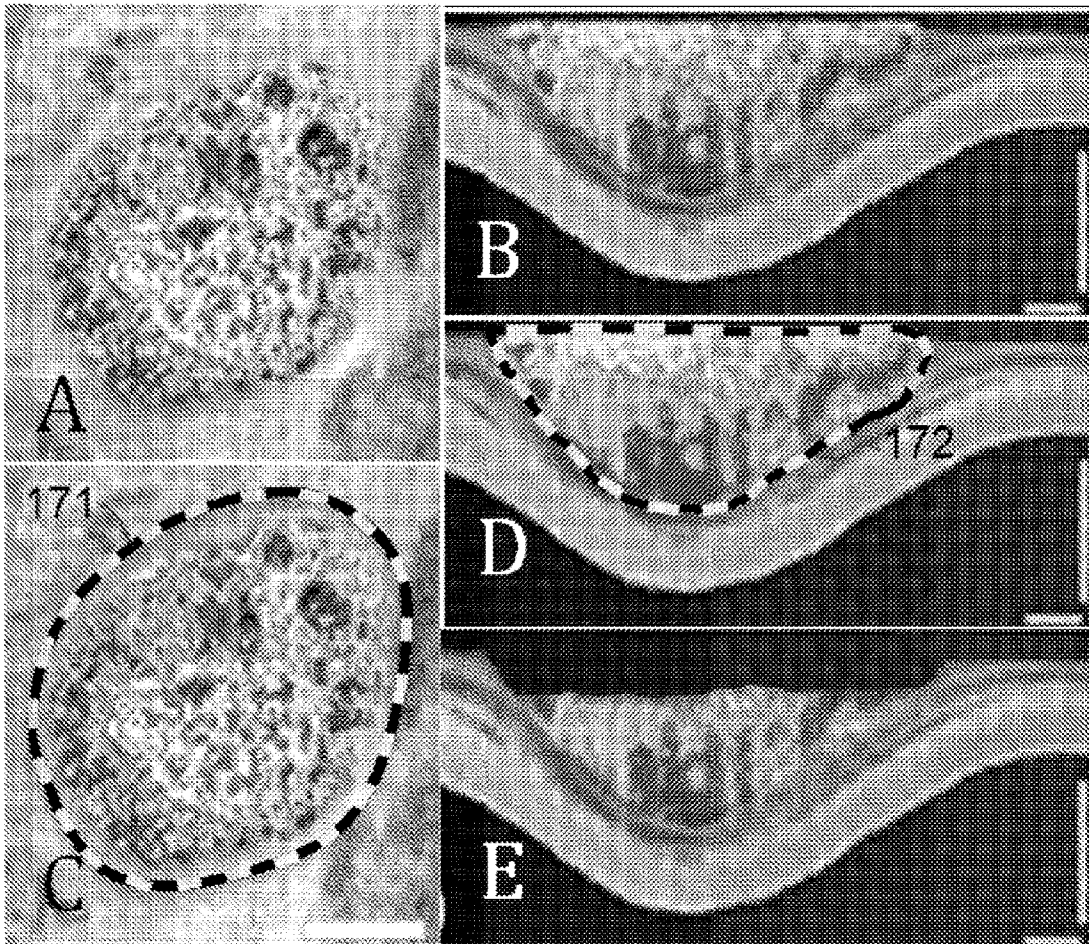


FIG. 11

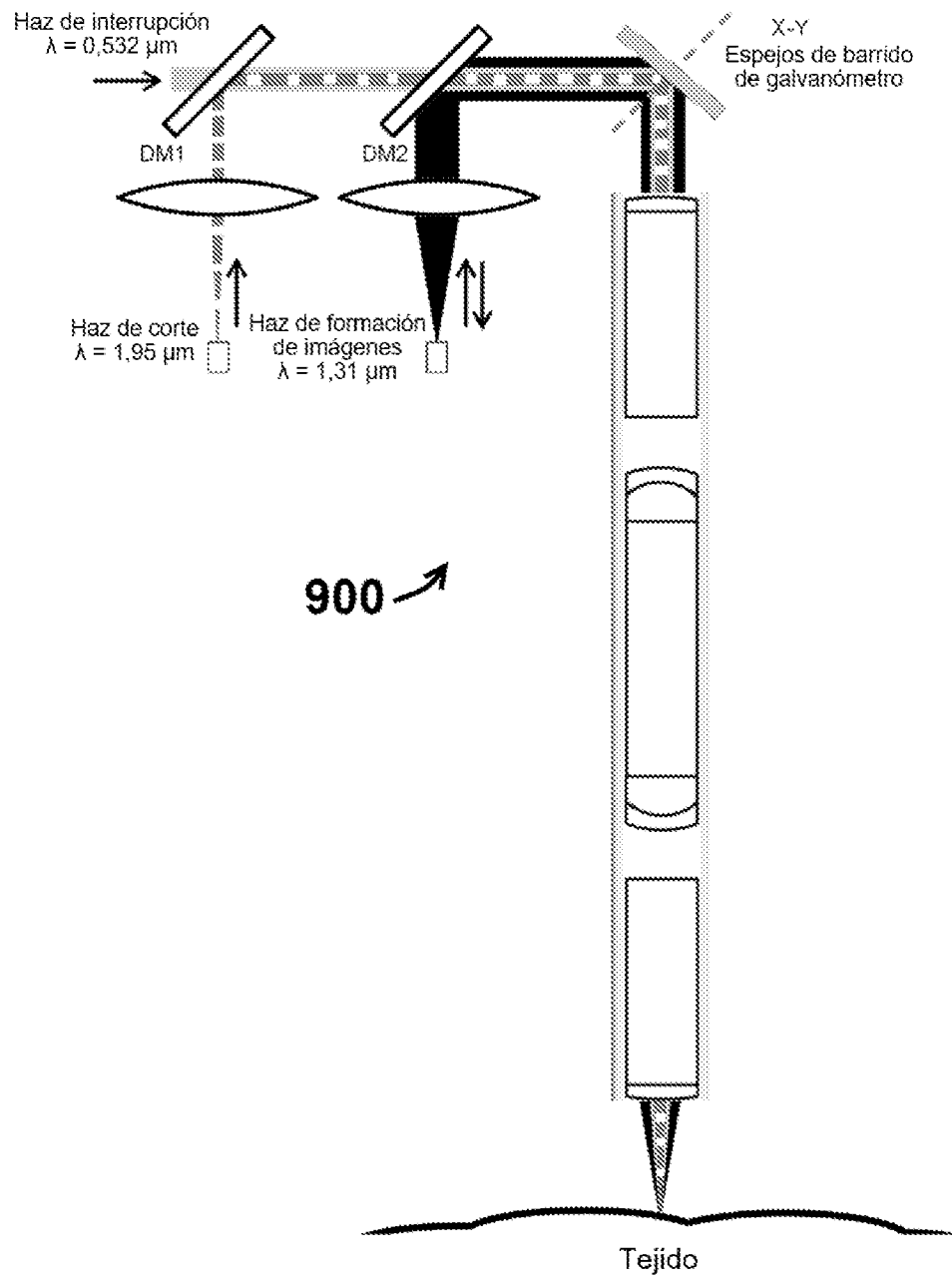


FIG. 12

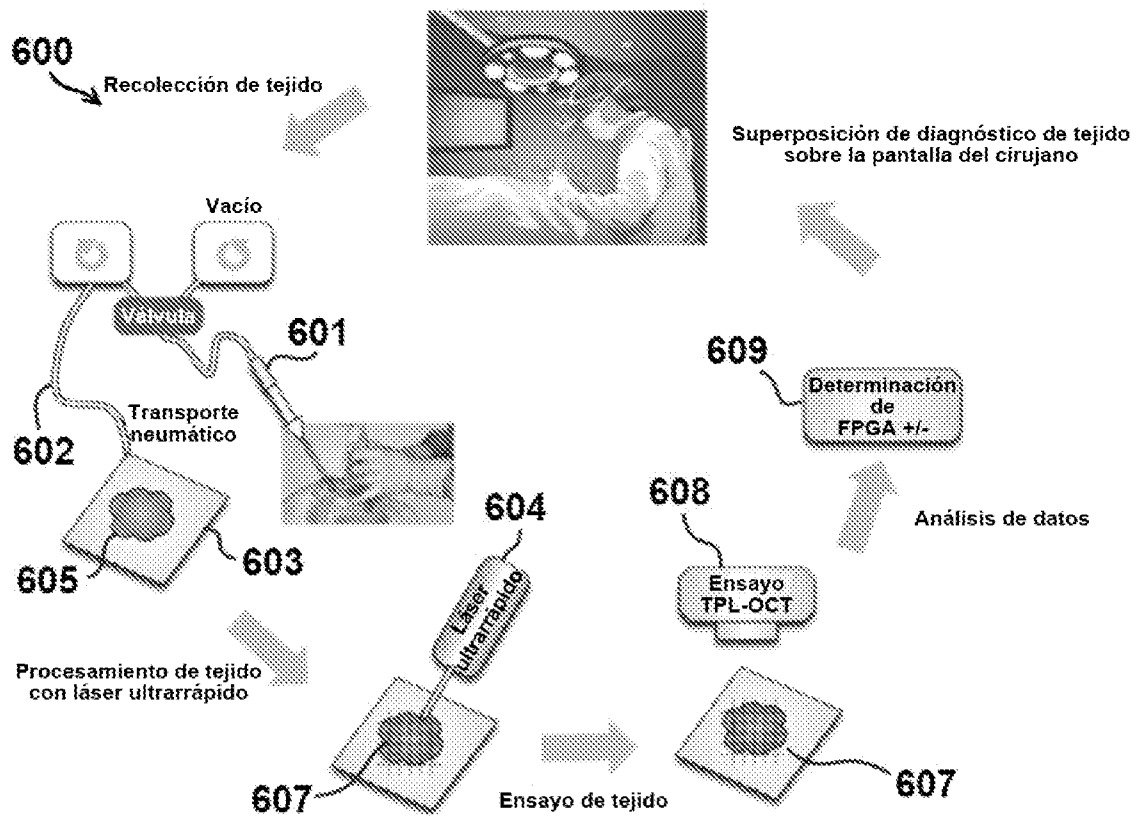


FIG. 13

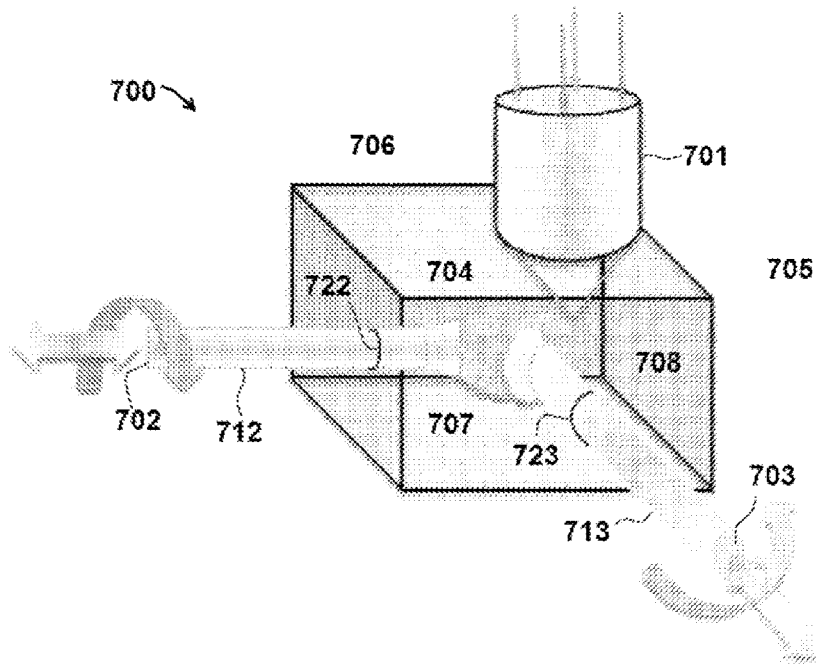


FIG. 14