(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 32 516 T2** 2004.01.29

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 702 526 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 32 516.3**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US94/05230**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 917 951.9**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 94/026168**
(86) PCT-Anmeldetag: **11.05.1994**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **24.11.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.03.1996**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **16.04.2003**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **29.01.2004**

(51) Int Cl.[7]: **A61B 5/00**

(30) Unionspriorität:
60432 **12.05.1993** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE, FR, GB

(73) Patentinhaber:
Board of Regents, The University of Texas System, Austin, Tex., US

(74) Vertreter:
Glawe, Delfs, Moll, Patentanwälte, 20148 Hamburg

(72) Erfinder:
RAMANUJAM, Nirmala, Austin, US; MAHADEVAN, Anita, Austin, US; RICHARDS-KORTUM, Rebecca, Austin, US; MITCHELL, Michele Follen, Houston, US; THOMSEN, Sharon, Houston, US

(54) Bezeichnung: **DIAGNOSE VON DYSPLASIE DURCH LASERINDUZIERTE FLUORESZENZ**

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

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

Beschreibung

ALLGEMEINER STAND DER TECHNIK

Gebiet der Erfindung

[0001] Die Erfindung betrifft einen Apparat zur Unterscheidung zwischen histologisch normalem und histologisch auffälligem Gewebe und zur Unterscheidung von neoplastischem Gewebe von histologisch auffälligem, nicht neoplastischem Gewebe.

Reihenuntersuchung nach Zervikaler Intraepithelialer Neoplasie (CIN)

[0002] Obwohl es in den vergangenen 50 Jahren eine deutliche Abnahme des Vorkommens und. der Sterblichkeit bei invasivem Gebärmutterhalskrebs gegeben hat, hat es einen Anstieg sowohl beim befundeten als auch tatsächlichen Vorkommen von CIN gegeben. In der Folge ist davon ausgegangen worden, dass die Sterblichkeit bei Gebärmutterhalskrebs in den Jahren 2000-2004 um 20% ansteigen kann, wenn die Reihenuntersuchungstechniken nach CIN nicht verbessert werden.

[0003] Die derzeitige Reihenuntersuchung nach CIN und Gebärmutterhalskrebs ist verhältnismäßig billig, aber arbeitsintensiv, da sie sich anfangs auf die Ergebnisse eines Pap-Abstriches verlässt; eine falsche negative Fehlerhäufigkeit von 20–30% hängt mit unzureichender Zellprobe und/oder nicht fachmännischer Befundung von Pap-Abstrichen zusammen. Im Falle eines auffälligen Pap-Abstriches kann eine kolposkopische Untersuchung des Gebärmutterhalses (mit einer Vergrößerungslinse), gefolgt von kolposkopisch durchgeführter Biopsie und histologischer Untersuchung der Gewebeprobe eine Diagnose von CIN bereitstellen. Eine histologische Bestätigung der Diagnose ist, obwohl sie verhältnismäßig zeitaufwändig und teuer ist, notwendig, da die Genauigkeit der Klassifizierung von auffälligem Gewebe durch Kolposkopie allein selbst bei erfahrenen Personen beschränkt ist.

[0004] Durch eine Verbesserung des Vorhersagewertes der Kolposkopie bei der Unterscheidung von CIN von anderen auffälligen Geweben (z. B. Gewebe, das mit dem Humanpapillomavirus (HPV) infiziert ist, oder entzündetem Gewebe) könnte die Anzahl der erforderlichen Anzahl von Biopsien verringert werden und dadurch die Geschwindigkeit und Effizienz des Reihenuntersuchungsverfahrens erhöht werden. Diagnose und Behandlung könnten bei einem einzelnen Arztbesuch kombiniert werden, wobei kolposkopisch durchgeführte Behandlungen mit Schleife durchgeführte elektrochirurgische Verfahren (loop electrosurgical procedures – LEEP), Kälte- und Lasertherapien und chemopräventive Mittel umfassen. Des Weiteren würde eine Erläuterung von verbesserten Verfahren zur Klassifizierung von Gewebe als normal oder auffällig, obwohl sie nicht direkt zu einer Diagnose von CIN führen würde, Kosten senken, indem die Durchführung von Kolposkopie durch Medizintechniker ermöglicht würde, die weniger geschult sind als geübte Kolposkopisten (üblicherweise Ärzte).

Spektroskopische Verfahren in der Kolposkopie

[0005] Spektroskopische Verfahren zur Unterscheidung von Zervixneoplasie von normalem Zervixgewebe in vivo sind beschrieben worden. Die Verfahren beruhen im Allgemeinen auf Beobachtungen, dass die Fluoreszenz von auffälligem Gewebe deutlich schwächer ist als jene von normalem Gewebe bei mehreren Erregungswellenlängen, z. B. 330, 350 und 450 nm. Diese Eigenschaft wird für die spektroskopische Erkennung von histologisch auffälligem Gewebe verwendet. Zum Beispiel ergaben Vergleiche der in-vitro-Fluoreszenzintensität bei einer Erregungswellenlänge von 330 nm einen positiven Vorhersagewert, Sensitivität und Spezifizität von jeweils 86%, 88% und 75% bei kolposkopisch normaler und auffälliger Biopsie von derselben Patientin. Unterschiede zwischen neoplastischem (CIN) und nicht neoplastischem auffälligem Gewebe (Entzündung und HPV-Infektion) ergaben die größten spektroskopischen Unterschiede bei einer Erregungswellenlänge von 330 nm.

[0006] Außerdem sind Fluoreszenzspektren in vivo gemessen worden, um neoplastisches Gewebe in verschiedenen Organsystemen nachzuweisen. Eine große Zahl verschiedener Verfahren zur Durchführung solcher Bestimmungen sind vorgeschlagen worden. Zum Beispiel sind von vielen Gruppen Verhältnisse von Autofluoreszenzintensität bei zwei verschiedenen Emissionswellenlängen verwendet worden, und Ergebnisse auf der Basis von mehrdimensionalen linearen oder nichtlinearen Regressionen und Passungen, um Konzentrationen von verschiedenen Chromophoren zu extrahieren, sind von vielen anderen für eine Aufnahme in Entscheidungskriterien vorgeschlagen worden. Eine entsprechende Vorrichtung ist aus Dokument US-A-S 131 398 bekannt.

[0007] Bei einer Anwendung wurde auf Darmgewebe eine Wellenlängenerregung von 337 nm ausgeübt. Mehrdimensionale lineare Regressionsanalyse wurde angewendet, um adenomatöse Polypen von normalen Darm- und hyperplastischen Polypen mit einem positiven Vorhersagewert, Sensitivität und Spezifizität von jeweils 86%, 86% und 80% richtig zu unterscheiden.

Gewebeklassifizierungsverfahren

[0008] Bisherige Versuche, CIN unter alleiniger Anwendung von Kolposkopie verlässlich in vivo von Entzündung oder HPV-Infektion zu unterscheiden, sind erfolglos geblieben. Fluoreszenzintensität kann in diesem Zusammenhang nützlich sein, ist aber selbst nicht ausreichend, da analoge Fluoreszenzintensi-

tätsmessungen desselben Gewebetyps von Patientin zu Patientin um mehr als einen Faktor 2 und bei derselben Patientin um etwa 15% variieren. Verfahren, die sich auf Fluoreszenzintensitäten von auffälligem und normalem Gewebe derselben Patientin beziehen, neigen allerdings dazu, besser vorhersehbar und daher diagnostisch nützlicher zu sein.

[0009] Daher muss im Allgemeinen jede Patientin als eigene Vergleichsprobe dienen. Wenn man Zervixgewebe betrachtet, das bei einer gegebenen Patientin mit 337 nm elektromagnetischer Wellenlängenerregung erregt wird, sind Gewebe mit HPV-Infektion weniger fluoreszent als Gewebe mit chronischer Entzündung, und Gewebe mit dysplastischen Veränderungen weisen eine noch geringere Fluoreszenz auf als jene mit HPV-Infektion. Den niedrigsten Grad an Fluoreszenz (im Verhältnis zu analogen Fluoreszenzmessungen an anderen Gewebearten bei derselben Patientin) weisen Gewebe mit der auffälligsten Form von CIN auf. Analoge Beziehungen zwischen Fluoreszenzintensitätmessungen von Geweben bei einer Patientin können verkommen, wenn andere Erregungswellenlängen als 337 nm verwendet werden, da sich die Form und Intensität von Zervixgewebespektren nicht wesentlich ändern, wenn die Erregungswellenlänge um weniger als 10 nm erhöht oder verringert wird.

[0010] Zusätzliche Information, die für die Gewebeklassifizierung nützlich ist, kann in der Spitzenemissionswellenlänge von Geweben mit CIN gefunden werden, die positiv mit den Spitzenemissionswellenlängen von normalen Gewebespektren von der selben Patientin in Beziehung gebracht wird. Diese Beziehung ist allerdings nicht für Gewebeproben mit Entzündung oder HPV-Infektion zu beobachten.

[0011] Daher wird ein verlässliches Verfahren gebraucht, um Gewebe spektroskopisch als normal oder auffällig zu klassifizieren und im späteren Fall Entzündung oder HPV-Infektion von CIN zu unterscheiden. Ein solches Verfahren könnte sich auf eine oder mehrere der oben beschriebenen Beziehungen stützen, erweitert durch zusätzliche Informationen, die für die betreffende gewünschte Trennung oder Klassifizierung bezeichnend sind.

KURZDARSTELLUNG DER ERFINDUNG

[0012] Die vorliegende Erfindung ist in den Ansprüchen definiert und umfasst einen Apparat zur Unterscheidung von normalem Gewebe von auffälligem Gewebe und zum Diagnostizieren von CIN in diagnostischen Gewebeproben aus dem Gebärmutterhals. Diagnostische Gewebeproben aus dem Gebärmutterhals sind die Gewebeproben, die durch nicht-invasive Verfahren ausgewertet werden sollen. Die Verfahren umfassen eine Analyse der Fluoreszenzintensitätsspektren des Gewebes oder von Teilen davon sowohl von histologisch normalem Gewebe als auch von histologisch auffälligem Gewebe bei einer Patientin, die eine Diagnose wünscht.

[0013] Eine Bezugnahme auf histologisch normale Gewebeproben aus dem Gebärmutterhals einer Patientin bezieht sich auf Gewebe, das vermutlich histologisch normal ist. Normale Gewebeproben werden in solchen Fällen in vivo ausgewählt und nicht-invasiv getestet, wie hier beschrieben, um eine deutliche Wahrscheinlichkeit sicherzustellen, dass sie tatsächlich Gewebe repräsentieren, das, wenn es histologisch ausgewertet würde, als normal klassifiziert würde.

[0014] In bestimmten bevorzugten Ausführungsformen werden die Spektren auf zweidimensionalen Diagrammen dargestellt, wobei die Fluoreszenzintensität auf der vertikalen Achse dargestellt wird, und die Wellenlänge auf der horizontalen Achse. Für Berechnungen, die Steigungsmessungen an bestimmten Wellenlängen innerhalb von Spektren mit verschiedenen (nicht genormten) Spitzenwerten einbeziehen, wird jedes Spektrum auf seinen eigenen maximalen Intensitätswert normiert. Für Berechnungen, die das Verhältnis der Spitzenintensität eines Spektrums von unbekanntem Gewebe (d. h. von einer diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals) zur Spitzenintensität eines Spektrums von (vermutlich) normalem Gewebe bei derselben Patientin einbezieht, wird keine Normierung durchgeführt.

Nachweis von auffälligem Gewebe

[0015] Der Apparat der vorliegenden Erfindung ist verwendbar in einem in-vivo-Verfahren für den Nachweis von auffälligem Gewebe in einer diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals einer Patientin mit bekanntem normalem Zervixgewebe, welches das Beleuchten der diagnostischen Gewebeprobe und von normalem Zervixgewebe mit elektromagnetischen Strahlen (vorzugsweise etwa 337 nm Wellenlänge) umfasst. Mehrere normale Fluoreszenzintensitätsspektren werden von dem bekannten normalem Zervixgewebe nachgewiesen, wobei die Spektren in Serie oder gleichzeitig vorzugsweise durch Faseroptik erworben werden, die in einem fixen Abstand vom Zervixgewebe angeordnet werden kann. In manchen Ausführungsformen können Spektren durch Analyse eines Zervixbildes nachgewiesen werden, das die zu testenden Gewebebereiche einschließt.

[0016] Ein normaler Spitzenwert der Fluoreszenzintensität wird in jedem normalen Fluoreszenzintensitätsspektrum gemessen, und ein durchschnittlicher normaler Spitzenwert der Fluoreszenzintensität wird aus den normalen Spitzenwerten der Fluoreszenzintensität berechnet. Ein Fluoreszenzintensitätsspektrum wird auch von der diagnostischen Gewebeprobe nachgewiesen, und ein Spitzen-Fluoreszenzintensitätswert wird aus dem Fluoreszenzintensitätsspektrum gemessen.

[0017] Ein vorab festgelegter Teil des Fluoreszenzintensitätsspektrums (vorzugsweise in dem Bereich, der Wellenlängen zwischen etwa 410 nm und 430 nm

entspricht) der diagnostischen Gewebeprobe liefert Steigungsinformation für die Berechnung eines Steigungsparameters, der auf auffälliges Gewebe hinweist. In früheren klinischen Versuchen ist empirisch erkannt worden, dass der vorab festgelegte Teil eine genaue Klassifizierung von Gewebe ermöglicht, und der Steigungsparameter ist vorzugsweise eine Funktion der durchschnittlichen Steigung im vorab festgelegten Teil. Jedes Spektrum wird vorzugsweise auf seinen eigenen Maximalwert normiert, bevor der Steigungsparameter berechnet wird.

[0018] Die relative Spitzen-Fluoreszenzintensität (vorzugsweise relativ zur normalen Spitzen-Fluoreszenzintensität) wird in Abhängigkeit vom Spitzen-Fluoreszenzintensitätswert berechnet, und auffälliges Gewebe wird in Abhängigkeit vom berechneten Steigungsparameter und der relativen Spitzen-Fluoreszenzintensität erkannt. Die letztere Funktion ist vorzugsweise eine vorab festgelegte empirische Diskriminierungsfunktion, die aus früheren klinischen Versuchen erworben wurde. Die Diskriminierungsfunktion kann entweder linear oder nichtlinear sein.

Nachweis von CIN

[0019] Der Apparat ist des Weiteren verwendbar in einem in-vivo-Verfahren zum Nachweis von CIN in einer diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals einer Patientin mit bekanntem normalem Zervixgewebe und umfasst das Klassifizieren der diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals als auffällig durch ein Verfahren, das hier beschrieben ist, gefolgt vom Beleuchten der diagnostischen Gewebeprobe und des bekannten normalen Zervixgewebes mit elektromagnetischer Strahlung vorzugsweise mit einer Wellenlänge von 337 nm.

[0020] Ein erstes Fluoreszenzintensitätsspektrum von der diagnostischen Gewebeprobe wird erkannt sowie ein zweites Fluoreszenzintensitätsspektrum von dem bekannten normalen Zervixgewebe. Ein erster Steigungsparameter, der auf CIN in der diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals hinweist, wird aus einem vorab festgelegten Teil des ersten Fluoreszenzintensitätsspektrums (das Wellenlängen zwischen etwa 440 nm und 460 nm entspricht) berechnet. Ein zweiter Steigungsparameter, der normales Zervixgewebe bei der Patientin charakterisiert, wird aus einem vorab festgelegten Teil des zweiten Fluoreszenzintensitätsspektrums (das Wellenlängen zwischen etwa 410 nm und etwa 430 nm entspricht) berechnet. Sowohl der erste als auch der zweite Steigungsparameter werden vorzugsweise nach dem Normieren der jeweiligen Fluoreszenzintensitätsspektren auf Spitzen-Fluoreszenzintensitätswerte von 1 berechnet. Außerdem sind sowohl der erste als auch der zweite Steigungsparameter vorzugsweise Funktionen von durchschnittlichen Steigungen jeweils im normierten ersten und zweiten Fluoreszenzintensitätsspektrum in Bereichen, die im Wesentlichen zwischen Wellenlängen liegen, die den jeweiligen vorab festgelegten Teilen entsprechen.

[0021] CIN wird in der diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals in Abhängigkeit vom ersten und zweiten Steigungsparameter erkannt, wobei die Funktion vorzugsweise eine vorab festgelegte empirische Diskriminierungsfunktion umfasst, die in manchen bevorzugten Ausführungsformen linear ist.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0022] **Fig.** 1 ist eine schematische Darstellung eines Apparates zum Klassifizieren von Zervixgewebe gemäß der vorliegenden Erfindung.

[0023] **Fig.** 2 ist eine schematische Darstellung eines Apparates zur räumlich-spektralen Mehrpixel-Abbildung des Gebärmutterhalses.

[0024] **Fig.** 3 ist eine schematische Darstellung, eines Apparates zum Erfassen und Verarbeiten von spektroskopischen Bildern des Gebärmutterhalses.

[0025] **Fig.** 4 stellt eine Population von induzierten Fluoreszenzintensitätsspektren dar, die kolposkopisch normales und histologisch auffälliges Gewebe repräsentieren, mit einer Diskriminierungsfunktion für den Nachweis von auffälligem Gewebe.

[0026] **Fig.** 5 stellt eine Population von induzierten Fluoreszenzintensitätsspektren dar, die histologisch auffälliges Gewebe repräsentieren (d. h. CIN, Entzündung, HPV), mit einer Diskriminierungsfunktion für den Nachweis von CIN.

[0027] **Fig.** 6A-6F stellen Ablaufdiagramme dar, um bevorzugte Ausführungsformen der Verfahren zu praktizieren, die mit dem Apparat der vorliegenden Erfindung durchgeführt werden.

GENAUE BESCHREIBUNG

CIN – Zervikale Intraepitheliale Neoplasie
HPV – Humanpapillomavirus

Klassifizierung von normalem/auffälligem Gewebe

[0028] Klassifizierung von normalem/auffälligem Gewebe erfordert induzierte Fluoreszenzintensitätsspektren von Gewebebereichen, die als normal bekannt sind, mit einer ausreichend hohen Wahrscheinlichkeit einer genauen Klassifizierung. Normales und auffälliges Zervixgewebe werden hauptsächlich in vivo von Kolposkopisten identifiziert. Bei jeder jeweiligen Patientin ist es zu bevorzugen, mehrere Fluoreszenzintensitätsspektren von Gewebebereichen zu nehmen, die von einem Kolposkopisten als normal identifiziert wurden. Eine erwartete Fehlerhäufigkeit von etwa 10–20% ist beobachtet worden, die hauptsächlich Proben repräsentiert, die kolposkopisch normal sind, aber tatsächlich entzündliches Gewebe umfassen. Wie nachfolgend erklärt, werden Vorkehrungen zum Entfernen von irrtümlich als normal identifizierten Proben getroffen mit dem Ergebnis, dass die verbleibenden vermutlich normal sind.

[0029] Wenn eine Patientin untersucht wird, werden

normale Spitzenwerte der Fluoreszenzintensität an jedem Spektrum von normalem Gewebe gemessen. Die Intensitätswerte werden Bemittelt, und eine Standardabweichung von normalen Spitzenwerten wird berechnet. Je nach dem Grad der erforderlichen Konfidenz bei den Ergebnissen der Reihenuntersuchung und der Fertigkeit der Bedienungspersonen, wird ein Teil aller Spektren, die anfangs als kolposkopisch normal identifiziert wurden, ausgeschieden (d. h. die Spektren werden nicht in die Berechnung der durchschnittlichen normalen Spitzen-Fluoreszenzintensität eingeschlossen, sondern können der Gruppe von Spektren zugeordnet werden, die in der Folge als normal oder auffällig klassifiziert werden). Kriterien für das Ausscheiden von kolposkopisch normalen Proben können vorzugsweise das Ausscheiden aller Spektren erfordern, die mit Spitzenwerten in Verbindung stehen, die mehr als eine Standardabweichung unter die durchschnittliche normale Spitzen-Fluoreszenzintensität fallen.

[0030] Die Spitzenfluoreszenzintensität jedes beliebigen Test-Fluoreszenzspektrums (in Verbindung mit Zervixgewebe, das auf Normalität/Auffälligkeit bewertet werden soll) wird durch die entsprechende durchschnittliche normale Fluoreszenzintensität für jene Patientin dividiert, um eine relative Spitzen-Fluoreszenzintensität für jenes Spektrum zu erhalten. Da normales Gewebe bei jeder jeweiligen Patientin dazu neigt, relativ hohe und gleichmäßige Spitzen-Fluoreszenzintensitäten aufzuweisen, wird die oben angegebene Division im Allgemeinen zu relativen Spitzen-Fluoreszenzintensitäten führen, die um einen Wert von ungefähr 1 für normales Gewebe liegen. Andererseits wird die oben angegebene Division, da auffälliges Gewebe (entweder als Entzündung, HPV-Infektion oder CIN charakterisiert) dazu neigt, niedrigere Spitzen-Fluoreszenzintensitäten aufzuweisen als normal, im Allgemeinen zu relativen Spitzen-Fluoreszenzintensitäten führen, die um einen Wert liegen, der bei auffälligem Gewebe im Wesentlichen kleiner als 1 ist. Dieser Umstand liefert eine teilweise Basis für die Klassifizierung von Spektren, die entweder normales oder auffälliges Gewebe repräsentieren.

[0031] Eine vollständigere Basis zum Identifizieren von Spektren, die entweder normales oder auffälliges Gewebe repräsentieren, wird durch Untersuchung eines Steigungsparameters bereitgestellt, die mit jedem Spektrum assoziiert ist, wobei der Parameter vorzugsweise von Steigungen abgeleitet wird, die im Bereich von 400–440 nm, vorzugsweise 410–430 nm und in manchen bevorzugten Ausführungsformen 415–425 nm gemessen werden, wie auf einem Spektrum gemessen, das auf seinen eigenen Spitzenfluoreszenzwert normiert ist. Der gemessene Steigungswert wird größtenteils durch zwei Faktoren bestimmt, und zwar durch die Spitzenemissionswellenlänge von Fluorophoren, die zu dem Spektrum beitragen, und den Reabsorptionseffekt von Oxyhämoglobin mit einer Absorptionsspitze bei 420 nm. Wenn mehr Hämoglobin beiträgt, verschiebt sich die Spitze zu längeren Wellenlängen und die Steigung steigt. Ähnlich dazu, wenn mehr NADH-Fluoreszenz beiträgt, verschiebt sich die Spitze zu längeren Wellenlängen und die Steigung steigt. Diese Effekte sind in erkranktem Gewebe zu beobachten und sind wahrscheinlich teilweise für die Kapazität von Verfahren verantwortlich, die mit dem Apparat der vorliegenden Erfindung durchgeführt werden, um Typen von erkranktem Gewebe auf Basis ihrer induzierten Fluoreszenzspektren zu unterscheiden.

[0032] Der Parameter kann eine durchschnittliche oder tangentiale Steigung oder ein anderer repräsentativer Wert des Bereiches von tatsächlichen Steigungswerten sein, die im Allgemeinen innerhalb des festgelegten Bereiches (vorab festgelegter Teil) in jedem beliebigen normierten Spektrum zu finden sind. Wellenlängen, die das Ausmaß und die Lage des vorab festgelegten Teils eines normierten Spektrums definieren, das auf auffälliges Gewebe hinweist, werden durch klinische Versuche bestimmt, die Fluoreszenzspektren einbeziehen, die von Gewebe mit histologisch bewiesenen Diagnosen erworben werden. Das heißt, dass die Definition des vorab festgelegten Bereiches empirisch durch Vergleichen von Steigungen über den gesamten Wellenlängenbereich abgeleitet wird, um den Teil von jenem Bereich zu finden, der die beste Unterscheidung bringt, unter Anwendung von Verfahren, die oben beschrieben wurden.

[0033] Um eine diagnostische Zervixgewebeprobe zu bewerten, werden eine relative Spitzen-Fluoreszenzintensität und ein Steigungsparameter wie oben erklärt aus seinem induzierten Fluoreszenzintensitätsspektrum berechnet. Die berechneten Werte können dann als Punkt auf dem Graph von **Fig.** 4 eingetragen werden. Die Linie **72** stellt eine vorab festgelegte empirische Diskriminierungsfunktion dar, die im Wesentlichen Punkte trennt, die kolposkopisch normales und histologisch auffälliges Gewebe charakterisieren. Wenn der Punkt unter die Linie **72** fällt, wird die Gewebeprobe als normal diagnostiziert, während wenn der Punkt über die Linie **72** fällt, die Gewebeprobe als auffällig diagnostiziert wird. Diese Entscheidungskriterien können mathematisch wie auch grafisch durch Beachten der Gleichung der Linie durchgeführt werden, die von **Fig.** 4 abgeleitet werden kann. Es ist zu beachten, dass die Position der Linie **72** (Steigung und Achsenabschnitt) bei Zugabe von mehr Datenpunkten aus klinischen Versuchen zu jenen, die bereits auf **Fig.** 4 vorliegen, einer Änderung unterliegt. Es ist auch zu beachten, dass die Position von Linie **72** sich erwartungsgemäß auch ändern kann, wenn Populationen berücksichtigt werden, die eine wesentlich andere Inzidenz an auffälligem Zervixgewebe aufweisen als jene, die in **Fig.** 4 dargestellt ist.

Unterscheidung von CIN von anderen auffalligen Geweben

[0034] Obwohl die Klassifizierung von normalem/auffälligem Gewebe auf Basis von induzierten Fluoreszenzspektren für eine vorläufige Reihenuntersuchung nützlich ist, müssen Patienten, bei denen auffälliges Zervixgewebe identifiziert worden ist, weiter untersucht werden. Insbesondere sollte CIN von Entzündung oder HPV-Infektion unterschieden werden, da CIN sich zu invasivem Krebs weiterentwickeln kann.

[0035] Als Hilfe bei der Klassifizierung ist eine Beziehung zwischen den Wellenlängen beobachtet worden, die mit Spitzenintensität in entsprechenden Fluoreszenzintensitätsspektren zusammenhängen, die bei derselben Patientin von normalem und neoplastischem Gewebe erworben werden. Während bei einer einzelnen Patientin bei drei Proben Spitzen-Intensitätswellenlängen von normalen Spektren von 398, 426 oder 442 nm beobachtet wurden, wurde beobachtet, dass die entsprechenden Spitzen-Intensitätswellenlängen von CIN-Spektren bei derselben Patientin jeweils 442, 450 oder 460 waren. Daher neigt die Spitzenintensität eines Fluoreszenzintensitätsspektrums dazu, in Fluoreszenzintensitätsspektren von Gewebe mit CIN mit längeren Wellenlängen aufzutreten im Vergleich zu entsprechenden Spektren von normalem Gewebe bei derselben Patientin. Die Wellenlängenverschiebung ist bei auffälligen Geweben, die HPV-Infektion oder Entzündung repräsentieren, verhältnismäßig unüblich.

[0036] Ein zweidimensionales Streudiagramm wurde entwickelt, um in einer Population von Patienten die Beziehung zwischen der Spitzen-Emissionswellenlänge des auffälligen Spektrums und durchschnittlichen normalen Spektren derselben Patientin zu veranschaulichen. Das ist in **Fig.** 5 gezeigt, wo die Abszisse der Steigung des auffälligen Spektrums über den Wellenlängenbereich von 440 nm bis 460 nm entspricht, und die Ordinate die durchschnittliche Steigung der normalen Spektren der selben Patientin über den Wellenlängenbereich von 410– 430 nm repräsentiert. Alle Spektren wurden vor der Steigungsberechnung auf eine Spitzenintensität von 1 normiert. Es ist zu beachten, dass die Steigung der Spektren von den Proben mit HPV-Infektion oder Entzündung nicht mit der durchschnittlichen Steigung der entsprechenden normalen Spektren (linearer Korrelationskoeffizient = 0,072) zu korrelieren scheint. Allerdings zeigt die Steigung der Spektren von Proben mit CIN eine positive Korrelation (linearer Korrelationskoeffizient = 0,442) zur durchschnittlichen Steigung der entsprechenden normalen Spektren. Das ermöglicht eine Unterscheidung von auffälligen Proben mit CIN von jenen mit HPV-Infektion oder Entzündung. Eine vorab festgelegte empirische Diskriminierungsfunktion, die ermöglicht, dass die Unterscheidung für jede neue Patientin durchgeführt wird, ist durch die Linie **82** in **Fig.** 5 dargestellt, was die Anzahl an falsch klassifizierten Proben minimiert.

[0037] Daher sind CIN-Gewebespektren von HPV- oder Entzündungsgewebespektren auf einem zweidimensionalen Diagramm unterscheidbar. Die horizontale Achse des Diagramms repräsentiert den Wert eines Steigungsparameters, der von einem auffälligen Spektrum im Wellenlängenbereich von etwa 440 bis 460 nm erworben wird, während die vertikale Achse den Wert eines Steigungsparameters repräsentiert, der von einem normalen Spektrum bei der selben Patientin im Wellenlängenbereich von etwa 410 bis 430 nm erworben wird.

[0038] Eine vorab festgelegte empirische Funktion im zweidimensionalen Raum trennt im Wesentlichen Punkte, die Fluoreszenzspektren von CIN-Gewebe entsprechen, von Punkten, die HPV- oder Entzündungs-Gewebespektren entsprechen. In bestimmten bevorzugten Ausführungsformen kann diese Funktion linear sein und auf annehmbare Weise die Anzahl an falsch klassifizierten Punkten minimieren. In anderen bevorzugten Ausführungsformen kann die Funktion eine nicht lineare Entscheidungsoberfläche beschreiben. Die Bestimmung der bevorzugten Entscheidungsoberfläche für jede beliebige Population hängt von dem Grad ab, bis zu dem die Population durch klinische Daten charakterisiert ist, die verwendet werden, um die Entscheidungsoberfläche einzuschätzen.

Apparat zur Gewebeklassifizierung

[0039] **Fig.** 1 ist eine schematische Darstellung eines Apparates zum Klassifizieren von Zervixgewebe gemäß der vorliegenden Erfindung. Um Gewebefluoreszenzspektren zu erhalten, wird elektromagnetische Strahlung (z. B. Licht, in bestimmten Ausführungsformen) in Form von Laserlicht von einem Stickstofflaser **36** durch eine Koppellinse **34** und eine Einzelfaseroptik-Erregungsfaser **32** auf den Messfühler **38** ausgeübt. Ebenfalls innerhalb des Messfühlers **38** befinden sich Sammelfaseroptikfasern **30** und ein Quarzschild **40**, wobei der Schild **40** dazu dient, die Fasern **30** und **32** richtig von jeder Oberfläche beabstandet zu halten, auf die der Messfühler **40** angebracht wird, wobei die Anwendung auf einen Gebärmutterhals vorzugsweise unter kolposkopischer Beobachtung steht. Entstehende Gewebefluoreszenz wird durch die Fasern **30** durch Koppellinsen **28** auf einen Polychromator **27** und dann zur intensivierten Diodenanordnung **26** übertragen. Die Anordnung **26**, die durch die Steuerung **22** durch einen Tastimpulsgeber **24** gesteuert wird, erkennt Fluoreszenzintensitätsspektren, die durch die Steuerung **22** zum Computer **20** übermittelt werden. Der Computer **20** ist so programmiert, dass er Gewebe entsprechend den Verfahren klassifiziert, die hier beschrieben sind.

[0040] Es ist zu beachten, dass Laserlicht für die Durchführung der vorliegenden Erfindung nicht notwendig ist. Der Laser **36** kann in manchen Ausführungsformen durch eine Glühlampe oder eine andere

Lampe mit einem assoziierten Filter ersetzt werden, um gleichsam monochromatisches Licht zu erzeugen. Zusätzlich können die Fasern **32** und **30** in manchen Ausführungsformen durch Fasern ersetzt werden, die sowohl die Funktion der Beleuchtung (Erregung) als auch der Übertragung von Gewebefluoreszenz erfüllen. Die intensivierte Diodenanordnung **26** und der Polychromator **27** können durch eine Unteranordnung ersetzt werden, die Strahlungsfilter und Fotovervielfacher umfasst, um in bestimmten Ausführungsformen Kosten zu sparen.

[0041] **Fig.** 2 stellt schematisch einen Apparat dar, der in bestimmten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung verwendet wird, um gleichzeitig Fluoreszenzspektren von mehreren Bereichen des Gebärmutterhalses zu sammeln. Eine Quelle **50** von elektromagnetischer Strahlung (abgeben durch Faser- oder Nicht-Faseroptik) wird verwendet, um die gewünschten Bereiche des Gebärmutterhalses (Probe **51**) zu beleuchten, einschließlich einiger normaler und einiger auffälliger Bereiche. Eine geometrische Anordnung **53** von Fasern **52** sammelt Gewebefluoreszenz, die von bekannten normalen und auffälligen Bereichen des Gebärmutterhalses stammt, wobei letztere zu diagnostizieren sind. Die Enden der Fasern **52** nahe dem Bildpolychromator **54** sind in einer linearen Anordnung **55** am Eingangsschlitz zum Polychromator **54** angeordnet. Der Polychromator **54** ist an eine Ladungstransportspeicherkamera **56** gekoppelt. Der Polychromator **54** dispergiert Wellenlänge über eine Achse der Anordnung, und die Position auf dem Gebärmutterhals variiert über die andere Dimension. Damit stellt dieses System ein räumlich-spektrales Bild von fluoreszenzspektroskopischer Information im Gebärmutterhals auf dem Computerbildschirm **58** bereit.

[0042] Der Bediener identifiziert eine oder mehrere Fasern, die einen normalen Gebärmutterhals darstellen. Das Fluoreszenzintensitätsspektrum für jede Faser, die einen unbekannten Bereich des Gebärmutterhalses darstellt, wird dann durch die hier beschriebenen Verfahren verarbeitet, um zu bestimmen, ob das Gewebe histologisch auffällig ist und ob CIN vorliegt. Diese Information kann als räumliches Bild des histologischen Gewebezustandes auf dem Computerbildschirm **58** dargestellt werden.

[0043] **Fig.** 3 ist eine schematische Darstellung des Apparates für bestimmte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung. Wie in **Fig.** 2 führt die Beleuchtung von Probe **51** mit elektromagnetischer Strahlung von der Quelle **50** zu Fluoreszenzintensitätsspektren, die durch einen Ladungstransportspeicher **56** erkannt werden, nachdem sie durch den variablen Bandpassfilter **62** und die Kol-poskop-Bilddarstellungsoptik **60** getreten sind. Die Computer/Bildschirmeinheit **68** nimmt Spektren vom Ladungstransportspeicher **56** auf, um sie zu verarbeiten und auf dem Bildschirm darzustellen.

[0044] Dieses System stellt ein zweidimensionales Bild der Variation in der Fluoreszenzintensität als Funktion der Position auf dem Gebärmutterhals bei einer bestimmten Wellenlängenbandbreite bereit, die durch die Übertragungseigenschaften (optische Eigenschaften) der Bilddarstellungsoptik **60** und des Filters **62** bestimmt wird, die rasch verändert werden können. Bilder werden bei Bandbreiten erfasst, die in der Nähe von 398, 410, 426, 442, 450 und 460 nm aufeinander folgend zentriert sind. Die maximale Intensität I_{MAX} wird für jedes Pixel identifiziert. Ein zusammengesetztes Bild, das die Spitzenintensität als Funktion von Position angibt, wird dann aus diesen Bildern gebildet. Bilder, die die Steigungen der Fluoreszenzspektren des Gewebes in jedem Pixel über die Bereiche 410–430 nm und 440–460 nm angeben, werden entsprechend $I(426) - I(410)/[(426 - 410)I_{MAX}]$ und $I(460) - I(442)/[(460–442)I_{MAX}]$ berechnet. Die Bedienungsperson identifiziert eines oder mehrere Pixel, die normalen Bereichen des Gebärmutterhalses entsprechen. Ein relatives Intensitätsbild wird aufgebaut durch Dividieren des Spitzenintensitätsbildes durch die durchschnittliche normale Intensität. Daher sind für jedes Pixel die relative Intensität und die Steigungen bei 410–430 nm und 440–460 nm erhältlich. Diese Daten werden verwendet, um den Zustand des Gewebes in jedem Pixel zu klassifizieren entsprechend den Verfahren, die hier angeführt sind. Diese Information kann auf der Computer-Bildschirmeinheit **68** als räumliches Bild des histologischen Gewebezustandes dargestellt werden.

Erwerben von Entscheidungsoberflächen

[0045] Die Datenpunkte in **Fig.** 4 stellen induzierte Fluoreszenzintensitätsspektren dar, die aus Zervixgewebe in einer Population von Patientinnen erworben wurden, wobei jede Patientin sowohl kolposkopisch normales Gewebe als auch histologisch auffälliges Gewebe aufweist. Das letztere Gewebe umfasst CIN, entzündliches Gewebe und Gewebe mit HPV-Infektion. Es ist zu beachten, dass Fluoreszenzintensitäten, die entlang der Abszisse von **Fig.** 4 aufgetragen sind, relativ zur (dividiert durch) durchschnittlichen Spitzen-Normalfluoreszenzintensität sind, die von der Population der betrachteten Spektren erworben wird. Spektren von den zwei Gewebegruppen werden gemäß den hier beschriebenen Verfahren verarbeitet, um die jeweiligen Gewebe als normal oder auffällig zu klassifizieren. Die Entscheidungsoberfläche **72** (eine Linie im zweidimensionalen Raum) wird empirisch festgelegt, um ein Überlappen von im Wesentlichen normalen **76** und im Wesentlichen auffälligen **74** Gruppen zu minimieren. Die Gleichung der Oberfläche **72**, wie von **Fig.** 4 bestimmt, stellt eine vorab festgelegte Diskriminierungsfunktion dar, die nützlich ist beim Nachweis von auffälligem Gewebe in jeder beliebigen diagnostischen Zervixgewebeprobe, wenn Fluoreszenzintensitätsspektren in die Gewebeprobe induziert sind und gemäß den hier beschriebenen Verfahren verarbeitet werden.

[0046] Die Datenpunkte in **Fig.** 5 stellen induzierte Fluoreszenzintensitätsspektren dar, die von Zervixgewebe in einer Population erworben wurden, die histologisch auffälliges Gewebe enthält, wobei das letztere Gewebe CIN, entzündliches Gewebe und Gewebe mit HPV-Infektion umfasst. Spektren von den drei Gewebegruppen werden entsprechend den hier beschriebenen Verfahren verarbeitet, um die jeweiligen Gewebe als charakteristisch für CIN oder nicht charakteristisch für CIN zu klassifizieren. Die Entscheidungsoberfläche **82** (eine Linie im zweidimensionalen Raum) wird empirisch festgelegt, um ein Überlappen von im Wesentlichen CIN- 86 und im Wesentlichen nicht-CIN- 84 Gruppen zu minimieren. Die Gleichung von Oberfläche **82**, wie aus **Fig.** 5 bestimmt, stellt eine vorab festgelegte Diskriminierungsfunktion dar, die nützlich ist beim Nachweis von CIN in jeder beliebigen histologisch auffälligen, diagnostischen Zervixgewebeprobe, wenn Fluoreszenzintensitätsspektren in die Gewebeprobe induziert und gemäß den hier beschriebenen Verfahren verarbeitet worden sind.

[0047] **Fig.** 6A–6F stellen Ablaufdiagramme dar, um bevorzugte Ausführungsformen der Verfahren anzuwenden, bei denen der Apparat der vorliegenden Erfindung verwendet wird. Es ist zu beachten, dass sich Schritte im Ablaufdiagramm von **Fig.** 6A zu **Fig.** 6B, von **Fig.** 6B zu **Fig.** 6C und von **Fig.** 6C zu **Fig.** 6D fortsetzen. **Fig.** 6E und 6F repräsentieren Unterprogramme, um die jeweiligen Entscheidungsregeln anzuwenden, die entweder für die Trennung von Gewebe in normale und auffällige Klassifizierung (**Fig.** 6E) oder für die Identifizierung von CIN in Proben von auffälligem Gewebe (das CIN, Entzündung oder HPV-Infektion umfassen kann) (**Fig.** 6F) anwendbar sind. Die Unterprogramme (Unterdiagramme), die in **Fig.** 6E und 6F dargestellt sind, werden innerhalb der Schritte, die in **Fig.** 6D dargestellt sind, gebraucht. Bei der Anwendung der Schritte, die in **Fig.** 6A–6F gebraucht werden, wird angenommen, dass ausreichende Spektren verfügbar gemacht werden, um sicherzustellen, dass normales Zervixgewebe bei der Patientin durch Fluoreszenzspektren identifiziert und charakterisiert wird mit einer ausreichend hohen Wahrscheinlichkeit einer genauen Klassifizierung, wie in den hier beschriebenen Verfahren angegeben.

[0048] Unter Bezugnahme auf **Fig.** 6A–6F sind die Verfahrensschritte gezeigt, die bei dem diagnostischen Verfahren ausgeführt werden, bei dem der Apparat der vorliegenden Erfindung verwendet wird. Nachdem das Verfahren begonnen worden ist, werden die folgenden Parameter in Schritt 101 initialisiert:

Die Zähler i, k, l werden auf 1 initialisiert;

N_o – Zahl der normalen Spektren, die zu erfassen sind;

N_u – Zahl von unbekannten Spektren, die zu erreichen sind;

M_1 – Steigung der Entscheidungsoberfläche normal/auffällig = 0,0088;

B_1 – Achsenabschnitt der Entscheidungsoberfläche normal/auffällig = –0,0005;

M_2 – Steigung der Entscheidungsoberfläche CIN/nicht CIN = 4,76;

B_2 – Achsenabschnitt der Entscheidungsoberfläche CIN/nicht CIN = 0,0045.

[0049] In Schritt 102 identifiziert die Bedienungsperson die i-te normale Stelle auf dem Gebärmutterhals. Das i-te normale Spektrum wird in Schritt 103 erfasst und im Speicher als $N_i(\ddot{e}_j)$ gespeichert. In Schritt 104 wird der größte (Spitzen-) Intensitätswert aus $N_i(\lambda_j)$ abgefragt; dieser Wert wird als P_i im Speicher gespeichert. In Schritt 105 wird das normierte normale Spektrum von Stelle i ($NN_i(\lambda_j)$) wird berechnet als $NN_i(\lambda_j) = N_i(\lambda_j)/P_i$ und im Speicher gespeichert. In Schritt 106 wird die Steigung des Spektrums von 410–430 nm, S_j, aus $NN_i(\lambda_j)$ als $S_i = [NN_i(430) – NN_i(410)]/(430\ nm–410\ nm)$ berechnet. Dieser Wert wird in Schritt 106 im Speicher gespeichert.

[0050] In Schritt 107 wird der Wert von i mit N_0 verglichen. Wenn $i \neq N_0$ ist, dann wird i in Schritt 108 auf i + 1 zurückgesetzt und das Verfahren kehrt zu Schritt 102 zurück. Schritt 102 bis 107 werden wiederholt, bis der Zähler i gleich N_0 ist. Dann wird Schritt 109 ausgeführt, wobei die durchschnittliche Spitzenintensität von normalen Spektren, $\overline{P}$, wie folgt berechnet wird

$$\overline{P} = \sum_{i=1}^{N_0} P_i / N_0$$

und im Speicher gespeichert wird. Schritt 110 wird dann ausgeführt, bei dem die Standardabweichung der Spitzenintensität, σ, wie folgt berechnet wird

$$\sigma = \sqrt{\sum_{i=1}^{N_0} (P_i - \overline{P})^2 / (N_0 - 1)} \ .$$

Dieser Wert wird im Speicher gespeichert, und dann wird der Block **111** ausgeführt, wobei die Zähler i, l und k auf 1 zurückgestellt werden.

[0051] Block **112** bis **122** bestimmen, welche der Spektren, die von Bereichen gesammelt wurden, die als normal identifiziert wurden, innerhalb des Verfahrens als normal betrachtet werden und später in späteren Schritten des Verfahrens wieder als normal oder auffällig klassifiziert werden. In Block **112** werden die werte P_i und $\overline{P}$ verglichen. Wenn $P_i – \overline{P}$ größer als σ ist, wird das Spektrum von der i-ten Probe ($N_i(\lambda_j)$) umbenannt und in Block **113** als $U_k(\lambda_j)$ im Speicher gespeichert. Der Typ dieser Probe wird später innerhalb des Verfahrens klassifiziert. Danach werden Block **114** und **115** ausgeführt, wobei die Zähler k und i jeweils um eins erhöht werden. Die Steuerung wird dann zu Block **112** des Verfahrens zurückgeführt. Wenn $P_i – \overline{P}$ nicht größer als σ ist, wird die Spitzenintensität des entsprechenden Spektrums (P_i) umbenannt und als Pi in Block **116** gespeichert. In Block **117**, der als nächstes ausgeführt wird, wird die

Steigung des Spektrums von 410–430 nm (S_i) umbenannt und als S_l gespeichert. Der Typ dieser Probe wird innerhalb des Verfahrens als normal betrachtet. In Block **118** versucht das Verfahren zu sehen, ob i = N_0. Wenn nicht wird der Zähler l in Block **119** um eins erhöht, und in Block **115** wird der Zähler i um eins erhöht. Die Steuerung wird zu Block **112** zurückgeführt, und die Abfolge von 112 bis 118 wird wiederholt, bis alle erfassten Spektren getestet worden sind und i gleich N_0 ist. Zu diesem Zeitpunkt wird die Steuerung zu Block **120** verschoben, und N_0 wird auf l zurückgesetzt und im Speicher gespeichert.

[0052] In Block **121** wird die durchschnittliche Spitzenintensität jener Proben, die als normal betrachtet werden, erneut berechnet ($\overline{P}$) und entsprechend der folgenden Formel gespeichert

$$\overline{P} = \sum_{\ell=1}^{N_0} P_\ell / N_0$$

[0053] In Block **122** wird die durchschnittliche Steigung jener Proben, die als normal betrachtet werden (S) berechnet und im Speicher entsprechend der folgenden Formel gespeichert

$$\overline{S} = \sum_{\ell=1}^{N_0} S_\ell / N_0 \ .$$

[0054] In Block **123** wird die Bedienungsperson angewiesen, das k-te unbekannte Spektrum $U_k(\lambda_j)$ zu erfassen; dieses wird im Speicher gespeichert. In Block **124** wird bestimmt, ob die gewünschte Zahl an unbekannten Spektren, N_u, gesammelt worden ist durch Testen, ob k = N_u. Wenn nicht, dann wird in Block **125k** um eins erhöht und die Steuerung wird zu Block **123** zurückgeführt. Die Schritte in Block **123** bis **124** werden wiederholt, bis k = N_u, und zu diesem Zeitpunkt wird die Steuerung zu Block **126** verschoben und k wird auf 1 reinitialisiert.

[0055] Die Steuerung wird dann zu Block **127** geführt, wo die Spitzenintensität aus dem k-ten unbekannten Spektrum $Uk(\lambda_j)$ extrahiert wird und als UP_k gespeichert wird. Die relative Spitzenintensität des k-ten unbekannten Spektrums, UR_k, wird dann in Block **128** als $UR_k = UP_k/\overline{P}$ berechnet und gespeichert. Das normierte unbekannte Spektrum $NU_k(\lambda_j)$ wird dann als $NU_k(\lambda_j) = U_k(\lambda_j)/UP_k$ berechnet und in Block **129** gespeichert. In Block **130** wird die Steigung des k-ten normierten unbekannten Spektrums von 410–430 nm (US_{1k}) berechnet als US_{1k} = (NU_k(430 nm) – NU_k(410 nm))/(430 nm–410 nm) und gespeichert.

[0056] In Block **132** wird der Typ der k-ten unbekannten Probe als normal oder auffällig bestimmt, indem den Schritten in **Fig.** 6E gefolgt wird. In Block **132a** wird der Parameter Y_{k1} für das k-te unbekannte Spektrum als $Y_{k1} – M_1UR_k + B_1$ berechnet; dieser Wert wird im Speicher gespeichert. In Block **132b** wird US_{1k} mit Y_{k1} verglichen. Wenn US_{1k} kleiner als Y_{k1} ist, dann wird die Probe als normal klassifiziert; diese Information wird in Block **133** im Speicher gespeichert, und die Steuerung wird zu Block **137** übertragen. Wenn US_{1k} nicht kleiner als Y_{k1} ist, wird die Probe als auffällig klassifiziert, und die Steuerung wird zu Block **134** geführt. In Block **134** werden die Schritte von **Fig.** 6F verwendet, um zu diagnostizieren, ob die auffällige Probe CIN enthält oder nicht. In Block **134a** wird der Parameter Y_{k2} für das k-te unbekannte Spektrum als $Y_{k2} = M_2US_{2k} + B_2$ berechnet. Dieser Wert wird im Speicher gespeichert. In block 134b werden die Werte S und Y_{k2} verglichen. Wenn S kleiner als Y_{k2} ist, dann wird die Probe als CIN klassifiziert, und diese Information wird in Block **135** im Speicher gespeichert. wenn S nicht kleiner als Y_{k2} ist, dann wird die Probe als auffällig, aber nicht CIN enthaltend klassifiziert, und diese Information wird in Block **136** im Speicher gespeichert. Wenn der Probentyp der k-ten unbekannten Probe in Block **133**, **135** oder **136** klassifiziert worden ist, wird die Steuerung zu Block **137** geführt, wo die Werte k und N_u verglichen werden. Wenn k nicht gleich N_u ist, wird der Zähler k in Block **138** um eins erhöht, und die Steuerung kehrt zu Block **127** zurück. Die Schritte in Block **127** bis **137** werden wiederholt, bis k gleich N_u ist, was zeigt, dass alle unbekannten Proben klassifiziert worden sind, und das erfahren wird in Block **139** beendet.

Patentansprüche

1. Apparat für den in-vivo-Nachweis von auffälligem Gewebe in einer diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals einer Patientin mit vermutlich normalem Zervixgewebe, umfassend: eine Quelle (**36**) elektromagnetischer Strahlung zum Aufbringen auf die diagnostische Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals und das vermutlich normale Zervixgewebe; mindestens einen Strahlendetektor (**26**) zum Nachweis eines ersten Fluoreszenzintensitätsspektrums, das durch die Strahlenquelle in der diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals induziert wurde, und einer Vielzahl von zweiten normalen Fluoreszenzintensitätsspektren, die durch die Strahlenquelle im vermutlich normalen Zervixgewebe induziert wurden; einen Computer (**20**), der mit der Quelle (**36**) elektromagnetischer Strahlung und dem Strahlendetektor (**26**) verbunden ist, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Apparat so programmiert ist, dass er einen normalen Spitzenwert der Fluoreszenzintensität in jedem zweiten normalen Fluoreszenzintensitätsspektrum misst, eine durchschnittliche normale Spitzen-Fluoreszenzintensität aus diesen normalen Spitzenwerten der Fluoreszenzintensität berechnet, einen Spitzen-Fluoreszenzintensitätswert aus dem ersten Fluoreszenzintensitätsspektrum, das in der diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals induziert wurde, misst, aus einem vorab festgelegten Teil des ersten Fluoreszenzintensitätsspektrums einen auf auffälliges Gewebe hinweisenden Steigungsparameter berechnet, die relative Spit-

zen-Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von dem Spitzen-Fluoreszenzintensitätswert und der durchschnittlichen normalen Spitzen-Fluoreszenzintensität berechnet, und auffälliges Gewebe in Abhängigkeit vom Steigungsparameter und der relativen Spitzen-Fluoreszenzintensität erkennt.

2. Apparat nach Anspruch 1, der ferner so programmiert ist, dass er: einen diskriminierenden Parameter in Abhängigkeit von den Steigungs- und Intensitätsparametern berechnet; durch Ersetzen des diskriminierenden Parameters in einer vorab festgelegten Diskriminierungsfunktion auffälliges Gewebe in der diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals nachweist.

3. Apparat nach Anspruch 1, wobei die Quelle (**36**) elektromagnetischer Strahlung eine Wellenlänge von 337 nm aufweist.

4. Apparat nach Anspruch 1, worin die Berechnung des diagnostischen Steigungsparameters für Gewebe die Berechnung des diagnostischen Steigungsparameters für Gewebe aus einem Teil des ersten Fluoreszenzintensitätsspektrums mit einer Wellenlänge zwischen 400 nm und 440 nm, vorzugsweise 410 nm und 430 nm umfasst.

5. Apparat nach Anspruch 1, worin der Steigungsparameter nach Normalisierung des ersten Fluoreszenzintensitätsspektrums mit dem Spitzen-Fluoreszenzintensitätswert berechnet wird.

6. Apparat nach Anspruch 5, worin die Berechnung des diagnostischen Steigungsparameters für Gewebe die Berechnung des diagnostischen Steigungsparameters für Gewebe in Abhängigkeit von der einer durchschnittlichen Steigung im normalisierten ersten Fluoreszenzintensitäts-Spektrum im vorab festgelegten Teil umfasst.

7. Apparat nach Anspruch 2, worin die vorab festgelegte Diskriminierungsfunktion empirisch ist.

8. Apparat nach Anspruch 7, worin die vorab festgelegte empirische Diskriminierungsfunktion linear ist.

9. Apparat nach Anspruch 1, der ferner so programmiert ist, dass er: aus einem vorab festgelegten zweiten Fluoreszenzintensitätsspektrum einen zweiten Steigungsparameter berechnet, der vermutlich normales Zervixgewebe der Patientin charakterisiert; und in der diagnostischen Gewebeprobe aus dem Gebärmutterhals zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN) in Abhängigkeit von den ersten und zweiten Steigungsparametern nachweist.

10. Apparat nach Anspruch 9, worin die Berechnung des ersten Steigungsparameters die Berechnung des ersten Steigungsparameters aus einem Teil des ersten Fluoreszenzintensitätsspektrums mit einer Wellenlänge zwischen 440 nm und 460 nm umfasst.

11. Apparat nach Anspruch 9, worin die Berechnung des zweiten Steigungsparameters die Berechnung des zweiten Steigungsparameters aus einem Teil des zweiten Fluoreszenzintensitätsspektrums mit einer Wellenlänge zwischen 410 nm und 430 nm umfasst.

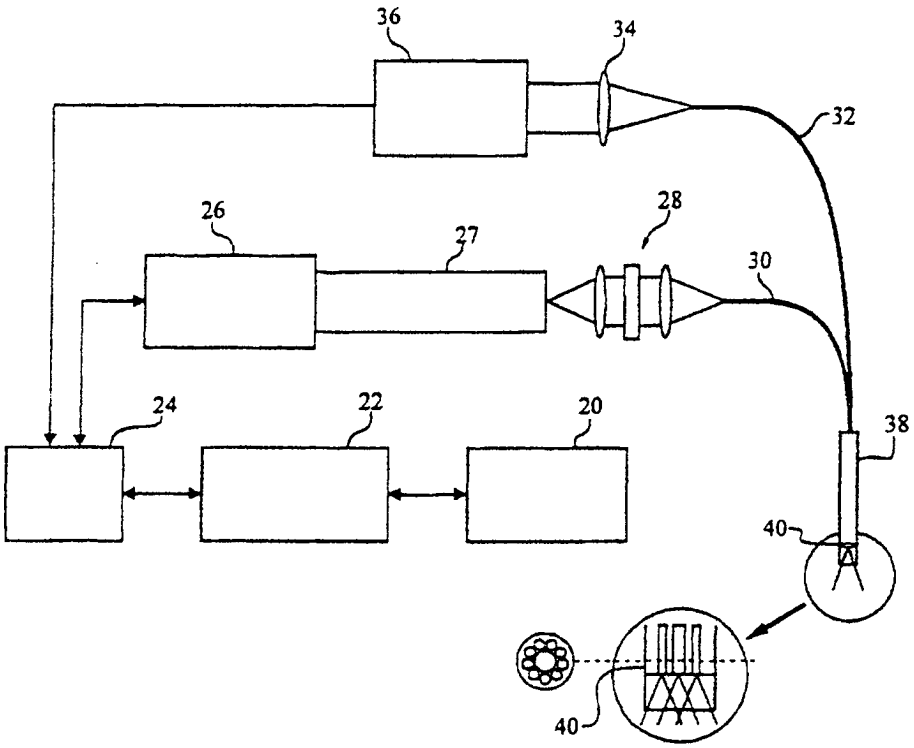
12. Apparat nach Anspruch 9, worin die ersten und zweiten Steigungsparameter nach Normalisierung der ersten und zweiten Fluoreszenzintensitätsspektren auf Spitzen-Fluoreszenzintensitätswerte von 1 berechnet werden.

13. Apparat nach Anspruch 9, worin der Nachweis von CIN den Nachweis von CIN als vorab festgelegte empirische Diskriminierungsfunktion der ersten und zweiten Steigungsparameter umfasst.

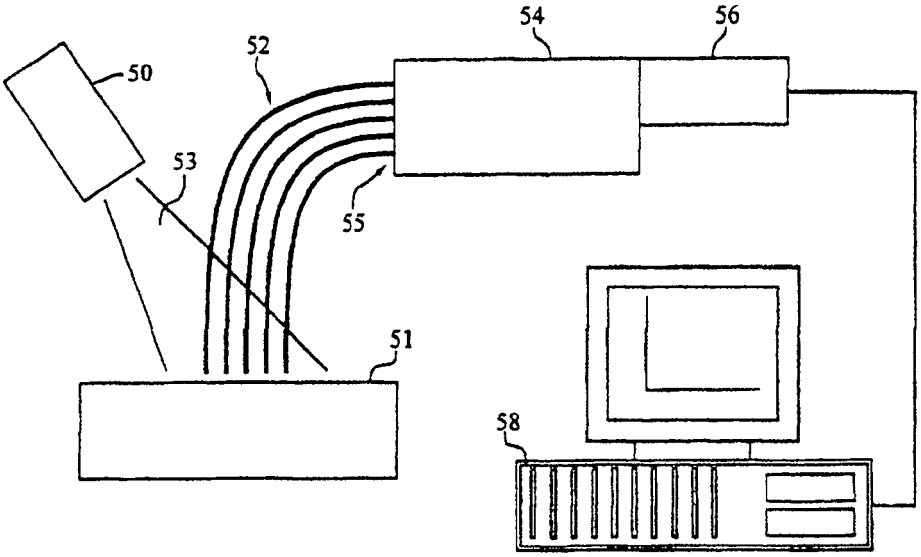
14. Apparat nach Anspruch 13, worin die vorab festgelegte empirische Diskriminierungsfunktion linear ist.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

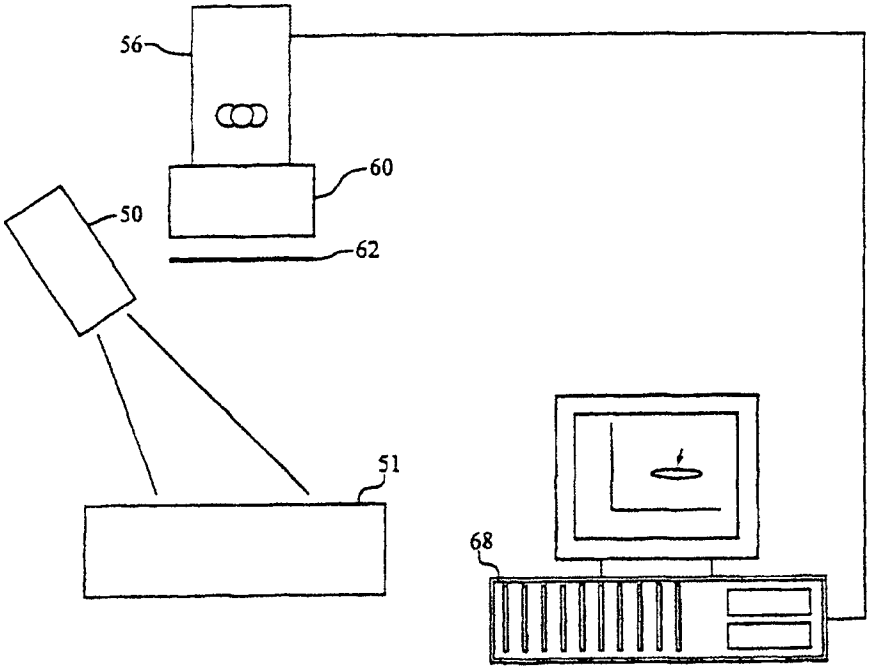
Anhängende Zeichnungen



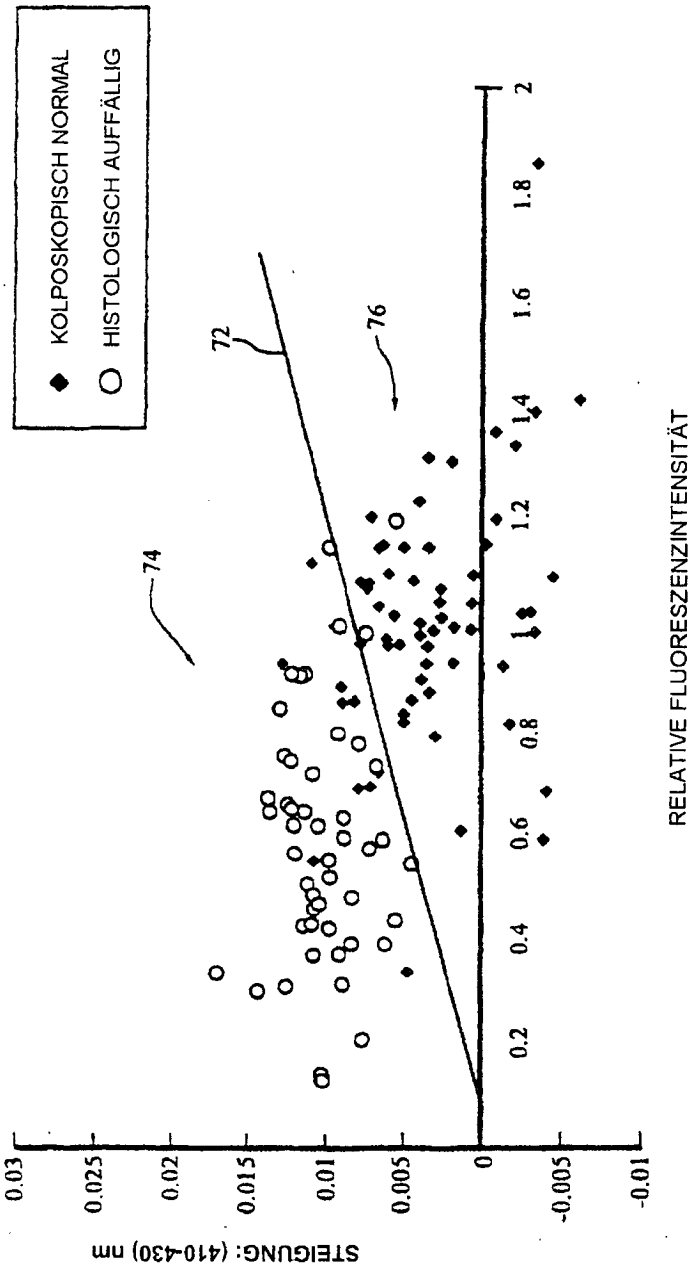
FIGUR 1



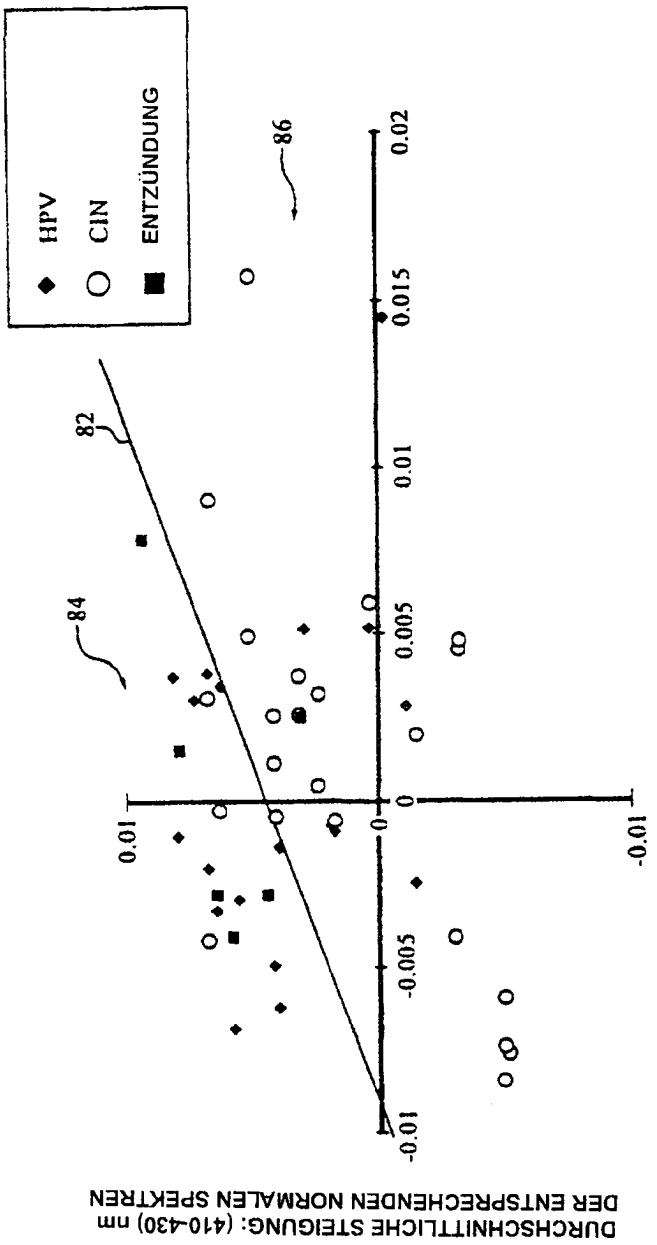
FIGUR 2



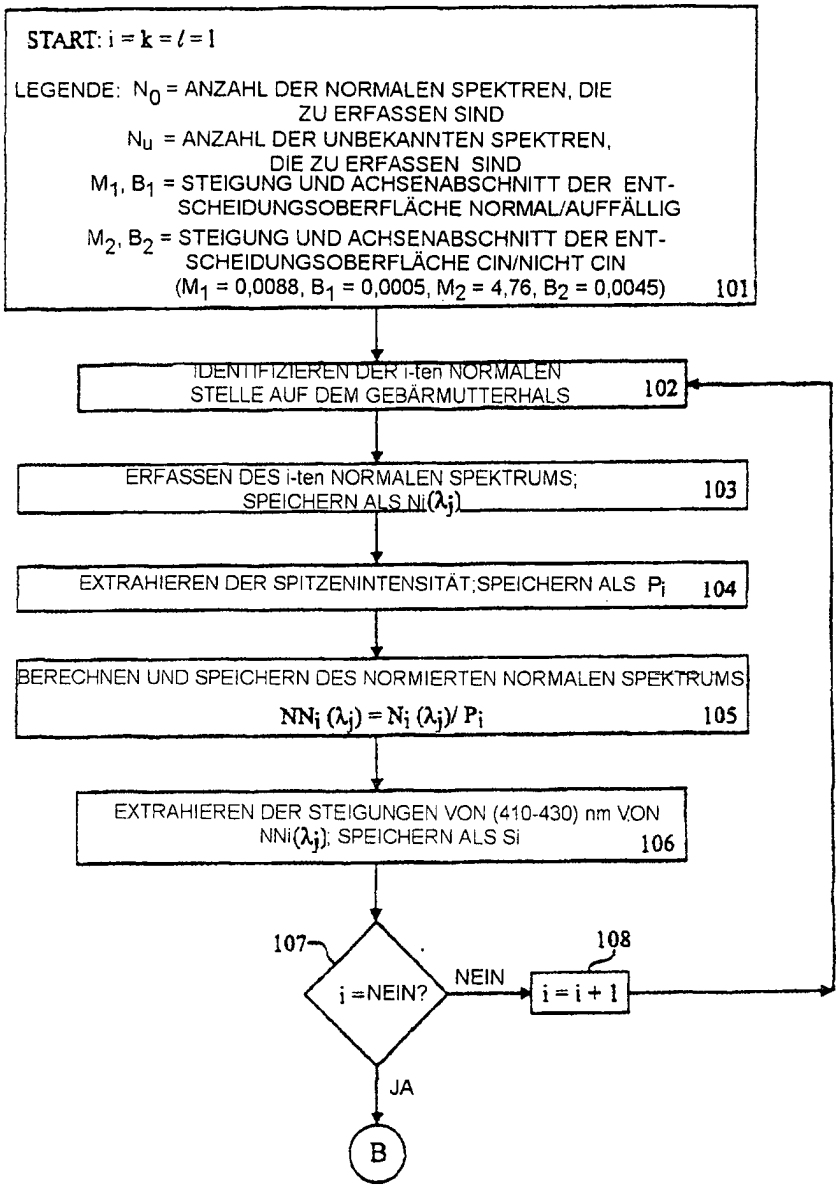
FIGUR 3


KOLPOSKOPISCH NORMAL
HISTOLOGISCH AUFFÄLLIG
72
74
76
STEIGUNG: (410-430) nm
0.03
0.025
0.02
0.015
0.01
0.005
0
-0.005
-0.01
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
1.6
1.8
2
RELATIVE FLUORESZENZINTENSITÄT

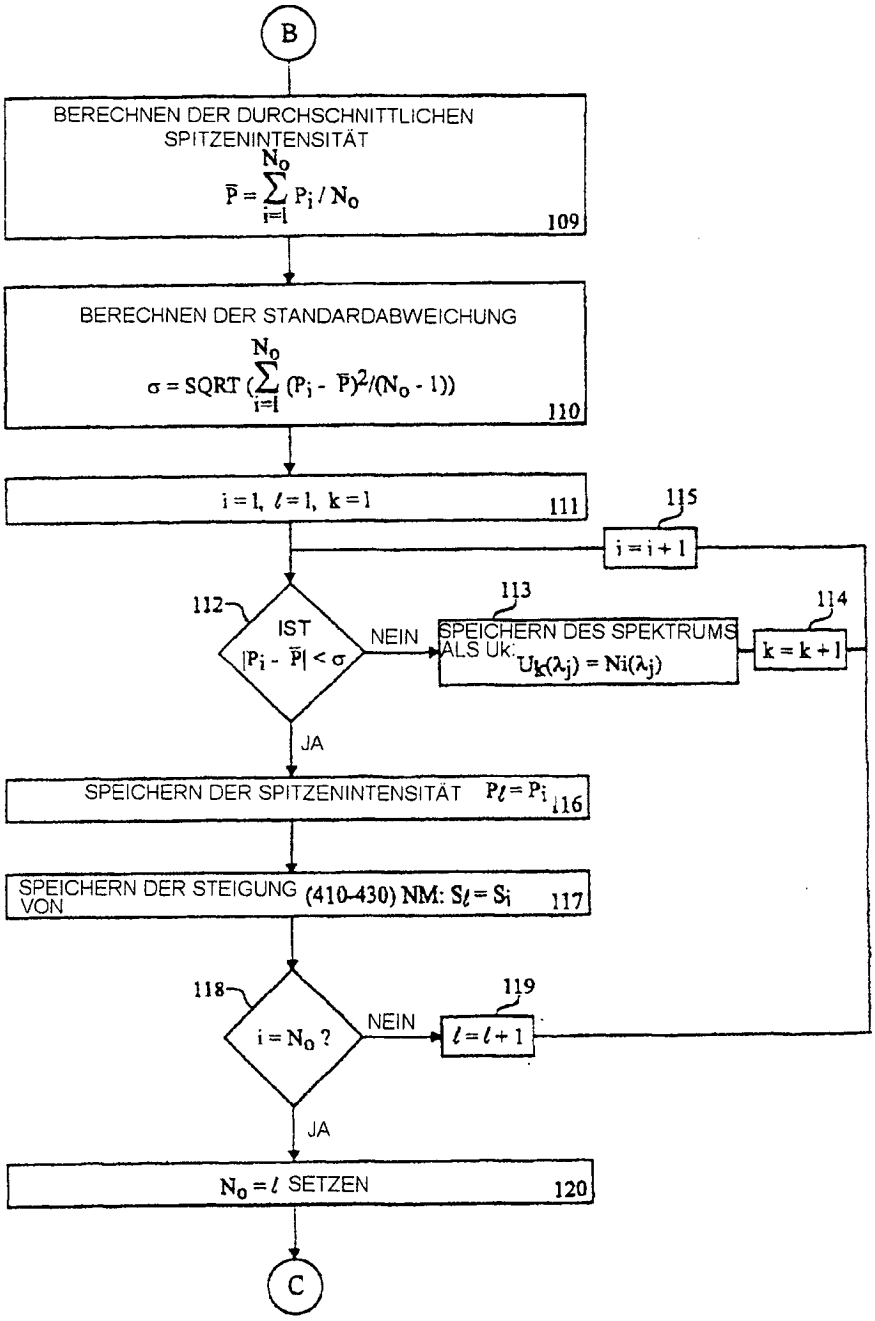
FIGUR 4


HPV
CIN
ENTZÜNDUNG
82
84
86
0.02
0.015
0.01
0.005
0
-0.005
-0.01
0.01
0
-0.01
STEIGUNG: (440-460) nm DES AUFFÄLLIGEN SPEKTRUMS
DURCHSCHNITTLICHE STEIGUNG: (410-430) nm
DER ENTSPRECHENDEN NORMALEN SPEKTREN

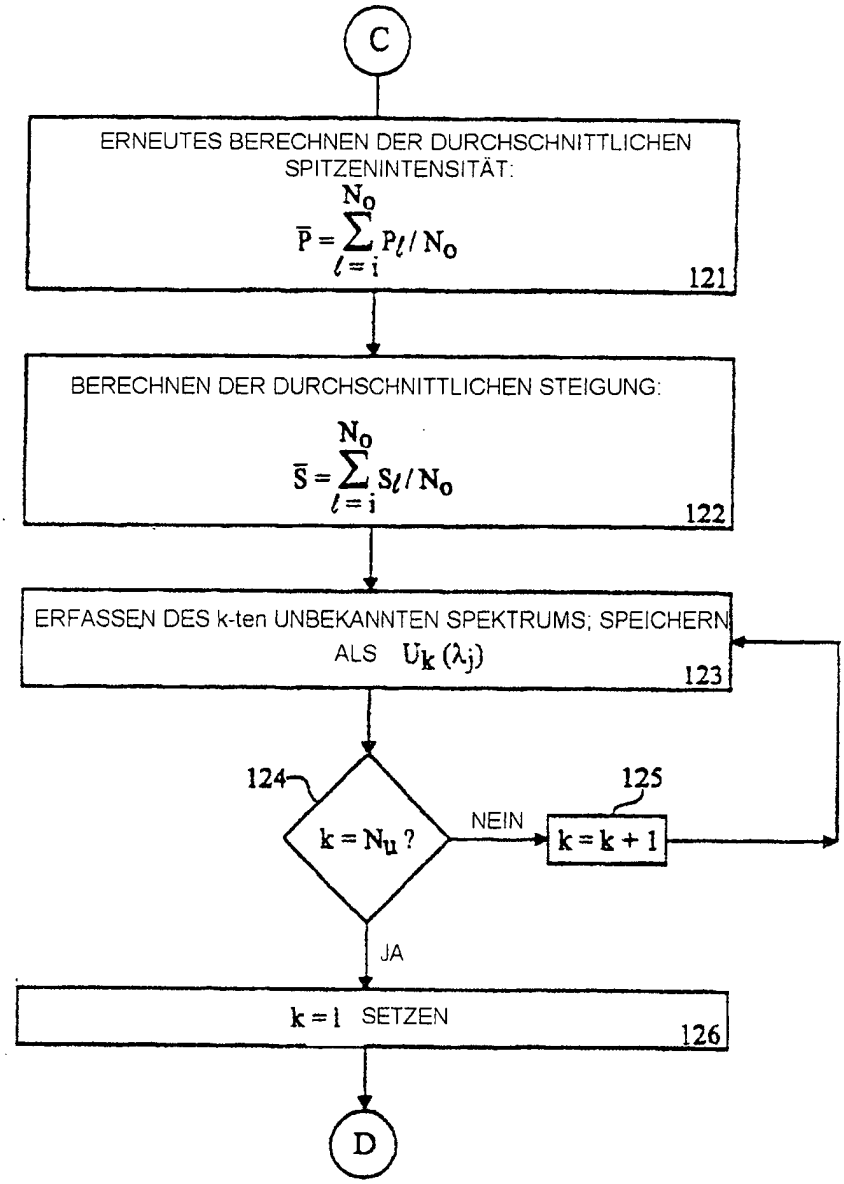
FIGUR 5


START: i = k = l = 1
LEGENDE: N_0 = ANZAHL DER NORMALEN SPEKTREN, DIE ZU ERFASSEN SIND
N_u = ANZAHL DER UNBEKANNTEN SPEKTREN, DIE ZU ERFASSEN SIND
M_1, B_1 = STEIGUNG UND ACHSENABSCHNITT DER ENTSCHEIDUNGSOBERFLÄCHE NORMAL/AUFFÄLLIG
M_2, B_2 = STEIGUNG UND ACHSENABSCHNITT DER ENTSCHEIDUNGSOBERFLÄCHE CIN/NICHT CIN
(M_1 = 0,0088, B_1 = 0,0005, M_2 = 4,76, B_2 = 0,0045)
101
IDENTIFIZIEREN DER i-ten NORMALEN STELLE AUF DEM GEBÄRMUTTERHALS
102
ERFASSEN DES i-ten NORMALEN SPEKTRUMS; SPEICHERN ALS $N_i(\lambda_j)$
103
EXTRAHIEREN DER SPITZENINTENSITÄT;SPEICHERN ALS P_i
104
BERECHNEN UND SPEICHERN DES NORMIERTEN NORMALEN SPEKTRUMS
$NN_i(\lambda_j) = N_i(\lambda_j) / P_i$
105
EXTRAHIEREN DER STEIGUNGEN VON (410-430) nm VON $NN_i(\lambda_j)$; SPEICHERN ALS Si
106
107
i =NEIN?
NEIN
108
i = i + 1
JA
B

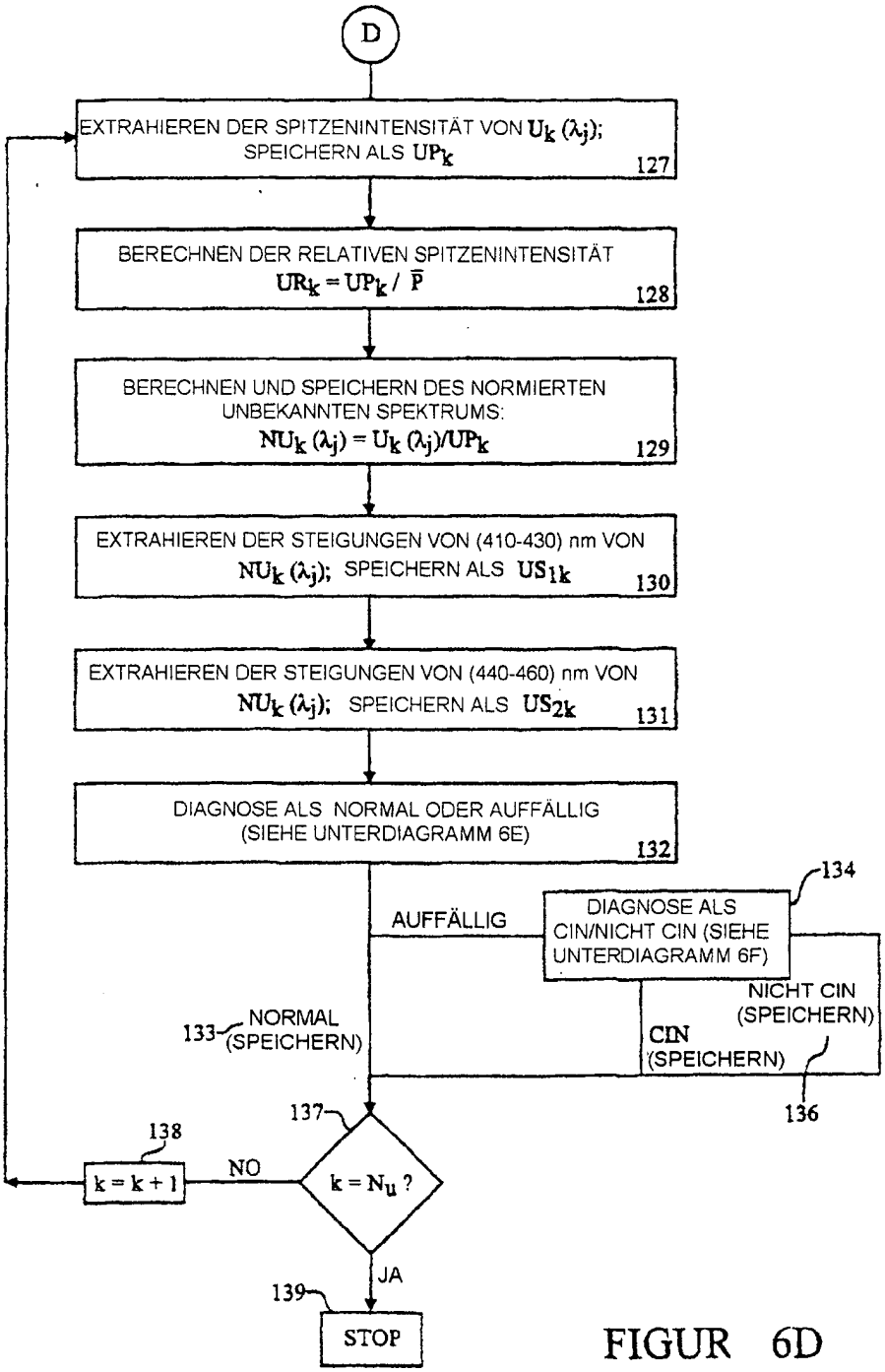
FIGUR 6A


B
BERECHNEN DER DURCHSCHNITTLICHEN SPITZENINTENSITÄT
$\bar{P} = \sum_{i=1}^{N_0} P_i / N_0$
109
BERECHNEN DER STANDARDABWEICHUNG
$\sigma = SQRT (\sum_{i=1}^{N_0} (P_i - \bar{P})^2/(N_0 - 1))$
110
i = 1, ℓ = 1, k = 1
111
115
i = i + 1
112
IST
$|P_i - \bar{P}| < \sigma$
NEIN
113
SPEICHERN DES SPEKTRUMS ALS Uk:
$U_k(\lambda_j) = Ni(\lambda_j)$
114
k = k + 1
JA
SPEICHERN DER SPITZENINTENSITÄT $P\ell = P_i$
116
SPEICHERN DER STEIGUNG VON (410-430) NM: $S\ell = S_i$
117
118
$i = N_0$?
NEIN
119
ℓ = ℓ + 1
JA
$N_0 = \ell$ SETZEN
120
C

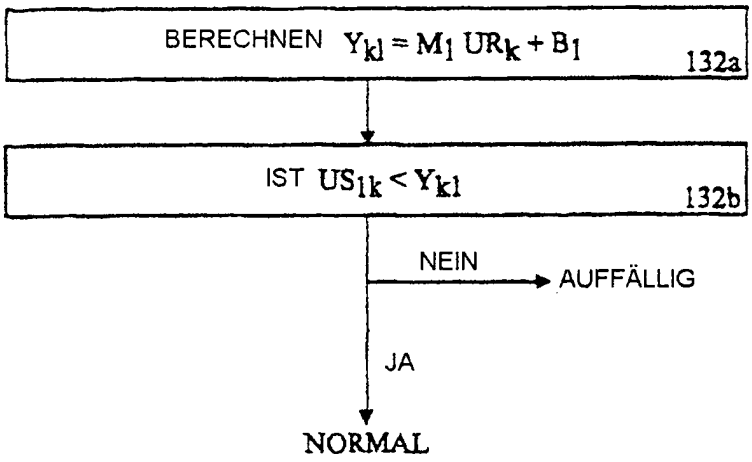
FIGUR 6B


C
ERNEUTES BERECHNEN DER DURCHSCHNITTLICHEN SPITZENINTENSITÄT:
$\bar{P} = \sum_{l=i}^{N_0} P_l / N_0$
121
BERECHNEN DER DURCHSCHNITTLICHEN STEIGUNG:
$\bar{S} = \sum_{l=i}^{N_0} S_l / N_0$
122
ERFASSEN DES k-ten UNBEKANNTEN SPEKTRUMS; SPEICHERN ALS $U_k(\lambda_j)$
123
124
$k = N_u$?
NEIN
125
$k = k + 1$
JA
$k = 1$ SETZEN
126
D

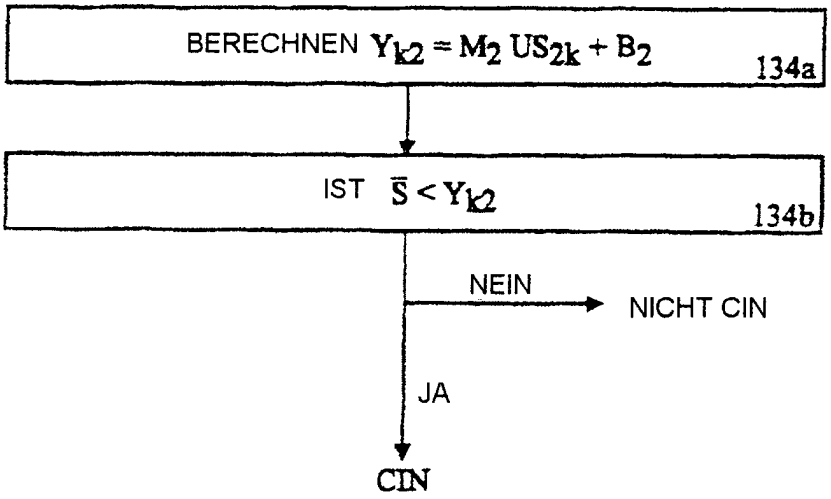
FIGUR 6C


D
EXTRAHIEREN DER SPITZENINTENSITÄT VON $U_k(\lambda_j)$; SPEICHERN ALS UP_k
127
BERECHNEN DER RELATIVEN SPITZENINTENSITÄT $UR_k = UP_k / \bar{P}$
128
BERECHNEN UND SPEICHERN DES NORMIERTEN UNBEKANNTEN SPEKTRUMS: $NU_k(\lambda_j) = U_k(\lambda_j)/UP_k$
129
EXTRAHIEREN DER STEIGUNGEN VON (410-430) nm VON $NU_k(\lambda_j)$; SPEICHERN ALS US_{1k}
130
EXTRAHIEREN DER STEIGUNGEN VON (440-460) nm VON $NU_k(\lambda_j)$; SPEICHERN ALS US_{2k}
131
DIAGNOSE ALS NORMAL ODER AUFFÄLLIG (SIEHE UNTERDIAGRAMM 6E)
132
AUFFÄLLIG
DIAGNOSE ALS CIN/NICHT CIN (SIEHE UNTERDIAGRAMM 6F)
134
NICHT CIN (SPEICHERN)
CIN (SPEICHERN)
136
133 NORMAL (SPEICHERN)
137
138
k = k + 1
NO
k = Nu ?
JA
139
STOP

FIGUR 6D


BERECHNEN $Y_{kl} = M_l\ UR_k + B_l$
132a
IST $US_{lk} < Y_{kl}$
132b
NEIN
AUFFÄLLIG
JA
NORMAL

FIGUR 6E


BERECHNEN $Y_{k2} = M_2 US_{2k} + B_2$
134a
IST $\bar{S} < Y_{k2}$
134b
NEIN
NICHT CIN
JA
CIN

FIGUR 6F