

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 275**

51 Int. Cl.:

G01N 21/47 (2006.01)

G01N 15/10 (2006.01)

G01N 15/14 (2006.01)

G06T 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.04.2003 PCT/US2003/10901**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2003 WO03089959**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.04.2003 E 03721595 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.08.2016 EP 1496797**

54 Título: **Tomografía óptica de movimiento variable de objetos pequeños**

30 Prioridad:

19.04.2002 US 126026

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.11.2016

73 Titular/es:

**VISIONGATE, INC. (100.0%)
10220 S. 51st Street, Suite 2
Phoenix, AZ 85044, US**

72 Inventor/es:

NELSON, ALAN, C.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 592 275 T3

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).

DESCRIPCIÓN

Tomografía óptica de movimiento variable de objetos pequeños

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere, en general, a sistemas de formación de imágenes por tomografía óptica (OT) y, más en particular, a la tomografía óptica de movimiento variable (VOT) en la que el movimiento de un objeto pequeño, tal como, por ejemplo, un célula biológica, se controla mediante un sistema de movimiento mecánico cuyo movimiento no es necesariamente constante y/o unidireccional, sino que puede ser variable y multidireccional.

Antecedentes de la invención

El documento US 6522775 describe un aparato y un método para formar imágenes de objetos pequeños en una corriente de flujo usando la tomografía óptica (denominada en lo sucesivo en el presente documento diseño FOT), en el que el movimiento celular se realiza en una corriente de flujo, en el que las células en suspensión se mueven a una velocidad constante a lo largo del único eje de flujo de un tubo capilar. Las células biológicas que se han preparado para la citometría de flujo y se han tintado o marcado con sondas moleculares etiquetadas para el diagnóstico de una enfermedad específica se hacen fluir a través de un dispositivo cilíndrico que se proporciona para la imagen de proyección y permite la reconstrucción de información de densidad 2D y 3D a partir de trayectorias de rayos de proyección óptica aproximadamente en perpendicular al vector de flujo de la célula. Controlando la velocidad de la célula que fluye a lo largo de un eje, los planos 2D perpendiculares de la reconstrucción pueden localizarse (o apilarse) correctamente a lo largo del eje de la célula para crear una imagen 3D de toda la célula, o una imagen 3D de la célula puede calcularse directamente a partir de proyecciones de transmisión o de emisión ópticas 2D. Las células fluyen en fila de a uno a través del tubo capilar, de modo que se minimiza la superposición y el oscurecimiento de las células, y las células tienden a seguir el eje central del tubo capilar. El diseño FOT no se ocupa del caso más general en el que la velocidad y/o la dirección del movimiento de las células son variables.

El documento US 5447159 describe un sistema óptico de formación de imágenes que usa una señal óptica coherente de amplitud modulada para obtener datos de formación de imágenes para un espécimen que tiene propiedades dispersivas. Se proporciona un mecanismo que puede trasladar y/o hacer rotar una muestra después de cada medición para hacer que se tomen mediciones a través de diferentes porciones de la muestra. El documento US 5932428 describe un método para preparar una muestra de sangre para la clasificación y la enumeración de células en el que la sangre se introduce en una cámara de volumen o área de sección transversal conocida. Cada región de píxeles contiene diferentes cantidades de células marcadas y sin marcar. El documento US 6249341 describe un sistema para mover objetos o partículas con fines de análisis y de detección y, más específicamente, para analizar la morfología de los objetos en movimiento. El documento US 5068882 describe un sistema de tomografía computarizada 3D para reducir la cantidad de datos perdidos cuando se emplea una geometría de haces cónicos. El documento US 5694938 describe un método para realizar una tomografía computarizada en medios en los que el proceso de migración de fotones es difusivo.

Sumario de la invención

La invención proporciona un método para la reconstrucción tridimensional (3D) de un objeto de interés de acuerdo la reivindicación 1 y un sistema de acuerdo con la reivindicación 3. Más en general, un método descrito en el presente documento incluye la etapa de meter objetos de interés en un tubo. El tubo puede ser un recipiente lineal o un tubo capilar. Un objeto de interés, que puede ser una célula, se ilumina con al menos un haz de proyección óptico. El recipiente lineal se traslada hasta que el objeto de interés está localizado dentro de una región del al menos un haz de proyección óptico. El objeto de interés se centra según sea necesario y se hace rotar a través de una pluralidad de ángulos radiales para generar un conjunto de imágenes de proyección en cada ángulo radial de la pluralidad de ángulos.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra esquemáticamente una ilustración a modo de ejemplo de unas células introducidas en un tubo capilar como se contempla en una realización de la presente invención.
La figura 2 muestra esquemáticamente una ilustración a modo de ejemplo de un cilindro de reconstrucción por tomografía óptica como se contempla en una realización de la presente invención.
La figura 3 muestra esquemáticamente un ejemplo de un sistema para una tomografía óptica de movimiento variable (VOT) que no forma parte de la presente invención.
La figura 4 muestra esquemáticamente un ejemplo de un diagrama de flujo que ilustra una reconstrucción de imágenes tridimensional (3D) como se contempla en una realización de la presente invención.
La figura 5 muestra esquemáticamente un ejemplo que ilustra el uso de filtros de polarización y/o placas de fase en una reconstrucción de imágenes tridimensional (3D) que no forma parte de la presente invención.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

- La invención se describe en el presente documento con respecto a ejemplos específicos relacionados con células biológicas, sin embargo, se entenderá que estos ejemplos tienen el fin de ilustrar los principios de la invención, y que la invención no es tan limitada. En un ejemplo, la construcción de una distribución tridimensional de densidades de puntos e intensidades de emisión dentro de un volumen microscópico permite la medición de la densidad y la fluorescencia en cualquier lugar dentro del volumen microscópico y determina la localización de estructuras, moléculas o sondas moleculares de interés. Mediante el uso de sondas moleculares etiquetadas, puede medirse la cantidad de sondas que se unen a estructuras específicas en el objeto microscópico. Con fines ilustrativos, un objeto tal como una célula biológica puede marcarse con al menos una sonda molecular etiquetada, y la cantidad medida y la localización de esta sonda pueden producir información importante sobre el estado de enfermedad de las células, incluyendo, pero sin limitarse a, diversos tipos de cáncer tales como el cáncer de pulmón, de colon, de próstata, de mama, de cuello uterino y de ovarios, o agentes infecciosos.
- Haciendo referencia ahora a la figura 1, se muestra esquemáticamente una ilustración a modo de ejemplo de unas células introducidas en un tubo capilar como se contempla en una realización de la presente invención. En este ejemplo de realización, una sección del tubo capilar 3 se llena con las células 1 que se empaquetan rígidamente en el tubo. Cada una de las células puede incluir un núcleo 2. El tubo capilar 3 tiene un eje central 4 orientado con referencia a un sistema de coordenadas 6 que tiene las coordenadas en las direcciones x, y, y z. En algunos casos, al menos una sonda molecular 53 puede unirse dentro de la célula. Un ordenador 7 se acopla para proporcionar señales de control a un motor de rotación 5 y un motor de traslación 8. Se reconocerá que también pueden emplearse disposiciones equivalentes de uno o más motores, engranajes o medios fluidicos u otros medios de generación de movimiento para lograr el movimiento de traslación y de rotación necesario del tubo capilar u otro sustrato. En algunos casos, pueden reemplazarse uno o más de los motores por dispositivos de colocación manuales o engranajes o por otros medios de generación de movimiento, tales como medios hidráulicos o piezoeléctricos. El eje de traslación es el eje z, y la rotación es alrededor del eje z. El motor de colocación 9 se acopla para mover la célula en un plano definido por los ejes x, y, sustancialmente en perpendicular al eje central con fines de centrado, según sea necesario.
- Se reconocerá que la superficie curva del tubo capilar actuará como una lente cilíndrica y que este efecto de enfoque puede no ser deseable en un sistema de proyección. Los expertos en la materia apreciarán que puede eliminarse la flexión de los fotones por el tubo si los espacios entre la fuente puntual y el tubo y entre el tubo y las superficies de detector se llenan de un material 54 cuyo índice de refracción coincide con el del tubo capilar y que el tubo puede acoplarse ópticamente (con aceite o un gel, por ejemplo) al material de llenado de espacios.
- Considérese el presente ejemplo de células introducidas en un tubo capilar. Las células pueden meterse, preferentemente, en fila de a uno de manera que no se superpongan. La densidad de empaquetamiento de células enteras de aproximadamente 100 micrómetros de diámetro en un tubo capilar con un diámetro de menos de 100 micrómetros puede ser de aproximadamente 100 células por centímetro de longitud de tubo. Para núcleos desnudos de aproximadamente 20 micrómetros de diámetro, el empaquetamiento puede ser de aproximadamente 500 núcleos por centímetro de longitud de tubo, siendo el diámetro del tubo proporcional al tamaño del objeto, en este caso de aproximadamente 20 micrómetros. Por lo tanto, en varios centímetros de la longitud del tubo capilar, pueden meterse unos pocos miles de núcleos desnudos no superpuestos. Al trasladar el tubo a lo largo de su eje central 4, puede lograrse el movimiento en la dirección z. El movimiento del tubo en las direcciones x, y permite que los objetos dentro del tubo se centren, según sea necesario, en el cilindro de reconstrucción del sistema de tomografía óptica. Al hacer rotar el tubo alrededor de su eje central 4, puede producirse una multiplicidad de vistas de proyección radial. El movimiento del tubo en la dirección z a velocidad constante y sin rotación simula el caso especial de la tomografía óptica de flujo.
- Una ventaja de mover un tubo lleno de células que están de uno u otro modo estacionarias en el interior del tubo es que los objetos de interés pueden detenerse y, a continuación, hacerse rotar, a velocidades que permiten una exposición casi óptima para la tomografía óptica sobre una base de célula a célula. Es decir, puede mejorarse la relación señal a ruido de las imágenes de proyección para producir mejores imágenes de las que pueden producirse normalmente a una velocidad constante y la dirección habitual de los sistemas de flujo. Los objetos que no son de interés pueden moverse fuera del sistema de formación de imágenes con rapidez, con el fin de obtener la velocidad total en el análisis de células de interés en una muestra que consiste en una multitud de células. Además, la capacidad de detener un objeto de interés y, a continuación, hacerlo rotar, según sea necesario, para múltiples proyecciones, casi elimina las perturbaciones de movimiento. Aún más, el sistema de movimiento puede guiarse en movimientos submicrónicos y puede aplicarse ventajosamente de una manera que permite el muestreo de la célula a una resolución superior a la proporcionada por el tamaño de píxel del detector. Más específicamente, el factor de muestreo de Nyquist de 2 podría gestionarse por el sistema de movimiento que se mueve en incrementos que llenan, por ejemplo, la mitad de un ancho de píxel. De manera similar, el sistema de movimiento puede compensar el factor de llenado imperfecto del detector.
- Haciendo referencia ahora a la figura 2, se muestra esquemáticamente una ilustración a modo de ejemplo de un cilindro de reconstrucción por tomografía óptica como se contempla en una realización de la presente invención. Se

- muestra una configuración VOT con al menos una fuente puntual 10b dispuesta en ángulos fijos a lo largo de una circunferencia 11 en la pared de tubo. Al menos un detector 50b incluye al menos una superficie de detector 12, con las superficies opuestas a la al menos una fuente puntual 10b, dispuesta en una circunferencia más amplia en el mismo plano que las fuentes puntuales. Cada fuente puntual proyecta un haz cónico 13 sobre un área de detector 14, de tal manera que los conos proyectados no se superponen en el detector. Debe entenderse que podrían aceptarse otras geometrías de proyección, tales como aquellas que utilizan proyecciones de haces en abanico y haces de lápiz. Para simplificar la figura en aras de la comprensión, solo se ha mostrado un haz cónico, pero debe entenderse que cada fuente puntual proyecta un haz cónico diferente. El eje central de cada haz cónico se interseca con los ejes centrales de los otros haces cónicos en un punto central 15 en el medio del tubo o en el medio de la célula dentro del tubo, según sea el caso. Cada vez que el tubo se hace rotar un ángulo incremental deseado 16, mientras que la disposición de las fuentes puntuales y los detectores permanece fija, se recoge otro conjunto de proyecciones, generando de este modo un nuevo conjunto de proyecciones independientes en diferentes ángulos radiales, y así sucesivamente.
- 15 El ordenador 7 se acopla para transmitir datos, señales de control y señales de temporización a las fuentes puntuales 10b, los elementos de detección 12 y los motores. El ordenador puede comprender un ordenador conocido o una pluralidad de ordenadores y de procesadores matriciales adecuados para la adquisición de imágenes y el procesamiento de reconstrucción de imágenes.
- 20 El cilindro de reconstrucción en esta nueva configuración, puede diseñarse de manera más óptima en comparación con el diseño FOT. En particular, debido a que puede hacerse rotar el objeto de interés, un cilindro de reconstrucción puede diseñarse ventajosamente con un único par de fuente puntual y de detector que crea y captura la imagen de proyección (a veces conocida como shadowgram) en cada ángulo de rotación.
- 25 En el ejemplo de realización mostrado en la figura 2, un ejemplo de configuración VOT tiene nueve fuentes puntuales de fibra óptica dispuestas a veinte grados radiales de separación alrededor de una circunferencia en la pared de tubo. Las nueve superficies de detector opuestas están dispuestas en una circunferencia más amplia en el mismo plano que las fuentes puntuales. Cada fuente puntual proyecta un haz cónico sobre un área de detector, de tal manera que los conos proyectados no se superponen en el detector. El eje central de cada haz cónico se interseca con los ejes centrales de los otros haces cónicos en un punto central en el medio del tubo o en el medio de la célula dentro del tubo. Cada vez que el tubo se hace rotar un incremento de 2 grados se recoge otro conjunto de proyecciones, de manera que después de 10 rotaciones incrementales, se ha generado un total de 90 proyecciones independientes en cada incremento de 2 grados alrededor de 180 grados radiales de circunferencia. De manera similar, si el tubo que contiene el objeto de interés se centra y se hace rotar a través de veinte incrementos de un grado radial, entonces se crearían 180 imágenes de proyección únicas. Después de que se haya creado un número adecuado de proyecciones, la célula de interés o el tubo que contiene otras células de interés podrían trasladarse en la dirección z para adoptar una nueva perspectiva y repetir el proceso de recopilación de imágenes.
- 40 En este diseño, un semicírculo de fuentes puntuales igualmente espaciadas tienen unas matrices de detector opuestas situadas alrededor de un semicírculo opuesto, y todos los elementos del sistema de formación de imágenes están situados en el mismo plano central generalmente en perpendicular al eje de tubo. Sin embargo, las combinaciones de fuente puntual/detector no necesitan encontrarse en el mismo plano central, y las fuentes puntuales pueden espaciarse a intervalos desiguales e intercalarse ventajosamente entre las matrices de detector.
- 45 Como también se muestra en la figura 2, debido a la ilimitada naturaleza del tubo en la dirección z por encima y por debajo del círculo de las fuentes puntuales y los detectores que comprenden una zona de reconstrucción 51, puede ser útil colocar unas fuentes adicionales 10a, 10c y unos detectores adicionales 50a, 50c por encima y por debajo de la zona de reconstrucción 51 para generar imágenes para mejorar la precisión de la reconstrucción de imágenes computarizada. Téngase en cuenta que en una realización específica, la zona de reconstrucción puede comprender un plano definido por la colocación de un conjunto de fuentes puntuales y detectores. Estas configuraciones también se aplicarían al diseño del sistema de tomografía óptica de flujo (FOT).
- 50 Haciendo referencia ahora a la figura 3, se muestra un ejemplo de un sistema de tomografía óptica de movimiento variable (VOT) que no forma parte de la presente invención. Un diseño especialmente útil incluye la colocación de un anillo de fuentes puntuales 17b en un plano 18 localizado justo por encima o por debajo próximo a un anillo de detectores 19b localizado alrededor de un plano de detector 21, de tal manera que los conos de proyección se dirigen a sus superficies de detector respectivas y el centro de la célula 20 está localizado entre los dos planos en el punto en el que se superponen todos los conos de proyección. En esta configuración, la célula puede muestrearse alrededor de una circunferencia radial completa de 360 grados para lograr una reconstrucción de imágenes óptima, dado un número adecuado de pares de fuente puntual/detector, y como tal, no se requiere la rotación del tubo. De nuevo, puede ser útil colocar unos conjuntos adicionales de fuentes puntuales ópticas 17a, 17c y de detectores opuestos 19a y 19c por encima y/o por debajo de una zona de reconstrucción 52 para mejorar la precisión de la reconstrucción de imágenes computarizada. En el ejemplo de la figura 3, la zona de reconstrucción 52 está localizada por encima y/o por debajo del plano 18. Esta geometría también se aplica a la FOT.

En el ejemplo anterior, la reconstrucción de imágenes 3D se realiza usando imágenes de proyección 2D a partir de una geometría de haces cónicos. También es posible usar una geometría de haces en abanico, por lo que la imagen 3D se genera apilando imágenes planas contiguas reconstruidas a partir de proyecciones lineales (1D) usando algoritmos de reconstrucción de haces en abanico. Con la geometría de haces en abanico, la pluralidad de fuentes puntuales ópticas 10b que se alinean para emitir haces en abanico, junto con los detectores opuestos 12 montados alrededor de una circunferencia del tubo, pueden muestrear múltiples ángulos de proyección a través de toda la célula 1 a medida que se mueve más allá de las fuentes. Por lo tanto, una célula se secciona ópticamente con proyecciones a través de la célula que pueden reconstruirse para formar un corte 2D en el plano x-y. Apilando o combinando matemáticamente cortes secuenciales, surgirá una imagen 3D de la célula. La imagen 3D de la célula puede producir medidas cuantitativas de estructuras subcelulares y la localización y cantidad de sondas moleculares etiquetadas que proporcionan información de diagnóstico.

Fuente de luz

15 Cada fuente puede tener las mismas características generales, preferentemente:

- puede aproximar una pequeña fuente puntual circular para su uso en una geometría de haces cónicos,
- puede ser brillante, uniforme y con un contenido espectral conocido,
- los fotones emitidos desde la fuente pueden tener una geometría conocida, tal como un haz cónico o un haz en abanico.

Además, la longitud de onda de las fuentes puede seleccionarse o bien por el uso de diversos emisores de diodos u otros láseres o por el filtrado de paso de banda de una fuente de banda ancha blanca o de otro color, por ejemplo, una lámpara de arco de mercurio o de xenón.

25

Hay varias opciones que pueden emplearse para crear fuentes puntuales ópticas, tales como:

- una pequeña perforación enfrente de un láser u otra fuente de fotones de alta intensidad,
- una fibra óptica con una pequeña sección transversal y una pequeña abertura aparente,
- una lente de distancia focal corta enfrente de una fuente de fotones,
- un haz de electrones que irradia un punto en una superficie de fósforo (una forma de CRT), y
- diversas combinaciones de las anteriores.

30

La geometría es tal que, cuanto más cerca esté la fuente puntual del objeto de interés (la célula), mayor será la amplificación debido al ángulo geométrico más amplio que se subtiende por un objeto más cercano a la fuente. La amplificación en un sistema de proyección simple es aproximadamente $M = (A+B)/A$, donde A es la distancia entre la fuente puntual y el objeto (célula) y B es la distancia entre el objeto y el detector. A la inversa, si se conoce por adelantado la resolución requerida del diseño de sistema, entonces puede optimizarse la geometría para esa resolución específica. Para los antecedentes, los expertos en la materia se dirigen a Blass, M., editor jefe, Handbook of Optics: Fiber Optics and Nonlinear Optics, 2ª ed., Vol. IV, McGraw-Hill, 2001.

40

Haciendo referencia ahora a la figura 4, se muestra un ejemplo de un diagrama de flujo que ilustra una reconstrucción de imágenes tridimensional (3D) como se contempla en una realización de la presente invención. Como se contempla en un ejemplo de la presente invención, un proceso de reconstrucción de imágenes 3D incluye las etapas de cargar el tubo lleno con células en la etapa 31, trasladar el tubo hasta que la primera célula de interés se haya localizado en la etapa 32, centrar la célula de interés, según sea necesario, en la etapa 33, generar un conjunto de proyecciones en cada ángulo de rotación diferente en la etapa 34, determinar cuándo se ha completado el conjunto de datos en la etapa 35, y repetir el proceso de las etapas 32 a 35 hasta que se hayan analizado todas las células de interés. El proceso se detiene en la etapa 36. El proceso puede implementarse en un programa de software informático ejecutado por un ordenador personal tal como, por ejemplo, el ordenador 7.

50

Reconstrucción de imágenes

Los algoritmos de reconstrucción más habituales y fácilmente implementados, conocidos como métodos de retroproyección filtrada, se obtienen a partir de un paradigma similar en la tomografía de rayos X computarizada (CT) que usa una geometría de haces cónicos y de haces en abanico. (Véanse las siguientes referencias, por ejemplo, Kak, A.C. y Slaney, M., Principles of Computerized Tomographic Imaging, IEEE Press, Nueva York, 1988, y Herman, G., Image Reconstruction from Projections: The Fundamentals of Computerized Tomography, Academic Press, Nueva York, 1980). Estos métodos se basan en los teoremas para transformar el radón con modificaciones que reflejan la geometría específica de la configuración fuente/detector y las trayectorias de los rayos en el haz de irradiación. Sin embargo, en el caso de la CT de rayos X clínica, el sujeto humano se mantiene normalmente inmóvil mientras que la fuente de rayos X y las matrices de detector pueden moverse a lo largo de un arco o una hélice alrededor del paciente para recoger datos de múltiples ángulos de proyección. A continuación, el sujeto humano puede colocarse de nuevo a lo largo del eje z y se recoge otro conjunto de datos, etc. Como alternativa, en la CT helicoidal clínica más moderna, el paciente puede trasladarse de manera continua en la dirección z, mientras que el conjunto de fuente-detector rota de manera continua para proporcionar datos de proyección helicoidales, que a

60

65

continuación se interpolan para proporcionar proyecciones ortogonales al eje z de paciente.

En la tomografía óptica de flujo (FOT) y la tomografía óptica de movimiento variable (VOT), el objeto (una célula) se mueve en relación con las fuentes estacionarias y las matrices de detector, adquiriendo la pluralidad de sistemas de fuente/detector unos datos en sincronía con los puntos de tiempo seleccionados específicos a lo largo del vector de velocidad celular de una manera que genera múltiples datos de ángulo de proyección dentro de un corte o volumen determinado. Para el escaneado corte a corte usando un haz en abanico, el algoritmo de reconstrucción computará una imagen 2D de un plano perpendicular al eje de movimiento, y el apilamiento en serie de múltiples cortes generará la imagen 3D del objeto, siendo el contraste una función de las variaciones en el coeficiente de atenuación de rayos X o el coeficiente de absorción óptica como una medida de la densidad dentro del objeto para una CT o una tomografía óptica de flujo, respectivamente. Para el escaneado volumétrico de haces cónicos, el algoritmo de reconstrucción calcula una imagen 3D de un volumen dentro de la célula u otro objeto directamente a partir de las proyecciones ópticas de transmisión o de emisión planas, siendo el contraste una función de la densidad óptica y/o la distribución de densidad de sonda etiquetada dentro del objeto que se representa en forma de imágenes.

Puede ser deseable o bien que la transmisión de datos produzca la reconstrucción de densidad celular o que la emisión de datos (a partir de fuentes internas, si las hay) reconstruya la distribución de sondas marcadas, o ambos, para emplear algoritmos de reconstrucción de imágenes diferentes a la retroproyección filtrada. La clase general conocida como algoritmos de reconstrucción iterativa es más eficaz en algunos casos, especialmente para la tomografía de emisión o, cuando es posible, como en el caso de la presente invención en la que se conocen la simetría axial y la naturaleza tricompartmental de los objetos, para incorporar información a priori en el algoritmo de reconstrucción para mejorar la calidad de la reconstrucción (véase, por ejemplo, Gilbert, P., "Iterative Methods for the Three-dimensional Reconstruction of an Object from Projections", *Journal of Theoretical Biology* 36:105-17, 1972, y otras referencias indicadas anteriormente en el presente documento).

Haciendo referencia ahora a la figura 5, se muestra esquemáticamente un ejemplo que ilustra el uso de filtros de polarización (y/o una placa de fase) en una reconstrucción de imágenes tridimensional (3D) que no forma parte de la presente invención. Todos los algoritmos de reconstrucción de imágenes son vulnerables a diversas formas de ruido en los datos de proyección, tal como la dispersión y la difracción. La dispersión y la difracción de la luz pueden llegar a ser significativas en la tomografía óptica cuando la longitud de onda de los fotones de iluminación es del mismo orden que la resolución deseada dentro del objeto a reconstruir y cuando el objeto contiene estructuras que son del mismo orden en tamaño que la longitud de onda de iluminación. Las interacciones que pueden cambiar la polarización de fotones o provocar un desplazamiento de fase proporcionan una oportunidad para eliminar o reducir la contaminación de una imagen de proyección a través del uso de unos filtros de polarización y/o una placa de fase. Por ejemplo, si una fuente puntual 37 se filtra a través de un primer polarizador lineal 41, entonces se produce un primer rayo de luz polarizada 39 que incide en el objeto 42. Los rayos 40 representan unos fotones dispersados como resultado del primer rayo de luz polarizada 39 que incide sobre el objeto 42. Una superficie de un sensor 45, situado para detectar una imagen de proyección generada por la fuente puntual 37, se filtra de manera similar a través de un segundo polarizador lineal 43 que tiene la misma orientación que el primer polarizador lineal 41. Como se indica por los rayos 40, los fotones cuyo vector de polarización se ha desplazado se eliminarán de la detección. Al mismo tiempo, los rayos de luz no dispersada pasarán a través de ambos filtros de polarización, dando como resultado una porción de luz dispersada 44 que incide sobre el sensor 45. Para eliminar el desplazamiento de fase, una placa de fase 46 puede colocarse cerca del segundo polarizador lineal 43. De esta manera, puede reducirse de manera significativa el fondo de ruido debido a los desplazamientos en la polarización y la fase.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la reconstrucción tridimensional (3D) de un objeto de interés, que comprende las etapas de:

- 5 (a) meter (31) una pluralidad de células (1) en un tubo (3), en donde la pluralidad de células se introducen en fila de a uno de manera que no se superpongan y en donde las células están de uno u otro modo estacionarias en el interior del tubo;
- (b) iluminar al menos una célula de la pluralidad de células (1) con al menos un haz de proyección óptico (13);
- 10 (c) trasladar (32) el tubo (3) hasta que la al menos una célula esté localizada dentro de una región (15) del al menos un haz de proyección óptico (13);
- (d) centrar (33) la al menos una célula (1) según sea necesario;
- (e) hacer rotar (34) la al menos una célula (1) una pluralidad de ángulos radiales (16), en donde el movimiento del tubo (3) lleno de las células que están de uno u otro modo estacionarias en el interior del tubo permite su detención y, a continuación, su rotación, a una velocidad que permite la tomografía óptica sobre una base de
- 15 célula a célula;
- (f) generar (34) un conjunto de imágenes de proyección en cada ángulo radial (16) de la pluralidad de ángulos; y
- (g) repetir (35, 36) las etapas (b) a (f) hasta que se haya escaneado la pluralidad de células (1).

20 2. El método de la reivindicación 1, en el que el haz de proyección óptico se selecciona del grupo que consiste en haces en abanico y haces cónicos (13).

3. Un sistema de tomografía óptica de movimiento variable (VOT) que comprende:

- 25 un tubo (3) para contener una pluralidad de células (1) que tiene una pared de tubo y un eje central (4), estando el tubo configurado para contener la pluralidad de células introducidas en fila de a uno de manera que no se superpongan, y para contener de uno u otro modo las células estacionarias en el interior del tubo;
- una pluralidad de fuentes puntuales ópticas (10a, 10b, 10c) están dispuestas para proyectar luz alrededor de una circunferencia en la pared de tubo;
- 30 una pluralidad de superficies de detector opuestas (12) dispuestas en una circunferencia más amplia en el mismo plano que las fuentes puntuales (10a, 10b, 10c), para formar una zona de reconstrucción (51), de manera que cada fuente puntual (10a, 10b, 10c) proyecta un haz (13) sobre un área de detector (12) de tal manera que un haz no se superponga a otro en ninguna de la pluralidad de superficies de detector opuestas, y un eje central de cada haz se interseca con los ejes centrales de los otros haces dentro del tubo (3); y
- 35 un medio (8, 9), acoplado al tubo, para mover el tubo en un movimiento variable, en donde el movimiento del tubo lleno de células que están de uno u otro modo estacionarias en el interior del tubo permite su detención y, a continuación, su rotación, a una velocidad que permite la tomografía óptica sobre una base de célula a célula.

40 4. El sistema de la reivindicación 3, en el que el medio para el movimiento comprende un aparato de movimiento controlado por ordenador (7, 8, 9).

5. El sistema de la reivindicación 3, en el que el medio para el movimiento comprende un medio para hacer rotar (5) el tubo de tal manera que cada vez que se hace rotar el tubo mediante un valor de desplazamiento de rotación se recoge un conjunto de proyecciones.

45 6. El sistema de la reivindicación 3, en el que la pluralidad de fuentes puntuales ópticas (10a, 10b, 10c) comprende dos o más fuentes puntuales.

50 7. El sistema de la reivindicación 3, en el que un semicírculo de fuentes puntuales espaciadas tienen unas matrices de detector opuestas (50a, 50b, 50c) situadas alrededor de un semicírculo opuesto, estando las fuentes puntuales espaciadas (10a, 10b, 10c) y las matrices de detector opuestas (50a, 50b, 50c) situadas en el mismo plano central generalmente perpendicular al eje de tubo (4).

55 8. El sistema de la reivindicación 3 en el que la pluralidad de fuentes puntuales ópticas (10a, 10b, 10c) y la pluralidad de superficies de detector opuestas (12) se encuentran en el mismo plano, y la pluralidad de fuentes puntuales ópticas (10a, 10b, 10c) están intercaladas entre las matrices de detector.

9. El sistema de la reivindicación 3, en el que unos conjuntos adicionales de fuentes puntuales ópticas (10a, 10c) y detectores (50a, 50c) están situados por encima y/o por debajo de la zona de reconstrucción (51) para proporcionar

60 10. El sistema de la reivindicación 3 en el que el tubo (3) es un tubo capilar.

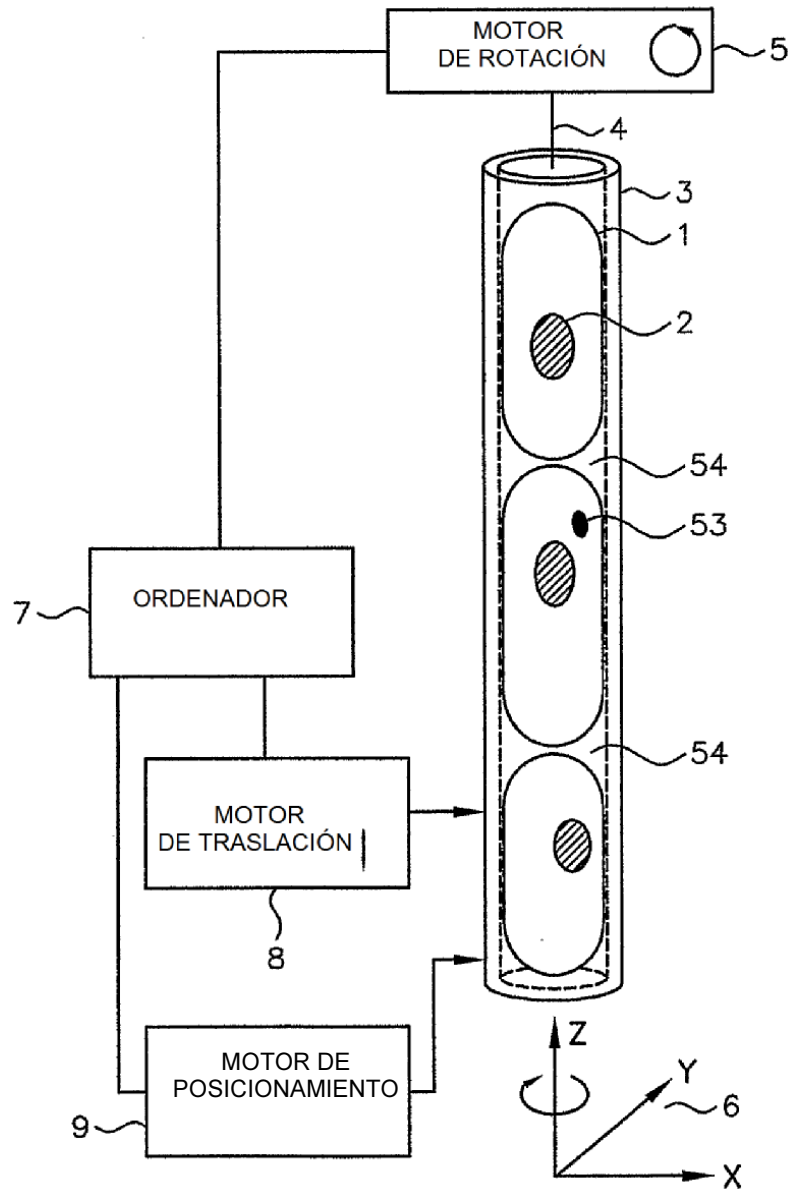


Fig-1

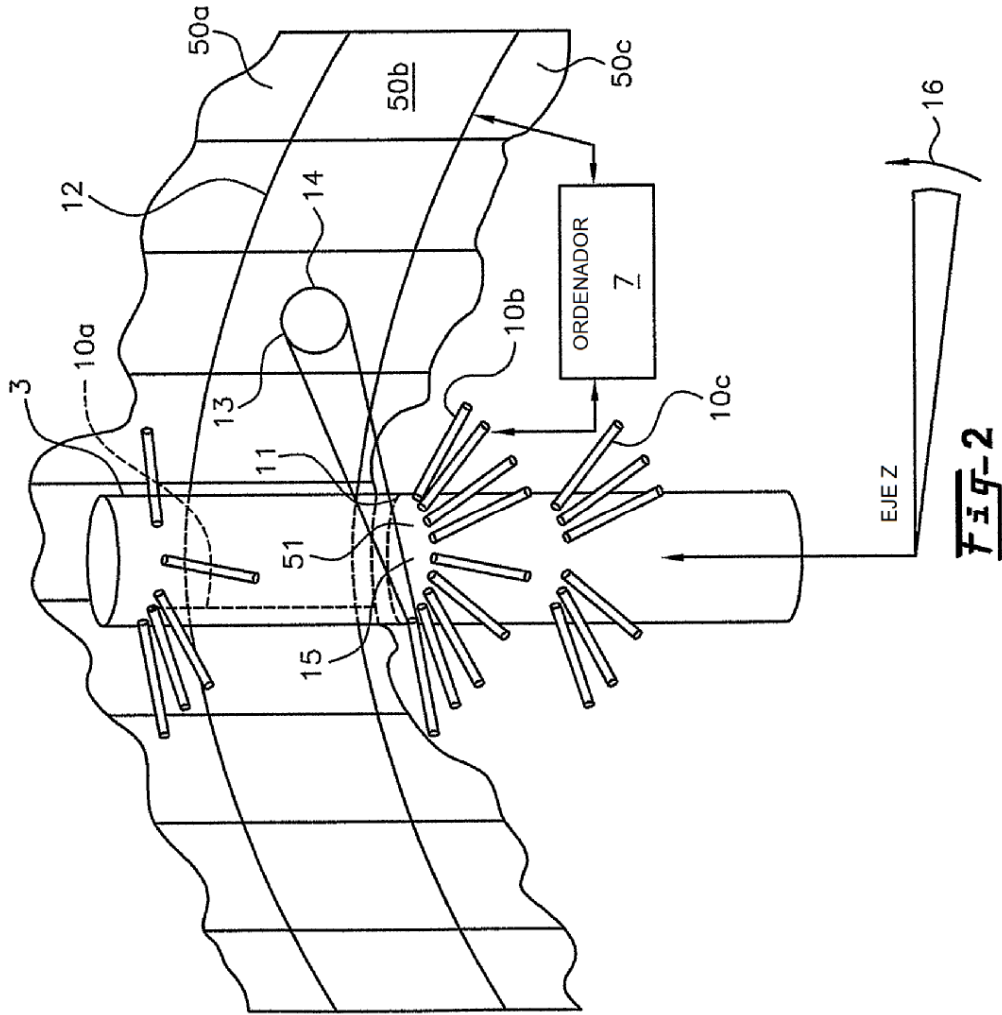


FIG-2

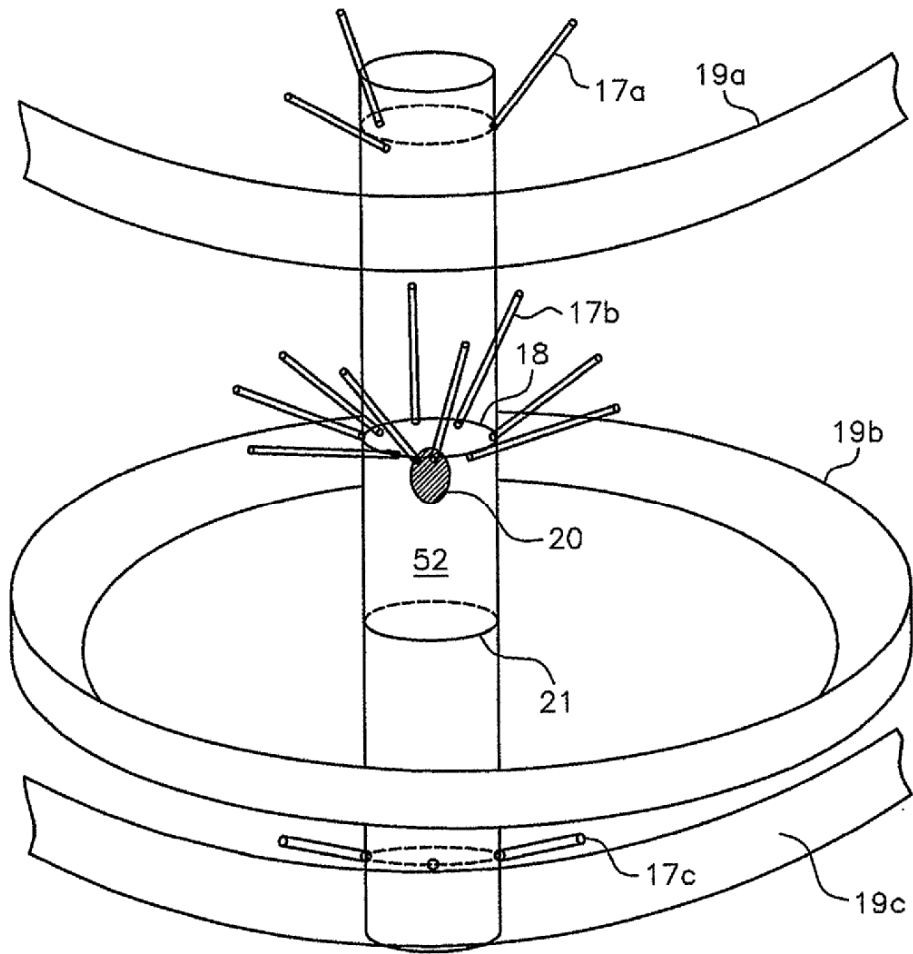


Fig-3

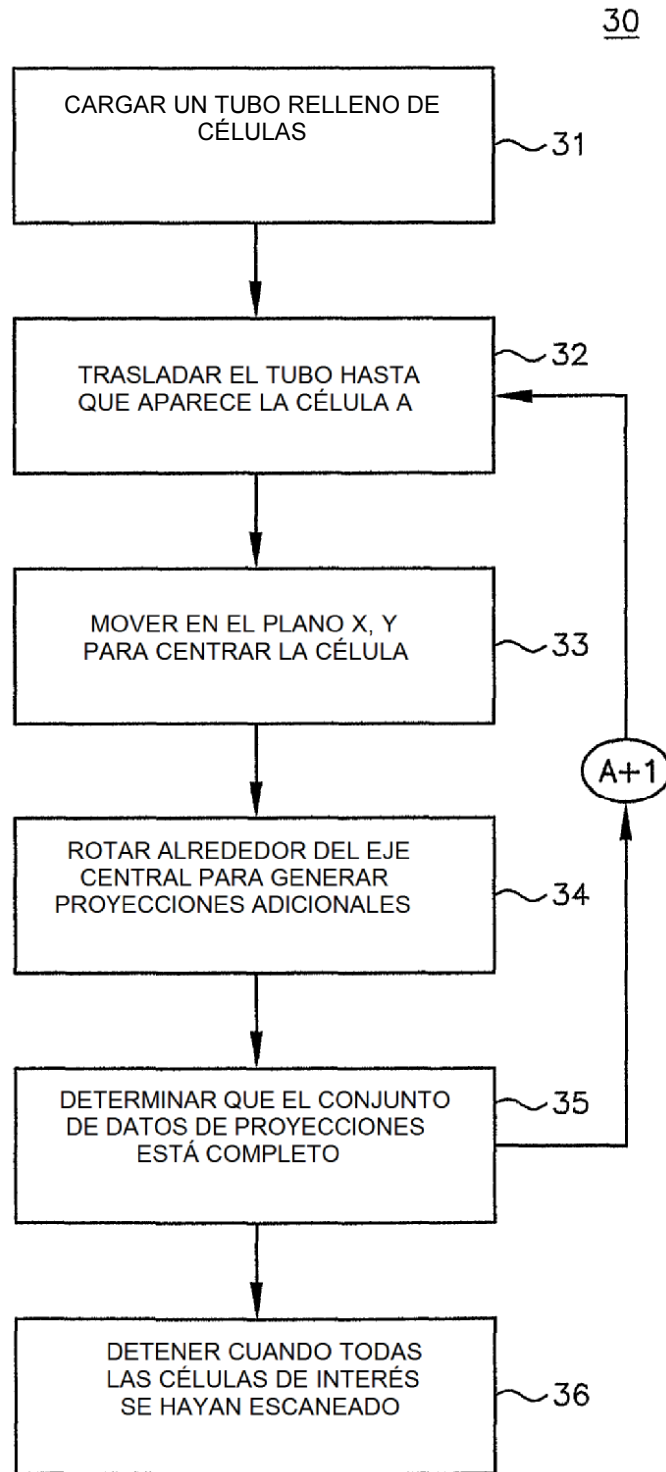


Fig-4

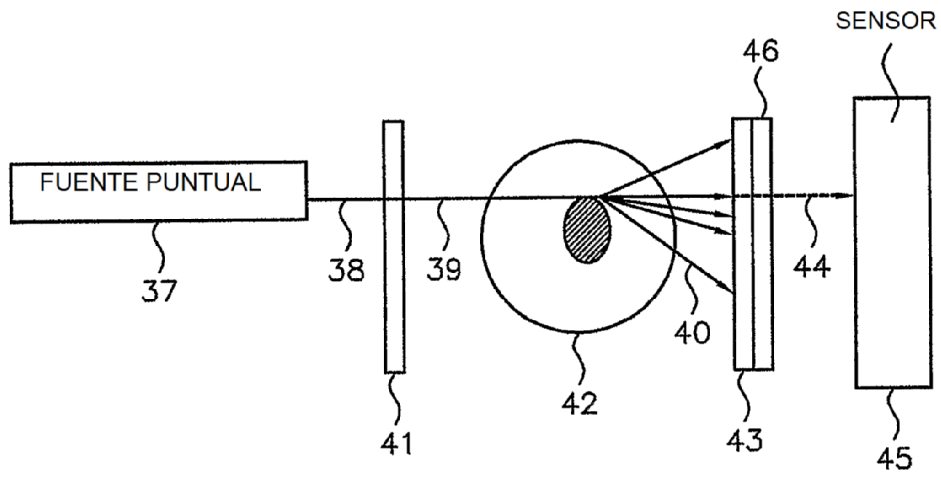


Fig-5