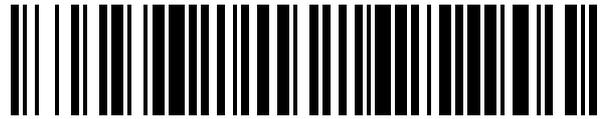


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 255 024**

21 Número de solicitud: 202031383

51 Int. Cl.:

A61B 6/00 (2006.01)

A61B 6/08 (2006.01)

G01N 21/62 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

26.06.2020

43 Fecha de publicación de la solicitud:

27.10.2020

71 Solicitantes:

**FUNDACIÓN INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
MARQUÉS DE VALDECILLA (10.0%)
Avda. Cardenal Herrera Oria s/n
39011 Santander (Cantabria) ES;
SERVICIO CÁNTABRO DE SALUD (40.0%);
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA (40.0%) y
FOTOGLASS (10.0%)**

72 Inventor/es:

**FERNÁNDEZ LUNA, José Luis;
MARTÍN LÁEZ, Rubén ;
VELÁSQUEZ RODRÍGUEZ, Carlos José;
MORENO GRACIA, Fernando;
GONZÁLEZ FERNÁNDEZ, Francisco;
VIDAL SÁNCHEZ , Verónica y
FRANCO PÉREZ, Alfredo**

54 Título: **Dispositivo óptico para identificación de regiones tumorales**

ES 1 255 024 U

DESCRIPCIÓN

DISPOSITIVO ÓPTICO PARA IDENTIFICACIÓN DE REGIONES TUMORALES

5 CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención pertenece al sector médico quirúrgico, en particular al del instrumental quirúrgico para la identificación de regiones tumorales en distintos órganos, como por ejemplo el cerebro.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El glioblastoma (GBM) es el tumor cerebral primario más frecuente en adultos y uno de los tumores más agresivos y letales. El tratamiento estándar hoy día es cirugía seguida de radioterapia y quimioterapia con temozolomida. Sin embargo, la esperanza de vida es de unos 12-15 meses. El GBM es un tumor muy invasivo, lo que dificulta una resección completa. La región más problemática, desde el punto de vista quirúrgico, es la que corresponde a los márgenes del tumor. Sistemas que delimiten estos márgenes y distingan el tejido tumoral del parénquima cerebral, pueden ayudar en la toma de decisiones del neurocirujano. Entre las técnicas que se aplican actualmente en la práctica clínica para tratar de delimitar estos márgenes, destacan la resonancia magnética intraoperatoria, el marcaje fluorescente y la anatomía patológica. Estas técnicas se explican a continuación.

Por una parte, de forma previa a la cirugía se obtienen imágenes del tumor del paciente por resonancia magnética nuclear (RMN), que al neurocirujano le sirven de guía para planificar la intervención quirúrgica. Esta técnica se fundamenta en la composición tisular del órgano en cuestión. Además, existe la RMN intraoperatoria, pero entre sus inconvenientes, destaca que es poco compatible con el instrumental quirúrgico y puede requerir preparación previa del paciente, por lo que habitualmente incrementa el tiempo de cirugía. Además, tiene baja resolución espacial.

También se suelen utilizar contrastes fluorescentes intraoperatorios, como el ácido 5-aminolevulínico (5-ALA), que se administra al paciente antes de la cirugía y se incorpora al tumor. Durante la cirugía, al iluminar con luz ultravioleta el área quirúrgica y, utilizando un filtro adecuado en un microscopio, el tumor se visualiza en rojo. Sin embargo, este color se va difuminando al alejarse del núcleo tumoral y se hace de difícil interpretación en los bordes del tumor. Es decir, entre los inconvenientes del marcaje fluorescente destaca su baja sensibilidad y resolución. Además, es invasivo y requiere preparación previa del paciente,

por lo que habitualmente incrementa el tiempo de cirugía.

Actualmente, la anatomía patológica, que se fundamenta en la composición celular del tejido, determina las características del tejido extirpado, y este es el *gold standard* en la identificación de tejido tumoral. Sin embargo, además de su baja resolución espacial, su principal inconveniente es que no proporciona resultados en tiempo real y necesita interpretación de un especialista.

A pesar de la existencia de estas técnicas, como se ha descrito, en muchos casos no es posible identificar de forma rápida y fiable la región peritumoral –es decir, el tejido adyacente al tumor- relevante para intentar la extirpación completa del tumor, respetando el tejido sano. Este problema es muy relevante en el caso de los tumores cerebrales, tales como el GBM, en los que es especialmente necesario identificar con precisión el tejido cerebral adyacente al tumor, respetando al máximo el tejido sano, para que la extirpación completa del tumor afecte lo menos posible al correcto funcionamiento del cerebro.

Por otra parte, la plasmónica es un área científico-tecnológica relativamente moderna que se asienta en principios básicos de la óptica y la física de materiales, normalmente en el rango de la radiación visible-infrarrojo cercano (longitudes de onda entre 0,3 y 2 μ m). Su objeto de estudio son los plasmones o resonancias plasmónicas: excitaciones colectivas de los electrones cuasi-libres presentes en los metales conformados a tamaño nanométrico, que en resonancia constituyen los plasmones superficiales localizados (LSPR). Para aplicaciones que requieran montajes de reducido tamaño, esta disciplina permite aprovechar los altos campos electromagnéticos que se generan en la configuración LSPR al iluminar estructuras metálicas organizadas a nivel nanométrico.

A día de hoy existe la necesidad de desarrollar técnicas intraoperatorias, que identifiquen con precisión los límites tumorales en tiempo real y que sean más fiables que los sistemas intraoperatorios actuales.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona un nuevo dispositivo basado en tecnología plasmónica - chip plasmónico- para la discriminación de las diferentes regiones tumorales, por ejemplo del GBM, en tiempo real. Concretamente, el dispositivo permite identificar en tiempo real al menos el tejido necrótico, tumoral y tejido peritumoral. Es decir, la adquisición y análisis de la respuesta espectral del chip en contacto con el tejido desde que se ilumina el chip se realiza en tiempo real. La respuesta del chip está basada en la transmisión óptica extraordinaria, fenómeno debido a la excitación de los plasmones superficiales del chip. En

el contexto de la presente invención, el término “tiempo real” se refiere a un tiempo comprendido dentro de un rango que varía entre un valor mínimo V_{\min} y un valor superior de varias decenas de segundos, tal como un rango que varía entre un valor mínimo V_{\min} y un valor superior de 120 s (segundos), o un rango que varía entre un valor mínimo V_{\min} y un valor superior de 60 s, o un rango que varía entre un valor mínimo V_{\min} y un valor superior de 30 s, o un rango que varía entre un valor mínimo V_{\min} y un valor superior de 15 s. Teniendo en cuenta la tecnología actual, el valor mínimo V_{\min} puede ser, por ejemplo, pero sin carácter limitativo, 10 ms (milisegundos). Sin embargo, un experto en la materia entenderá que la evolución de la tecnología puede permitir reducir el valor mínimo V_{\min} del rango a un valor mínimo menor que 10 ms, tal como un valor mínimo de 5 ms o un valor mínimo de 1 ms. En cualquier caso, en el contexto de la presente invención el término “tiempo real” se entiende como un periodo de tiempo sustancialmente inferior a la duración de la cirugía, de forma que durante la intervención pueda realizarse la identificación precisa del tumor.

El dispositivo de la invención permite realizar determinaciones tumorales que no necesitan marcajes ni preparación del paciente. El dispositivo permite también obtener información en tiempo real durante la intervención quirúrgica, de fácil interpretación para el cirujano y resto de personal sanitario. Por ejemplo, la información se puede proporcionar en forma de código de colores. El dispositivo puede además incorporarse con facilidad a la dinámica habitual de trabajo del personal de quirófano, en particular del cirujano.

El dispositivo tiene una alta resolución espacial, de aproximadamente $1 \mu\text{m}^2$ (10^{-12} metros cuadrados), superior en seis órdenes de magnitud a la que típicamente presenta la resonancia magnética nuclear (RMN), que varía entre 0,5 y 1,5 mm^2 (10^{-6} metros cuadrados).

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un dispositivo dispositivo quirúrgico para la identificación de regiones tumorales durante una intervención quirúrgica. El dispositivo comprende: un cuerpo alargado y configurado para, durante su uso, poner en contacto el extremo distal del cuerpo alargado en contacto con un tejido humano o animal a analizar; un chip situado en dicho extremo distal del cuerpo alargado, comprendiendo el chip una superficie metálica nanoestructurada; una primera fibra óptica situada en el interior de cuerpo alargado y configurada para hacer llegar un haz de luz incidente para iluminar el chip; una segunda fibra óptica situada en el interior de cuerpo alargado y configurada para extraer un haz de luz reflejado por el chip. En uso del dispositivo quirúrgico, cuando el chip situado en dicho extremo distal del cuerpo alargado está en contacto con un tejido humano o animal a analizar, al hacer incidir dicho haz de luz sobre la superficie metálica

nanoestructurada del chip, el haz de luz reflejado por el chip proporciona una respuesta espectral que depende del índice de refracción del tejido analizado, donde dicho índice de refracción a su vez depende de si el tejido es un tejido necrosado, tumoral o peritumoral.

5 En realizaciones de la invención, el dispositivo comprende una pieza dispuesta en el extremo distal del cuerpo alargado y configurada para acoplar el chip a la primera y segunda fibras ópticas, para lo cual la pieza tiene un agujero pasante para recibir los extremos de las fibras ópticas.

10 En realizaciones de la invención, el dispositivo comprende una lente focalizadora y colectora situada entre el chip y el extremo de las fibras ópticas, configurada para que la luz emitida por la primera fibra óptica sea focalizada por la lente y la luz recibida por la segunda fibra óptica sea recogida por la lente.

15 En realizaciones de la invención, el dispositivo comprende: una pieza de terminación de fibras ópticas situada en el extremo distal del cuerpo, para acoplar las fibras de entrada y salida; y un soporte para la lente focalizadora y colectora; estando el soporte configurado para acoplarse al agujero pasante de la pieza y la pieza de terminación de fibras ópticas configurada para acoplarse al soporte.

En realizaciones de la invención, la superficie metálica nanoestructurada del chip es de oro.

En realizaciones de la invención, el chip tiene una superficie sensora mínima de 2 μm x 2 μm .

20 En realizaciones de la invención, el chip tiene una superficie sensora máxima de 10 mm x 10 mm.

En realizaciones de la invención, el espesor de la superficie metálica nanoestructurada del chip es de entre 10 y 150 nm.

25 En realizaciones de la invención, la superficie metálica nanoestructurada del chip está nanoestructurada periódicamente en sus dos dimensiones, siendo el periodo de la matriz nanoestructurada de entre 300 y 700 nm.

En realizaciones de la invención, la superficie metálica nanoestructurada del chip comprende nanoestructuras cuyo diámetro es de entre 100 y 300 nm.

30 En realizaciones de la invención, el dispositivo comprende además una fuente de luz configurada para proporcionar un haz de luz a la primera fibra óptica para iluminar el chip.

En realizaciones de la invención, la fuente de luz opera en el espectro de luz visible y en el infrarrojo cercano.

En realizaciones de la invención, el dispositivo comprende además un espectrógrafo conectado al extremo de la segunda fibra óptica para recibir el haz de luz reflejado por el chip y transportado por la segunda fibra óptica, estando el espectrógrafo configurado para extraer la respuesta espectral de la luz reflejada por el chip.

5 En realizaciones de la invención, el dispositivo comprende además una interfaz conectada al espectrógrafo, configurada para, a partir del resultado espectral obtenido, proporcionar una sugerencia sobre la pertinencia o no de la extirpación del tejido analizado.

La sencilla configuración del dispositivo de la invención proporciona un instrumento quirúrgico fácilmente manipulable y que además no requiere preparación previa del
10 paciente. Los chips plasmónicos utilizados proporcionan alta sensibilidad, respuesta rápida, alta resolución espacial, resultados en tiempo real y fácilmente interpretables y pueden ser fácilmente incorporados al instrumental quirúrgico. El dispositivo suple así la ausencia de herramientas que ayuden a los cirujanos –tales como neurocirujanos- a la toma de decisiones de eliminación de tejido en la frontera del tumor.

15 Ventajas y características adicionales de la invención serán evidentes a partir de la descripción en detalle que sigue y se señalarán en particular en las reivindicaciones adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Para complementar la descripción y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las
20 características de la invención, de acuerdo con un ejemplo de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de la descripción, un juego de figuras en el que, con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

La figura 1 muestra esquemáticamente las diferentes regiones de un tumor cerebral que pueden ser identificadas por el dispositivo de la invención.

25 La figura 2 muestra un esquema de un dispositivo basado en la tecnología plasmónica para la identificación de diferentes regiones tumorales, de acuerdo con una posible realización de la invención.

La figura 3 muestra en detalle la configuración del chip con todos sus elementos.

La figura 4A muestra un esquema del diseño de una nanoestructura, en este caso
30 nanoagujeros, implementada sobre una superficie metálica de un chip. En la figura 4A se muestra una distribución de nanoagujeros tal que forma una red cuadrada, pero igualmente se puede utilizar una distribución de nanoagujeros distribuidos de tal forma que sigan una

red hexagonal. La figura 4B muestra una fotografía realizada con un microscopio electrónico de barrido de una posible nanoestructura como la de la figura 4A.

La figura 5 muestra resultados experimentales obtenidos con un dispositivo de acuerdo con la invención. Se observan varias imágenes de diferentes tejidos asociados a un GBM, obtenidas mediante resonancia magnética nuclear (RMN) y, para cada una de ellas, las medidas del índice de refracción de cada tejido.

DESCRIPCIÓN DE UNA FORMA DE LLEVAR A CABO LA INVENCÓN

La figura 1 muestra una vista en sección de un esquema de un cerebro (1) en el que se ha identificado un tumor (2). El cerebro puede ser humano o animal. El núcleo del tumor está formado por una zona de necrosis (3). Alrededor del tumor (2) se observa una región peritumoral (tejido adyacente al tumor) (4), formada por tejido sano, con frecuencia infiltrado con células tumorales. El resto de la imagen corresponde al parénquima cerebral. El dispositivo que se describe a continuación es capaz de identificar en tiempo real, durante una intervención quirúrgica –típicamente la intervención destinada a extirpar el tumor- las diferentes regiones del tumor, tales como el tejido tumoral (2) propiamente dicho y la región o tejido peritumoral (4).

La figura 2 muestra esquemáticamente un posible dispositivo (10) para la determinación tumoral (determinación de diferentes regiones tumorales) en tiempo real. El dispositivo (10) está basado en tecnología plasmónica y comprende un chip metálico (11) nanoestructurado, también llamado película metálica, situado en el extremo distal de un cuerpo alargado (12). El principio de funcionamiento se corresponde sustancialmente con el esquema de la figura 3.

El fenómeno plasmónico en que se basa el dispositivo (10) es la Transmisión Óptica Extraordinaria (en inglés *Extraordinary Optical Transmission*). Los plasmones de superficie se producen muy próximos a la superficie nanoestructurada, concretamente a una distancia máxima de aproximadamente 300 nm ($1\text{nm} = 1 \text{ nanómetro} = 10^{-9}$ metros) desde dicha superficie, en dirección perpendicular a la misma. Por ello, para que el dispositivo (10) sea sensible a los cambios en la composición del secretoma y tejido, estos cambios tienen que tener lugar dentro de este rango de distancia. El chip metálico nanoestructurado actúa como biosensor, como se explica más adelante. Cuando se hace incidir un haz de luz sobre una superficie metálica nanoestructurada, ondas electromagnéticas no homogéneas llamadas plasmones superficiales se propagan adheridas a la superficie nanoestructurada. Esta superficie tiene una alta sensibilidad a cambios de las propiedades ópticas del medio

circundante.

El chip (11) de la figura 2 se ilustra en detalle en la parte superior de la figura 3. El chip (11) está formado por una película metálica (111) dispuesta sobre un sustrato (113). La película metálica (111) puede adherirse al sustrato (113) mediante una película adhesiva (112), por ejemplo de titanio. El sustrato (113) puede ser un sustrato plástico o un sustrato de vidrio, tal como pyrex, transparente a la longitud de onda de trabajo, es decir, deja pasar la luz completamente o casi completamente. Como metal de la película metálica (111) puede usarse cualquier metal de alta conductividad, tal como oro, plata, aluminio, cobre o cualquier otro metal plasmónicamente eficiente. En una posible realización, el metal seleccionado es oro (por su biocompatibilidad) al 99.999% de pureza. El espesor de la película metálica (11) es del orden de los nm (nanómetros, 10^{-9} metros), tal como de decenas de nanómetros, preferentemente de entre 10 y 200 nm, tal como de entre 10 y 150 nm, o de entre 20 y 120 nm, o de entre 30 y 100 nm.

La capa metálica (111) del chip (11) está nanoestructurada periódicamente en sus dos dimensiones (anchura y longitud). Es decir, en la película metálica (111) se han practicado un conjunto o red de nanoestructuras (114) (preferentemente agujeros, por ejemplo de sección circular) distribuidas periódicamente con un periodo de centenas de nanómetros. El tamaño de los agujeros es del orden de los nanómetros. El diámetro de cada agujero es preferentemente de entre 100 y 300 nm, tal como de entre 120 y 280 nm, o de entre 150 y 250 nm. Su diámetro es preferentemente menor que la longitud de onda excitadora. Por ejemplo, se pueden trazar nanoagujeros de 200 nm de diámetro. Otras secciones del agujero son posibles, tales como cuadrados, rectangulares, ovalados, octogonales, hexagonales, u otras. Los nanoagujeros pueden atravesar completamente la película metálica del chip o perforarla parcialmente (hasta una cierta profundidad). El periodo de la matriz nanoestructurada (separación entre nanoestructuras consecutivas) es preferentemente de entre 300 y 700 nm, tal como de entre 350 y 650 nm, o de entre 400 y 600 nm. Se elige un periodo que preferentemente sea menor que la longitud de onda excitadora. Se elige un periodo dentro del citado rango para que cuando el chip es sometido a un haz de luz de la longitud de onda adecuada, la zona nanoestructurada del chip sea altamente sensible, a la vez que mantenga la posición espectral de la resonancia EOT (Transmisión Óptica Extraordinaria) dentro de la región de espectro visible y de infrarrojo cercano.

La película metálica (111) del chip (11) es sustancialmente plana porque su espesor (decenas de nanómetros) es varios órdenes de magnitud inferior a su longitud y anchura

(típicamente del orden de las decenas o centenas de micras). En una posible realización, el área o superficie sensora del chip (11) está definida por dimensiones (longitud y anchura) idénticas. La dimensión mínima de la longitud y/o anchura de la película metálica (111) es de unas 2 μm (10^{-6} metros), tal como 5 μm , o 10 μm , o 20 μm , o 50 μm , o 100 μm . La dimensión máxima (longitud y/o anchura) puede ser de hasta 10 mm, tal como 5 mm, 2 mm, 1 mm o 0,5 mm. Estas dimensiones permiten su inserción y/o acoplamiento a una herramienta quirúrgica adecuada para la intervención a través de una abertura practicada en una parte del cuerpo humano o animal. Una posible realización de tal herramienta se muestra en la figura 2 (herramienta o soporte 12). Así, por ejemplo, un posible chip (11) puede tener una superficie sensora (114) mínima de 2 μm x 2 μm = 4 μm^2 . Nótese que una menor área analizada implica una mayor resolución espacial. Y un posible chip (11) puede tener una superficie sensora (114) máxima de 10 mm x 10 mm = 100 mm². Nótese que una mayor área analizada implica una menor resolución espacial. A modo de ejemplo, se ha utilizado un chip (11) de dimensiones (anchura por longitud) de 1 cm x 1 cm con una superficie sensora (114) de 500 μm x 500 μm .

El límite de detección del dispositivo (10) está definido por la sensibilidad óptica del chip (11), es decir, de cómo se haya nanoestructurado en su fabricación. La sensibilidad óptica del chip (11) puede definirse como la razón entre el desplazamiento espectral (en longitud de onda) y el cambio en el índice de refracción detectado en el tejido bajo análisis. Típicamente la sensibilidad máxima del chip es de unos 500 nm/RIU (RIU: unidades de índice de refracción).

La figura 4A muestra un posible esquema de la zona nanoestructurada de la parte metálica (111) del chip (11) y la figura 4B muestra una imagen SEM (del inglés *Scanning Electronic Microscopy*; Microscopía Electrónica de Barrido) de los nanoagujeros de la figura 4A. El chip ejemplificado en la fotografía está formado por una capa delgada de oro de 50 nm de espesor en la que, mediante técnicas de nanofabricación, se practicaron aperturas circulares (nanoagujeros) de diámetro 200 nm y de simetría periódica cuadrada de 500 nm de periodo. No obstante, el chip (11) no está limitado a la simetría, material y dimensiones del ejemplo de la fotografía. En este caso, la sensibilidad está entre los 400 y los 500 nm/RIU. Es decir, el desplazamiento espectral de un pico de transmisión será de entre 400 y 500 nm por unidad de cambio en el índice de refracción del medio en contacto con el chip. Esta sensibilidad se puede aumentar modificando la nanoestructuración de la superficie durante la fabricación del chip (por ejemplo, geometría (dimensiones y/o forma) de la nanoestructura y periodos en ambas direcciones).

El dispositivo (10) puede adoptar diversas configuraciones, compatibles con la práctica quirúrgica actual. En una posible configuración, ilustrada en la figura 2, el dispositivo (10) es independiente de cualquier otro dispositivo quirúrgico. En este caso, el chip nanoestructurado (11) se ubica en el extremo distal de un cuerpo, soporte o carcasa (12), de forma que, durante la cirugía, el chip (11) (su película metálica 111) entre en contacto directo con el tejido a inspeccionar, con carácter previo a la extirpación tumoral. El chip (11) se inserta o acopla en el cuerpo, soporte o carcasa (12), que lo protege y facilita su uso y manipulación. El cuerpo o soporte (12) puede fabricarse, por ejemplo, de un material plástico, de un material metálico o de combinaciones de ambos. El cuerpo o soporte (12) es una parte mecánica del dispositivo, que permite que el usuario –por ejemplo, el cirujano durante una intervención- pueda manejar el dispositivo sin exponer sus partes sensibles (fibras ópticas, etc.). Preferentemente el cuerpo o soporte (12) tiene forma alargada, por ejemplo, en forma de cilindro, fácilmente manejable con una mano como si fuera un lápiz. Sus dimensiones son preferentemente adecuadas para su manejo con una sola mano. El cuerpo o soporte (12) puede adoptar en su parte externa una forma ergonómica, para facilitar aún más su manejo. Por ejemplo, puede tener forma de lápiz o puntero quirúrgico o de pistola quirúrgica. El cuerpo (12) es al menos parcialmente hueco, para permitir la inserción de, por ejemplo, fibras ópticas, como se explica más adelante. En la figura 2, el cuerpo o soporte (12) tiene sustancialmente forma de cilindro y el chip (11) se ha acoplado a su extremo distal, de forma que el chip (11) queda sustancialmente perpendicular al eje longitudinal del soporte (12). El cuerpo o soporte (12) puede adoptar otras formas, preferentemente diseñadas para su fácil manejo y sujeción con una mano.

El dispositivo (10) incluye también una fuente de iluminación (13) que proporciona un haz de luz para iluminar al chip (11). La fuente de iluminación (13) proporciona preferentemente luz visible y en el infrarrojo cercano. Preferentemente, la longitud de onda emitida está en el rango espectral de 500-900 nm. En una posible implementación, la fuente (13) emite luz blanca de banda ancha, tal como una lámpara halógena, por ejemplo una lámpara halógena de Tungsteno. En otra posible implementación, puede usarse un diodo emisor de luz (LED) que proporciona luz con una anchura espectral menor. La luz procedente de la fuente (13) se hace incidir sobre el chip (11) acoplado en el extremo distal del soporte (12), de forma que el spot de iluminación cubra al menos la zona nanoestructurada (114) del chip (11) de forma sustancialmente homogénea. Preferentemente se utiliza una fibra óptica (14) para transportar la luz desde la fuente (13) e iluminar el chip (11) con la luz de la fuente (13). La fibra óptica puede ser monomodo o multimodo. Se utiliza preferentemente fibra óptica multimodo para aprovechar más la energía de la fuente de luz (13). La fibra óptica mantiene

al chip (11) iluminado, independientemente de que el cirujano manipule el soporte (12), cambiándolo frecuentemente de posición. En la figura 3 se muestra esquemáticamente cómo la fibra óptica (14) discurre a lo largo del interior del soporte (12) (que se muestra transparente para que se vea su interior). Es decir, un extremo de la fibra óptica (14) parte de la fuente de luz (13) y se introduce por el extremo proximal del soporte (12), de forma que el otro extremo de la fibra óptica (14) termina en el extremo distal del soporte (12), y por tanto en las proximidades del chip (11). En el esquema de la figura 3 se muestra el chip (11) separado del soporte (12) para mostrar con claridad el despiece de parte de los elementos que forman el dispositivo (10).

El dispositivo (10) incluye también un espectrógrafo (15) para recibir la luz reflejada por el chip (11). Puede usarse cualquier espectrógrafo convencional que tenga un rango dinámico suficientemente elevado como para discriminar señales de bajo contraste. Preferentemente se utiliza una fibra óptica (16) como medio de transmisión de la luz reflejada hacia el espectrógrafo (15). La fibra (16) puede ser monomodo o multimodo. Se utiliza preferentemente fibra óptica multimodo. La fibra óptica (16) discurre de forma similar a la fibra (14), pero la luz viaja en sentido opuesto: un extremo de la fibra óptica (16) se sitúa en el extremo distal del soporte (12) (extremo en el que está situado el chip 11), la fibra (16) discurre a lo largo del interior del soporte (12), sale por el extremo proximal del soporte (12) y avanza hasta el espectrógrafo (15). De esta forma, la luz reflejada por el chip (11) viaja por la fibra (16), es detectada en un espectrógrafo (15) y se analiza con un software adecuado (por ejemplo en los medios de control 17), antes de extirpar el tumor, para determinar el tipo de tejido de que se trate (tumoral, peritumoral, etc.).

Por comodidad y seguridad, las fibras ópticas (14, 16) tienen varios metros de longitud, por ejemplo entre 2 y 4 metros. Esto implica que solo una parte de ellas (la parte más próxima al chip 11) se sitúa en el interior del soporte (12), viajando el resto de porción de fibras (14, 16) hasta la fuente de luz y espectrógrafo, respectivamente. Opcionalmente esa porción de fibras no protegida por el soporte (12) puede protegerse con algún tipo de cobertura, por ejemplo un tubo flexible. En la realización mostrada en la figura 2, la fuente de luz (13) y el espectrógrafo (15) forman parte de un módulo de control que puede comprender también medios de control (17). Los medios de control (17) pueden incluir uno o más procesadores, medios de almacenamiento de información (tales como memoria) y una o varias interfaces de entrada/salida, tales como pantallas, teclados, etc.

La Figura 3 muestra esquemáticamente un despiece del cuerpo o soporte (12) y de los elementos que se encuentran en su interior o acoplados al mismo. En el extremo distal del

cuerpo (12), es decir, el extremo destinado a entrar en contacto con el tejido humano o animal a analizar, las fibras de entrada y salida (14, 16) se insertan o acoplan en una pieza (127). Esta pieza (127) es una terminación para fibras ópticas, por ejemplo una terminación SMA905. El final de las fibras (14, 16) se hace coincidir con una lente focalizadora y colectora (125), de forma que la luz emitida por la fibra (14) es focalizada por la lente (125) y la luz recibida por la fibra (16) es recogida (colectada) por la lente (125). Preferentemente la lente (125) se acopla o sujeta en un soporte (126) configurado para acoplarse a la pieza (127). Es decir, el soporte (126) tiene por ejemplo terminaciones de acoplamiento SMA905 cuando la pieza (127) es una terminación SMA905. Para acoplar el chip (11) con las fibras ópticas (14, 16), se usa preferentemente una pieza (121) sustancialmente plana, de unas dimensiones (anchura y longitud) similares a las del chip (11). La pieza (121) puede ser, por ejemplo, de plástico o de metal. La superficie del chip (11) formada por el sustrato (113) se une, por ejemplo mediante adhesivo (por ejemplo PSA) a la superficie de la pieza (121). A la altura de la red de nanoagujeros (114), la pieza (121) tiene un agujero pasante (135) para recibir los extremos de las fibras ópticas (14, 16) y que éstas puedan respectivamente iluminar al chip (11) y recoger la luz reflejada por el chip. En una posible realización, el agujero pasante (135) tiene las mismas dimensiones que el soporte (126) para el perfecto acoplamiento del soporte (126) a la pieza (121), y por tanto para el perfecto acoplamiento entre la pieza (121) y la pieza (127) que lleva a las fibras (14, 16) que a su vez está acoplada al soporte (126).

El funcionamiento del dispositivo (10) se describe a continuación. Durante la cirugía, por ejemplo, neurocirugía, para extirpar por ejemplo un glioblastoma (GBM), el cirujano porta en su mano el cuerpo o soporte (12), de forma que el chip (11) acoplado al extremo distal del cuerpo (12), se pone en contacto con el tejido cerebral a analizar (normalmente tejido tumoral o peritumoral), que estará expuesto a través de un orificio que previamente haya abierto el cirujano. Sobre la cara del chip (11) opuesta a la cara que está en contacto con el tejido, es decir, sobre el sustrato (113), se hace incidir mediante la fibra óptica (14) un haz de luz procedente de la fuente (13), cuyo encendido/apagado se controla por el personal quirúrgico. La luz emitida por la fibra (14) es focalizada por la lente (125) y la luz focalizada ilumina el chip (11). El comportamiento espectral de la luz reflejada por el chip nanoestructurado (11), recogida por la lente (125) y transmitida por la fibra óptica (16) hacia el espectrógrafo (15), tras la iluminación del chip (11) mediante la fibra óptica (14) depende de las propiedades ópticas del medio en el que se encuentra el chip (11). La composición del medio biológico determina su índice de refracción. El chip (11), por su parte, es altamente sensible a los cambios del índice de refracción del medio que se encuentra hasta

unos cuantos cientos de nanómetros sobre su superficie (típicamente hasta unos 300 nm). Por lo tanto, la respuesta espectral del chip es sensible a los cambios en la composición del material biológico con el que está en contacto.

5 Como se ha explicado, la operación del chip (11) está basada en tecnología plasmónica. Es decir, la respuesta espectral específica del chip (11) depende del campo electromagnético asociado a sus plasmones superficiales, que son oscilaciones colectivas de las cargas eléctricas de la película metálica (111), cuyas únicas frecuencias de oscilación permitidas están determinadas por la periodicidad de las nanoestructuras (114) y el índice de refracción del medio con el que está en contacto. Las frecuencias de oscilación de los plasmones
10 coinciden con las frecuencias (o su equivalente en longitudes de onda) de la luz transmitida o reflejada por el chip (11). Al conjunto de frecuencias (o su equivalente en longitudes de onda) que se transmiten o reflejan por el chip se le conoce como la respuesta espectral del chip. La propiedad óptica relevante del medio es su índice de refracción. En este caso, el medio en el que se encuentra el chip (11) es el tejido cerebral, compuesto por células y el
15 medio extracelular, que puede ser tejido necrosado, tumoral, peritumoral, o tejido sano. Pues bien, el comportamiento espectral de la luz reflejada por el chip (11) una vez ha sido iluminado depende del índice de refracción del tejido que se encuentra en contacto con los primeros 300 nm desde la superficie del chip (11). Por ello, la respuesta espectral –que podrá extraerse en el espectrógrafo (15) - es diferente para medios que tengan un índice de
20 refracción diferente. En el caso de los tejidos, por ejemplo, cerebrales, el índice de refracción depende de la composición celular y extracelular del tejido; y por tanto, en función de la composición celular y extracelular del tejido, se obtiene una u otra respuesta espectral.

La composición celular se refiere a la proporción de los diferentes tipos celulares que componen el tumor, tejido peritumoral o tejido sano. Por ejemplo, en el tejido tumoral
25 existen células que no existen en el resto de los tejidos, como son las células tumorales, y además células que sí están presentes en otros tejidos, pero que en el tumor están en mayor proporción, como son los macrófagos, linfocitos, entre otros. Cada uno de estos tipos celulares se diferencia entre sí por su composición interna y externa que incluye orgánulos intracelulares (p.ej., mitocondrias, ribosomas, retículo endoplásmico, núcleo, etc.) y
30 macromoléculas (proteínas, glicoproteínas, carbohidratos poliméricos, lípidos, etc.). A su vez, la composición extracelular es todo aquello que rodea a las células, como es la matriz extracelular (formada por ácido hialurónico, colágeno, fibronectina, etc.) y diferentes biomoléculas o microvesículas que secretan las células y le sirven para comunicarse, favorecer el crecimiento del tumor, etc. La composición de la matriz extracelular y de los

compuestos que secretan las células es diferente en el tejido tumoral en comparación con el tejido peritumoral o tejido sano. En la práctica, esto significa que el índice de refracción de la zona de necrosis (3) es diferente al índice de refracción del tumor (2), y también del índice de refracción de la región peritumoral (4), así como del índice de refracción del tejido sano
5 fronterizo a la región peritumoral. Y, por tanto, cada una de estas zonas proporciona una respuesta espectral diferente. Para su detección, las distintas zonas deben estar expuestas o accesibles, para poder entrar en contacto directo con el chip, para que los plasmones de superficie puedan excitarse.

Nótese que la literatura científica ya describe que diferentes tipos celulares presentan un
10 comportamiento óptico distinto en su respuesta a la luz (véase por ejemplo *Liu et al. Cell refractive index for cell biology and disease diagnosis: past, present and future. Lab Chip 2016; 16:634-44*). En el caso concreto del GBM, la composición celular del tejido peritumoral y tumoral es distinta. Incluso las células tumorales que pueden infiltrar el tejido peritumoral tienen un comportamiento biológico distinto al de las células de la zona central del tumor,
15 según se ha descrito en la literatura científica (véase por ejemplo *Ruiz-Ontañón et al. Cellular plasticity confers migratory and invasive advantages to a population of glioblastoma-initiating cells that infiltrate peritumoral tissue. StemCells 2013; 31:1075-85*). Basándose en estas diferencias, junto con la alta sensibilidad que alcanzan las técnicas de análisis basadas en plasmónica, se han obtenido espectros diferentes dependiendo de la
20 composición celular del tejido.

El espectro de luz o comportamiento espectral de la luz reflejada por el chip (11) y captada por el espectrógrafo (15) (comportamiento que depende del índice de refracción del medio, que a su vez varía en función del tipo de tejido –tumoral-peritumoral) se almacena y analiza en un ordenador o, en general, en un procesador con capacidad de almacenamiento de
25 datos (por ejemplo, en los medios de control (17)), en el que hay embebido un software específico, que queda fuera del alcance de la presente invención. En este procesador se analizan numéricamente las diferencias entre distintos espectros, correspondientes a distintos tejidos que han entrado en contacto con el chip (11). Finalmente, se determina el tipo de tejido (por ejemplo, necrosis (3), tumor (2), región peritumoral (4)) en función de la
30 información proporcionada por dichos espectros. La adquisición y análisis del espectro desde que se ilumina el chip (11) se realiza en tiempo real. A modo de ejemplo, puede llevar entre 5 y 30 segundos. Se obtienen unas curvas que representan la respuesta espectral en transmisión en el rango de longitudes de onda de excitación para diferentes composiciones celulares del tejido. Un ejemplo de esta respuesta espectral se muestra en la figura 5, que

se explica en detalle más adelante.

El dispositivo (10) puede incluir además una interfaz, por ejemplo una pantalla, de forma que una vez obtenido el resultado espectral (posición y anchura del pico de resonancia), el cirujano obtenga la información mediante un código de colores o un valor numérico, de la naturaleza del tejido, pudiendo tomar así la decisión de si preservarlo o eliminarlo.

Las dimensiones del chip (11) utilizado dependen de las dimensiones y forma del cuerpo, carcasa o soporte (12). También pueden depender de las necesidades que puedan derivarse de la intervención quirúrgica y del tipo de cirugía a practicar.

Se han realizado pruebas de concepto con chips con superficie sensora de 500 μm x 500 μm y los materiales biológicos correspondientes (zona tumoral, peritumoral y necrosis), usando la fuente de luz de un microscopio, una fibra óptica para recoger la señal, un espectrógrafo y un ordenador con el software para el análisis de los espectros. Los chips se han colocado en un portaobjetos adecuado para el microscopio y se ha analizado la huella (material biológico que deja el tejido al entrar en contacto con el chip, y que comprende matriz extracelular y células) que ha quedado adherida tras depositar el tejido tumoral, peritumoral o de necrosis. Las pruebas se han realizado ex vivo, de la forma que sigue: Pequeñas muestras quirúrgicas, de diferentes regiones del tumor, se han depositado durante unos segundos sobre el chip antes de ser analizadas por anatomía patológica siguiendo los procedimientos convencionales. La huella que deja el tejido en el chip es analizada con el dispositivo para detectar diferencias en el índice de refracción.

Algunos resultados experimentales obtenidos tras analizar la luz que llega al espectrógrafo a través de la fibra óptica de retorno, se ilustran en la figura 5. La figura 5 muestra datos preliminares que muestran –bajo cada una de las tres imágenes ilustradas a la izquierda- las diferencias observadas en las medidas del índice de refracción entre los diferentes tejidos asociados al tumor. Las tres imágenes de la izquierda representan diferentes tejidos asociados a un GBM y han sido obtenidas de un neuronavegador mediante resonancia magnética nuclear (RMN). El neuronavegador se utiliza para identificar la ubicación, forma y volumen del tumor. Reconstruye las imágenes de la resonancia magnética nuclear (RMN) del paciente con su postura real en el quirófano, para tener una imagen tridimensional del tumor a intervenir. Es decir, estas imágenes marcan la posición exacta de extracción de cada muestra de tejido. Para cada imagen, a su derecha, se muestran las medidas del índice de refracción de cada tejido obtenidas mediante el chip (11) durante las pruebas de concepto realizadas en el laboratorio.

Por ejemplo, asociado a la imagen de la parte superior izquierda, que corresponde a una zona de necrosis, se ha detectado un desplazamiento espectral debido al índice de refracción de 6,5 nm; asociado a la imagen del centro izquierda, que corresponde a una zona de tumor, se ha detectado un desplazamiento espectral debido al índice de refracción de 4,8 nm; y asociado a la imagen de la parte inferior izquierda, que corresponde a una región peritumoral, se ha detectado un desplazamiento espectral debido al índice de refracción menor de 1. En el caso del tejido de necrosis, se observa que la respuesta espectral (pico de resonancia) es máxima a una longitud de onda de unos 736,5 nm, observándose un desplazamiento de la longitud de onda de 6,5 nm con respecto al valor de referencia de 730 nm obtenido con el buffer PBS. El buffer PBS es una solución que tan solo contiene agua y sales, no contiene ningún componente celular y, por tanto, es útil para marcar el valor de referencia, pudiendo obtener en el momento de la medida del tejido, una respuesta debida únicamente a la fracción biológica (células y medio extracelular) al eliminar la interferencia del componente acuoso y del propio instrumento. En el caso del tejido tumoral, la respuesta espectral es máxima a una longitud de onda de unos 734,8 nm, obteniendo un desplazamiento de la longitud de onda de 4,8 nm respecto al valor de referencia. En el caso del tejido peritumoral, la respuesta espectral es máxima a una longitud de onda de unos 730,8 nm, con un desplazamiento de tan solo 0,8 nm respecto al valor de referencia.

Para facilitar la interpretación de resultados por parte del neurocirujano en tiempo real, es posible establecer una horquilla de valores para las regiones de interés (por ejemplo, de necrosis, de tumor y de región peritumoral) e identificar los componentes del tejido que dan lugar a estas diferencias en el índice de refracción.

En este texto, el término “comprende” y sus derivaciones (tal como “comprendiendo”, etc.) no deben entenderse en un sentido excluyente, es decir, estos términos no deben ser interpretados como que excluyen la posibilidad de que lo que se describe y se define pueda incluir elementos, etapas adicionales, etc.

En el contexto de la presente invención, el término “aproximadamente” y términos de su familia (como “aproximado”, etc.) deben interpretarse como indicando valores muy cercanos a aquellos que acompañan a dicho término. Es decir, una desviación dentro de límites razonables con respecto a un valor exacto deberían aceptarse, porque un experto en la materia entenderá que tal desviación con respecto a los valores indicados puede ser inevitable debido a imprecisiones de medida, etc. Lo mismo aplica a los términos “unos”, “alrededor de” y “sustancialmente”.

La invención no se limita obviamente a la(s) realización(es) específica(s) descrita(s), sino que abarca también cualquier variación que pueda ser considerada por cualquier experto en la materia (por ejemplo, con relación a la elección de materiales, dimensiones, componentes, configuración, etc.), dentro del alcance general de la invención como se define en las reivindicaciones.

5

10

REIVINDICACIONES

1.- Un dispositivo quirúrgico para la identificación de regiones tumorales durante una intervención quirúrgica, caracterizado por que comprende:

5 un cuerpo (12) alargado y configurado para, durante su uso, poner en contacto el extremo distal del cuerpo (12) alargado en contacto con un tejido humano o animal a analizar,

un chip (11) situado en dicho extremo distal del cuerpo (12) alargado, comprendiendo el chip (11) una superficie metálica nanoestructurada (111),

10 una primera fibra óptica (14) situada en el interior de cuerpo (12) alargado y configurada para hacer llegar un haz de luz incidente para iluminar el chip (11),

una segunda fibra óptica (16) situada en el interior de cuerpo (12) alargado y configurada para extraer un haz de luz reflejado por el chip (11),

15 en el que, en uso del dispositivo quirúrgico, cuando el chip (11) situado en dicho extremo distal del cuerpo (12) alargado está en contacto con un tejido humano o animal a analizar, al hacer incidir dicho haz de luz sobre la superficie metálica nanoestructurada (111) del chip (11), el haz de luz reflejado por el chip (11) proporciona una respuesta espectral que depende del índice de refracción del tejido analizado, donde dicho índice de refracción a su vez depende de si el tejido es un tejido necrosado, tumoral o peritumoral.

20 2.- El dispositivo de la reivindicación 1, que comprende una pieza (121) dispuesta en el extremo distal del cuerpo (12) alargado y configurada para acoplar el chip (11) a la primera y segunda fibras ópticas (14, 16), para lo cual la pieza (121) tiene un agujero pasante (135) para recibir los extremos de las fibras ópticas (14, 16).

25 3.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, que comprende una lente focalizadora y colectora (125) situada entre el chip (11) y el extremo de las fibras ópticas (14, 16), configurada para que la luz emitida por la primera fibra óptica (14) sea focalizada por la lente (125) y la luz recibida por la segunda fibra óptica (16) sea recogida por la lente (125).

30 4.- El dispositivo de la reivindicación 3, que comprende: una pieza (127) de terminación de fibras ópticas situada en el extremo distal del cuerpo (12), para acoplar las fibras de entrada y salida (14, 16); y un soporte (126) para la lente focalizadora y colectora (125); estando el

soporte (126) configurado para acoplarse al agujero pasante (135) de la pieza (121) y la pieza (127) de terminación de fibras ópticas configurada para acoplarse al soporte (126).

5.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la superficie metálica nanoestructurada (111) del chip (11) es de oro.

5 6.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el chip (11) tiene una superficie sensora mínima de $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$.

7.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el chip (11) tiene una superficie sensora máxima de $10\ \text{mm} \times 10\ \text{mm}$.

10 8.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el espesor de la superficie metálica nanoestructurada (111) del chip (11) es de entre 10 y 150 nm.

9.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que la superficie metálica nanoestructurada (111) del chip (11) está nanoestructurada periódicamente en sus dos dimensiones, siendo el periodo de la matriz nanoestructurada de entre 300 y 700 nm.

15 10.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que la superficie metálica nanoestructurada (111) del chip (11) comprende nanoestructuras cuyo diámetro es de entre 100 y 300 nm.

11.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende además una fuente de luz (13) configurada para proporcionar un haz de luz a la primera fibra óptica (14) para iluminar el chip (11).

20 12.- El dispositivo de la reivindicación 11, en el que la fuente de luz (13) opera en el espectro de luz visible y en el infrarrojo cercano.

25 13.- El dispositivo de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, que comprende además un espectrógrafo (15) conectado al extremo de la segunda fibra óptica (16) para recibir el haz de luz reflejado por el chip (11) y transportado por la segunda fibra óptica (16), estando el espectrógrafo (15) configurado para extraer la respuesta espectral de la luz reflejada por el chip (11).

30 14.- El dispositivo de la reivindicación 13, que comprende además medios de control (17) que comprenden un procesador y una interfaz conectada al espectrógrafo (15), configurados para, a partir del resultado espectral obtenido, proporcionar una sugerencia sobre la pertinencia o no de la extirpación del tejido analizado.

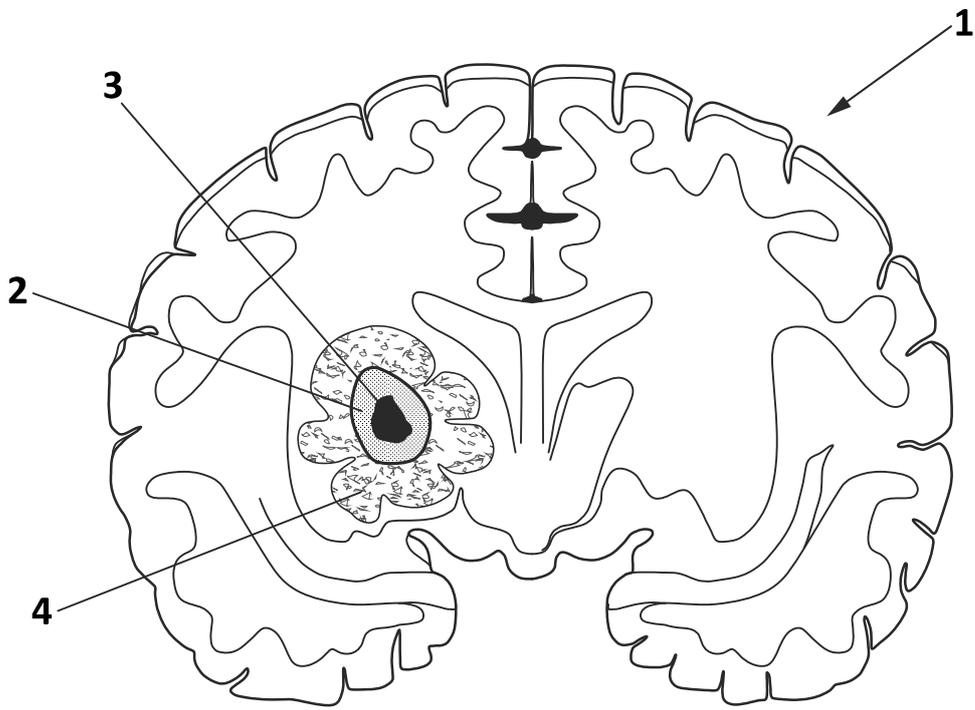


FIG. 1

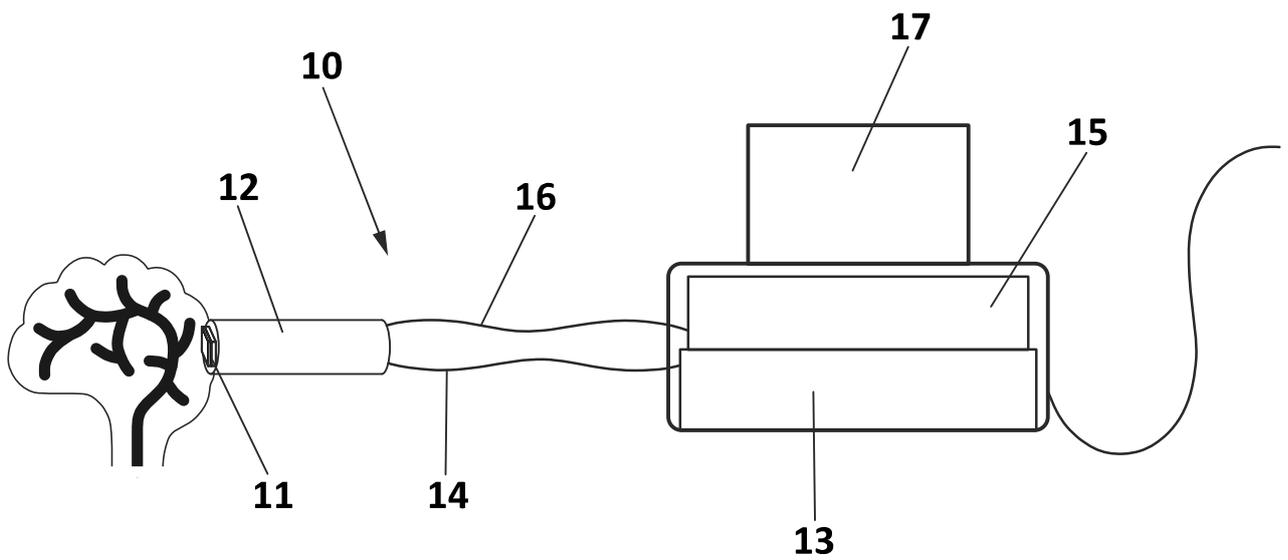


FIG. 2

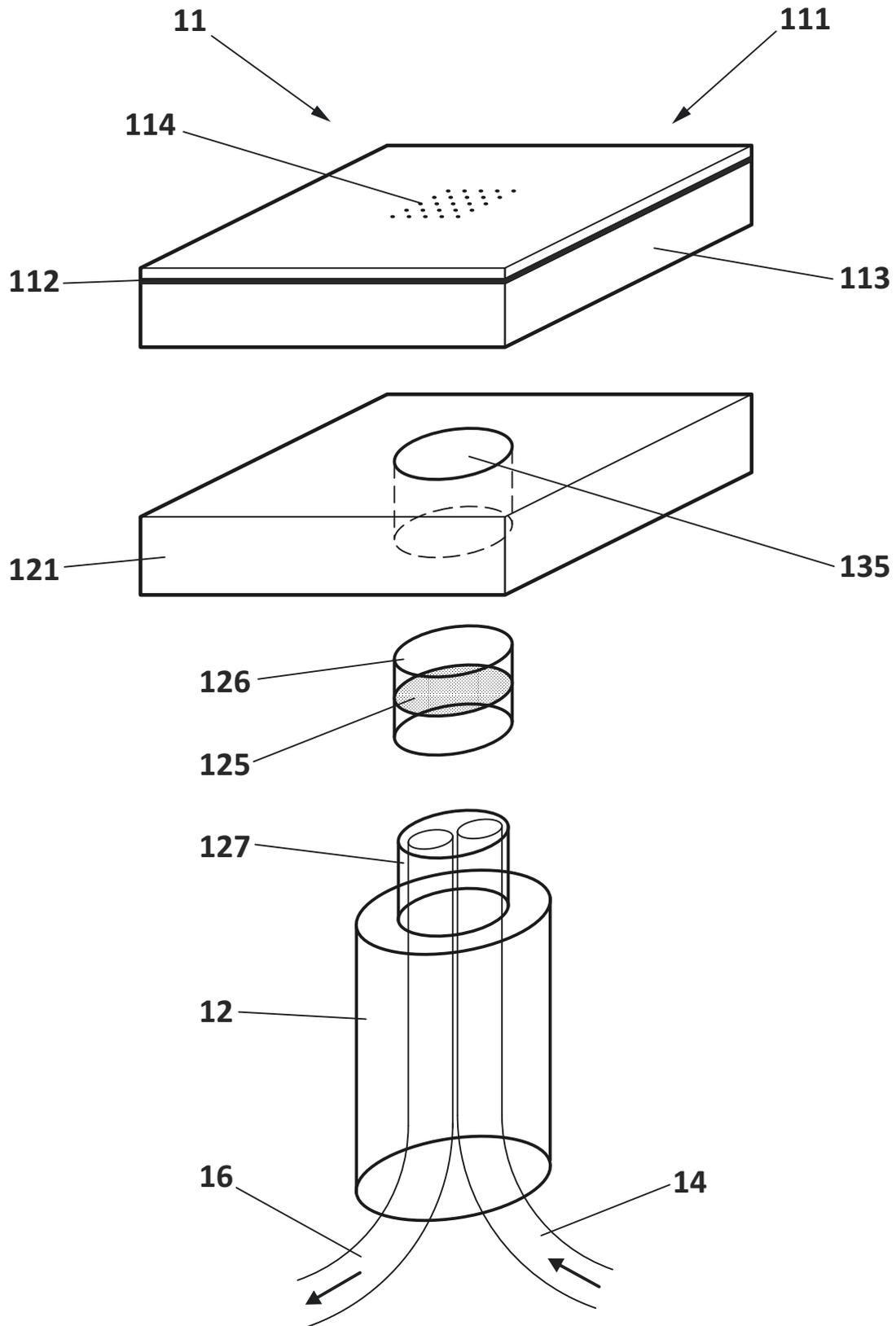


FIG. 3

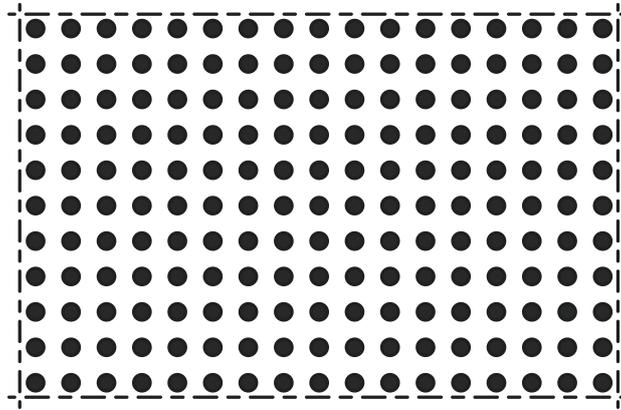


FIG. 4A

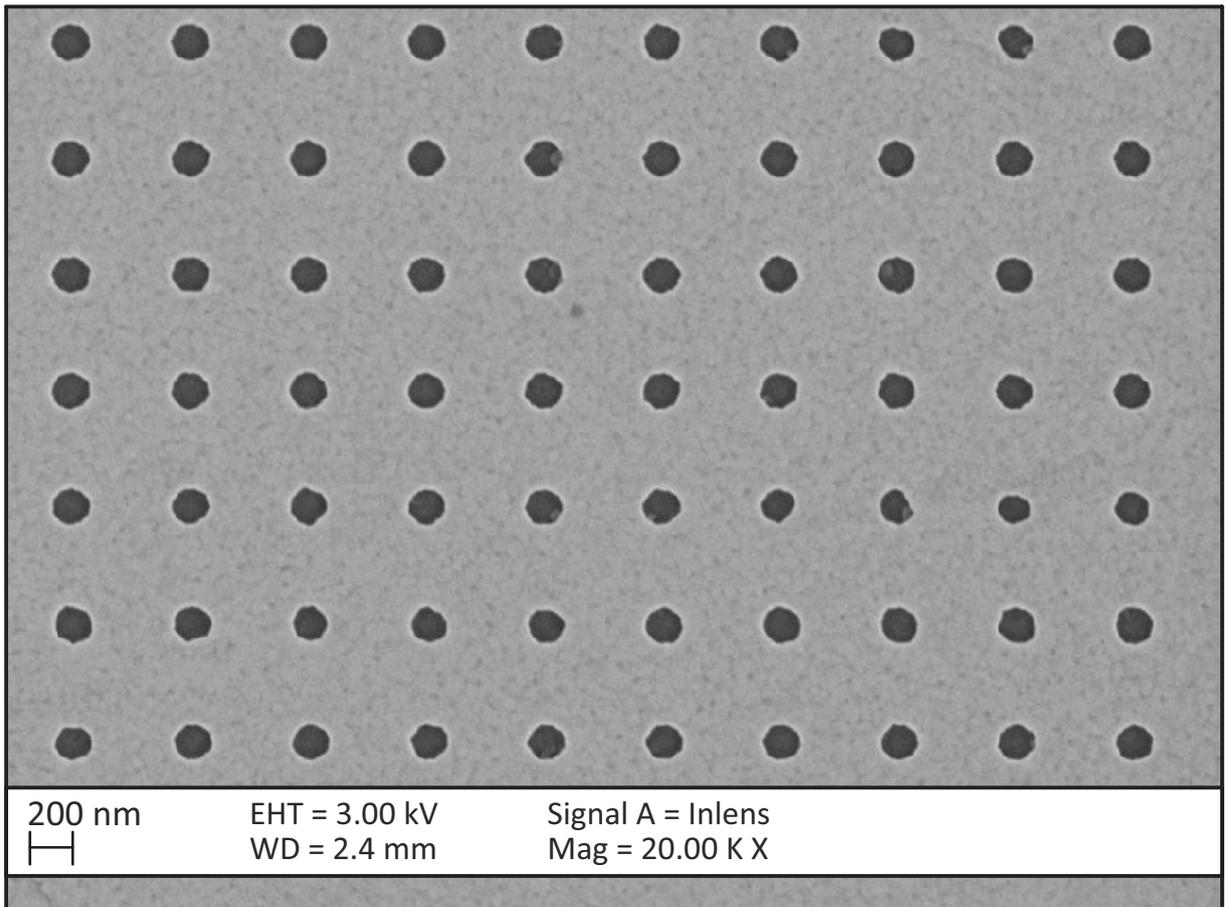


FIG. 4B

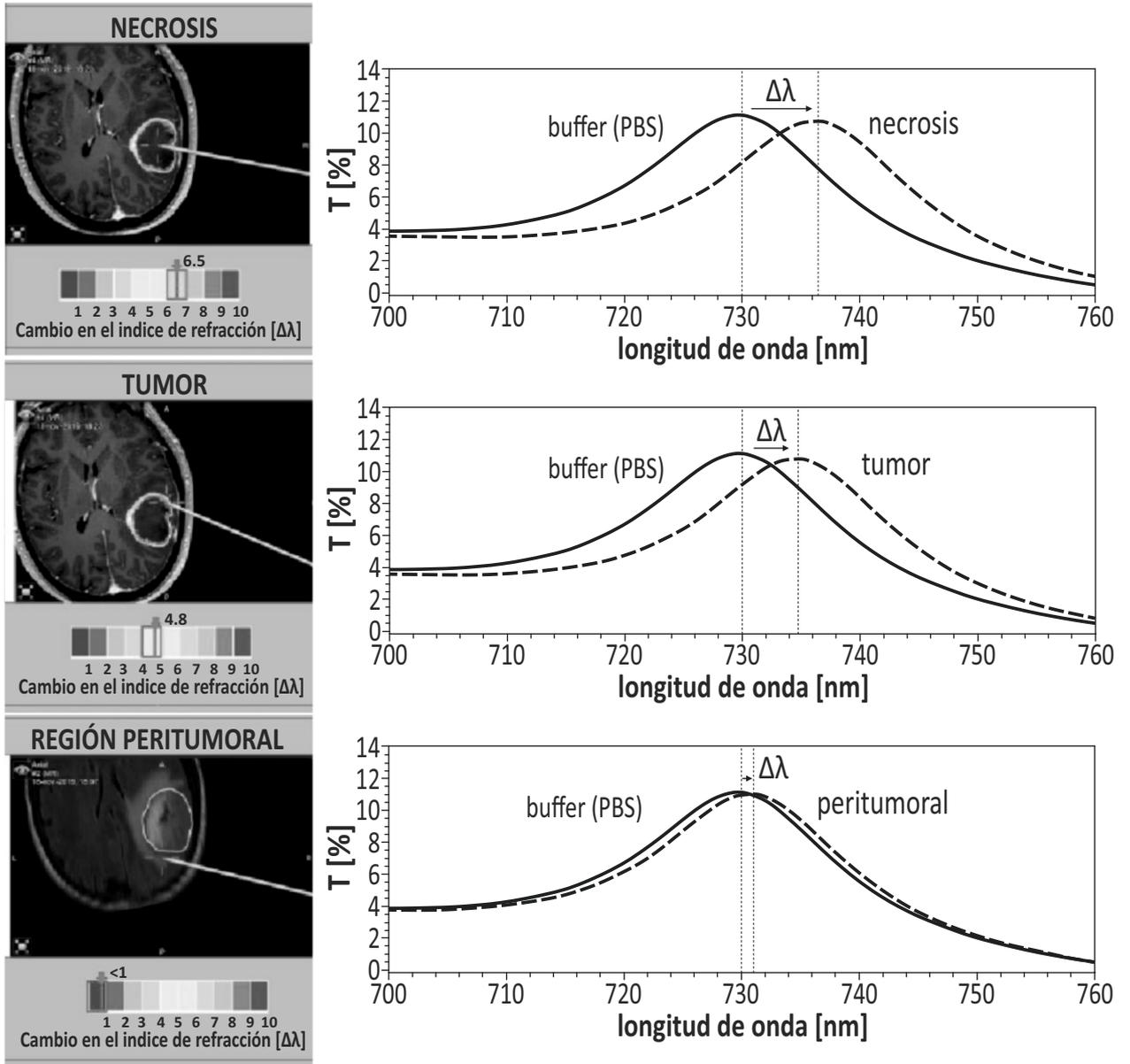


FIG. 5