(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 294 583**

(51) Int. Cl.:
G02B 21/26 (2006.01)
G02B 21/32 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
G01N 21/03 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Número de solicitud europea: **05003364 .6**
(86) Fecha de presentación : **21.05.2002**
(87) Número de publicación de la solicitud: **1530073**
(87) Fecha de publicación de la solicitud: **11.05.2005**

(54) Título: **Aparato para tomografías de proyección óptica con platina rotatoria para obtener imágenes de un espécimen.**

(30) Prioridad: **22.05.2001 GB 0112392**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2008

(73) Titular/es: **MEDICAL RESEARCH COUNCIL**
20 Park Crescent
London W1B 1AL, GB

(72) Inventor/es: **Sharpe, James Alexander y**
Perry, Paul Ernest

(74) Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Aparato para tomografías de proyección óptica con platina rotatoria para obtener imágenes de un espécimen.

Campo de la invención

Esta invención se relaciona con un aparato para tomografías de proyección óptica con platina rotatoria para la formación de imágenes de un espécimen.

Antecedentes de la invención

Los aparatos ópticos de imágenes para la producción de imágenes tridimensionales de muestras por medio de tomografías de proyección óptica son conocidos; ver, por ejemplo la Patente Estadounidense No. 5.680.484. El aparato óptico divulgado en esta patente del estado del arte tomo una serie de imágenes digitales de una muestra desde diferentes ángulos. Estas imágenes son alimentadas a un algoritmo que utiliza una transformación matemática para reconstruir una imagen tridimensional. En la Patente Estadounidense No. 5.680.484, se mantiene el espécimen dentro de un tubo transparente que está soportado en dos puntos de tal manera que se mantenga en una posición sustancialmente horizontal, y se rota el tubo utilizando un motor por etapas y una correa transportadora para permitir la formación de imágenes de las diferentes partes del espécimen. La refracción de la luz por parte del tubo afecta la calidad de la señal y el uso del tubo impone una severa restricción sobre el tamaño máximo del espécimen que puede ser trabajado. El aparato divulgado en esta patente del estado de la técnica tiene varias limitaciones que afectan los usos potenciales de esta técnica para la formación de imágenes, en particular la difícil introducción de la muestra en el tubo cilíndrico hueco, y la dificultad para ajustar la posición de la muestra.

M. Almquist y colaboradores en "Ultrasonics" vol. 37 (1999), páginas 343-353, divulga un sistema de medición para la tomografía por difracción de luz para obtener mediciones de alta resolución espacial de ultrasonido de onda continua.

La Patente Estadounidense No. 5.710.625 divulga una platina rotatoria para soportar y posicionar una muestra con el propósito de obtener un análisis espectral de la muestra.

Resumen de la invención

De acuerdo con la presente invención, se provee un aparato para tomografías de proyección óptica (OPT) de acuerdo con la reivindicación 1.

El aparato incluye una platina rotatoria que comprende un medio de soporte para el espécimen que incluye una pieza rotatoria que permite la rotación de un espécimen del cual se van a obtener imágenes alrededor de un eje de rotación transversal a un eje óptico a lo largo del cual el espécimen emite luz, caracterizado porque el eje de rotación es vertical o sustancialmente vertical, el medio de soporte para el espécimen está dispuesto encima de una cámara para obtención de las imágenes para recibir al espécimen inmerso en un fluido óptico para obtención de las imágenes dentro de la cámara, y la cámara para obtención de las imágenes es estacionaria.

El escáner para OPT puede incluir un microscopio separado y un hardware y software asociados que permitan la formación tridimensional de imágenes de un espécimen, tal como un tejido biológico. Teniendo un medio de soporte para el espécimen distanciado del microscopio, se puede ajustar fácilmente la colocación del espécimen debido a una mejor accesibilidad del soporte para el espécimen. Con un espécimen alargado, el eje más largo del espécimen es sustancialmente paralelo a la gravedad cuando lo sostiene dentro del medio de soporte para el espécimen. Esto permite que el espécimen sea sostenido únicamente en un punto, ayudando nuevamente con la colocación del espécimen dentro del medio de soporte para el mismo, y evitando la deflexión del espécimen causado por el efecto gravitacional, ya que tal deflexión puede causar una distorsión no deseada de la forma del espécimen y afectar la precisión y la resolución de la imagen obtenida.

Teniendo una cámara estacionaria distanciada de la parte de la platina que rota, la forma de la cámara no está limitada a una forma rotacionalmente simétrica. Preferiblemente, la cámara tiene al menos una cara plana sobre la cual choca la luz para formar la imagen del espécimen. El uso de una superficie plana lisa sin imperfecciones u ondulaciones garantiza que se reduzca la distorsión de la imagen debido a la refracción de la luz. La cámara se puede elaborar en forma de un paralelepípedo rectangular hueco transparente dispuesto de tal manera que las dos caras opuestas del paralelepípedo rectangular sean sustancialmente perpendiculares al eje óptico a lo largo del cual se emite la luz a partir del espécimen, de tal manera que se presente una gran área transversal al eje óptico. La selección de tal cámara con una sección transversal cuadrada garantiza que la cantidad de luz refractada antes de pasar a través del espécimen se reduzca sustancialmente con relación a las cámaras cilíndricas de rotación del estado de la técnica y de este modo de mejora la calidad de la imagen. A una pared o superficie de la cámara se le puede dar una forma para que refracte la luz en una forma deseada, por ejemplo para suministrar un efecto de magnificación.

La platina rotatoria puede comprender además un medio de ajuste montado sobre un pivote, tal como una palanca, que tiene una espita que se extiende a partir de allí, estando la espita en uso dispuesta para engranarse con un espécimen para alterar su posición en relación con el eje de rotación.

La platina rotatoria puede comprender además un prisma ubicado a fin de recibir la luz después de que esta última ha iluminado al espécimen, actuando el prisma para desviar la luz hasta 90º para hacer posible que la luz sea recibida por un microscopio con un eje óptico vertical. Por medio del uso de un prisma, la ruta óptica para el microscopio no necesita ser recta, y por lo tanto no se requiere la modificación de los microscopios existentes para utilizarlos con una platina rotatoria de acuerdo con la presente invención.

La pieza rotatoria del medio de soporte para el espécimen puede ser rotada sobre una plataforma ajustable, cuya posición con relación a la horizontal es variable. Esto permite ajustar el eje de rotación con relación a un eje óptico de modo que si se requiere se ajusta un ángulo de 90º entre el eje óptico y el eje de rotación. Esto es particularmente útil para la formación de imágenes tridimensionales.

La plataforma ajustable se ajusta preferiblemente verticalmente a fin de subir y bajar la pieza de rotación con relación al eje óptico, permitiendo así que el espécimen sea bajado dentro o fuera de un paso óptico de luz.

Preferiblemente, se concibe la pieza que puede ser rotada para permitirle al espécimen ser colgado, en forma suspendida o hacia abajo dependiendo del extremo inferior de la pieza que puede ser rotada. Donde se prepara apropiadamente un espécimen con una montura metálica, la unión del espécimen al medio que sirve de soporte para el mismo es entonces sencilla, dependiendo solamente de una atracción magnética y no de un delicado aseguramiento. Esta es una ventaja ya que típicamente los especímenes son bastante pequeños y delicados, usualmente con un diámetro en el rango de 1-20 mm, y el aseguramiento de los mismos en un soporte utilizando un tornillo roscado puede ser complicado.

Breve descripción de los dibujos

La invención será descrita ahora, a manera de ejemplo, con referencia a los dibujos acompañantes en los cuales:

La Figura 1 es una vista en perspectiva de un aparato óptico para formación de imágenes que forma una modalidad preferida de la invención y comprende una platina rotatoria junto con un microscopio;

La Figura 2 muestra una ilustración esquemática de cómo tal aparato para la formación de imágenes es controlado cuando se adquieren imágenes digitales;

La Figura 3 muestra una vista frontal en perspectiva del aparato;

Las Figuras 4(a) y 4(b) son diagramas esquemáticos utilizados para ilustrar la configuración de trabajo más apropiada del aparato;

Las Figuras 5(a), 5(b), 5(c) y 5(d) ilustran la unión de un espécimen al medio de soporte para el espécimen y la alineación de una región de interés;

Las Figuras 6(a) y 6(b) y 6(c) son diagramas esquemáticos utilizados para explicar la resolución del aparato;

La Figura 7(a) muestra una sección transversal a través de un tubo del estado del arte que contiene un espécimen, con las Figuras 7(b) y 7(c) mostrando dos cámaras para el espécimen como las utilizadas en la presente invención;

Las Figuras 8(a) y 8(b) muestran una vista en un plano parcial a lo largo de la línea VIII-VIII de la Figura 1, ilustrando el uso de una palanca montada en forma de pivote para ajustar la posición del espécimen;

La Figura 9 es una vista en perspectiva de un aparato óptico modificado para la formación de imágenes de acuerdo con la invención;

La Figura 10 es un diagrama que ilustra al aparato de la Figura 9;

Las Figuras 11(a), 11(b), 11(c), 12(a), 12(b), 13(a), 13(b) y 14 ilustran el posicionamiento y la observación de la imagen del espécimen en el aparato de la Figura 9;

Las Figuras 15 y 16 ilustran un medio de iluminación colimada que puede ser utilizado en el aparato de la Figura 1 o de la Figura 9;

La Figura 17 indica una forma de seleccionar las longitudes de onda de una fuente de luz en la platina óptica de la Figura 1 o de la Figura 9, y

La Figura 18 ilustra una modificación del aparato mostrado en la Figura 16.

Descripción detallada

La Figura 1 muestra un aparato óptico para la formación de imágenes en la forma de un escáner para OPT que consiste de una platina rotatoria 10 y una distancia de trabajo grande o microscopio de disección 12, separado de la

platina rotatoria 10. La platina rotatoria 10 tiene un soporte 14, una palanca montada en forma de pivote 16, un iris y un difusor óptico 20, y un prisma de cuarzo 22. El soporte 14, el iris y el difusor 20, y el prisma 22 están fijos a una base 24 de la platina 10, que es un soporte 25 para recibir una cámara transparente 26, o cubeta, de una forma generalmente de paralelepípedo rectangular. La cubeta 26 contiene un fluido con propiedades ópticas adecuadas para la formación de la imagen de un espécimen 28 suspendido dentro de la cubeta, siendo el fluido apropiado una mezcla de alcohol bencílico y de benzoato de bencilo. Este aparato puede ser utilizado para la formación de imágenes en campo claro, campo oscuro y fluorescencia pero es particularmente apropiado donde se crea una imagen tridimensional (3D) del espécimen a partir de una serie de imágenes tomadas en diferentes ángulos, y para especímenes muy grandes para formar imágenes por medio de microscopía confocal.

La luz que pasa a lo largo del eje óptico 29, pasa a través del centro del iris y del difusor 20, y a través del espécimen 28 y se desvía a través de ángulos rectos por el prisma 22 para entrar a un objetivo 30 del microscopio 12. Ya que el microscopio tiene una gran distancia de trabajo, hay suficiente espacio disponible para que el prisma 22 descanse por debajo del objetivo del microscopio 30. El uso de un prisma le permite a un microscopio orientado verticalmente para formar la imagen del espécimen. Sin embargo el prisma 22 puede ser omitido cuando el objetivo del microscopio es paralelo al eje óptico. El iris y el difusor 20 controlan la cantidad de luz que pasa desde una fuente de luz (no mostrada) hasta alcanzar el espécimen 28 y suministrar iluminación uniforme.

El soporte 14 tiene una protuberancia circular sobre la cual está montada en forma de pivote, alrededor de un eje 90 (Figura 4), una placa inclinada 33 sobre la cual se desliza, hacia arriba y hacia abajo, una placa 32. La placa 32 transporta una plataforma voladiza que puede ser ajustada 34 horizontalmente desde la placa 32. El ángulo de la plataforma 34 se puede alterar con relación a la horizontal utilizando un ajustador inclinado 36 y se puede variar la posición vertical de la plataforma 34 por medio de un ajustador vertical 40. Un motor por etapas 42 está montado sobre la plataforma 34, con un eje giratorio para el motor 44 del motor que se extiende a través de la plataforma 34. Un imán 46 (un imán permanente o un electroimán) está unido al extremo inferior del eje 44 y trasporta al espécimen 28 del cual se van a obtener las imágenes. La forma en la cual el espécimen está unido al imán será descrito posteriormente con referencia a la Figura 5. El motor por etapas 42 hace girar al eje 44 con un tamaño de paso de 0,9 grados, proveyendo hasta 400 posiciones para la formación de imágenes del espécimen. Se toma una serie de imágenes digitales del espécimen alargado 28 indicándole al eje 44 sus sucesivas posiciones de giro, y de esta manera posicionar el espécimen en sucesivas posiciones de giro mientras el espécimen está suspendido dentro de la cubeta 26, permaneciendo estacionaria la cubeta.

Por medio del montaje del motor por etapas 42 con su eje de rotación vertical, el espécimen tipo varilla 28 únicamente necesita ser asegurado en un punto, típicamente su extremo superior, para que ocurra la rotación controlada del espécimen. El espécimen 28 se sumerge en el líquido, soportado desde arriba por el imán 46, por medio del uso del ajustador vertical 40 para bajar la plataforma. Esta orientación vertical del espécimen y el eje de rotación evitan el uso de empaques en forma de anillo o de otras disposiciones mecánicas que serían necesarias para conectar el motor seco al espécimen sumergido, y en segundo lugar, garantiza que el espécimen no se desvíe de su eje de rotación por causa de la gravedad ya que el espécimen alargado tiene su eje mayor paralelo a la fuerza de gravedad. Evitar los efectos de distorsión para el espécimen que tiene un espécimen orientado verticalmente es particularmente importante para obtener imágenes 3D precisas, particularmente para los especímenes mayores. El uso de un paralelepípedo rectangular hueco generalmente vertical como la cámara para la formación de imágenes 26 alrededor del espécimen 28 garantiza que el área superficial del líquido para la formación de imágenes esté limitada, reduciendo la evaporación del líquido. Además, se pueden obtener las imágenes de especímenes mucho mayores, típicamente de 1-20 mm de diámetro, por medio del uso de tales cámaras fijas sin perdida de calidad de la señal digital.

En uso, una cámara digital 52 (Figura 2) está unida al microscopio 12 y produce una imagen digital del espécimen tal como la que se forma en el microscopio a partir de la luz que ha viajado a lo largo del eje óptico 29, y que ha sido trasmitida a través de la cámara y del espécimen. Se toman una serie de imágenes digitales del espécimen a partir de diferentes ángulos y esta información digital es alimentada en el algoritmo que utiliza una fórmula matemática para reconstruir la estructura del espécimen en tres dimensiones, Típicamente, las imágenes se obtienen utilizando los elementos de control expuestos en la Figura 2. De esta forma, un computador 50 que tenga un software para adquisición de imágenes digitales está en comunicación bidireccional con la cámara digital 52 unida al microscopio 12 que recibe imágenes de un espécimen de interés. El computador 50 controla las ruedas del filtro 56 unidas al microscopio 12 para alterar la longitud de onda de la radiación que es detectada. El software de adquisición del computador es mostrado en forma diagramática en la Figura 2 como el software 58 para controlar la captura de imágenes de la cámara digital, un programa 54 para controlar el software para la formación de imágenes, la platina rotatoria y el software para las ruedas del filtro, el software 48 para controlar las ruedas del filtro y el software 64 para convertir los archivos de imágenes en una reconstrucción 3D. El computador está también en comunicación bidireccional con circuitos electrónicos de control 60 conectados a la platina rotatoria 10 y controla a los circuitos 60 para ajustar la orientación del espécimen según se requiera durante la captura de imágenes de imágenes sucesivas. Una vez se han obtenido las imágenes digitales, son procesadas en 64 para producir una reconstrucción 3D 66 del espécimen utilizando procesamiento matemático, en forma similar al análisis descrito en la Patente Estadounidense No. 5.680.484.

Si se requiere, el computador puede controlar el proceso completo de la formación de imágenes, emprendiendo el procesamiento de imágenes para determinar el tamaño del espécimen, su alineación, si está en foco, etc., y ajustando la posición del espécimen antes de llevar a cabo la formación de las imágenes en forma rotacional. Esta automatización

completa del proceso de formación de imágenes es particularmente deseable para proyectos de mapeo de expresión génica a gran escala en donde muchos de tales dispositivos podrían estar corriendo en paralelo.

El circuito 60 que responde al computador para controlar al motor por etapas 42 está comercialmente disponible para la mayoría de los sistemas más populares de computadores. El circuito 60 se conecta al computador 50 y es sensible a las señales del computador 50 para controlar una variedad de dispositivos mecánicos (motores por etapas, solenoides etc.).

Para crear una representación 3D del espécimen, el software lleva a cabo las siguientes funciones: (1) determina el eje de rotación (a través de la simetría que existe entre cada par de imágenes que fueron tomadas a 180 grados entre sí), (2) reorganiza el cúmulo de imágenes en una pila ortogonal de imágenes de proyección (en las cuales, la imagen representa una sección única a través del espécimen, observada desde todos los ángulos diferentes capturados), (3) realizar el procesamiento matemático sobre cada imagen de proyección, para recrear esa sección a través del espécimen, (4) combinar todas las imágenes de la sección calculada en un formato 3D. Las reconstrucciones pueden ser creadas tanto a partir de luz trasmitida como de luz emitida por fluorescencia.

Ahora que el aparato en general y su uso en la adquisición de datos han sido descritos, ciertos componentes del aparato para formación de imágenes serán descritos con más detalle.

Una vista frontal de la platina rotatoria 10 es mostrada en la Figura 3. El ajustador de inclinación 36 varía el ángulo de inclinación de la plataforma 34 alrededor del eje 90 que está por debajo del extremo inferior del eje 44 y está aproximadamente a la altura del espécimen a fin de que el ajuste de la inclinación no mueva sustancialmente al espécimen. El eje 90 puede intersecar al eje óptico 29. El ajuste de la inclinación (ilustrada por la flecha bidireccional 92 en la Figura 3) asegura que el eje rotacional 94 del motor por etapas 42 sea exactamente perpendicular al eje óptico 29. Habiendo ajustado la inclinación de la plataforma 34, se ajusta la posición de la plataforma 34 con relación a la base 24 utilizando el ajustador vertical 40 que utiliza una disposición de bastidor y piñón para subir y bajar la plataforma 34 en la dirección ajustada del eje de rotación 94. Por medio del uso de un ajustador vertical 40, se puede bajar un espécimen que lleva al imán unido al extremo del eje 44 la profundidad requerida dentro de la cámara de formación de imágenes para la formación de las mismas y salir de la cámara una vez formada la imagen. También se puede alterar de esta forma la posición vertical del espécimen durante la formación de la imagen, si se requiere. En la posición elevada del eje, los especímenes pueden ser cargados dentro o fuera de la platina rotatoria.

Cuando el aparato está instalado, se alinea de tal forma que el eje óptico del microscopio pase a través del prisma, y a través del centro de la cámara de formación de imágenes. Sin embargo, con gran aumento la alineación puede necesitar de un ajuste ya que el espécimen se desplaza ligeramente del centro del campo de visión. El mecanismo para subir/bajar mencionado anteriormente puede ser ajustado para corregir esta mala alineación en la dirección vertical.

Aun cuando muchas de las imágenes del espécimen pueden ser captadas tomado el eje rotacional aproximadamente perpendicular al eje óptico, la reconstrucción 3D del espécimen utilizando el procesamiento matemático será de muy baja calidad a menos que el ángulo entre el eje óptico y el eje rotacional sea exactamente de 90º. El ajustador de inclinación 36 permite que el eje de rotación 94 sea ligeramente inclinado a fin de garantizar que el ángulo sea exactamente de 90º. El ajustador de inclinación 36 típicamente cuenta con un mecanismo de tornillo roscado para empujar la plataforma 34 hacia un lado. Se utiliza una muestra de calibración para ajustar el ángulo de inclinación, con la muestra de calibración conteniendo una cantidad de pequeñas partículas cuyas trayectorias pueden ser monitoreadas sobre una pantalla de computador mientras el eje rota. Si el eje de rotación no está perfectamente perpendicular al eje óptico, la trayectoria de la partícula aparece como una elipse, ver la Figura 4(a) que muestra la vista a lo largo del eje óptico mientras el eje rota alrededor del eje 94. Cuando el eje está correctamente alineado, se observa que la partícula se mueve de un lado al otro, sin componente vertical para el movimiento, ver Figura 4(b).

La Figura 5 muestra el sistema de montaje magnético utilizado que cuenta con la atracción magnética entre un disco magnético 110 unido a un espécimen 112 y el imán cilíndrico 46 unido permanentemente al extremo inferior del eje de rotación 44 del motor por etapas 42. Cada espécimen tiene un pequeño disco metálico magnetizable pegado a un extremo durante la preparación del espécimen. El disco se une luego al imán cuando se acomete la obtención de las imágenes y el espécimen es soportado como resultado de la atracción magnética entre el disco y el imán. Ya que el disco 110 y el espécimen 112 son relativamente livianos, el imán no necesita estar fuertemente magnetizado para soportar su peso. Una ventaja del sistema de imán, por ejemplo, sobre un sistema de atornillado, es que el pequeño tamaño del disco y del espécimen necesitan ser manejados con fórceps o pinzas. La colocación de la montura o del disco 110 sobre un imán se hace directamente con el fórceps, mientras que hacer la unión atornillando no lo es. Otra ventaja es que la colocación del espécimen con relación al eje de rotación se puede ajustar fácilmente deslizando la montura 110 a través de la superficie del imán 120. Muchos especímenes se pueden preparar previamente también con un disco adherido, y luego acomodarlo rápidamente en el dispositivo para la formación de las imágenes cuando se requiera.

Ciertos líquidos utilizados en la cámara para la formación de las imágenes de la muestra son tóxicos y corrosivos para el plástico, y cuando este sea el caso, los especímenes se manejan preferiblemente utilizando fórceps. El sistema magnético de unión es por lo tanto ventajoso ya que los especímenes únicamente necesitan ser mantenidos bajo el imán para quedar firmemente adheridos. Es igualmente fácil remover cada espécimen después de formadas las imágenes.

Para maximizar la resolución de las imágenes, se debe centrar una región de interés 122 en un espécimen 112 sobre el eje de rotación 94, esto es, para que no se mueva mientras gira el eje. Si la región de interés, o el espécimen completo, está descentrado y oscila de un lado a otro durante una captura rotacional de imágenes, entonces la amplificación necesaria para mantenerlo en foco será baja. Esto está ilustrado en la Figura 6(a). Las dos formas 130, 132 representan al espécimen 112 durante la rotación, y sus posiciones más extremas a la izquierda y a la derecha. Cuando el espécimen 112 está perfectamente centrado, rota sobre su propio eje, ver Figura 6(b). Este presenta un ancho menor a través del campo de visión, y por lo tanto se puede incrementar la amplificación para proveer una imagen con resolución más alta, ver Figura 6(c).

El ajuste del espécimen 112 con relación al eje de rotación 94 se simplifica por medio de la unión magnética. Empujando sobre el disco 110, se puede balancear con relación al eje de rotación 94. En la Figura 5(a) la región de interés 122 dentro del espécimen 112 no está centrado sobre el eje de rotación sino desplazado hacia la izquierda. Si el eje del motor rota 180º, la región de interés 122 es ahora visible sobre el lado derecho del eje de rotación, ver Figura 5(b). Debido a que el imán 46 permite que la montura metálica 110 se deslice a lo largo en cualquier dirección, sin llegar a soltarse, un empujón desde el costado de la palanca 16 (indicada por la flecha 114 en la Figura 5(c) es capaz de posicionar al espécimen para que la región de interés 122 se centre sobre el eje de rotación, ver Figura 5(c). Una rotación adicional de 180º muestra que ahora el espécimen completo 112 oscila de lado a lado mientras que la región de interés permanece centrada, ver Figura 5(d).

Usualmente se intenta el ajuste del espécimen en esta forma mientras se observan las imágenes del espécimen en rotación sobre una pantalla de computador.

Se describirá ahora con más detalle la cámara de formación de imágenes 26 como se observa en la Figura 1, con referencia a la Figura 7. Teniendo una cámara fija para el espécimen que no rota con el espécimen durante la formación de las imágenes, la cámara no necesita ser cilíndrica para mantener un camino óptico constante durante la rotación, como para el sistema descrito en la Patente Estadounidense No. 5.680.484. Una comparación del tubo del estado del arte 136 y de la cámara utilizada en la presente invención es mostrada en la Figura 7, donde la Figura 7(a) muestra una sección transversal a través del tubo cilíndrico del estado del arte 136 (que está suspendido horizontalmente), y la Figura 7(b) muestra la cámara 26 utilizada en la presente modalidad. La cámara para formación de imágenes 26 se escoge generalmente para que tenga forma en sección transversal de un paralelepípedo rectangular o de un cuadrado, y esté elaborada en cuarzo, vidrio u otro material transparente adecuado. Cada cámara/tubo contiene un espécimen 141 bañado en líquido 143 con propiedades ópticas adecuadas para permitir la toma de imágenes del espécimen. Las caras planas 142, 142', 144, 144' de la cámara 26 reducen la distorsión refractiva de la imagen y permiten la formación de imágenes de especímenes mayores. Esto es debido a que las paredes mutuamente paralelas 142, 142' de la cámara de sección transversal cuadrada están alineadas en forma perpendicular al eje óptico 29 y proporcionan un área de formación de imágenes mayor sobre la cual no ocurre refracción de la luz contrario a lo que ocurre con el tubo circular 136, que únicamente tiene una parte muy pequeña de su circunferencia con incidencia normal para la luz. De este modo, se puede formar una buena imagen a través de un ancho superior a 10 mm para la cámara 26, mejorando la cantidad de señal recibida a partir de la muestra y reduciendo la distorsión debida a la refracción.

La Figura 7c ilustra una modificación de la cámara de la muestra de la Figura 7b. En la Figura 7c, la cámara de la muestra 26' tiene una sección transversal interna cuadrada pero una de las paredes 140 está provisto con un lente convexo plano para refractar la luz que sale de la cámara. Esta forma provoca una refracción deseada, en el caso de la Figura 7c, un efecto de magnificación.

Se describe ahora con más detalle la palanca 16 mostrada en la Figura 1, con referencia a la Figura 8, que muestra una vista superior a lo largo de la línea VIII-VIII de la Figura 1. La Figura 8(a) muestra la palanca 16 en su posición usual, alejada del imán 46 y de la montura metálica 110 del espécimen. Si el espécimen está muy desplazado hacia uno de los costados (como se ilustra) se pude mover la palanca 16 alrededor del eje de rotación 164 a fin de que la espita 166 se engrane con la montura metálica 110 para empujar el espécimen hacia la posición correcta (Figura 8b). Esto se hace mientras se monitorea la posición del espécimen sobre la pantalla del computador. Ya que el motor por etapas puede ser controlado cuidadosamente a través de interruptores manuales, se puede observar la trayectoria del espécimen durante la rotación y se puede detener el motor cuando el espécimen esté completamente desplazado hacia un lado. Se centra entonces el espécimen utilizando la palanca 16, y se repite el proceso hasta que la alineación del espécimen con relación al eje óptico esté completa. Se organiza la palanca 16 a fin de producir un movimiento "engranado hacia abajo" del espécimen, lo que hace más fácil controlar el ajuste.

El eje de rotación 164 está unido a la platina principal del motor. Está fijado a la platina por medio de un soporte que garantiza que la espita 166 esté a la altura correcta para hacer contacto con la montura metálica, justo por debajo del imán. De esta forma, la espita 166 permanece a la altura correcta con respecto a la altura escogida para la formación de imágenes del espécimen.

La platina rotatoria descrita aquí es adecuada para microscopía 3D y también para microscopía rotacional para cualquier propósito, en especímenes biológicos y especímenes de otros campos tal como en ciencia de materiales.

Cuando se emprende una microscopía 3D, el índice de refracción debe ser uniforme en todo el espécimen. Para un tejido biológico, esto se logra fácilmente colocando el espécimen en un baño con solvente aclarador. Un espécimen puede ser adherido directamente sobre la montura metálica, o embebido en un bloque de una matriz transparente tal

como agarosa, que se adhiere por si misma a la montura. El solvente aclarador permea entonces los bloques así como al espécimen. BABB (una mezcla de alcohol bencílico y benzoato de bencilo) es adecuada como solvente.

Para un espécimen cuyo índice de refracción no puede ser uniforme, o que no sea transparente, la técnica sigue siendo útil. La forma 3D de la superficie de los objetos cuyas secciones trasversales son todas convexas (aún si la forma 3D completa no es convexa) se puede recrear en forma precisa a partir de su silueta en rotación.

Existen algunas aplicaciones donde los datos en bruto del aparato son útiles. La serie de imágenes puede ser convertida en una película del objeto en rotación (esto es, el espécimen). Es mucho más fácil ver la forma de un objeto 3D cuando es observado en rotación que a partir de unas pocas imágenes estáticas en 2D (muchos proyectos de reconstrucción 3D presentan sus resultados como películas de un modelo en rotación).

El aparato también es adecuado para emprender el mapeo 3D de los patrones de expresión génicos (distribución de ARN y/o de proteína) en tejido biológico, al mismo tiempo que se permite que el espécimen sea utilizado para otros análisis después de la obtención de las imágenes. La formación de imágenes del espécimen utilizando el aparto es relativamente rápida, tomando alrededor de 20 minutos. En contraste, preparar, embeber, seccionar, montar, colorear y digitalizar secciones reales de histologías toma días y produce cientos de secciones digitales en 2D, pero no garantiza la forma de alinearlas con otras para recrear la forma 3D original. Las secciones histológicas tienden a estirarse significativamente, de tal manera que aún si todas las secciones pueden acomodarse unas sobre otras para crear una forma 3D, el resultado tridimensional no reflejará en forma precisa la forma del espécimen original. Sin embargo, los resultados obtenidos utilizando el aparato son muy similares a la forma física real del espécimen, siendo la única diferencia con las secciones físicas una resolución reducida. Ya que los datos generados por el aparto son genuinamente 3D pueden ser reseccionados en forma virtual en cualquier orientación, o suministrados en 3D.

Una construcción modificada de una platina rotatoria es ilustrada en la Figura 9 donde las partes correspondientes a aquellas de la Figura 1 llevan los mismos números de referencia. En la platina rotatoria de la Figura 9, el ajuste tridimensional de la posición del motor en etapas 42 se logra por medio del uso de tres motores secundarios por etapas 150, 152, 154. No está presente un ajustador de inclinación para el motor 42. En vez de eso, el prisma puede ser manualmente ajustado por medio de inclinación controlada alrededor de un eje horizontal transversal 23. Los motores importantes por etapas son los motores 150 y 154. El motor 152 puede ser reemplazado por un ajustador vertical manual 40.

Los motores secundarios por etapas 150, 152, 154 permiten al ajuste con una precisión por debajo de la micra de la posición 3D del motor primario por etapas 42, a lo largo de las orientaciones marcadas como x, y y z. Estos motores por etapas 150, 152, 154 son controlados por el mismo computador que controla al motor primario 42. Esto está ilustrado en la Figura 10 donde el computador 50 dirige a los cuatro motores a través de los circuitos 156 que dirigen al motor. Para el propósito de este documento, el eje z se considera paralelo al eje óptico 29. Los movimientos a lo largo de este eje alteran efectivamente el enfoque del sistema. Los movimientos a lo largo de los otros dos ejes alteran aquella parte del espécimen que coincide con el centro del eje óptico 29.

El traslado controlado por computador por medio de los tres motores secundarios 150, 152, 154 tiene las siguientes ventajas:

1) Permite que la región de interés (ROI) del espécimen se mantenga centrada dentro del campo de visión del microscopio. Esto se logra de dos formas:

   (a) La ROI se mantiene dentro de la profundidad de foco del microscopio.

   (b) Limita los movimientos oscilatorios “lado a lado” de la ROI a lo largo del eje x.

   Estas dos ventajas permiten una formación de imágenes con resolución mucho más alta en comparación con un sistema que no tenga tal mecanismo.

2) Es más preciso que el sistema de palanca y espita de las Figuras 1 y 8.

3) Puede ser controlado completamente por medio del computador (a diferencia del sistema de palanca y espita), de tal manera que la ROI puede ser fácilmente definida “sobre la pantalla” dentro del software.

4) Le permite al computador calcular las coordenadas 3D precisas para la ROI.

5) Permite relacionar entre sí diferentes barridos dentro del mismo espécimen en el espacio 3D.

6) Esto permite que el computador haga un barrido con alta definición de un espécimen grande a partir de múltiples barridos automáticos de regiones más pequeñas con una magnificación mayor (conocida como “embaldosado” o “parcheo”).

Los movimientos en x y en y controlados por computador para mantener la ROI dentro del campo de visión se calculan de la siguiente manera:

Primero, el software necesita calcular las posiciones de:

(a) El eje de rotación del motor primario por etapas 42 con relación al campo de visión.

(b) La ROI con relación al eje de rotación del motor primario por etapas.

Estas dos posiciones se pueden calcular a partir de una operación. Se establece la magnificación lo suficientemente baja de tal forma que durante una rotación completa de la ROI permanezca dentro del campo de visión de la cámara. El sistema se calibra previamente de tal manera que se sepa cuantos pulsos del motor por pasos x corresponden a un desplazamiento dado medido en pixeles sobre la pantalla del computador. Se determina la relación para cada aumento. El computador le presenta entonces al usuario cuatro imágenes del espécimen, rotadas 0, 90, 180 y 270 grados (como se observa en las Figuras 11a a 11c). En la Figura 11a, cada rectángulo externo representa la ventana para la formación de la imagen sobre la pantalla del computador y el punto representa la región de interés 122 del espécimen.

La Figura 11b muestra vistas a lo largo del eje óptico (como se observan sobra la pantalla del computador) para baja magnificación, y la Figura 1c muestra vistas superiores a lo largo del eje de rotación 94. El usuario utiliza entonces el ratón del computador (o un equivalente) para indicar donde esta la ROI en cada imagen.

La Figura 12 muestra como el sistema de posicionamiento puede mover el motor por etapas 42 tanto en la dimensión x como en la y, y puede por lo tanto compensar la ROI que está descentrada. Los movimientos en x y en y del motor por etapas 42 se controlan por medio del computador para garantizar que la ROI 12 permanezca en una posición fija, rotando alrededor de un eje efectivo de rotación.

En las Figuras 11a, 11b y 11c:

χ^1 = la posición en x de la ROI a 0 grados, convertida en unidades del motor por etapas.

χ^2 = la posición en x de la ROI a 180 grados, convertida en unidades del motor por etapas.

χ^w = el ancho de la ventana para la formación de imágenes, convertida en unidades del motor por etapas.

El promedio de χ^1 y χ^2 suministra la posición (χ^S) del eje de rotación del motor por etapas con relación a la ventana para formación de las imágenes (χ^S). El promedio de Z1 y Z2 proveen un segundo estimado de esta posición ($\chi^S = (\chi^1 + \chi^2 + Z1 + Z2)/4$).

El desplazamiento en x que sería necesario para centrar el eje de rotación del motor por etapas dentro de la ventana para la formación de imágenes es:

$$\text{Desplazamiento en X } (\chi^d) = \chi^{w/2} - (\chi^1 + \chi^2 + Z1 + Z2)/4$$

Esto se ilustra en las Figuras 13a y 13b.

En las Figuras 13a y 13b, el microscopio observa al espécimen desde el fondo del diagrama. Por lo tanto los bordes del campo de visión aparecen como dos líneas sustancialmente paralelas, que indican los límites de lo que puede ser observado. El eje óptico, que es el centro de este campo de visión, es mostrado como una línea discontinua en la Figura 13a.

La Figura 13b muestra al espécimen en una posición rotacional de 0 grados ($\alpha = 0$). A partir de las mediciones descritas en la página anterior (χ^1, χ^2, Z1, Z2), se pueden calcular fácilmente las distancias x y z de la ROI a partir del eje de rotación del motor primario por etapas. $\chi^{\alpha o}$ es la distancia en x cuando la posición rotacional (ángulo α) es cero ($\chi\alpha o = (\chi^1 - \chi^2)/2$). En forma similar, $Z\alpha o$ se puede calcular a partir de las dos mediciones tomadas con $\alpha = 90$ grados y con $\alpha = 270$ grados, ($Z\alpha o = (Z1 - Z2)/2$). La posición de la ROI puede ser convertida entonces de coordenadas cartesianas a coordenadas polares donde D es la distancia de la ROI desde el eje del motor por etapas, y es el ángulo de aquella línea hasta el eje óptico (o una línea paralela a ella), cuando = 0 grados.

$$D = \text{raíz cuadrada de } (\chi\alpha o^2 + Z\alpha o^2) \quad \theta = \tan^{-1} (\chi\alpha o / Z\alpha o)$$

Ahora, para cualquier posición rotacional del motor primario por etapas (α) la ROI se puede posicionar sobre el eje óptico por medio de movimientos de los motores secundarios por etapas para x z, en los cuales los desplazamientos totales (χt y Zt) se calculan por medio de.

$$\chi t = \chi d + D.\ \text{sen}\ (\alpha + \theta), \qquad \text{y} \qquad Zt = D.\cos\ (\alpha + \theta).$$

La forma 3D de la región muestreada de una reconstrucción por OPT es sustancialmente un cilindro con una sección transversal circular, cuyo eje de simetría rotacional es el eje efectivo de rotación utilizado durante la formación de

las imágenes, y cuyo diámetro y longitud se describen por el ancho y la altura del campo de visión. Ya que podemos alternar entre coordenadas cartesianas y polares para describir posiciones dentro del espécimen, y que podemos relacionar los tamaños de los pixeles con distancias reales dentro del espécimen, podemos calcular fácilmente la posición y la forma del cilindro de la muestra con relación a cualquier otro de los barridos realizados del mismo espécimen.

En la formación de imágenes 2D, a menudo se construye una imagen de alta resolución tomando muchas imágenes con alta magnificación de pequeñas regiones del objeto, y luego se unen las pequeñas imágenes juntas. Esto es a menudo conocido como "embaldosado" o "parcheo". La platina XYZ controlada por computador permite aplicar la misma aproximación a la formación de imágenes por OPT en 3D.

Como se describió anteriormente, la región muestreada de un barrido por OPT es un cilindro con sección transversal circular. La Figura 14 ilustra, en una vista superior que mira hacia abajo a lo largo del eje 94, como se puede formar la imagen de un espécimen 160 en un barrido 162 con baja resolución, o alternativamente se podría formar la imagen posicionando siete barridos de alta resolución 170 de tal manera que cada posición dentro del espécimen esté contenida al menos dentro de una región muestreada. Ya que las regiones individuales de la muestra tienen una sección transversal circular, una disposición eficiente para cubrir una región grande es disponer los barridos en un patrón hexagonal, con un ligero solapamiento entre los barridos adyacentes. Las diferentes posiciones a lo largo del eje y del espécimen pueden también ser muestreadas utilizando el motor por etapas del eje y.

Este proceso de embaldosado puede ser controlado y realizado completamente por el computador.

Para todos los especímenes de los cuales se formarán imágenes completas con un barrido, el cálculo de la posición de la región muestreada óptima se puede hacer automáticamente sin la necesidad por parte del usuario de identificar la ROI como se describió previamente. El procesamiento simple de las imágenes puede hallar el contorno o el centro del espécimen dentro de las imágenes del ensayo durante el proceso de alineación, de la siguiente manera:

1) Establecer una magnificación muy baja (puede hacerse automáticamente utilizando un microscopio controlado por computador).

2) Tomar cuatro imágenes con una rotación de 0, 90, 180 y 270 grados.

3) Calcular un histograma de cada imagen para determinar un nivel de umbral adecuado para distinguir al espécimen del fondo.

4) Calcular la posición del centro de masa del espécimen en cada imagen.

5) Utilizar estas posiciones como las mediciones de la ROI como se describió previamente.

6) Aplicar los nuevos desplazamientos durante cualquiera de las rotaciones posteriores.

7) Incrementar la magnificación.

8) Tomar cuatro imágenes rotadas y determinar si la magnificación es muy alta (esto es, si los bordes del espécimen están por fuera del campo de visión).

9) Si el espécimen está aún dentro del campo de visión regresar a la etapa 4.

10) Si los bordes del espécimen están por fuera del campo de visión, reducir la magnificación hasta el valor anterior.

11) Hacer u barrido del espécimen.

Un medio colimado de iluminación, que puede ser utilizado en la platina rotatoria de la Figura 1 o de la Figura 9, se ilustra en las Figuras 15 y 16.

Se utiliza un láser u otra fuente de iluminación 172 junto con un medio de enfoque (ya sea lentes refractivos 174 o espejos de reflexión) para generar un haz de luz 176 en el cual todos los rayos de luz sean sustancialmente paralelos al eje óptico. La Figura 15 ilustra este dispositivo en relación con el resto de la platina rotatoria que, en este ejemplo, tiene dos motores por etapas 150, 154 para ajuste controlado por computador en las direcciones x y z, respectivamente. El ajuste vertical se efectúa manualmente por medio de un ajustador vertical 40. El lente 22 es capaz de ajustar la inclinación alrededor del eje 23.

Como resultado de los experimentos, es claro que la luz para iluminación que entra al espécimen en forma no paralela al eje óptico introduce ruido en los resultados. Una fuente de luz colimada, donde, todos los rayos de luz para iluminación son paralelos al eje óptico, reduce este problema y por lo tanto incrementa la calidad de la imagen.

Con relación a la Figura 17, se coloca un filtro de longitud de onda 178 en algún sitio entre la fuente de luz 180 y el espécimen 28. Este puede consistir ya sea de una serie de filtros diferentes, cada uno permitiendo la trasmisión d

diferente rango de longitudes de onda, que pueden ser posicionados manual o automáticamente en el paso de luz. O puede ser un filtro sintonizable electrónicamente.

Alternativamente, se pueden utilizar dos filtros de cristal líquido sintonizables electrónicamente para formación de imágenes fluorescentes para restringir las longitudes de onda tanto de la luz de iluminación como de la luz detectada, siendo esto posiblemente ilustrado por el segundo filtro eléctricamente controlado 182 ubicado en frente de un arreglo de detectores de luz 184 en 2D.

Un compuesto químico dado absorberá diferente longitudes de onda con diferentes grados de eficiencia. Estas diferencias pueden ser representadas como un espectro (que describe la absorción para un rango amplio de longitudes de onda). La mayoría de los especímenes consiste de diferentes distribuciones espaciales de diferentes compuestos químicos, y por lo tanto se forman imágenes óptimas de diferentes especímenes utilizando diferentes longitudes de onda (o combinaciones de longitudes de onda). El sistema de filtros descrito le permite al usuario alterar que longitudes de onda son utilizadas para formar la imagen de un espécimen dado.

En forma similar, los compuestos químicos fluorescentes poseen un espectro que describe la eficiencia de longitudes de onda diferentes para excitarlos, y un segundo espectro que describe la abundancia de diferentes longitudes de onda emitidas por fluorescencia. El uso de dos filtros controlados electrónicamente produce (al menos) un espacio de parámetros 2D para las posibles combinaciones de excitación y de emisión. Tal sistema permite la exploración de combinaciones óptimas para distinguir entre diferentes compuestos químicos. Esto permite la formación de imágenes de histología en 3D de muestras biomédicas sin la necesidad de colorantes específicos.

Se apreciará que una platina rotatoria no incluye necesariamente un prisma 22, y tampoco necesita que la platina rotatoria sea utilizada con un microscopio estándar vertical. La Figura 18 ilustra una modificación del arreglo de la Figura 15. En la Figura 18 (donde las partes correspondientes a aquellas de la Figura 15 presentan los mismos números de referencia), la luz que emana de la cámara 26 entra a la óptica del microscopio y a una cámara digital, dejando una corta distancia de trabajo entre el objetivo del microscopio 30 y el espécimen.

El espécimen se puede colocar por medio del uso de una platina de traslación transportada por medio del eje 44. La platina de traslación tiene un ajuste manual o controlado por computador en las direcciones x y z.

Referencias citadas en la descripción

Este listado de referencias citado por el solicitante es únicamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento europeo de la patente. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación, no se pueden excluir los errores o las omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad en este sentido.

Documentos de patente citados en la descripción

- US 5680484 A [0002] [0002] [0019] [0031]
- US 5710625 A [0004]

Literatura citada en la descripción que no es de patente

- M. **ALMQUIST** y colaboradores, *Ultrasonics*, 1999, vol. 37, 343-353 [0003].

REIVINDICACIONES

1. Un aparato de tomografía de proyección óptica (OPT) que incluye una platina rotatoria (10) y una cámara de formación de imágenes para uso en la formación de imágenes de un espécimen a partir de una pluralidad de direcciones, comprendiendo la platina rotatoria un medio de soporte para el espécimen que incluye una pieza rotatoria (44) que puede ser operada para rotar un espécimen para la formación de imágenes alrededor de un eje de rotación (94) en forma trasversal a un eje óptico (29) a lo largo del cual la luz es emitida desde el espécimen, **caracterizado** porque:

(a) el eje de rotación (94) es vertical o sustancialmente vertical,

(b) el medio de soporte para el espécimen está dispuesto por encima de la cámara para formación de imágenes (26) para recibir al espécimen inmerso en un fluido óptico para formación de imágenes dentro de la cámara, y

(c) la cámara para formación de imágenes es estacionaria.

2. Un aparato de OPT de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cámara para la formación de imágenes (26) tiene al menos una superficie plana que es perpendicular al eje óptico.

3. Un aparato de OPT de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 y que incluye un prisma (22) posicionado sobre el eje óptico (29) a fin de recibir la luz emitida por el espécimen, el prisma (22) actuando para desviar la luz hasta 90º para permitir que la luz sea recibida por un microscopio (12) con un eje óptico vertical.

4. Un aparato de OPT de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el prisma (22) es ajustable en posición alrededor de un eje horizontal perpendicular al eje óptico (29) que es también horizontal.

5. Un aparato de OPT de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pieza rotatoria (44) es ajustable en posición para ajustar el eje de rotación alrededor de un eje horizontal de ajuste (90) perpendicular al eje óptico (29).

6. Un aparato de OPT de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el eje de ajuste horizontal (90) está por debajo del extremo inferior de la pieza rotatoria (44) para garantizar que cualquier ajuste horizontal provoque una traslación mínima del espécimen.

7. Un aparato de OPT de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pieza rotatoria (44) es ajustable por traslación a lo largo de una dirección alineada con el eje de rotación (94), para permitir que el medio de soporte para el espécimen sea movido entre una posición operativa abatida y una posición ineficaz elevada en las cuales se pueden cargar o descargar los especímenes de la platina rotatoria.

8. Un aparato de OPT de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la pieza rotatoria (44) es el eje de salida de un motor por etapas (42) montado sobre una plataforma (34) de posición ajustable.

9. Un aparato de OPT de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el extremo inferior de la pieza rotatoria (44) está formado para permitir que el espécimen sea colgado o suspendido, o hacia abajo dependiendo del extremo inferior de la pieza rotatoria.

10. Un aparato de OPT de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes y que incluye una fuente colimada de luz para producir un haz de luz en el cual todos los rayos de luz son sustancialmente paralelos al eje óptico y que, en uso, ilumina al espécimen.

11. Un aparato de OPT de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes y que incluye un filtro de longitudes de onda para restringir la longitud de onda de la luz que ilumina al espécimen.

12. Un aparato de OPT de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y que incluye dos filtros de longitudes de onda, especialmente un primer filtro para restringir la longitud de onda de la luz que ilumina al espécimen y un segundo filtro para restringir la longitud de onda de la luz que emana del espécimen y antes de la detección.

Fig.1.

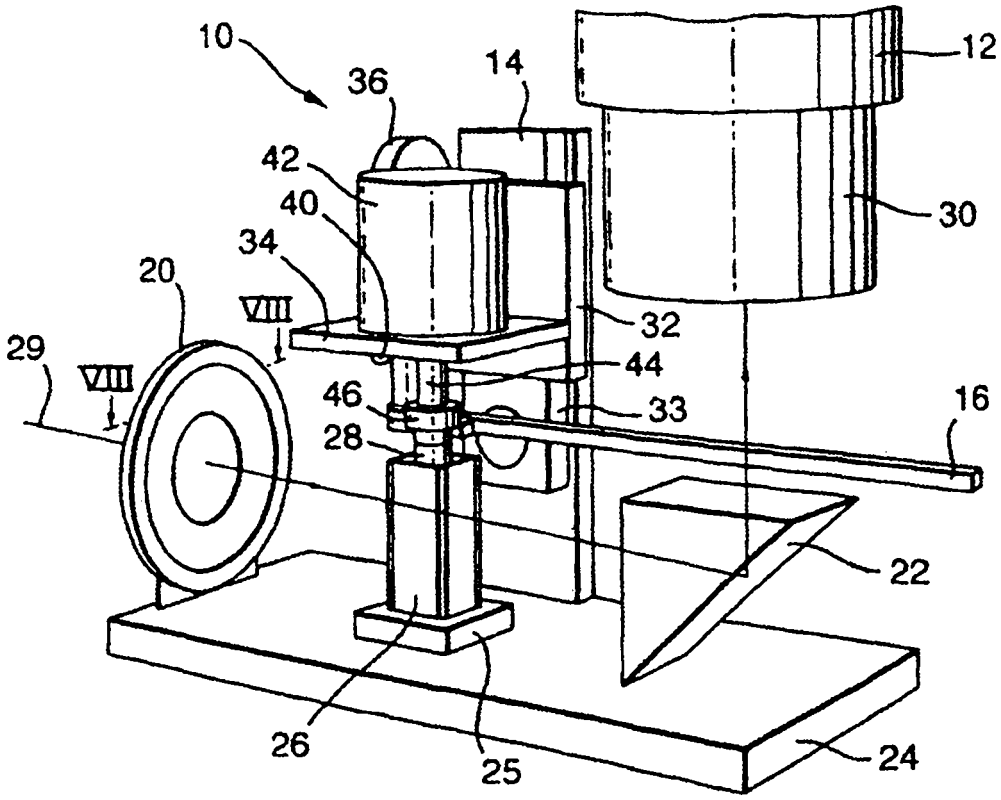
10
36
14
12
42
40
30
34
20
VIII
32
29
VIII
44
46
33
16
28
22
26
25
24

Fig.2.

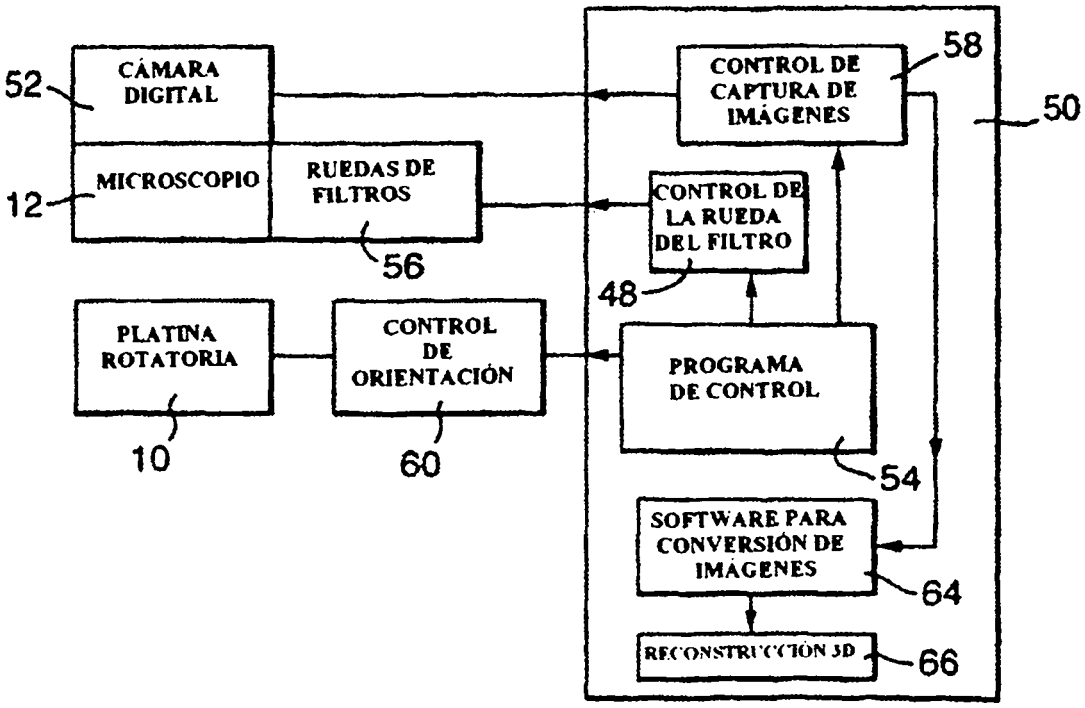
CÁMARA DIGITAL
52
MICROSCOPIO
12
RUEDAS DE FILTROS
56
PLATINA ROTATORIA
10
CONTROL DE ORIENTACIÓN
60
CONTROL DE CAPTURA DE IMÁGENES
58
50
CONTROL DE LA RUEDA DEL FILTRO
48
PROGRAMA DE CONTROL
54
SOFTWARE PARA CONVERSIÓN DE IMÁGENES
64
RECONSTRUCCIÓN 3D
66

Fig.3.

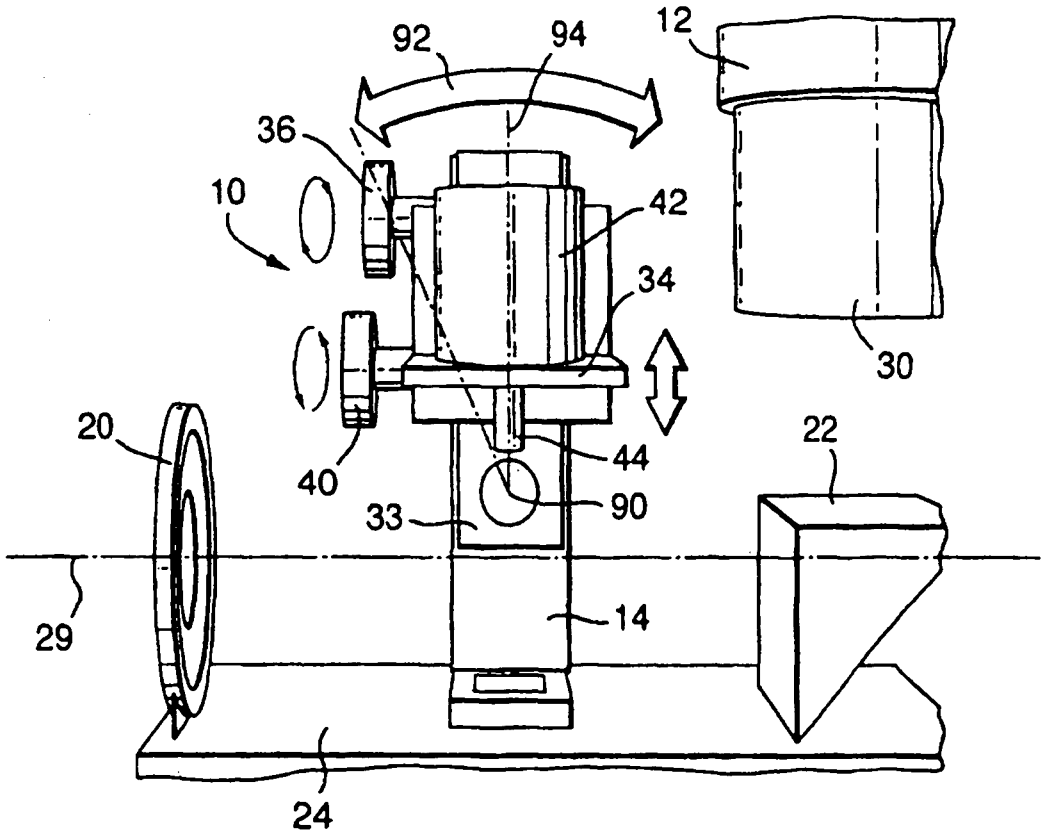

Fig.4(a)

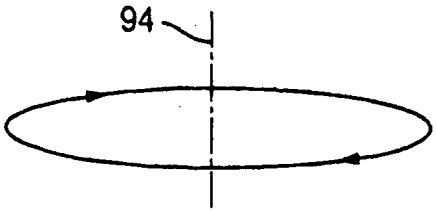

Fig.4(b)

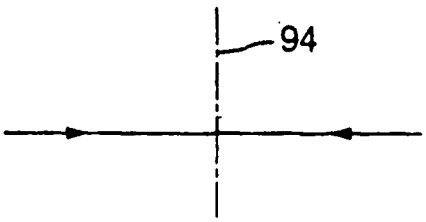

Fig.5(a)

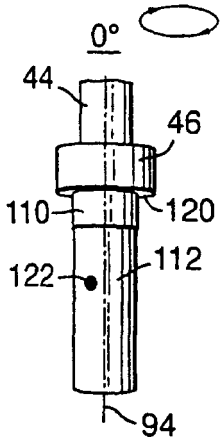

Fig.5(b)

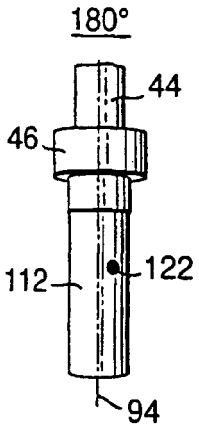

Fig.5(c)

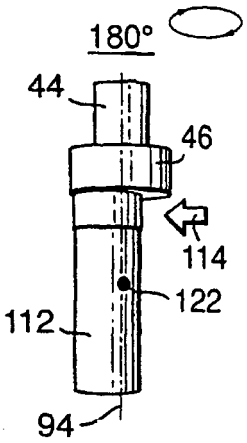

Fig.5(d)

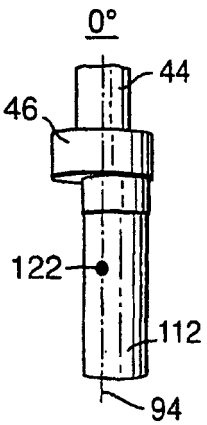

Fig.6(a)

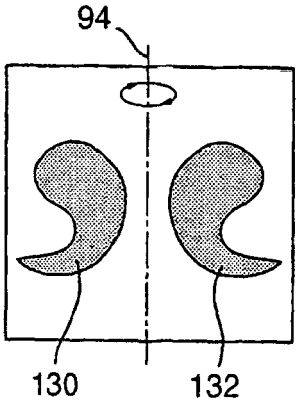

Fig.6(b)

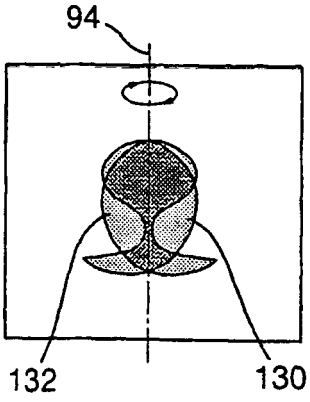

Fig.6(c)

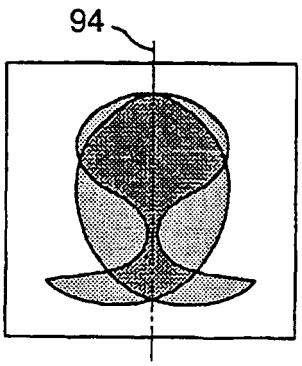

Fig.7(a)

Estado del Arte

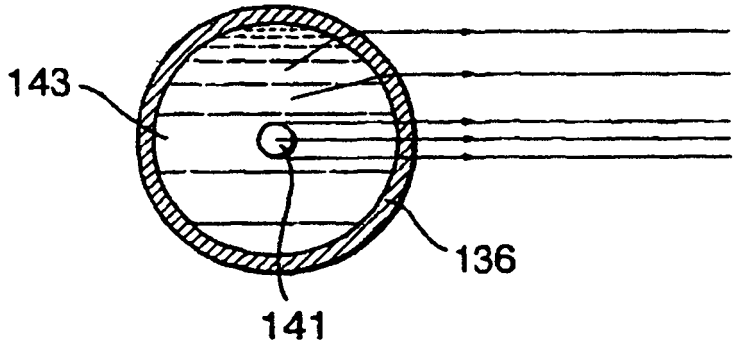

Fig.7(b)

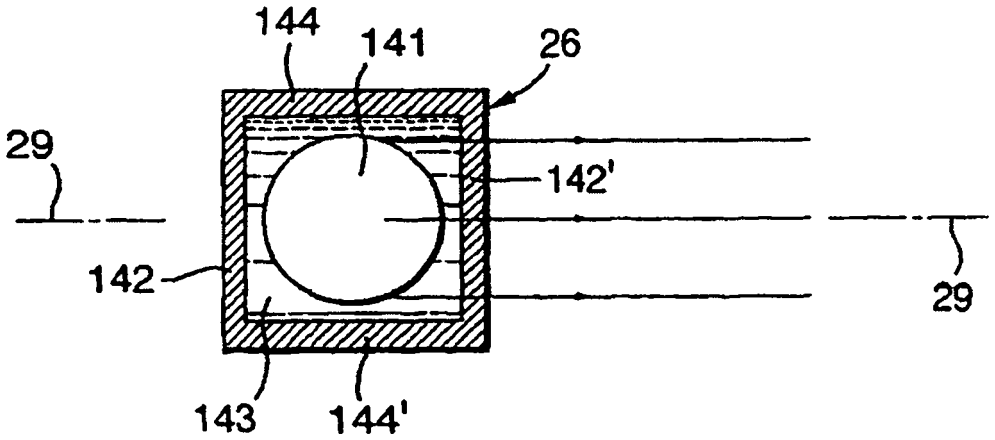

Fig.7(c)

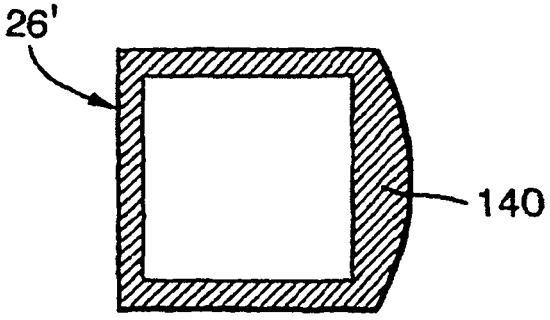

Fig.8(a)

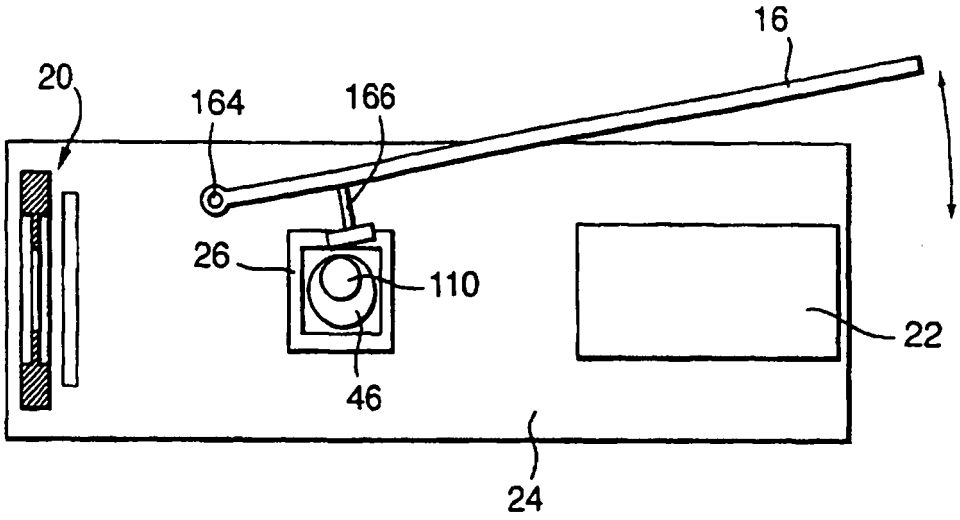

Fig.8(b)

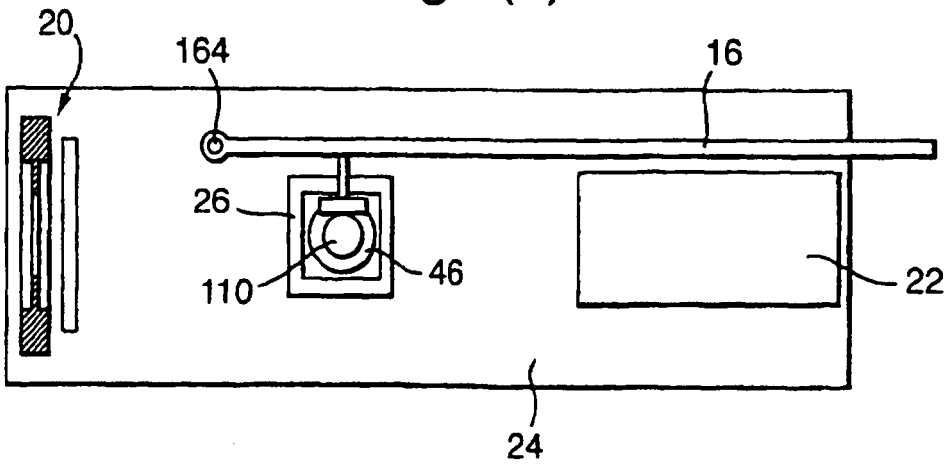

Fig.9.

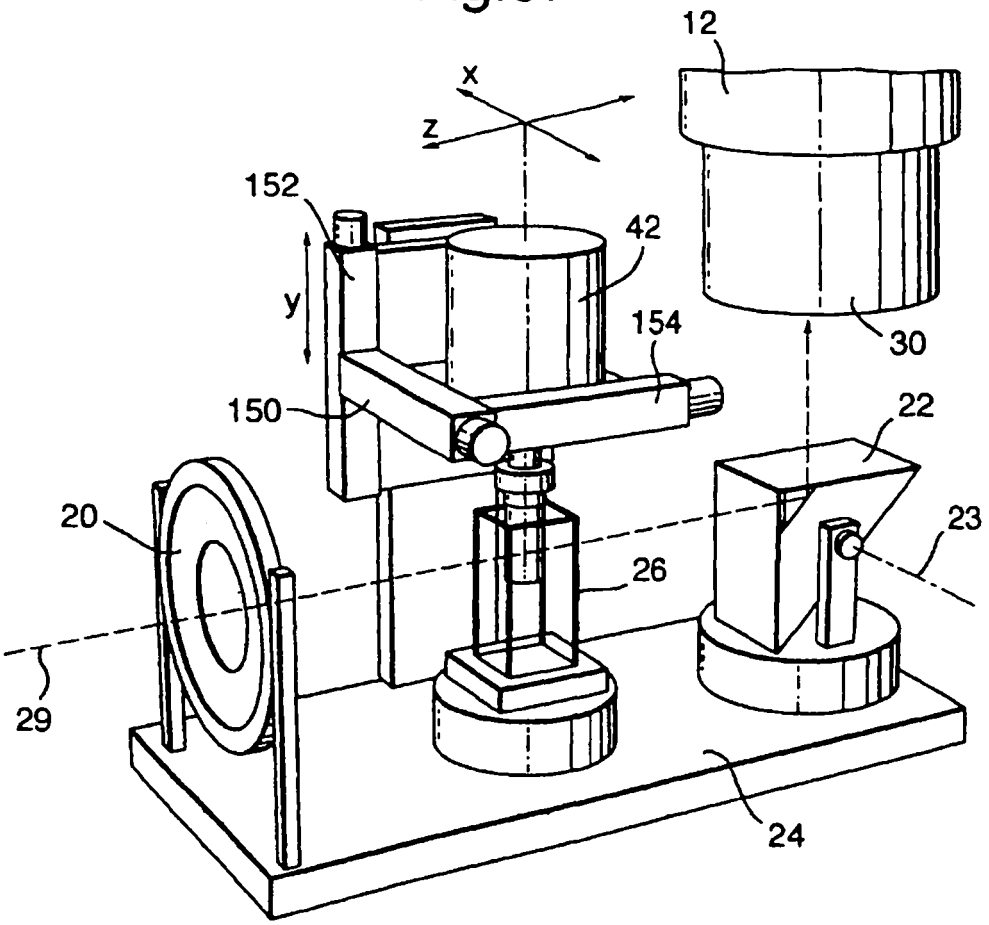

Fig.10.

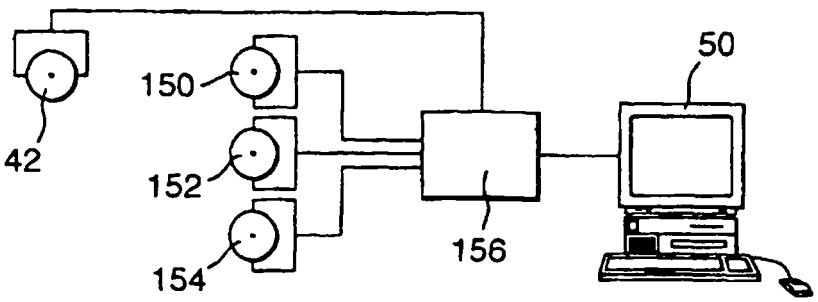

Fig.11(a)

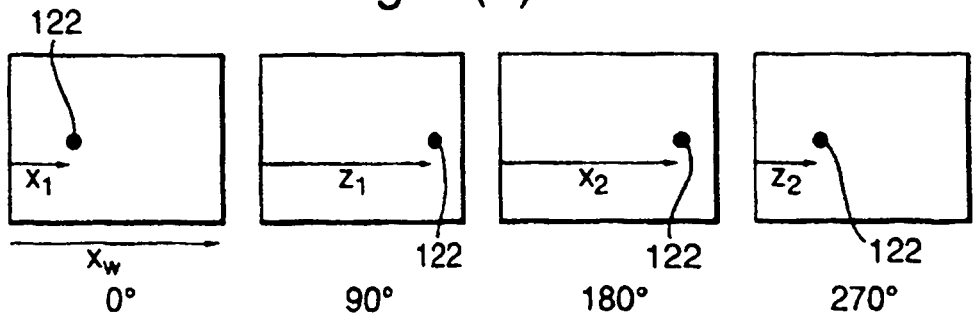

Fig.11(b)

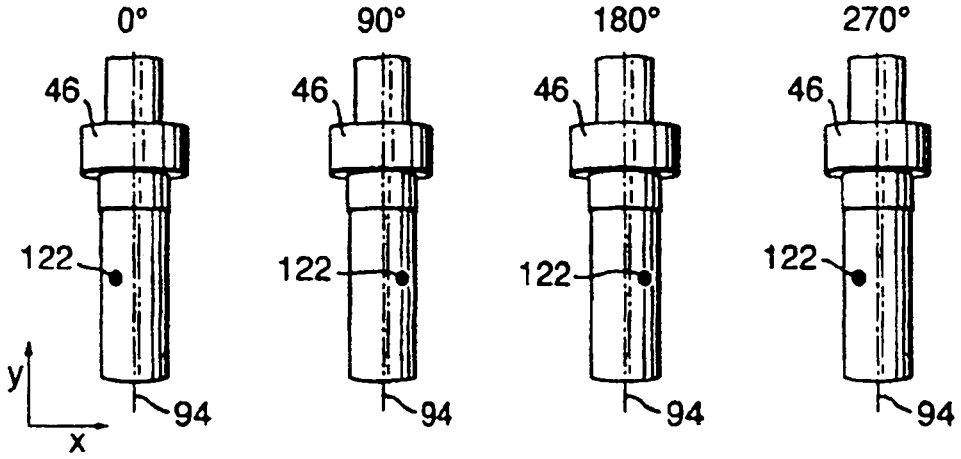

Fig.11(c)

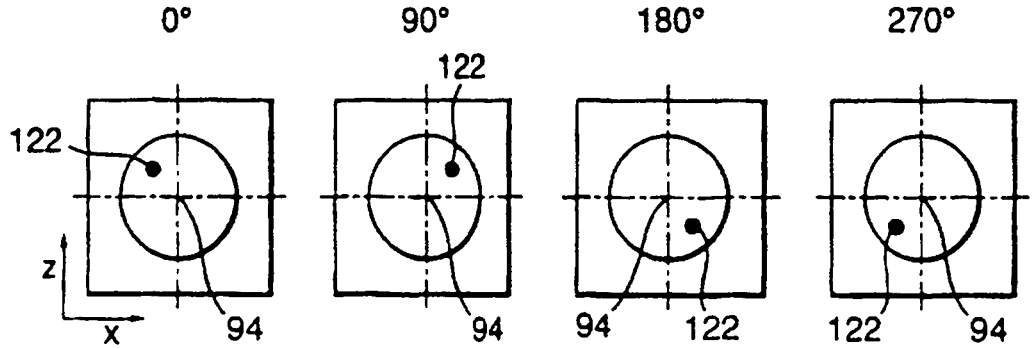

Fig.12(a)

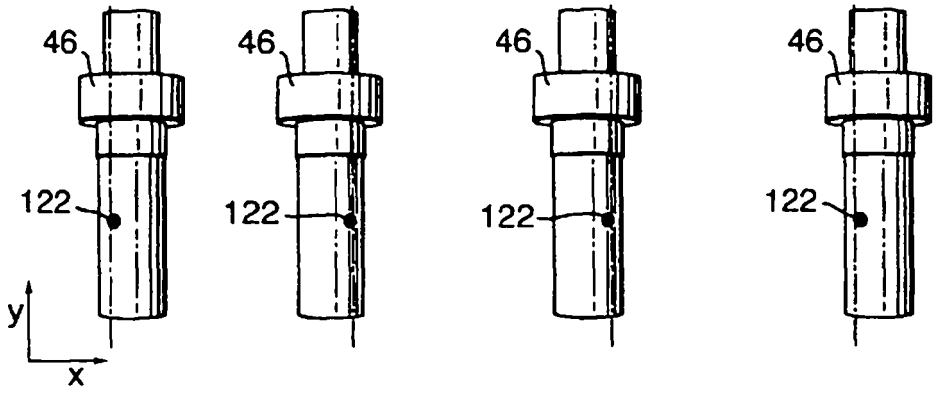

Fig.12(b)

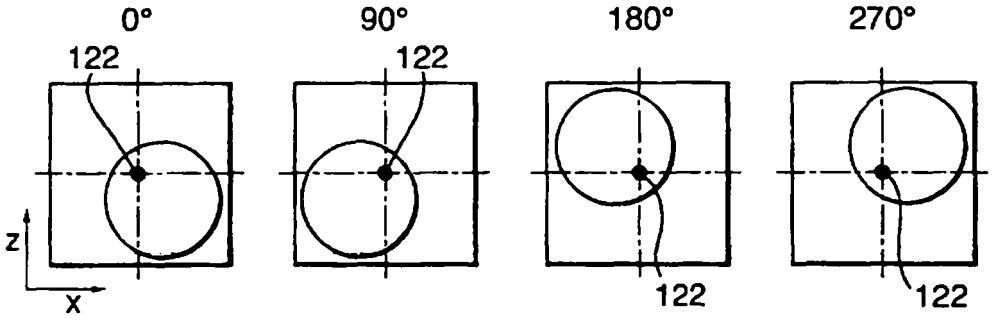

Fig.13(a)

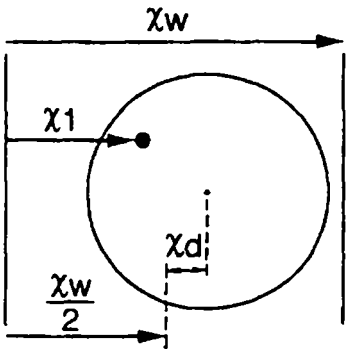

Fig.13(b)

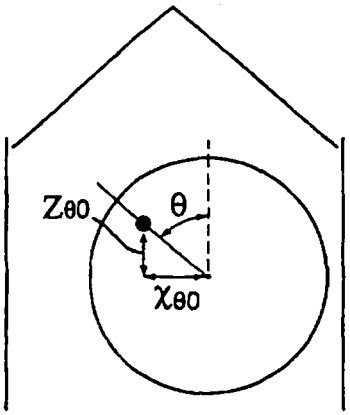

Fig.14.

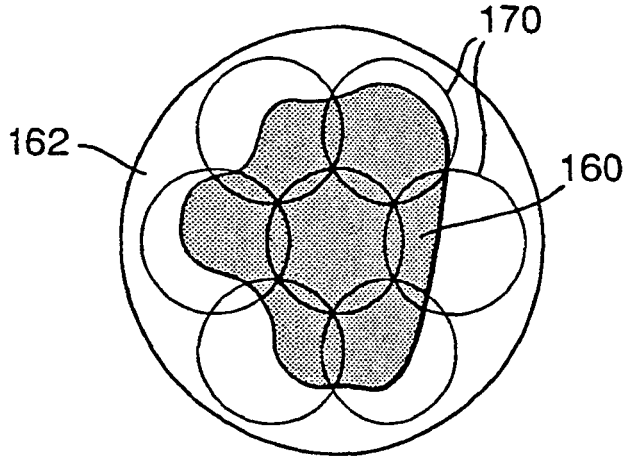

Fig.15.

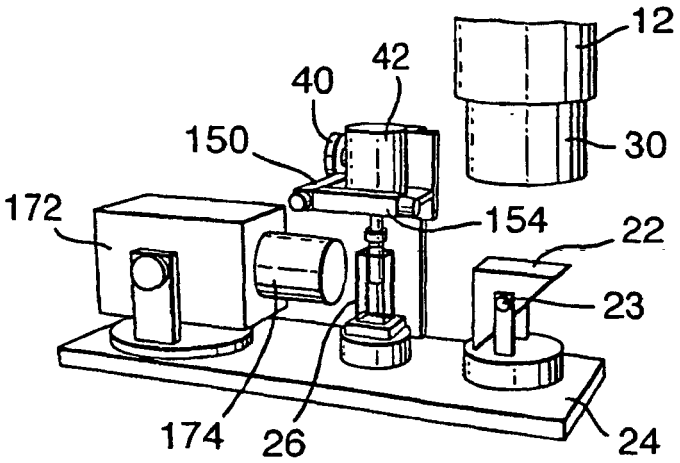

Fig.16.

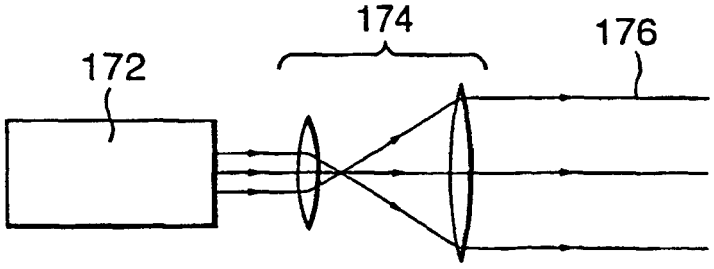

Fig.17.

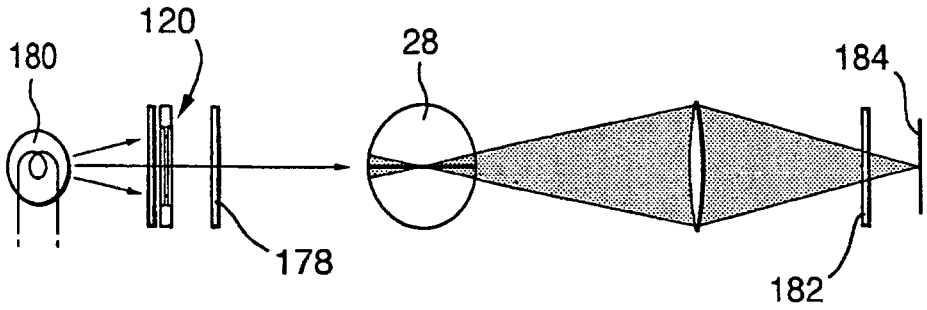

Fig.18.

