

Chapitre ORL

La spectroscopie d'autofluorescence est une modalité de détection optique, précise et rapide, qui peut être potentiellement utilisée pour la détection précoce [3, 8] et le diagnostic du cancer en temps réel [7]. Il s'agit d'une technique optique non invasive reposant sur la mesure de l'émission de fluorescence des tissus : les changements survenant pendant la carcinogenèse modifient la fluorescence tissulaire conduisant à des spectres de fluorescence distincts [1]. Plusieurs études ex vivo et in vivo ont montré l'efficacité de cette technique pour la discrimination de cancers ORLs avec des taux élevés de sensibilité et de spécificité [2]. Nous proposons ici d'employer cette technique dans le contexte spécifique de la détection du cancer des cordes vocales. Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un essai clinique pilote portant sur 20 biopsies issues de 17 patients à l'Hôpital Universitaire Régional de Besançon. Les sujets étaient âgés de plus de 18 ans, représentatifs des deux sexes, fumeurs ou non-fumeurs. Quinze d'entre eux présentaient une lésion des cordes vocales pré-maligne ou maligne connue ou suspectée.

Le système de spectroscopie de fluorescence, développé à FEMTO-ST, repose sur l'utilisation d'une source laser monochromatique, d'un faisceau de fibres et d'un spectromètre optique. La longueur d'onde d'excitation a été fixée à 405 nm, des travaux préliminaires ayant en effet démontré la pertinence de cette longueur d'onde pour la détection de cellules tumorales [5]. Le faisceau de fibres est constitué d'une fibre optique d'excitation présentant une résolution spatiale de 200 μm et de six fibres optiques de collection. Cette sonde optique est employée en complément d'un diagnostic histologique pour la détermination de l'état pathologique des cordes vocales. Une biopsie a donc été effectuée sur chaque corde vocale prélevée. Le site de la biopsie a été choisi en se fondant uniquement sur l'examen clinique. Après prélèvement, les biopsies sont placées sur une compresse stérile puis posées sur un porte-échantillon spécifique, conçu de façon à garantir la planéité de l'échantillon et à contrôler la distance entre la biopsie et l'extrémité de la sonde de mesure. La totalité de la surface de chaque biopsie est balayée point par point par la sonde de mesure. A chaque point de mesure est associé un spectre de fluorescence. Au total, 9 biopsies cancéreuses (387 spectres exploitables), 6 biopsies dysplasiques (235 spectres) et 5 biopsies saines (245 spectres) ont été analysées. A l'issue des mesures, les biopsies sont incorporées dans du formol neutre à 10% et envoyées au service d'histopathologie pour réaliser un diagnostic comparatif en se référant au gold standard du domaine.

La Figure 1 montre les spectres obtenus à partir des tissus de corde vocale saine (Figure 1a) et cancéreuse (Figure 1b) d'un même patient. Dans ce cas précis, une analyse rapide montre la présence d'un signal spécifique aux tissus cancéreux à 632 nm. Cette particularité spectrale aisément identifiable n'est néanmoins pas commune à l'intégralité des spectres du jeu de données. Une analyse systématique de l'ensemble des variables spectrales est donc nécessaire à leur discrimination.

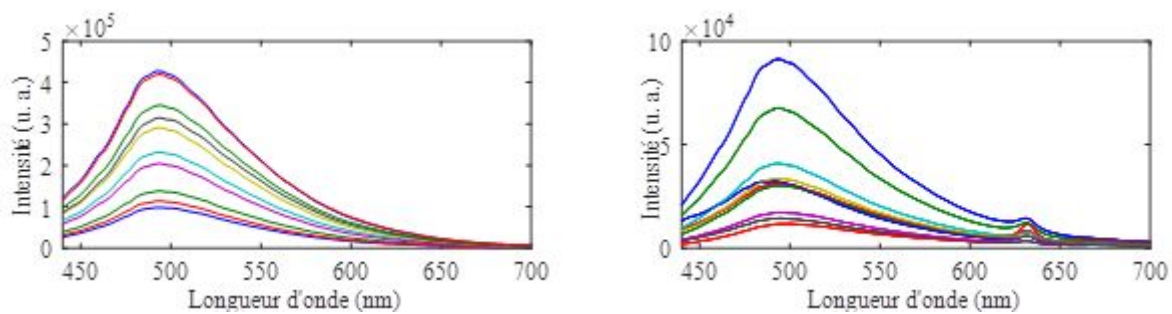


Figure 1 : Spectres de fluorescence obtenus sur corde vocale gauche saine (a) et corde vocale droite cancéreuse (b)

Nous choisissons d'employer des méthodes statistiques multivariées pour classifier l'état pathologique des tissus prélevés au travers de l'analyse des spectres de fluorescence. Ces méthodes de classification ont été appliquées à l'ensemble des données sans normalisation spectrale. Une analyse en composantes principales (ACP) permet d'analyser les caractéristiques statistiques de l'ensemble des données spectrales [6] pour transformer les variables originales des spectres de fluorescence en un ensemble plus restreint de combinaisons linéaires appelées composantes principales (CP).

Une analyse discriminante quadratique (QDA, pour quadratic discriminant analysis) est ensuite utilisée pour construire un algorithme de classification [4] à partir des 20 premières composantes principales qui représentent 99,9% de la quantité d'information contenue dans le jeu de données. La Figure 2 représente la projection des spectres de fluorescence reportés sur la Figure 1 sur les CP 1 et 6. Les cercles bleus se rapportent aux spectres de tissus sains et les triangles noirs aux tissus cancéreux. L'ellipse rouge représente le séparateur quadratique obtenu par QDA. Le classifieur permet donc de discriminer distinctement les deux classes, exception faite d'un seul spectre cancéreux.

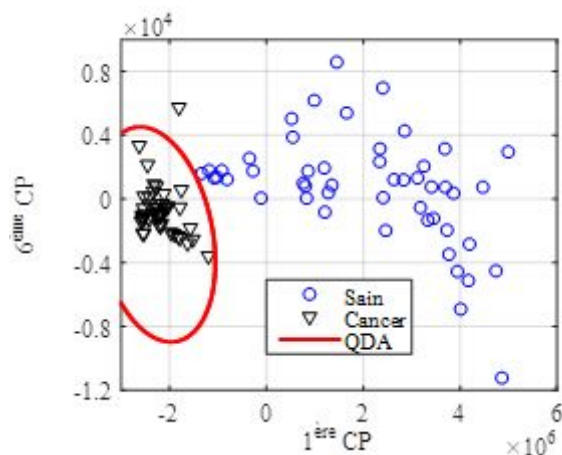


Figure 2 : 1ère CP en fonction de la 6ème CP des spectres de fluorescence « sain » (cercle bleu) et cancéreux (triangle noir) avec le séparateur déterminé par QDA (rouge).

Cette méthodologie a été appliquée à l'ensemble des mesures effectuées dans l'étude pour évaluer la qualité de la discrimination entre les différentes lésions en termes de spécificité et de sensibilité. Une validation croisée de type k-folds avec $k = 5$ a été utilisée pour valider la robustesse du modèle. Cette méthode classe les données en 5 sous-groupes de manière aléatoire, puis on sélectionne l'une des cinq parties comme ensemble de test et les 4 autres comme ensemble d'apprentissage. Ce processus est répété 5 fois pour que chaque ensemble soit testé. Le résultat final est la moyenne des 5 tests. Cette validation croisée est de plus testée 20 fois pour chaque

ensemble des CP. Les valeurs de spécificité et de sensibilité dans le cas d'une classification « sain » versus « cancer + dysplasie » réalisées sur l'ensemble des tests sont représentées sur la figure 3.

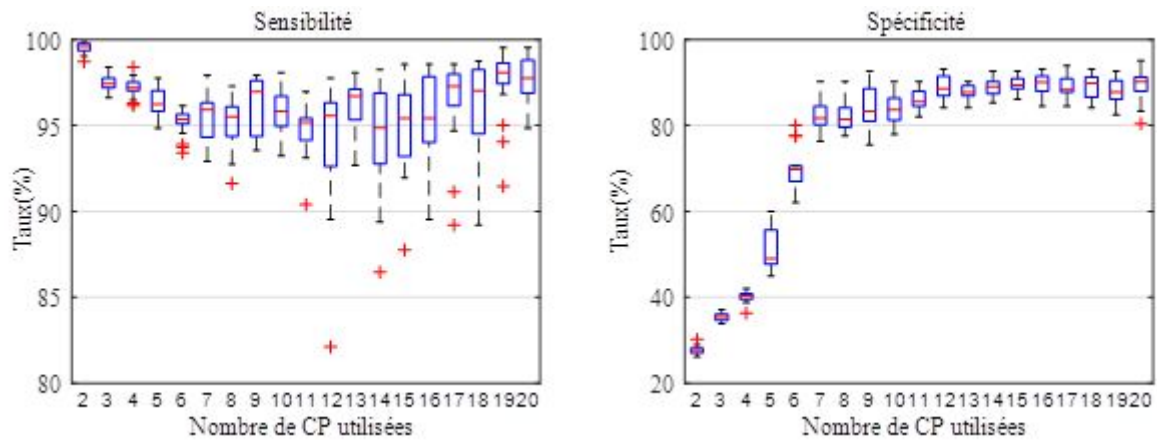


Figure 3 : Sensibilité (a) et spécificité (b) obtenus pour 20 tests de validation croisée en fonction du nombre de CP utilisées.

La sensibilité reste supérieure à 90% (Figure 3(a)) quel que soit le nombre de CP considérées. La spécificité nécessite en revanche de considérer au moins 11 CP pour parvenir à un taux supérieur à 80% (Figure 3(b)). Le couple optimal de sensibilité et de spécificité est déterminé par calcul de l'indice de Youden J ($J = \text{sensibilité} + \text{spécificité} - 1$). Les valeurs optimales sont obtenues pour 12 CP, conduisant à une sensibilité de 98% et une spécificité de 93%. Les taux se réduisent à 86% et 85% respectivement dans le cas d'une classification entre « dysplasie » versus « cancer ».

Ces résultats montrent la pertinence d'une approche spectroscopique en fluorescence dans le contexte de la détection du cancer des cordes vocales. Son intégration à un endoscope telle qu'envisagée dans le contexte de μ RALP nécessite néanmoins l'implémentation d'un système de balayage permettant de conserver une approche ponctuelle ou d'avoir recours à un système d'imagerie dite « hyperspectrale ». Une alternative, plus aisée à mettre en œuvre sur le plan de l'imagerie consisterait à adopter une approche « multi-spectrale » en travaillant à partir d'un nombre réduit de longueurs d'onde pertinentes pouvant être déterminées à partir de l'ACP des spectres de fluorescence.

Bibliographie

1. Arens C, Reußner D, Neubacher H, Woenckhaus J, Glanz H. Spectrometric measurement in laryngeal cancer. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2006;263(11):1001–7.
2. De Veld DCG, Witjes MJH, Sterenborg HJCM, Roodenburg JLN. The status of in vivo autofluorescence spectroscopy and imaging for oral oncology. *Oral Oncol*. 2005;41(2):117–31.
3. Dhingra JK, Perrault DF, McMillan K, Rebeiz EE, Kabani S, Manoharan R, et al. Early Diagnosis of Upper Aerodigestive Tract Cancer by Autofluorescence. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*. 1996;122(11):1181–6.
4. Hastie T, Tibshirani R, Friedman J. *The Elements of Statistical Learning*. Second Edi. Elements. New York, NY: Springer New York; 2009. 745 p.
5. Heintzelman DL, Utzinger U, Fuchs H, Zuluaga A, Gossage K, Gillenwater AM, et al. Optimal excitation wavelengths for in vivo detection of oral neoplasia using fluorescence spectroscopy. *Photochem Photobiol*. 2000;72(1):103–13.
6. Jolliffe IT. *Principal Component Analysis*. Second Edi. Springer Series in Statistics. New York: Springer-Verlag; 2002. 487 p.
7. Nayak GS, Kamath S, Pai KM, Sarkar A, Ray S, Kurien J, et al. Principal component analysis and artificial neural network analysis of oral tissue fluorescence spectra: Classification of normal premalignant and malignant pathological conditions. *Biopolymers*. 2006;82(2):152–66.
8. Omar E. Current concepts and future of noninvasive procedures for diagnosing oral squamous cell carcinoma - a systematic review. *Head Face Med*. 2015;11(1):6.