

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 542**

21 Número de solicitud: 201431232

51 Int. Cl.:

**G06T 5/00** (2006.01)

**G06T 7/00** (2006.01)

**G01N 33/483** (2006.01)

**A61B 10/00** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

**19.08.2014**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**19.02.2016**

88 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

**03.03.2016**

Fecha de la concesión:

**09.03.2017**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**16.03.2017**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS (80.0%)**  
**C/ Tulipán, S/N**  
**28933 MOSTOLES (Madrid) ES;**  
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES**  
**CIENTIFICAS (10.0%) y**  
**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID (10.0%)**

72 Inventor/es:

**GARCÍA LORENZO, Marcos;**  
**CORENTHY, Loïc;**  
**PASTOR PÉREZ, Luis;**  
**BENAVIDES-PICCIONE, Ruth;**  
**DE FELIPE OROQUIETA, Javier y**  
**SANTUY MUÑOZ, Andrea**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

54 Título: **MÉTODO DE RECONSTRUCCIÓN CON UN DISPOSITIVO HÁPTICO DE ESPINAS DENDRÍTICAS**

57 Resumen:

Método de reconstrucción con un dispositivo háptico de espinas dendríticas. En dicho método, a partir de una imagen tridimensional inicial de dichas espinas dendríticas, se realizan las siguientes etapas: (1) seleccionar un isovalor, (2) seleccionar con un dispositivo háptico dos puntos en dicha imagen tridimensional, (3) establecer un recorrido entre estos dos puntos e (4) incrementar con el dispositivo háptico los valores de intensidad de señal en los vóxeles situados alrededor de dicho recorrido y generar una imagen tridimensional final que contiene una completa reconstrucción de dichas espinas dendríticas.

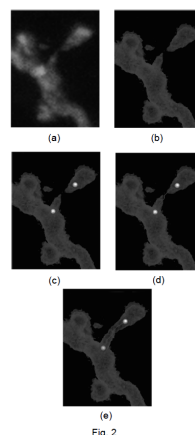


Fig. 2

ES 2 560 542 B2

**MÉTODO DE RECONSTRUCCIÓN CON UN DISPOSITIVO HÁPTICO DE ESPINAS  
DENDRÍTICAS**

**DESCRIPCIÓN**

5

**CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención está relacionada con las técnicas de imagen de neuronas y en particular con métodos para reconstruir espinas dendríticas. La presente invención se refiere  
10 en particular a un método de reconstrucción, en una imagen tridimensional, de espinas dendríticas, en el que dicha reconstrucción es realizada con un dispositivo háptico.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

15 Uno de los retos del siglo XXI es entender cómo las neuronas están estructuradas y mutuamente conectadas. En la corteza cerebral, el tipo de neurona más común es la célula piramidal. La superficie dendrítica de dichas células esta cubierta por profusiones muy finas llamadas espinas dendríticas (o simplemente espinas) que representan la meta de la mayoría de las sinapsis excitatorias en la corteza cerebral. Además, las espinas se  
20 consideran como estructuras fundamentales para el aprendizaje, la memoria y la cognición. Por consiguiente, hay un interés considerable en obtener medidas precisas de la estructura de las espinas.

Técnicamente, las espinas podrían ser reconstruidas con precisión utilizando un dispositivo  
25 de microscopia electrónica. Sin embargo, es un proceso difícil y que requiere mucho tiempo, haciendo desafiante la obtención de un gran número de medidas. En lugar de ello, otras técnicas más sencillas de microscopia, a pesar de sus niveles de resolución menores, siguen siendo las más utilizadas para obtener información espacial de gran escala. La inyección intracelular en el tejido cerebral es un método potente para la visualización de la  
30 morfología de neuronas piramidales. Las células marcadas son reconstruidas utilizando pilas de imágenes de microscopia confocal de alta resolución procesadas con programas comerciales actualmente disponibles. Sin embargo, es relativamente común que los cuellos de las espinas dendríticas sean tan finos que su tamaño llega al límite de resolución de las técnicas de microscopia.

35

En general, es necesario que los datos volumetricos obtenidos utilizando la metodología previamente descrita pasen por un proceso de segmentación para obtener información semántica interpretable y útil. Un proceso de segmentación se refiere al proceso estableciendo una relación entre regiones de la imagen 3D y su significado. Los procesos de segmentación se categorizan de totalmente automáticos a completamente manuales dependiendo del grado de intervención de un usuario. Los metodos manuales dependen de la experiencia del usuario para garantizar la exactitud de los resultados pero consumen mucho tiempo y por consiguiente no son aptos para procesar una gran cantidad de datos. Al contrario, los metodos automaticos son capaces de procesar datos de tamaño muy considerables. Sin embargo, no son lo suficientemente robustos para garantizar resultados correctos con cualquier tipo de datos. Los métodos semi-automáticos se sitúan en el medio e intentan combinar las características deseables de las dos opciones antedichas. En general, los métodos semi-automáticos se aprovechan de la experiencia del usuario para controlar de manera interactiva un proceso automático.

#### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La imagen tridimensional de las espinas dendríticas se puede obtener mediante reconstrucción tridimensional de imágenes de microscopía confocal, para dicha reconstrucción tridimensional existen distintas herramientas de software disponibles en el estado de la técnica. Es relativamente frecuente que el cuello de las espinas sea tan fino que esté próximo al límite de resolución óptica de la microscopía confocal. El problema que plantea el estado de la técnica consiste en que en el volumen tridimensional de las espinas dendríticas, existen espinas dendríticas incompletas, cuya conexión a la dendrita no se puede visualizar correctamente. El método de la presente invención proporciona una solución al problema que plantea el estado de la técnica.

La presente invención simplifica y mejora la calidad de la reconstrucción de espinas incrementando localmente los valores de intensidad de fluorescencia de las espinas que no puedan ser reconstruidas con un método automático estándar. El procedimiento está dividido en 4 etapas como se detalla a continuación e ilustradas en la Figura 2.

- (1) seleccionar un isovalor,
- (2) seleccionar con un dispositivo háptico dos puntos en dicha imagen tridimensional,
- (3) establecer un recorrido entre estos dos puntos e

(4) incrementar con el dispositivo háptico los valores de intensidad de señal en los vóxeles situados alrededor de dicho recorrido y generar una imagen tridimensional final que contiene una completa reconstrucción de dichas espinas dendríticas.

- 5 En la etapa (1), el isovalor se selecciona para obtener una visualización adecuada de las estructuras neuronales e identificar las espinas que necesitan ser reconstruidas.

En la presente memoria, el término “isovalor” se refiere a valor de densidad (de fluorescencia) que caracteriza lo mejor posible la espina, referido más adelante como  $d_{iso}$ .

10

El uso de un dispositivo háptico de entrada proporciona una navegación 3D intuitiva y una interacción dinámica en un volumen de datos 3D.

- 15 En la etapa (4), los valores de intensidad de los vóxeles son valores normalizados que corresponden a la intensidad de fluorescencia obtenida en la adquisición de las imágenes con microscopia confocal.

Un vóxel es un término conocido por el experto en la materia y es una unidad mínima de un objeto tridimensional, en este caso, de una imagen tridimensional.

20

Una realización es el método de la invención, donde dicha imagen tridimensional inicial es una imagen tridimensional reconstruida a partir de imágenes de microscopía confocal.

- 25 Otra realización es el método de la invención, donde dicho dispositivo háptico tiene 6 grados de libertad (en traslación y rotación).

Otra realización es el método de la invención, donde en la etapa (3), dicho recorrido está constituido por nodos conectados por segmentos.

- 30 Otra realización es el método de la invención, donde en la etapa (4), dichos valores de intensidad de señal se incrementan multiplicando estos valores por una función de corrección.

- 35 La presente invención corresponde a un método semi-automático que permite restaurar espinas dendríticas con una intensidad de fluorescencia demasiado baja en su representación 3D proveniente de imágenes de microscopía. El objetivo es permitir una

reconstrucción completa y precisa. Este método se utiliza en un flujo de trabajo general de segmentación, tal como el presentado en la Figura 1, (c).

#### Navegación y selección del isovalor

5

En este metodo, el usuario puede navegar utilizando un dispositivo háptico tipo Phantom Omni de Sensable que ofrece 6 grados de libertad de entrada (translación y rotación) y 3 grados de libertad de salida (únicamente translación). A propósito de la entrada, un usuario puede navegar a través de los datos utilizando el *stylus*. Un usuario puede rotar los datos  
10 alrededor de un eje vertical utilizando la rotación guiñada del *stylus*. Es posible hacer zoom utilizando los botones en el *stylus*.

El usuario tiene que seleccionar un valor de densidad (de fluorescencia) que caracteriza lo mejor posible la espina (ver Figura 2, (b)). Estructuras coherentes en los datos son  
15 típicamente caracterizadas por una agrupación de puntos con valores de densidad similares. El valor seleccionado por el usuario corresponde al isovalor  $d_{iso}$ . El usuario puede seleccionar el isovalor utilizando el teclado (se puede ejecutar cada operación que requiere el uso del teclado con la interfaz gráfica también. Puede resultar muy poco práctico para un usuario tener que manipular a la vez el dispositivo háptico y un ratón. Por esta razón, la  
20 mayoría de las acciones de interacción se pueden ejecutar mediante un acceso directo del teclado.

#### Colocación de los puntos objetivos

25 Durante la segunda etapa del procedimiento, el dispositivo háptico se utiliza para colocar 2 puntos de conexión (los puntos objetivos) en la escena. Para ello, el usuario puede utilizar 2 modos de navegación háptica detallados: la navegación con tacto y la navegación restringida por completo. El primer modo implementa un algoritmo de renderizado háptico permitiendo al usuario tocar las diferentes estructuras correspondientes al isovalor  $d_{iso}$  en la  
30 escena. El segundo modo restringe la navegación sobre la superficie de la dendrita o de la espina. Este modo proporciona al usuario una sensación de estar “pegado” a cualquier elemento de la escena, e.g. una espina. Las pistas hápticas realzan la percepción de la forma de la dendrita y la espina. En efecto, los algoritmos de reconstrucción automáticos buscan, en varios casos, un pequeño residuo del cuello de la espina sobre la superficie de la  
35 espina o de la dendrita y lo utilizan como punto de inicio del proceso de reconexión. En este caso, los usuarios pueden sentir también esos residuos si existen y aprovechar esta

información para colocar mejor los puntos objetivos. Además, el modo de navegación restringido asegura que un usuario colocará los puntos objetivos sobre la superficie de un elemento neuronal mientras que si no tiene sus movimientos restringidos, puede colocar el punto objetivo fuera de la superficie (en realidad, los puntos objetivos no están colocados sobre la superficie porque tienen una posición discreta en la rejilla 3D. La navegación restringida asegura que la distancia entre el punto objetivo y la superficie es menor que un voxel).

### *Renderizado háptico volumetrico*

1) En el modo de navegación con tacto, cada isovalor esta asociado a una isosuperficie. Nuestro algoritmo restringe la posición del proxy fuera del volumen definido por la isosuperficie seleccionada. Como siempre en algoritmos basados en *proxy*, la fuerza de retroalimentación es proporcional a la distancia entre un proxy  $p_c$  y un *probe*  $p_d$  (es decir la posición sin restricciones del dispositivo háptico en la escena):

$$f = k(p_c - p_d) \quad (1)$$

donde k es una constante de rigidez.

El algoritmo utilizado en la presente invención busca de manera iterativa la siguiente posición del proxy a partir de su posición actual, minimizando la distancia entre  $p_c$  y  $p_d$ . En cada etapa del algoritmo, la isosuperficie está computada localmente y la distancia entre  $p_c$  and  $p_d$  se minimiza dentro del área que contiene el proxy actual. Para calcular localmente la isosuperficie, el voxel actual está dividido en tetraedros. La isosuperficie está construida linealmente interpolando los valores de densidad de los vértices de cada tetraedro. En cada tetraedro, las isosuperficies interpoladas están paralelas entre ellas. Esta propiedad facilita la fase de detección de colisiones. Además, una modificación continua del isovalor  $d_{iso}$  produce un cambio continuo de la isosuperficie. Esta característica es clave para la exploración de la escena volumétrica porque permite al usuario seleccionar libremente el isovalor que mejor representa los elementos neuronales en los datos volumétricos.

Para mejorar su robustez, este algoritmo utiliza una parte de Detección de Colisión Continua (DCC) con la rejilla de tetraedros al actualizar la posición del proxy. La DCC actualiza la posición del proxy, de manera iterativa, tetraedro por tetraedro, entre su posición actual y la

posición del probe. En cada tetraedro, el algoritmo verifica si la línea definida por el proxy y el probe  $l_{pp}$  intersecta con una porción local de la isosuperficie. En el caso negativo, la posición del proxy se actualiza en el punto de intersección entre el tetraedro actual y  $l_{pp}$ . En el caso positivo, los movimientos del proxy son retringidos sobre la isosuperficie mientras se minimiza su distancia al probe. Por consiguiente, el algoritmo no sólo toma en cuenta la isosuperficie en la posición del proxy sino en cualquier posición entre el proxy y el probe.

2) El modo de navegación con tacto permite navegar libremente a través de los datos volumétricos y tocar la isosuperficie actual. Sin embargo, cuando el probe se mueve fuera de la isosuperficie, la posición del proxy se actualiza a la misma posición que el probe y la retroalimentación háptica desaparece. Una pequeña modificación del algoritmo permite obtener un nuevo comportamiento – la navegación restringida por completo. La idea es restringir sobre la isosuperficie incluso cuando el usuario aleja el probe del elemento que esta “tocando”. Por consiguiente, el usuario no puede perder involuntariamente el contacto con la estructura con la cual está interactuando. Este nuevo comportamiento está implementado invirtiendo las restricciones definidas por la isosuperficie cada vez que el probe la cruce. En general, los valores de densidad en el volumen de datos incrementan hacia el centro de los elementos representados en la escena. Entonces, los voxels interiores a un elemento tienen un valor de densidad más alto que el isovalor. La orientación de las restricciones se actualiza en función de la posición del probe, dentro o fuera del elemento considerado. Esta relación está resumida en las ecuaciones siguientes.  $d_{pd}$  es la densidad interpolada en la posición del probe.

$$\begin{cases} d_{pd} > d_{iso} \Leftrightarrow \text{probe inside} \\ d_{pd} < d_{iso} \Leftrightarrow \text{probe outside} \end{cases} \quad (2)$$

### Creación de la polilínea uniendo los puntos objetivos

Una vez que los puntos objetivos están colocados, se computa una polilínea que les une. Esta polilínea equivale al eje medio del futuro cuello de la espina. El usuario puede crear una polilínea con un comando rápido del teclado. La polilínea consiste en una colección de nodos (posición discreta que corresponde a un voxel en los datos) conectados por segmentos lineales. La polilínea así creada es continua pero no es  $C^1$ . Para asegurar un rederizado háptico en tiempo real, se favoreció un algoritmo más rápido basado en segmentos lineales en vez de utilizar splines o similares para conectar los nodos. La

polilínea se computa utilizando el algoritmo de búsqueda de camino A\* presentado originalmente por Hart et al. (P. E. Hart et al. "A formal basis for the heuristic determination of minimum cost paths," Systems Science and Cybernetics, IEEE Transactions on, vol. 4, no. 2, pp. 100–107, 1968). El algoritmo ha sido adaptado a este problema.

5

El propósito general del algoritmo A\* es de encontrar, en un grafo, un camino con un coste mínimo, utilizando cualquier información relacionada con el problema. El camino resultante enlaza un nodo inicio  $n_s$  a un nodo final  $n_e$ . En este caso, un nodo corresponde a un voxel. Asumimos que  $f(n_i)$  representa el coste de un camino optimo, restringido de pasar por el

10

nodo actual  $n_i$ , desde  $n_s$  hasta  $n_e$ .  $f(n_i)$  se define como la suma de 2 partes

$$f(n_i) = g(n_i) + h(n_i) \quad (3)$$

donde  $g(n_i)$  es el coste de un camino optimo desde  $n_s$  hasta  $n_i$  y  $h(n_i)$  es el coste de un camino optimo desde  $n_i$  hasta  $n_e$ . Tenemos que proveer funciones de estimación para poder

15

calcular  $g(n_i)$  y  $h(n_i)$ . En este caso, se utilizará las funciones siguientes:

$$\begin{aligned} g(n_i) &= D(n_i, n_{i-1}) + g(n_{i-1}) + \alpha |1 - d_{n_i}| \\ h(n_i) &= D(n_i, n_e) \end{aligned} \quad (4)$$

20

donde  $n_{i-1}$  es el nodo que precede a  $n_i$  en el camino conectando  $n_s$  a  $n_i$  y  $d_{n_i}$  es la densidad del nodo  $n_i$ .  $\alpha$  es un coeficiente de peso cuyo valor depende de la escala del volumen de datos (el valor 80 funcionó en la mayoría de los casos probados).  $D(x,y)$  mide la distancia euclidiana entre  $x$  y  $y$ .

25

Hemos personalizado la implementación original de la función de coste  $g$  añadiendo el factor  $\alpha \cdot |1 - d_{n_i}|$  que penaliza los nodos con un valor de densidad bajo. En efecto, el camino tiene que pasar por los nodos con el mayor valor de densidad para poder representar la línea central del cuello reconstruido.

30

Por otra parte, en la presente versión del algoritmo A\*, todos los nodos que forman parte del camino final tienen que cumplir con los criterios siguientes:

$$criteria(n_{i-1}, n_i) : \begin{cases} d_{n_i} > T_{C1} \\ |d_{n_{i-1}} - d_{n_i}| < T_{C2} \end{cases} \quad (5)$$

El primer criterio evita los nodos con un valor de densidad muy bajo que se consideran como ruido. Por lo tanto, todos los nodos del camino tienen que tener un valor de densidad superior a un valor umbral  $T_{C1}$ . El segundo criterio penaliza las direcciones con un gradiente alto, es decir, que la diferencia entre 2 nodos consecutivos tiene que ser inferior a un valor umbral  $T_{C2}$ . Este último criterio impide al camino de ir hacia los bordes de la estructura reconstruida, dichos bordes siendo caracterizados por gradientes altos. Se ha utilizado los valores por defecto  $T_{C1} = 0.002$  y  $T_{C2} = 0.5$  en la mayoría de los casos probados. Un usuario puede refinar los valores de  $\alpha$ ,  $T_{C1}$  y  $T_{C2}$  para ajustar el camino como deseado.

### Reconstrucción completa mediante una edición háptica

La última etapa del método consiste en editar los valores de densidad de los vóxeles situados alrededor de la polilínea. La idea es incrementar el valor de densidad de los vóxeles seleccionados para reconstruir la espina entera. El objetivo no es reemplazar los datos con valores de densidad arbitrarios sino recuperar los valores que son demasiado bajos. Estos valores son multiplicados por una función de corrección de densidad. Los movimientos del usuario en la zona de edición y el control del proceso de edición se realizan ambos con el dispositivo háptico de manera integrada. Los movimientos del usuario están hápticamente restringidos a lo largo de la polilínea previamente creada. El usuario puede activar, mediante accesos directos del teclado, 2 modos de edición hápticos para reconstruir la espina:

- El modo global espesa la zona a lo largo de la polilínea entera incrementando los valores de densidad de todos los vóxeles alrededor de dicha polilínea al mismo tiempo.
- El modo local ajusta el espesor del cuello únicamente en una posición específica de la polilínea. El modo local está diseñado para refinar la edición primeramente realizada con el modo global si es necesario.

En ambos modos, el usuario ajusta el valor de la función de corrección de densidad simplemente tirando con el dispositivo háptico en una dirección ortogonal a la polilínea. La fuerza de retroalimentación atrae al dispositivo háptico hacia la polilínea durante la edición. Al mismo tiempo, cuando un usuario aleja el dispositivo háptico de la polilínea, la intensidad de la retroalimentación indica la intensidad de la edición.

El renderizado háptico asociado a una polilínea, la función de corrección de densidad y los 2 modos de edición están detallados a continuación.

### *Renderizado háptico asociado a una polilínea*

5

La navegación háptica a lo largo de la polilínea está implementada utilizando un algoritmo iterativo que restrinja los movimientos del proxy a lo largo de la polilínea mientras se siguen los movimientos del dispositivo háptico. El algoritmo se inicializa colocando el proxy en la posición más cercana al probe en la polilínea. La primera vez, se verifica la distancia entre cada segmento de la polilínea y el probe. Una vez el proxy colocado en la polilínea, la parte iterativa del algoritmo actualiza la posición del proxy utilizando un método de descenso de gradiente. En primer lugar, el proxy está colocado en su posición anterior  $\mathbf{p}_c^{\text{prev}}$  en la polilínea. Mientras la distancia entre el proxy y el probe disminuye, se actualiza su posición en la dirección de la abscisa curvilínea de la polilínea hacia el probe. El proxy alcanza su posición final cuando alcanza el primer mínimo local de la función de distancia  $D(\mathbf{p}_c, \mathbf{p}_d)$ .

15

A efectos prácticos, el uso de segmentos lineales simplifica mucho los cálculos. El algoritmo se inicializa definiendo el segmento activo como el que contiene  $\mathbf{p}_c^{\text{prev}}$ . En la primera etapa, el algoritmo calcula el punto  $\mathbf{P}_A$  del segmento activo que es el más cercano al probe. Se debe tener en cuenta 2 casos distintos:

20

1. Si  $\mathbf{P}_A$  no coincide con uno de los puntos extremos del segmento activo, se actualiza la posición del proxy a  $\mathbf{P}_A$  y el algoritmo termina.
2. Si  $\mathbf{P}_A$  coincide con uno de los 2 vértices que definen el segmento activo, se marca lo último como visitado y el segmento adyacente se convierte en el nuevo segmento activo. Hay que tomar en cuenta 2 subcasos:
  - a. Si el nuevo segmento activo ya ha sido visitado, el proxy se actualiza a la posición  $\mathbf{P}_A$  y el algoritmo termina.
  - b. Si no, el algoritmo sigue iterando desde la primera etapa, es decir calcular un nuevo punto  $\mathbf{P}_A$  en el segmento activo que es el más cercano al probe.

25

30

A propósito de los casos límites, cuando  $\mathbf{P}_A$  cae sobre un vértice de un segmento que no tiene vecino por un lado, la posición del proxy se actualiza en la misma posición que  $\mathbf{P}_A$  y el algoritmo termina.

35

### *Función de corrección de densidad*

Para poder incrementar los valores de densidad de los voxeles seleccionados, se les multiplica por el valor de una función de corrección de densidad  $\xi(r)$ . La variable  $r$  representa la distancia entre el voxel actualmente procesado y la polilínea,  $r = D(v, \text{polilínea})$ .  $\xi$  está diseñado de manera que si la distancia entre un voxel y la polilínea es inferior a un radio  $r_0$ , la densidad esta multiplicada por un valor constante, lo que permite preservar la dirección local del gradiente.  $\xi$  disminuye del valor  $\xi(r_0)$  en  $r_0$  hasta cero en  $r_1$ . Esa parte decreciente permite una transición suave en los bordes de la zona reconstruida. Los valores de densidad de los voxeles situados a una distancia mayor que  $r_1$  de la polilínea no son modificados.

La función  $\xi$  es una función radial y continua por trozos definida a continuación:

$$\xi: \begin{cases} \mathcal{R}^+ \rightarrow \mathcal{R}^+ \\ r \mapsto 1 + k_f \cdot \phi(r) \end{cases} \quad (6)$$

Durante la etapa de edición, un usuario controla hápticamente el coeficiente de peso  $k_f$  para ajustar la forma del cuello de la espina. La función  $\phi$  está definida a continuación.  $\phi$  depende de 3 parámetros discretos:  $r_0$  y  $r_1$  arriba citados y  $n$ .

$$\phi: \begin{cases} \mathcal{R}^+ \rightarrow \mathcal{R}^+ \\ r \mapsto \begin{cases} 1 & \text{si } r < r_0 \\ \left( \frac{r_1^2 - r^2}{r_1^2 - r_0^2} \right)^n & \text{si } r_0 \leq r < r_1 \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \end{cases} \quad (7)$$

Una pequeña diferencia entre  $r_0$  y  $r_1$  implica transiciones más abruptas. El exponente  $n$  controla la velocidad de decrecimiento de la función  $\phi$ . A efectos prácticos,  $r_1$  y  $n$  son útiles a la hora de editar las extremidades de la polilínea. En efecto, en dichas regiones, la función  $\xi$  tiende a incrementar los valores de densidad de voxeles que pertenecen a la cabeza de la espina o a la dendrita. Comparado con los voxeles del cuello, estos tienen típicamente valores de densidad más altos. El resultado puede ser un hinchado demasiado grande en esas regiones. Aumentar el valor de  $n$  permite reducir ese sobre hinchado cuando no es deseado. Los valores  $r_0 = 3$ ,  $r_1 = 7$  y  $n = 2$  han sido utilizados en la mayoría de los casos probados.

Los modos de edición hápticos pueden activarse siempre y cuando el proxy está restringido a desplazarse a lo largo de la polilínea. Un usuario especifica el valor del coeficiente  $k_f$  de la función de corrección de densidad tirando el dispositivo háptico fuera de la polilínea, en cualquier dirección radial.  $k_f$  es proporcional a la distancia entre el proxy y el probe, es decir proporcional a  $D(\mathbf{p}_c, \mathbf{p}_d)$ . En el modo de edición global, la posición del proxy en la polilínea no influye la edición. El modo de edición global sobrescribe los valores de densidad de todos los vóxeles cuya distancia a la polilínea es inferior a  $r_1$ . La fuerza de retroalimentación indica la intensidad del coeficiente de modificación  $k_f$  al usuario. A mayor valor del coeficiente, mayor fuerza.

El modo de edición local ha sido diseñado para permitir a un usuario refinar su edición con el modo global. Este modo afecta únicamente los vóxeles situados a proximidad del proxy. Asumimos que  $D^{(t)}(\mathbf{v}, \mathbf{p}_c)$  representa la distancia entre un voxel  $\mathbf{v}$  y la posición actual del proxy  $\mathbf{p}_c$  en un instante  $t$ . Los vóxeles modificados son los que verifican las siguientes condiciones:

$$D^{(t)}(\mathbf{v}, \mathbf{p}_c) < r_1 \quad (8)$$

$$\beta \cdot D^{(t)}(\mathbf{v}, \mathbf{p}_c) < D^{(t)}(\mathbf{v}, \mathbf{p}_c), \forall i \in [0, t-1] \quad (9)$$

Donde  $\beta$  es una constante cerca pero inferior a 1 utilizada para evitar errores de redondeo. En el modo de edición local, el radio utilizado en la función  $\xi$  ya no corresponde a la distancia entre un voxel  $\mathbf{v}$  y la polilínea sino a la distancia entre  $\mathbf{v}$  y el proxy, es decir  $r = D^{(t)}(\mathbf{v}, \mathbf{p}_c)$ . Esas 2 condiciones sobre  $D^{(t)}(\mathbf{v}, \mathbf{p}_c)$  definen una región de selección alrededor del proxy. La forma de esta región varía entre una esfera y una banda estrecha, centrada en la posición del proxy y orientada en una dirección radial con respecto a la polilínea. Esas regiones son ilustradas en la Figura 4. En el modo de edición local, el coeficiente  $k_f$  ya no corresponde simplemente a la distancia entre el probe y el proxy. Para poder refinar la edición, el dispositivo háptico se usa para incrementar o disminuir los valores de  $k_f$  previamente aplicadas, en función de la dirección en la cual el usuario está tirando el stylus del dispositivo háptico. Una flecha indicando la dirección para incrementar el valor de  $k_f$  se muestra en la pantalla. Esta flecha representa visualmente a un vector  $\mathbf{S}_A^\perp$  que está siempre ortogonal a la polilínea y al plano de proyección de la pantalla (ver Figura 4). Para disminuir el valor de  $k_f$ , el usuario tiene que tirar el stylus en la dirección contraria a la flecha mostrada.

El control háptico de la intensidad en el modo de edición local tiene que ser lo más fluido posible. En el caso del modo de edición local, una interacción fluida requiere que el usuario

manipule el dispositivo háptico con la habilidad suficiente para poder disociar los movimientos relacionados con la selección de la zona local de edición y los movimientos relacionados con el refinamiento del valor de  $k_f$ . La experiencia demuestra que los usuarios novatos intentando actuar sobre el valor de  $k_f$  tienden a desplazar también, sin querer, el proxy a lo largo de la polilínea. El resultado es que el usuario está editando una región errónea del cuello con un falso valor de  $k_f$ . Para evitar esta situación indeseable pero manteniendo la fluidez de la interacción, la posición del proxy se actualiza a lo largo de la polilínea sólo cuando el probe está cerca de la polilínea. Cuando un usuario desplaza el dispositivo háptico fuera de una zona de navegación, el algoritmo interpreta su movimiento como un refinamiento del valor de  $k_f$  y el proxy no se mueve. La región de navegación corresponde a una región en forma de cilindro de radio  $r_x$  alrededor de la polilínea. Cuando el probe se desplaza dentro de la región de navegación, el valor de  $k_f$  no se actualiza. Asumimos que  $D_{out} = D(\mathbf{p}_c, \mathbf{p}_d) - r_x$  representa la distancia desde el límite de la región de navegación hasta el probe y  $\mathbf{p}_p = \mathbf{p}_c - \mathbf{p}_d$  un vector orientado desde el probe hacia el proxy.

El modo de edición local calcula el valor de  $k_f$  al instante  $t$  como:

$$k_f^{(t)} = \begin{cases} k_f^{(t-1)} + \gamma \cdot D_{out} & \text{si } \mathbf{p}_p \cdot \mathbf{S}_A^\perp \geq 0 \text{ y } \|\mathbf{p}_p\| > r_x \\ k_f^{(t-1)} - \gamma \cdot D_{out} & \text{si } \mathbf{p}_p \cdot \mathbf{S}_A^\perp < 0 \text{ y } \|\mathbf{p}_p\| > r_x \\ k_f^{(t-1)} & \text{sino} \end{cases} \quad (10)$$

Donde  $\gamma$  es un escalar positivo utilizado para enfatizar el incremento (la disminución) de  $k_f^{(t)}$ . Su valor incrementa (disminuye) sumando (sustrayendo) un valor proporcional a la distancia entre la posición actual del probe y el límite de la región de navegación. Más el usuario tira sobre el stylus del dispositivo háptico, más rápido aumenta (disminuye) el valor de  $k_f^{(t)}$ .

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

25

Fig. 1.

(a) Soma y dendrita de una neurona piramidal. El término “Dendrites” significa dendritas, el término “Spines” significa “espinas”.

(b) Imagen ampliada para mostrar 2 ejemplos de espinas dendríticas, una reconstruida adecuadamente con los métodos automáticos actualmente disponibles (SP1), mientras que el cuello de la otra espina (SP2) es apenas visible por culpa de un valor de fluorescencia muy bajo. El término “Spine neck” significa cuello de la espina, el término “dendrite” significa dendrita.

30

(c) Flujo de trabajo general y etapas de procesamiento claves de la segmentación de neuronas. Las distintas etapas son divididas en subtarear que no están representadas. El procedimiento introducido con la invención es un procedimiento complementario de la etapa de procesamiento de imágenes que facilitará la etapa de segmentación de la espina.

5

Fig. 2.

(a) Imagen original de confocal.

(b) Espina dendrítica que no puede ser completamente reconstruida con los métodos automáticos de las herramientas 3D actualmente disponibles.

10 (c) Colocación de los puntos objetivos (esferas azules).

(d) La línea roja representa la polilínea enlazando los 2 puntos objetivos.

(e) La espina está completamente reconstruida.

Fig. 3.

15 Ilustración de la función de corrección de densidad con varios valores del parámetro  $n$  ( $n = 2, n = 4, n = 8$ ).

Fig. 4.

20 (a) Ilustración 2D de los vóxeles seleccionados con las inecuaciones (8) y (9). La rejilla representa los vóxeles. En esta secuencia, el proxy se mueve de  $\mathbf{p}_c^1$  a  $\mathbf{p}_c^5$ . A cada actualización de la posición del proxy, la región correspondiente a los vóxeles seleccionados alrededor del proxy está colorada.  $\mathbf{T}$  representa un nodo final de la polilínea. Debido al hecho que el proxy no puede ir más allá que el punto  $\mathbf{T}$ , las condiciones en las inecuaciones (8) y (9) corresponden a una zona circular.

25 (b) Ilustración de la interacción con el modo de edición local. La flecha roja representa el vector  $\mathbf{S}_A^\perp$  and la esfera azul representa la posición del probe. En el primer caso, tirar el stylus del dispositivo háptico en la dirección de la flecha incrementa el valor de  $k_f$ . En el segundo caso, tirar en la dirección opuesta disminuye el valor de  $k_f$ . El término "Increase" significa aumentar, el término "Decrease" significa disminuir.

30 (c) La línea negra representa la polilínea. La región de navegación corresponde a la región naranja entre la polilínea y la línea de puntos. Cuando el probe (en verde) se desplaza desde  $\mathbf{p}_{nav}^1$  hasta  $\mathbf{p}_{nav}^2$  dentro de la región de navegación, la posición del proxy (en rojo) se actualiza de  $\mathbf{p}_{nav}^1$  a  $\mathbf{p}_{nav}^2$  en la polilínea pero el valor de  $k_f$  no se actualiza. Cuando el probe se desplaza desde  $\mathbf{p}_{sel}^1$  hasta  $\mathbf{p}_{sel}^2$  fuera de la región de navegación, el proxy se queda en la  
35 posición  $\mathbf{p}_{sel}^{1,2}$  y el valor de  $k_f$  se actualiza como descrito en la ecuación (10).

Fig. 5.

(A) Imagen de microscopia confocal de una neurona piramidal de la capa intracelular III inyectada de un humano para ilustrar las espinas a lo largo de toda la longitud de la dendrita, desde el soma hasta la punta.

5 (B) Imagen ampliada del segmento de dendrita resaltado en A.

(C) Misma dendrita que en A después de aplicar el procedimiento de edición háptica para restaurar las espinas con un valor de intensidad de fluorescencia demasiado bajo.

(D) Combinando las imágenes B y C, se muestra la localización relativa de los valores de intensidad de fluorescencia demasiados bajos ya restaurados.

10 (E) – (G) Estimación del volumen de las espinas mostradas en (B – D).

(H) – (I) Reconstrucción manual en 3D de la morfología de cada espina utilizando el programa “Imaris”.

(J) Estimación del volumen de las espinas utilizando el programa “Filament tracer” de “Imaris”. Barra de escala (en J): 8,5 micrometros en A y 2 micrometros en (B – J)

15

#### MODOS DE REALIZACIÓN PREFERENTE

Se evaluaron espinas dendríticas de neuronas piramidales inyectadas en intracelular a lo largo de toda la longitud de la dendrita, desde el soma hasta la punta (Figura 5). Para eso, las espinas fueron primeramente reconstruidas a partir de la imagen original (Figura 5, A y 4, B) utilizando un programa comercial de reconstrucción 3D (“Imaris, Bitplane”). Utilizando esta herramienta, ha sido posible reconstruir completamente aproximadamente el 80% de las espinas (n = 210), mientras las restantes (n = 43), fueron sólo parcialmente reconstruidas (Figura 5, E y 4, H).

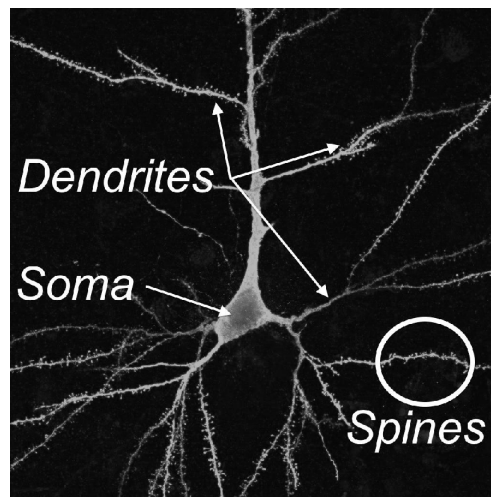
25

Utilizando el procedimiento de la invención, fuimos capaces de editar localmente los valores de densidad de fluorescencia demasiado bajos en esas 43 espinas restantes (Figura 5, C y 4, D). Usamos de nuevo el programa Imaris para evaluar estas espinas. Como se puede ver en las Figuras 5, F y 5, G, las espinas están totalmente reconstruidas. La Figura 5, I ilustra como el módulo Filament tracer de Imaris, que se destina a resolver el problema de las espinas desconectadas, no captura correctamente la morfología de las espinas, aunque aproxime su volumen bastante bien. Por consiguiente, se demostró la complementariedad del procedimiento de la invención con las otras herramientas comerciales actualmente disponibles.

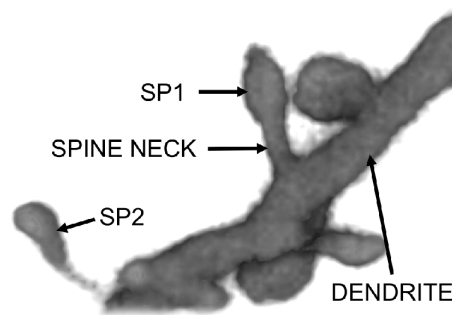
35

## REIVINDICACIONES

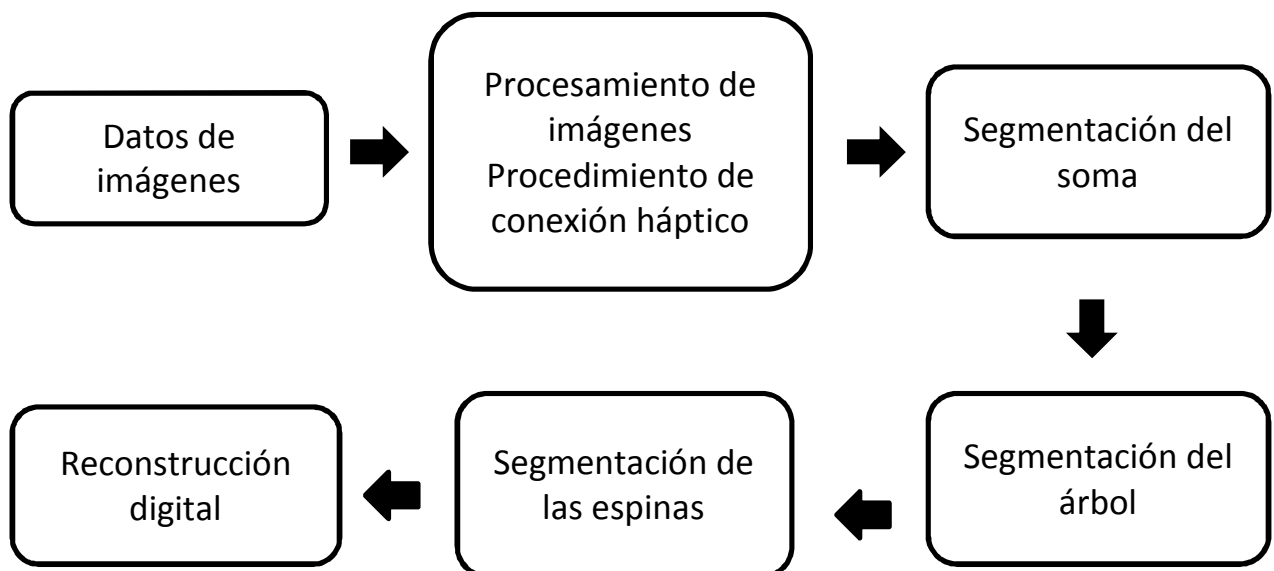
1. Método de reconstrucción de espinas dendríticas a partir de una imagen tridimensional inicial de dichas espinas dendríticas, caracterizado por que comprende:
  - 5 (1) seleccionar un isovalor,
  - (2) seleccionar con un dispositivo háptico dos puntos en dicha imagen tridimensional,
  - (3) establecer un recorrido entre estos dos puntos e
  - (4) incrementar con el dispositivo háptico los valores de intensidad de señal en los vóxeles situados alrededor de dicho recorrido y generar una imagen tridimensional final
- 10 que contiene una completa reconstrucción de dichas espinas dendríticas.
2. Método según la reivindicación 1, caracterizado por que dicha imagen tridimensional inicial es una imagen tridimensional reconstruida a partir de imágenes de microscopía confocal.
3. Método según una de las reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado por que dicho dispositivo
- 15 háptico tiene 6 grados de libertad en traslación y rotación.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que en la etapa (3), dicho recorrido está constituido por nodos conectados por segmentos.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que en la etapa
- 20 (4), dichos valores de intensidad de señal se incrementan multiplicando estos valores por una función de corrección.



(a)

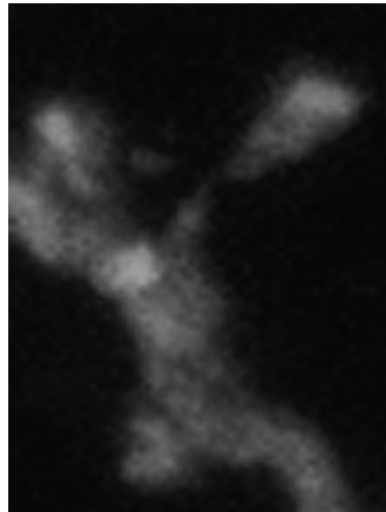


(b)

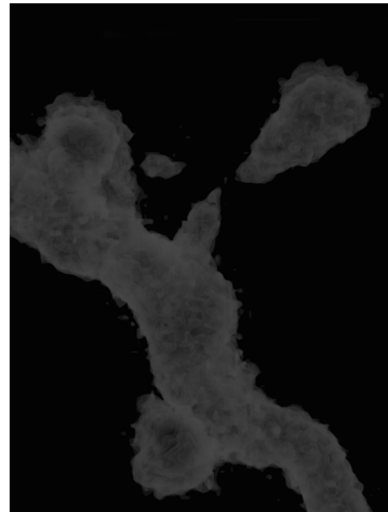


(c)

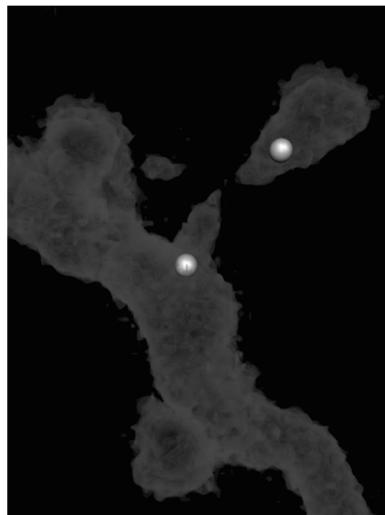
Fig. 1



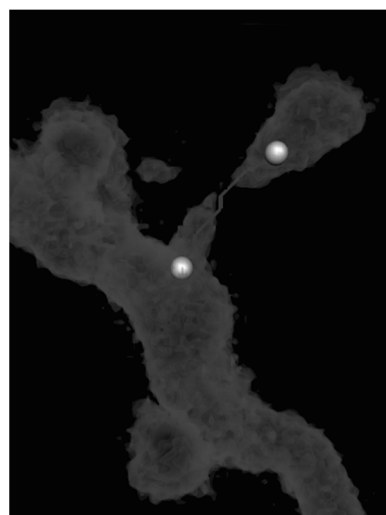
(a)



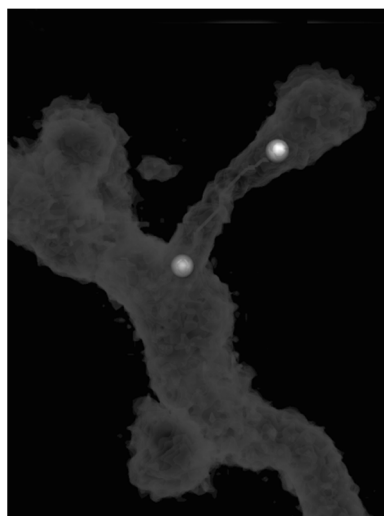
(b)



(c)



(d)



(e)

Fig. 2

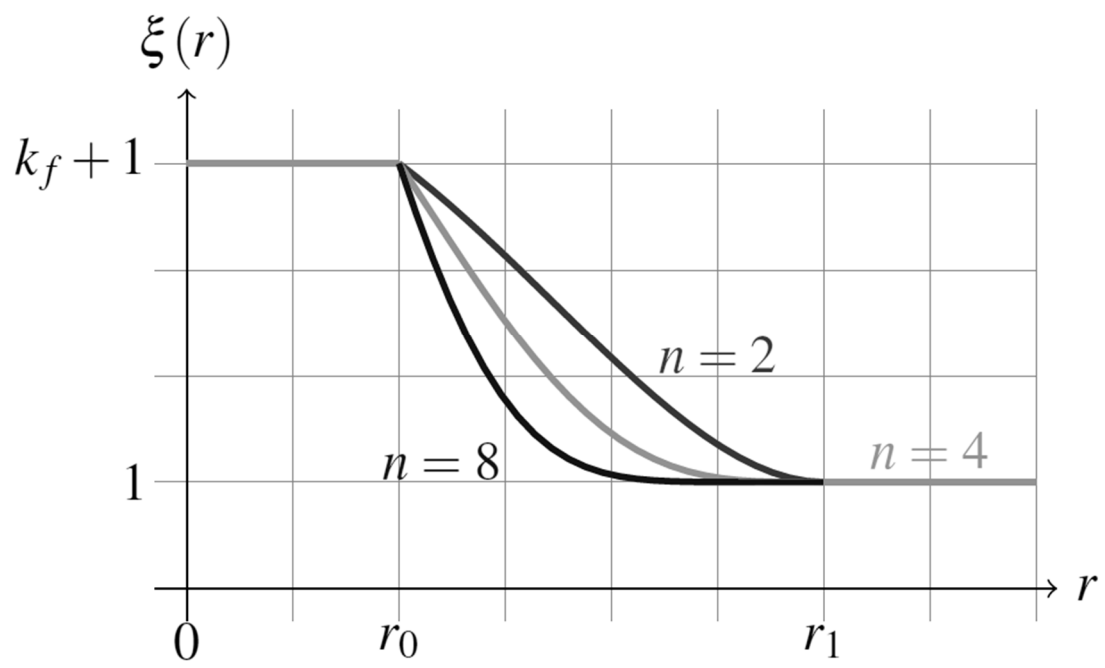
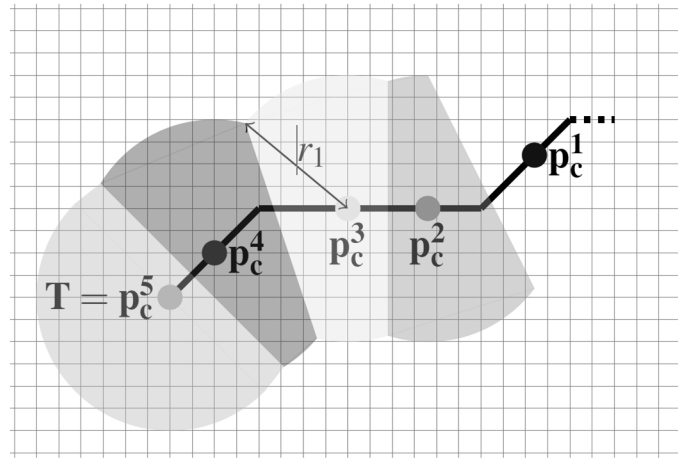
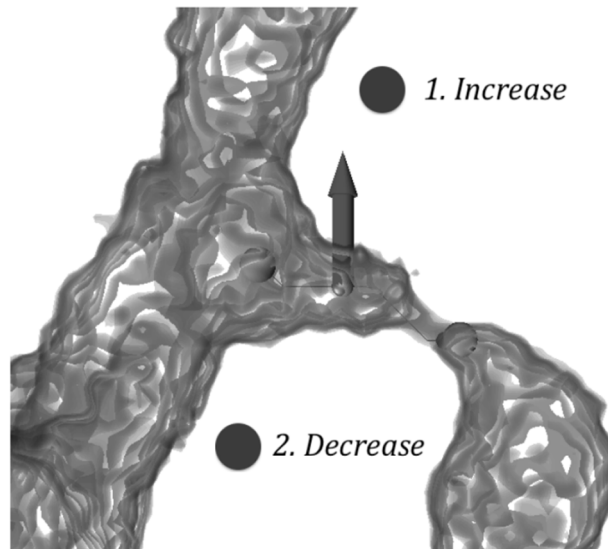


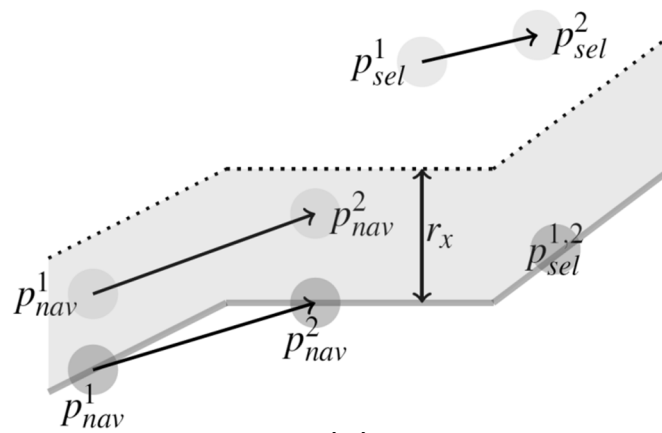
Fig. 3



(a)



(b)



(c)

Fig. 4

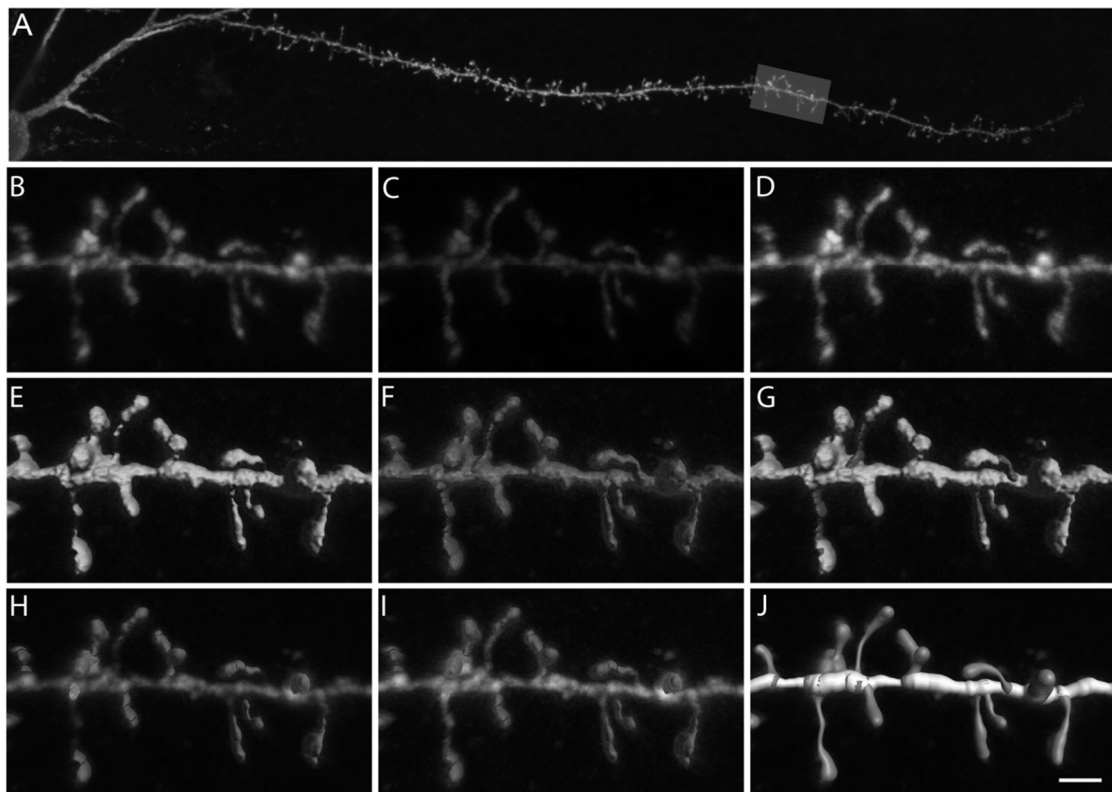


Fig. 5



②① N.º solicitud: 201431232

②② Fecha de presentación de la solicitud: 19.08.2014

③② Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados                                                                                                                                                                                                                              | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| A         | FERNÁNDEZ-SORIA L. et al. "3D dendritic spine automatic detection and segmentation through samples obtained by confocal microscopy", HPCS, 2012, IEEE, USA, páginas 699-702.                                                                       | 1-5                        |
| A         | ZHANG JIAN-MING et al. "Approach for automated segmentation and detection of dendrites and spines from fluorescence confocal image based on skeleton trees", Application Research of Computers, Enero 2012, China, Vol. 29, nº 1, páginas 340-343. | 1-5                        |
| A         | CORENTHY L. et al. "Volume haptic rendering with dynamically extracted isosurface", IEEE Haptics Symposium, 2012, USA, páginas 133-139.                                                                                                            | 1-5                        |
| A         | QING LI et al. "A surface-based 3-D dendritic spine detection from confocal microscopy", IEEE Transactions on Image Processing, Marzo 2012, USA, Vol. 21, nº 3, páginas 1223-1230.                                                                 | 1-5                        |
| A         | SHI PENG et al. "Automated three-dimensional reconstruction and morphological analysis of dendritic spines based on semi-supervised learning, Biomedical Optics Express, mayo 2014, USA, vol. 5, nº 5, páginas 1541-1553.                          | 1-5                        |
| A         | JANOOS F et al. "Robust 3D reconstruction and identification of dendritic spines from optical microscopy imaging", Medical Image Analysis, febrero 2009, Países Bajos, vol. 13, nº 1, páginas 167-179.                                             | 1-5                        |
| A         | MUKAI HIDEO et al. "Automated analysis of spines from confocal laser microscopy images: Application to the discrimination of androgen and estrogen effects on Spinogenesis", Cerebral Cortex, diciembre 2011, vol. 21, nº 12, páginas 2704-2711.   | 1-5                        |
| A         | ZHANG YONG et al. "A neurocomputational method for fully automated 3D dendritic spine detection and segmentation of médium-sized spiny neurons", Neuroimage, mayo 2010, vol. 50, nº4, páginas 1472-1484.                                           | 1-5                        |
| A         | ZHOU WENGANG et al. "3D dendrite reconstruction and spine identification", MICCAI, 2008, Alemania, vol.11, nº Pt2, páginas 18-26.                                                                                                                  | 1-5                        |
| A         | EP 2557525 A1 (INSTYTUT BIOLOGII DOSWIADCZALNEJ IM.M.NENCKLEGO PAN) 08.08.2011, párrafos 1,8-23.                                                                                                                                                   | 1-5                        |

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
23.02.2016

Examinador  
A. Cárdenas Villar

Página  
1/5



- ②<sup>1</sup> N.º solicitud: 201431232  
②<sup>2</sup> Fecha de presentación de la solicitud: 19.08.2014  
③<sup>2</sup> Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤<sup>1</sup> Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | ⑤ <sup>6</sup> Documentos citados                                                  | Reivindicaciones afectadas |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | WO 2006125188 A1 (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL) 23.11.2006, todo el documento. | 1-5                        |
| <p>Categoría de los documentos citados<br/>X: de particular relevancia<br/>Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría<br/>A: refleja el estado de la técnica</p> <p>O: referido a divulgación no escrita<br/>P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud<br/>E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud</p> |                                                                                    |                            |
| <p><b>El presente informe ha sido realizado</b><br/><input checked="" type="checkbox"/> para todas las reivindicaciones<br/><input type="checkbox"/> para las reivindicaciones nº:</p>                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                    |                            |
| Fecha de realización del informe<br>23.02.2016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Examinador<br>A. Cárdenas Villar                                                   | Página<br>2/5              |

## CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**G06T5/00** (2006.01)**G06T7/00** (2006.01)**G01N33/483** (2006.01)**A61B10/00** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G06T, G01N, A61B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INSPEC, NPL, BIOSIS, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 23.02.2016

**Declaración**

|                                                 |                  |     |           |
|-------------------------------------------------|------------------|-----|-----------|
| <b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>            | Reivindicaciones | 1-5 | <b>SI</b> |
|                                                 | Reivindicaciones |     | <b>NO</b> |
| <b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b> | Reivindicaciones | 1-5 | <b>SI</b> |
|                                                 | Reivindicaciones |     | <b>NO</b> |

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación                                                                                                                                                                                                               | Fecha Publicación |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| D01       | FERNÁNDEZ-SORIA L. et al. "3D dendritic spine automatic detection and segmentation through samples obtained by confocal microscopy", HPCS, 2012, IEEE, USA, páginas 699-702                                                                       |                   |
| D02       | ZHANG JIAN-MING et al. "Approach for automated segmentation and detection of dendrites and spines from fluorescence confocal image based on skeleton trees", Application Research of Computers, Enero 2012, China, Vol. 29, nº 1, páginas 340-343 |                   |
| D03       | CORENTHY L. et al. "Volume haptic rendering with dynamically extracted isosurface", IEEE Haptics Symposium, 2012, USA, páginas 133-139                                                                                                            |                   |
| D04       | QING LI et al. "A surface-based 3-D dendritic spine detection from confocal microscopy", IEEE Transactions on Image Processing, Marzo 2012, USA, Vol. 21, nº 3, páginas 1223-1230                                                                 |                   |
| D05       | SHI PENG et al. "Automated three-dimensional reconstruction and morphological analysis of dendritic spines based on semi-supervised learning, Biomedical Optics Express, mayo 2014, USA, vol. 5, nº 5, páginas 1541-1553                          |                   |
| D06       | JANOOS F et al. "Robust 3D reconstruction and identification of dendritic spines from optical microscopy imaging", Medical Image Analysis, febrero 2009, Países Bajos, vol. 13, nº 1, páginas 167-179                                             |                   |
| D07       | MUKAI HIDEO et al. "Automated analysis of spines from confocal laser microscopy images: Application to the discrimination of androgen and estrogen effects on Spinogenesis", Cerebral Cortex, diciembre 2011, vol. 21, nº 12, páginas 2704-2711   |                   |
| D08       | ZHANG YONG et al. "A neurocomputational method for fully automated 3D dendritic spine detection and segmentation of médium-sized spiny neurons", Neuroimage, mayo 2010, vol.50, nº 4, páginas 1472-1484                                           |                   |
| D09       | ZHOU WENGANG et al. "3D dendrite reconstruction and spine identification", MICCAI, 2008, Alemania, vol.11, nº Pt2, páginas 18-26                                                                                                                  |                   |
| D10       | EP 2557525 A1 (INSTYTUT BIOLOGII DOSWIADCZALNEJ IM.M.NENCKLEGO PAN)                                                                                                                                                                               | 08.08.2011        |
| D11       | WO 2006125188 A1 (THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL)                                                                                                                                                                                               | 23.11.2006        |

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La solicitud de patente en estudio tiene una reivindicación independiente, la nº 1, que contiene las diferentes etapas de un método de reconstrucción de espinas dendríticas a partir de una imagen tridimensional inicial de dichas espinas. Las reivindicaciones independientes se refieren a la imagen tridimensional inicial (R.2), al dispositivo háptico empleado (R.3), y a las características técnicas de varias etapas del método (R.4 – R.5).

En el estado de la técnica existen numerosos documentos (e.g. documentos de literatura no patente D01 - D09 y patentes D10 - D11) que describen técnicas de procesamiento y análisis de imágenes para la detección de espinas dendríticas. En estos documentos se puede encontrar, entre otras características, procedimientos de segmentación, procesamiento de imágenes obtenidas a partir de microscopia confocal y utilización de dispositivos hápticos.

Aunque en estos documentos se encuentran muchos aspectos relacionados con el objeto de la invención no se ha encontrado en ellos un método que reúna las características técnicas de las diferentes etapas reivindicadas en la solicitud y, por consiguiente, se ha considerado que no afectarían ni a la novedad ni a la actividad inventiva según lo especificado en los artículos 6 y 8 de la ley de Patentes.