

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 817 778**

51 Int. Cl.:

G16H 30/40 (2008.01)

G16H 50/30 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2009 PCT/US2009/004906**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.03.2010 WO10024926**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2009 E 09789235 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2020 EP 2347364**

54 Título: **Sistemas y métodos para tratar, diagnosticar y predecir la aparición de una afección médica**

30 Prioridad:

07.01.2009 US 204606 P

04.06.2009 US 217832 P

27.07.2009 US 462041

28.08.2008 US 190537 P

05.11.2008 US 198543 P

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

08.04.2021

73 Titular/es:

**FUNDAÇÃO D. ANNA SOMMER CHAMPALIMAUD
E DR. CARLOS MONTEZ CHAMPALIMAUD**

(100.0%)

Avenida Brasília

1400-038 Lisboa, PT

72 Inventor/es:

DONOVAN, MICHAEL;

KHAN, FAISAL;

ALTER, JASON;

FERNANDEZ, GERARDO;

MESA-TEJADA, RICARDO;

POWELL, DOUGLAS, A.;

BAYER ZUBEK, VALENTINA;

HAMANN, STEFAN;

CORDON-CARDO, CARLOS y

COSTA, JOSE

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 817 778 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

Sistemas y métodos para tratar, diagnosticar y predecir la aparición de una afección médica

5 Referencia a las solicitudes relacionadas

Campo de la invención

10 Las modalidades de la presente invención se refieren a los métodos y sistemas para predecir la aparición de una afección médica tal como, por ejemplo, la presencia, indolencia, recurrencia o progresión de una enfermedad (por ejemplo, cáncer), capacidad de respuesta o falta de respuesta a un tratamiento para la afección médica, u otro desenlace con respecto a la afección médica. Por ejemplo, en algunas modalidades de la presente invención, se proporcionan sistemas y métodos que usan información clínica, información molecular y/o información morfológica generada por ordenador en un modelo predictivo que predice si es probable que un paciente tenga un estadio patológico favorable (enfermedad indolente) si el paciente se sometiera a un tratamiento (por ejemplo, prostatectomía radical) para la enfermedad. En algunas modalidades, se proporciona un modelo predictivo que predice el riesgo de progresión de la enfermedad en un paciente. La información morfológica usada en un modelo predictivo de acuerdo con algunas modalidades de la presente invención puede generarse con base en el análisis de imágenes de tejido (por ejemplo, tejido sometido a inmunofluorescencia (IF) múltiple) y puede incluir información morfológica que pertenece a un árbol expandido mínimo (MST) y/o una dimensión fractal (FD) observada en el tejido o imágenes de tal tejido. En algunas modalidades, se utilizan medidas cuantitativas de la expresión de proteínas en líneas celulares, por ejemplo, para evaluar objetivamente el rendimiento de un ensayo (por ejemplo, ensayo de IF múltiple) y/o para normalizar las medidas derivadas del ensayo antes de la inclusión de tales características en desarrollo de modelos o evaluación de tales características con un modelo predictivo final.

25 Antecedentes de la invención

30 Se requiere que los médicos tomen muchas decisiones médicas que van, por ejemplo, desde si un paciente puede experimentar una afección médica y cuándo, hasta cómo se debe tratar al paciente una vez que se le ha diagnosticado la afección. Determinar un curso de tratamiento apropiado para un paciente puede aumentar sus posibilidades, por ejemplo, de supervivencia, recuperación y/o mejor calidad de vida. Predecir la aparición de un evento también permite a los individuos planificarse para el evento. Por ejemplo, predecir si es probable que un paciente experimente la aparición (por ejemplo, presencia, recurrencia o progresión) de una enfermedad puede permitir a un médico recomendar un curso de tratamiento apropiado para ese paciente.

35 Cuando a un paciente se le diagnostica una afección médica, la decisión sobre la terapia más adecuada a menudo es confusa para el paciente y el médico, especialmente cuando no se ha identificado una sola opción como superior para la supervivencia y la calidad de vida en general. Tradicionalmente, los médicos dependen en gran medida de su experiencia y entrenamiento para tratar, diagnosticar y predecir la aparición de afecciones médicas. Por ejemplo, los patólogos usan el sistema de puntuación de Gleason para evaluar el nivel de avance y agresión del cáncer de próstata, en el que el cáncer se clasifica con base en la apariencia del tejido prostático al microscopio según lo percibe un médico. Se otorgan puntuaciones de Gleason más altas a las muestras de tejido prostático que están más indiferenciadas. Aunque los patólogos consideran que la puntuación de Gleason es fiable, es un sistema de puntuación subjetivo. Particularmente, diferentes patólogos que ven las mismas muestras de tejido pueden hacer interpretaciones contradictorias.

40 Las herramientas predictivas preoperatorias actuales tienen una utilidad limitada para la mayoría de los pacientes contemporáneos diagnosticados con una enfermedad confinada al órgano y/o con riesgo intermedio. Por ejemplo, el cáncer de próstata sigue siendo el cáncer no cutáneo más comúnmente diagnosticado en hombres estadounidenses y causa aproximadamente 29 000 muertes cada año [1]. Las opciones de tratamiento incluyen prostatectomía radical, radioterapia y espera vigilante; sin embargo, no hay consenso sobre la mejor terapia para maximizar el control de la enfermedad y la supervivencia sin un tratamiento excesivo, especialmente para los hombres con cáncer de próstata de riesgo intermedio (antígeno prostático específico 10-20 ng/ml, estadio clínico T2b-c, y puntuación de Gleason 7). El único estudio clínico aleatorizado completado ha demostrado tasas más bajas de muerte general en hombres con enfermedad T1 o T2 tratados con prostatectomía radical; sin embargo, los resultados deben compararse con los problemas de calidad de vida y las comorbilidades [2, 3]. Está bastante bien aceptado que los esfuerzos de detección del antígeno prostático específico (PSA) agresivo han obstaculizado la utilidad general de los modelos de pronóstico más tradicionales debido a varios factores que incluyen un aumento (sobrediagnóstico) de tumores indolentes, tiempo de espera (presentación clínica), grado de inflamación y una mayor esperanza de vida [4-7]. Como resultado, la probabilidad informada de morir de cáncer de próstata 15 años después de un diagnóstico realizado mediante pruebas de detección del antígeno prostático específico (PSA) es menor que la probabilidad pronosticada de morir de un cáncer diagnosticado clínicamente hace una década o más, lo que confunde aún más el proceso de decisión del tratamiento [8].

65 Varios grupos han desarrollado métodos para predecir los desenlaces del cáncer de próstata con base en la información acumulada en el momento del diagnóstico. Las tablas de Partin recientemente actualizadas [9] predicen

el riesgo de tener un estadio patológico particular (extensión extracapsular, invasión de vesículas seminales e invasión de ganglios linfáticos), mientras que el nomograma preoperatorio de 10 años [10] proporciona una probabilidad de estar libre de recurrencia bioquímica dentro de 10 años después de la prostatectomía radical. Estos enfoques han sido desafiados debido a su falta de biomarcadores diversos (distintos del PSA) y la incapacidad de estratificar con precisión a los pacientes con características clínicas de riesgo intermedio. Dado que estas herramientas se basan en parámetros clínicos subjetivos, en particular el grado de Gleason que es propenso a desacuerdos y posibles errores, tener medidas más objetivas sería ventajoso para la planificación del tratamiento. Además, la recurrencia bioquímica o de PSA por sí sola generalmente no es un predictor confiable de enfermedad clínicamente importante [11]. Por lo tanto, los presentes inventores creen que se requieren variables o criterios de valoración adicionales para un asesoramiento óptimo del paciente.

Otro problema es el tratamiento innecesario de enfermedades. Por ejemplo, un hombre con un tumor verdaderamente indolente, típicamente entendido como un tumor que no es probable que progrese, que se clasifica erróneamente como un tumor no indolente, puede ser sometido a tratamientos que potencialmente conllevan efectos secundarios graves. Por lo tanto, la necesidad de modelos predictivos precisos para el estado de la enfermedad indolente es crucial. Tradicionalmente, la investigación sobre los tumores indolentes ha abordado solo a las características clínicas estándar. Kattan y otros informaron que, en una muestra de 409 pacientes, aproximadamente el 20 % tenía cáncer indolente [56]. Los nomogramas predictivos de Kattan incorporaron el grado de Gleason de la biopsia, el estadio clínico y el PSA previo al tratamiento junto con la cantidad de tumor en la muestra de biopsia. El poder predictivo informado de los nomogramas osciló entre un AUC de 0,64 para la curva ROC y un AUC de 0,79. Gibod y otros, aunque identificaron que el 29 % de los pacientes tenían "cáncer insignificante", informaron que ninguna característica específica de su estudio podía identificar a los pacientes indolentes antes de la cirugía [57]. Gofrit y otros estudiaron casos de "mejoras de la puntuación de Gleason", donde el paciente tiene una puntuación de Gleason de 6 en la biopsia, pero en realidad alberga un tumor más agresivo. Se sugirió que tanto los niveles de PSA preoperatorios como el mayor porcentaje de cáncer en una muestra de punción (GPC) pueden predecir el fenómeno de la mejora de la puntuación de Gleason al emplear la metodología del árbol de decisiones [58]. La precisión general informada fue de aproximadamente el 62 %.

Ochiai y otros también pretendían predecir el llamado "cáncer insignificante" mediante el uso del número de muestras de punción de biopsia positivas, la longitud del tumor en una muestra de punción, la puntuación de Gleason y el volumen de la próstata en un modelo de regresión logística múltiple. La sensibilidad y la especificidad informadas fueron de aproximadamente el 84 % y el 62 %, respectivamente [59]. Se informaron resultados similares en otro estudio de Ochiai y otros [60]. Romelling y otros actualizó el nomograma de Kattan e informó en un estudio de 432 pacientes con cáncer que el 27 % se clasificaron como tumores indolentes [61]. El porcentaje de pacientes que informaron tener tumores indolentes estuvo típicamente en el intervalo de 20-30 % en los estudios que se han citado. Los presentes inventores creen que se necesita un enfoque más preciso, estable y completo para predecir si una enfermedad (por ejemplo, cáncer) es indolente o no.

En vista de lo anterior, sería conveniente proporcionar sistemas y métodos para tratar, diagnosticar y predecir la aparición de afecciones médicas, respuestas y otros fenómenos médicos con un mayor poder predictivo. Por ejemplo, sería conveniente proporcionar sistemas y métodos para predecir la probabilidad de que una enfermedad (por ejemplo, cáncer) sea indolente y/o un riesgo de progresión de enfermedad en, por ejemplo, el momento del diagnóstico antes del tratamiento de la enfermedad.

El documento US 2005/262031 describe métodos que usan información clínica, información molecular e información morfométrica generada por ordenador en un modelo predictivo de aparición (o recurrencia) de una afección médica, tal como el cáncer.

El documento US 2007/099219 describe métodos que usan información clínica, información molecular e información morfométrica generada por ordenador en un modelo predictivo de la aparición de cáncer de próstata, en el que el modelo se basa en características que incluyen la participación de la vesícula seminal, la participación del margen quirúrgico, el estado de los ganglios linfáticos, el índice de tinción del receptor de andrógenos (AR) del tumor, una medición morfométrica de los núcleos epiteliales y al menos una medición morfométrica del estroma.

Resumen de la invención

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un aparato para evaluar si es probable que un paciente tenga un estadio patológico favorable de cáncer de próstata como se establece en la reivindicación 1.

En otro aspecto, se proporciona un método para evaluar si es probable que un paciente tenga un estadio patológico favorable de cáncer de próstata como se establece en la reivindicación 3. En un aspecto adicional, se proporciona un medio legible por ordenador como se establece en la reivindicación 6.

Breve descripción de los dibujos

Para una mejor comprensión de las modalidades de la presente invención, se hace referencia a la siguiente descripción detallada, tomada junto con los dibujos adjuntos, en los que los caracteres de referencia similares se refieren a partes similares, y en los que:

- 5 Las Figuras 1A y 1B son diagramas de bloques de sistemas que usan un modelo predictivo para tratar, diagnosticar o predecir la aparición de una afección médica;
- La Figura 1C es un diagrama de bloques de un sistema para generar un modelo predictivo;
- 10 La Figura 2 es un gráfico que ilustra la probabilidad de que un paciente experimente un desenlace con respecto a una afección médica (por ejemplo, progresión de la enfermedad) como lo indica el valor o la puntuación generada por un modelo predictivo;
- La Figura 3 es un diagrama de flujo de las etapas ilustrativas involucradas en la segmentación de imágenes y la clasificación de objetos en, por ejemplo, imágenes digitalizadas de tejido teñido con H Y E;
- 15 La Figura 4A es una imagen de tejido prostático obtenido mediante una biopsia con aguja y sometido a tinción con hematoxilina y eosina (H Y E);
- 20 La Figura 4B es una versión segmentada y clasificada de la imagen de la Figura 4A, en la que los objetos de las unidades de glándula se forman a partir del lumen de semillas, los núcleos epiteliales y el citoplasma epitelial, y en el que también se identifican células epiteliales tumorales aisladas/no asociadas a glándulas en la imagen;
- La Figura 5A es una imagen de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF);
- 25 La Figura 5B muestra una versión segmentada y clasificada de la imagen en la Figura 4A, en la que los objetos se han identificado como núcleos epiteliales, citoplasma y núcleos estromales;
- La Figura 6 es un diagrama de flujo de las etapas ilustrativas involucradas en la segmentación de imágenes y la clasificación de objetos en imágenes de tejidos sometidos a inmunofluorescencia múltiple (IF);
- 30 La Figura 7 es un diagrama de flujo de las etapas ilustrativas involucradas en la construcción del árbol expandido mínimo (MST) de objetos dentro de una imagen de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF);
- 35 La Figura 8A es una imagen de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF) en la que se identifica el árbol expandido mínimo (MST) de los núcleos epiteliales (EN);
- La Figura 8B es una imagen de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF) en la que se identifican los límites de las glándulas con el estroma y los límites de las glándulas con el lumen;
- 40 La Figura 9 es una lista de características del árbol expandido mínimo (MST), características de dimensión fractal (FD), características combinadas y sus respectivos valores p bilaterales del índice de concordancia, que se identificaron en imágenes de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF) y que pueden usarse en modelos predictivos;
- 45 La Figura 10 es un diagrama de flujo de las etapas ilustrativas involucradas en el análisis de un compuesto inhibidor;
- La Figura 11 es una lista de características clínicas, moleculares y morfométricas generadas por ordenador usadas por un modelo para predecir la progresión de la enfermedad en un paciente;
- 50 La Figura 12 son curvas de Kaplan-Meier que ilustran la capacidad de una característica usada en el modelo predictivo de la Figura 11 para estratificar con precisión a los pacientes en grupos de bajo y alto riesgo, a saber, la característica morfométrica del área de células epiteliales tumorales aisladas (no asociadas al lumen) con relación al área tumoral total;
- 55 La Figura 13 es un gráfico de una curva de Kaplan-Meier que ilustra la capacidad de otra característica usada en el modelo predictivo de la Figura 11 para estratificar con precisión a los pacientes en grupos de bajo y alto riesgo, es decir, la característica morfométrica de la longitud media del borde en el árbol expandido mínimo (MST) de todos los bordes que conectan los centroides de los núcleos epiteliales (para un grado de Gleason dominante de la biopsia ($bGG \leq 3$) en combinación con la característica clínica del grado de Gleason (para $bGG = 4$ o 5);
- 60 La Figura 14 es un gráfico de una curva de Kaplan-Meier que ilustra la capacidad de otra característica más usada en el modelo predictivo de la Figura 11 para estratificar con precisión a los pacientes en grupos de bajo y alto riesgo, es decir, la característica molecular del intervalo dinámico de AR (para $bGG \leq 3$) en combinación con la característica molecular de Ki67 total (para $bGG = 4$ o 5);
- 65

La Figura 15 es un gráfico de una curva de Kaplan-Meier que ilustra la capacidad del valor o la puntuación generada por el modelo predictivo de la Figura 11 para estratificar a los pacientes en el conjunto de entrenamiento de acuerdo con el riesgo;

5 La Figura 16 es un gráfico de una curva de Kaplan-Meier que ilustra la capacidad del valor o la puntuación generada por el modelo predictivo de la Figura 11 para estratificar a los pacientes en el conjunto de validación de acuerdo con el riesgo;

10 La figura 17 es una lista de las características morfométricas clínicas, moleculares y generadas por ordenador usadas por un modelo para predecir un estadio patológico favorable (enfermedad indolente) en un paciente de acuerdo con una modalidad de la presente invención;

15 La figura 18 es una lista de características morfométricas moleculares y generadas por ordenador determinadas para predecir la capacidad de respuesta o falta de respuesta a una terapia y el tiempo hasta la progresión clínica de una afección médica de acuerdo con una modalidad de la presente invención;

20 Las figuras 19A y 19B son imágenes segmentadas de líneas celulares (células LNCaP y PC3, respectivamente) con un umbral aplicado que determina los niveles de proteína del receptor nuclear de andrógenos (AR) positivo y negativo de acuerdo con algunas modalidades de la presente invención;

25 Las Figuras 20A y 20B son gráficos de intensidad media en los que la intensidad del receptor nuclear de andrógenos (AR; eje y) en líneas celulares (LNCaP, DU145 y PC3) se representa frente al número de secuencia del experimento (eje x); y

30 La Figura 21 es un gráfico de una curva de Kaplan-Meier que ilustra la capacidad de una característica que representa la expresión del receptor nuclear de andrógenos (AR) para estratificar a los pacientes en grupos de bajo y alto riesgo de muerte por enfermedad.

35 Descripción detallada de la invención

El siguiente texto describe varios ejemplos. Solo aquellos ejemplos que caen dentro del alcance de las reivindicaciones constituyen modalidades de la invención. En algunos ejemplos, la información morfométrica clínica, molecular y generada por ordenador se usa para predecir si o no y/o la probabilidad de que un paciente tenga una patología favorable (enfermedad indolente) si el paciente se sometiera a un tratamiento (por ejemplo, prostatectomía radical) para una enfermedad tal como, por ejemplo, cáncer de próstata.

40 En los ejemplos descritos en la presente descripción, se puede proporcionar una herramienta analítica tal como, por ejemplo, un módulo configurado para realizar la regresión de vectores de soporte para datos censurados (SVRC), una máquina de vectores de soporte (SVM) y/o una red neuronal, que determina las correlaciones entre características clínicas, características moleculares, características morfométricas generadas por ordenador, combinaciones de tales características y/u otras características y una afección médica. Las características correlacionadas pueden formar un modelo que puede usarse para predecir un desenlace con respecto a la afección (por ejemplo, presencia, indolencia, recurrencia o progresión). Por ejemplo, puede usarse una herramienta analítica para generar un modelo predictivo con base en los datos para una cohorte de pacientes cuyos desenlaces con respecto a una afección médica (por ejemplo, tiempo hasta la recurrencia o progresión del cáncer) se conocen al menos parcialmente. El modelo puede usarse para evaluar los datos de un nuevo paciente con el fin de predecir el riesgo de aparición de la afección médica para el nuevo paciente. En algunas modalidades, la herramienta analítica solo puede usar un subconjunto de datos clínicos, moleculares, morfométricos y/u otros (por ejemplo, datos clínicos y morfométricos únicamente) para generar el modelo predictivo.

50 Los datos clínicos, moleculares y/o morfométricos usados por los ejemplos

55 pueden incluir cualquier dato clínico, molecular y/o morfométrico que sea relevante para el diagnóstico, tratamiento y/o predicción de una afección médica. Por ejemplo, las características analizadas en busca de correlaciones con el estadio patológico favorable (enfermedad indolente) en pacientes que se habían sometido a una prostatectomía radical se describen más abajo en relación con las Tablas 1-4 y 11 y la Figura 9. Las características analizadas para la progresión del cáncer de próstata con el fin de generar un modelo predictivo de la progresión del cáncer de próstata se describen más abajo en relación con las Tablas 1-5 y 9 y la Figura 9. Se debe entender que al menos algunas de estas características (por ejemplo, neoplasias epiteliales y mixtas) pueden proporcionar una base para desarrollar modelos predictivos para otras afecciones médicas (por ejemplo, de mama, colon, pulmón, vejiga, hígado, páncreas, células renales y tejidos blandos). Por ejemplo, una o más de las características en las Tablas 1-5, 9 y 11 y la Figura 9 pueden evaluarse para pacientes que tienen alguna otra afección médica y luego introducirlas en una herramienta analítica que determina si las características se correlacionan con la afección médica. Generalmente, las características que aumentan la capacidad del modelo para predecir la aparición de la afección médica (por ejemplo, como se determinó mediante análisis univariado y/o multivariado) pueden incluirse en el modelo final, mientras que

las características que no aumentan (por ejemplo, o disminuyen) el poder predictivo del modelo pueden eliminarse de la consideración.

El uso de las características en las Tablas 1-5, 9 y 11 y la Figura 9 como base para desarrollar un modelo predictivo puede enfocar los recursos de los médicos, otros individuos y/o los equipos de procesamiento automatizado (por ejemplo, un sistema de análisis de imágenes de tejidos) en la obtención de los datos del paciente que tengan más probabilidades de estar correlacionados con el desenlace y, por lo tanto, ser útiles en el modelo predictivo final. Además, las características determinadas como correlacionadas con el estadio patológico favorable (enfermedad indolente) se muestran en la Tabla 11 y la Figura 17. Las características que se determinan que están correlacionadas con la progresión del cáncer de próstata se muestran en la Tabla 9 y la Figura 11. Se debe entender que estas características pueden incluirse directamente en modelos finales predictivos de estadio patológico favorable y progresión del cáncer de próstata, respectivamente y/o usarse para desarrollar modelos predictivos para otras afecciones médicas.

Los datos morfométricos usados en los modelos predictivos de acuerdo con algunos ejemplos pueden incluir datos generados por ordenador que indican diversas propiedades estructurales, de textura y/o espectrales, por ejemplo, de muestras de tejido. Por ejemplo, los datos morfométricos pueden incluir datos de características morfométricas del estroma, citoplasma, núcleos epiteliales, núcleos estromales, lumen, glóbulos rojos, artefactos del tejido, fondo del tejido, glándulas, otros objetos identificados en la muestra de tejido o una imagen digitalizada de tal tejido, o una combinación de estos.

En los ejemplos descritos en la presente descripción, se proporciona un sistema de análisis de imágenes de tejidos para medir características morfométricas de muestras de tejido (por ejemplo, biopsias con aguja y/o muestras de punción de tejido completo) o imágenes digitalizadas de estas. El sistema puede utilizar, en parte, el software Definiens Cellenger disponible comercialmente. Por ejemplo, en algunas modalidades, el sistema de análisis de imágenes puede recibir una o más imágenes del tejido teñido con hematoxilina y eosina (H Y E) como entrada, y puede generar una o más mediciones de características morfométricas de objetos patológicos (por ejemplo, núcleos epiteliales, citoplasma, etc.) y/o propiedades estructurales, de textura y/o espectrales observadas en las imágenes. Por ejemplo, dicho sistema de análisis de imágenes puede incluir un microscopio óptico que captura imágenes de tejido teñido con H y E con un aumento de 20X. Los sistemas y métodos ilustrativos para medir características morfométricas a partir de imágenes de tejido teñido con H&E de acuerdo con algunos ejemplos se describen más abajo en relación con, por ejemplo, la Figura 3 y los estudios ilustrativos relacionados con la predicción del estadio patológico favorable y la progresión del cáncer de próstata. Las características morfométricas generadas por ordenador (por ejemplo, características morfométricas que pueden medirse a partir de imágenes digitalizadas de tejido teñido con H y E) que pueden usarse en un modelo predictivo para predecir un desenlace con respecto a una afección médica de acuerdo con algunos ejemplos se resumen en la Tabla 1.

En algunos ejemplos, el sistema de análisis de imágenes puede recibir imágenes del tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF) como entrada, y puede generar una o más mediciones de características morfométricas para objetos patológicos (por ejemplo, núcleos epiteliales, citoplasma, etc.) y/o propiedades estructurales, de textura y/o espectrales observadas en las imágenes. Por ejemplo, dicho sistema de análisis de imágenes puede incluir una cámara multispectral conectada a un microscopio que captura imágenes de tejido bajo una fuente de luz de excitación. Las características morfométricas generadas por ordenador (por ejemplo, características morfométricas que pueden medirse a partir de imágenes digitalizadas de tejido sometido a IF múltiple) que pueden usarse en un modelo predictivo para predecir un desenlace con respecto a una afección médica de acuerdo con algunos ejemplos, se enumeran en la Tabla 2. Los ejemplos ilustrativos de tales características morfométricas incluyen características de un árbol expandido mínimo (MST) (por ejemplo, MST que conecta núcleos epiteliales) y/o una dimensión fractal (FD) (por ejemplo, FD de los límites de las glándulas) medido en imágenes adquiridas a través de microscopio de IF múltiple. Sistemas y métodos ilustrativos para medir características morfométricas a partir de imágenes de tejido sometido a IF múltiple de acuerdo con algunos ejemplos se describe más abajo en relación con, por ejemplo, las Figuras 4B-9 y el estudio ilustrativo relacionado con la predicción de la progresión del cáncer de próstata.

Las características clínicas que pueden usarse en modelos predictivos de acuerdo con algunos ejemplos pueden incluir o basarse en datos de uno o más pacientes, tal como la edad, la raza, el peso, la altura, los antecedentes médicos, el genotipo y el estado de la enfermedad, donde el estado de la enfermedad se refiere a las características de estadificación clínica y patológica y a cualquier otra característica clínica recopilada específicamente para el proceso de la enfermedad que se considera. Generalmente, los datos clínicos los recopila un médico durante el curso del examen de un paciente y/o el tejido o las células del paciente. Los datos clínicos también pueden incluir datos clínicos que pueden ser más específicos para un contexto médico particular. Por ejemplo, en el contexto del cáncer de próstata, los datos clínicos pueden incluir datos que indiquen la concentración en sangre del antígeno prostático específico (PSA), el resultado de un tacto rectal, la puntuación de Gleason y/u otros datos clínicos que pueden ser más específicos para el cáncer de próstata. Las características clínicas que pueden usarse en un modelo predictivo para predecir un desenlace con respecto a una afección médica de acuerdo con algunas modalidades de la presente invención se enumeran en la Tabla 3.

Las características moleculares que pueden usarse en modelos predictivos de acuerdo con algunos ejemplos pueden incluir o basarse en datos que indican la presencia, ausencia, aumento o disminución relativa o ubicación relativa de moléculas biológicas que incluyen ácidos nucleicos, polipéptidos, sacáridos, esteroides y otras moléculas pequeñas o combinaciones de las anteriores, por ejemplo, glicoproteínas y complejos proteína-ARN. Las ubicaciones en las que se miden estas moléculas pueden incluir glándulas, tumores, estroma y/u otras ubicaciones, y pueden depender del contexto médico particular. En general, los datos moleculares se recopilan mediante el uso de técnicas biológicas y bioquímicas moleculares comunes que incluyen transferencias Southern, Western y Northern, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), inmunohistoquímica y/o inmunofluorescencia (IF) (por ejemplo, IF múltiple). Las características moleculares que pueden usarse en un modelo predictivo para predecir un desenlace con respecto a una afección médica de acuerdo con algunos ejemplos se enumeran en la Tabla 4.

Generalmente, cuando cualquier característica clínica, molecular y/o morfométrica de cualquiera de las Tablas 1-5, 9 y 11 y/o las Figuras 9, 11 y 17 se aplican a contextos médicos distintos de la próstata, las características de estas Tablas y/o Figuras que son más específicas para la próstata, puede no ser consideradas. Opcionalmente, las características más específicas del contexto médico en cuestión pueden sustituirse por las características específicas de la próstata. Por ejemplo, otras características/manifestaciones histológicas específicas de la enfermedad pueden incluir regiones de necrosis (por ejemplo, carcinoma ductal in situ para mama), tamaño, forma y patrón/distribución regional de células epiteliales (por ejemplo, mama, pulmón), grado de diferenciación (por ejemplo, diferenciación escamosa con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC, producción de mucina como se observa con varios adenocarcinomas de mama y colon)), distribución morfológica/microscópica de las células (por ejemplo, revestimiento de conductos en cáncer de mama, revestimiento de bronquiolos en NSCLC), y el grado y tipo de inflamación (por ejemplo, que tienen características diferentes para mama y NSCLC en comparación con próstata).

Las Figuras 1A y 1B muestran sistemas ilustrativos que usan un modelo predictivo para predecir la aparición (por ejemplo, presencia, indolencia, recurrencia o progresión) de una afección médica en un paciente. La disposición en la Figura 1A puede usarse cuando, por ejemplo, un laboratorio de diagnóstico médico proporciona soporte para una decisión médica a un médico u otro individuo asociado con un dispositivo de acceso remoto. La disposición en la Figura 1B puede usarse cuando, por ejemplo, se proporciona un kit de análisis que incluye el modelo predictivo para el uso en una instalación tal como un hospital, otra instalación médica u otra ubicación adecuada.

Con referencia a la Figura 1A, uno o más modelos predictivos 102 están ubicados en la instalación de diagnóstico 104. El modelo predictivo 102 puede incluir cualquier hardware, software, o combinación de estos adecuados para recibir datos de un paciente, evaluar los datos para predecir la aparición (por ejemplo, presencia, indolencia, recurrencia y/o progresión) de una afección médica para el paciente y generar los resultados de la evaluación. En otro ejemplo, el modelo 102 puede usarse para predecir la capacidad de respuesta de un paciente a una o más terapias particulares. La instalación de diagnóstico 104 puede recibir datos para un paciente desde el dispositivo de acceso remoto 106 a través del proveedor de servicios de Internet (ISP) 108 y las redes de comunicaciones 110 y 112, y puede introducir los datos en el(los) modelo(s) predictivo(s) 102 para su evaluación. Por supuesto, son posibles otras disposiciones para recibir y evaluar datos para un paciente desde una ubicación remota (por ejemplo, a través de otra conexión, tal como una línea telefónica o el correo físico). El médico o individuo ubicado a distancia puede adquirir los datos para el paciente de cualquier manera adecuada, y puede usar el dispositivo de acceso remoto 106 para transmitir los datos a la instalación de diagnóstico 104. En algunos ejemplos, los datos para el paciente pueden generarse al menos parcialmente en la instalación de diagnóstico 104 u otra instalación. Por ejemplo, la instalación de diagnóstico 104 puede recibir una imagen digitalizada de un tejido teñido con H y E del dispositivo de acceso remoto 106 u otro dispositivo y puede generar datos morfométricos para el paciente con base en la imagen. En otro ejemplo, las muestras de tejido reales pueden recibirse y procesarse en la instalación de diagnóstico 104 para generar los datos morfométricos, datos moleculares y/u otros datos. En otros ejemplos, un tercero puede recibir una muestra o imagen de tejido de un nuevo paciente, generar datos morfométricos, datos moleculares y/u otros datos con base en la imagen o tejido, y proporcionar los datos morfométricos, datos moleculares y/u otros datos a la instalación de diagnóstico 104. Los ejemplos ilustrativos de las herramientas de procesamiento de imágenes adecuadas para generar datos morfométricos y/o datos moleculares a partir de imágenes de tejido y/o muestras de tejido de acuerdo con algunos ejemplos se describen más abajo en relación con las Figuras 3-8.

La instalación de diagnóstico 104 puede proporcionar los resultados de la evaluación a un médico o individuo asociado con el dispositivo de acceso remoto 106 a través, por ejemplo, de una transmisión al dispositivo de acceso remoto 106 a través del ISP 108 y las redes de comunicaciones 110 y 112 o de otra manera, tal como el correo físico o una llamada telefónica. Los resultados pueden incluir uno o más valores o "puntuaciones" (por ejemplo, una indicación de la probabilidad de que el paciente experimente uno o más desenlaces relacionados con la afección médica, tal como la presencia de la afección médica, estadio patológico favorable o desfavorable (indolencia o no indolencia de la afección médica) y/o la(s) probabilidad(es) de la misma, el tiempo previsto hasta la recurrencia de la afección médica, o el riesgo o la probabilidad de progresión de la afección médica en el paciente), información que indique una o más características analizadas por el(los) modelo(s) predictivo(s) 102 como correlacionadas con la afección médica, imagen generada por la herramienta de procesamiento de imágenes, información que indique la sensibilidad y/o especificidad del modelo predictivo, comentarios explicativos, otra información adecuada o una combinación de los mismos. Por ejemplo, la Figura 2 muestra al menos una parte de un informe para un paciente ficticio que puede generarse por, o generarse de otro modo con base a la salida de, uno o más modelos predictivos. Como se muestra,

el informe puede indicar que, con base en los datos de entrada del paciente a un modelo predictivo, el modelo predictivo genera un valor de 40 correspondiente a un 19 % de probabilidad de progresión de la enfermedad (como lo indica un aumento del PSA en la castración, metástasis y/o mortalidad por cáncer de próstata) dentro de los ocho años posteriores a la prostatectomía radical, lo que puede colocar al paciente en una categoría de alto riesgo. (A la inversa, como lo indica la línea vertical en el ejemplo que se muestra en la Figura 2, los valores de salida inferiores a 30,19 del modelo predictivo pueden colocar al paciente en una categoría de bajo riesgo). Alternativa o adicionalmente, el informe puede indicar con base en los datos para la entrada del paciente a otro modelo predictivo, los datos de salida del modelo predictivo que indican que es probable que el paciente tenga "UFP" (patología desfavorable; o, por el contrario, patología favorable ("FP")) y/o la probabilidad de que el paciente tendrá UFP o FP (por ejemplo, baja probabilidad del 32 % de FP). Tal informe puede ser usado por un médico u otra persona, por ejemplo, para ayudar a determinar las opciones de tratamiento adecuadas para el paciente. El informe también puede ser útil porque puede ayudar al médico o individuo a explicar el riesgo del paciente al paciente.

El dispositivo de acceso remoto 106 puede ser cualquier dispositivo remoto capaz de transmitir y/o recibir datos de la instalación de diagnóstico 104, tal como, por ejemplo, un ordenador personal, un dispositivo inalámbrico tal como un ordenador portátil, un teléfono celular o un asistente digital personal (PDA), o cualquier otro dispositivo de acceso remoto adecuado. Pueden incluirse múltiples dispositivos de acceso remoto 106 en el sistema de la Figura 1A (por ejemplo, para permitir que una pluralidad de médicos u otros individuos en una pluralidad correspondiente de ubicaciones remotas comuniquen datos con la instalación de diagnóstico 104), aunque solo se ha incluido un dispositivo de acceso remoto 106 en la Figura 1A para evitar complicar demasiado el dibujo. La instalación de diagnóstico 104 puede incluir un servidor capaz de recibir y procesar comunicaciones hacia y/o desde el dispositivo de acceso remoto 106. Tal servidor puede incluir un componente distinto de un equipo y/o almacenamiento informático, pero también puede ser un aplicación de software o una combinación de hardware y software. El servidor puede implementarse mediante el uso de uno o más ordenadores.

Cada uno de los enlaces de comunicaciones 110 y 112 puede ser cualquier ruta de comunicaciones cableada o inalámbrica adecuada o una combinación de rutas tales como, por ejemplo, una red de área local, red de área extensa, red telefónica, red de televisión por cable, intranet o Internet. Algunas redes de comunicaciones inalámbricas adecuadas pueden ser un sistema global para redes de comunicaciones móviles (GSM), una red de acceso múltiple por división de tiempo (TDMA), una red de acceso múltiple por división de código (CDMA), una red Bluetooth o cualquier otra red inalámbrica adecuada.

La Figura 1B muestra un sistema en el que se proporciona un kit de análisis 122 que incluye un modelo predictivo de acuerdo con un ejemplo para usar en la instalación 124, que puede ser un hospital, un consultorio médico u otra ubicación adecuada. El kit de análisis 122 puede incluir cualquier equipo, software o combinación de los mismos (por ejemplo, un ordenador personal) que esté adaptado para recibir datos de un paciente (por ejemplo, al menos uno de datos clínicos, morfométricos y moleculares), evaluar los datos del paciente con un modelo predictivo (por ejemplo, programado en la memoria del kit de análisis) y generar los resultados de la evaluación. Por ejemplo, el kit de análisis 122 puede incluir un medio legible por ordenador codificado con instrucciones ejecutables por ordenador para realizar las funciones del(de los) modelo(s) predictivo(s). El(Los) modelo(s) predictivo(s) puede(n) ser un modelo(s) predeterminado(s) previamente generado(s) (por ejemplo, por otro sistema o aplicación tal como el sistema de la Figura 1C). En algunas modalidades, el kit de análisis 122 puede incluir opcionalmente una herramienta de procesamiento de imágenes capaz de generar datos correspondientes a características morfométricas y/o moleculares, por ejemplo, de una muestra o imagen de tejido. Se describen más abajo, los ejemplos ilustrativos de herramientas de procesamiento de imágenes adecuadas de acuerdo con algunos ejemplos en relación con las Figuras 3-8. En otros ejemplos, el kit de análisis 122 puede recibir datos preempaquetados de las características morfométricas como entrada, por ejemplo, desde un dispositivo de entrada (por ejemplo, teclado) u otro dispositivo o ubicación. El kit de análisis 122 puede incluir opcionalmente una entrada para recibir, por ejemplo, actualizaciones para el modelo predictivo. El kit de análisis también puede incluir opcionalmente una salida para transmitir datos, tales como datos útiles para la facturación del paciente y/o el seguimiento del uso, a una instalación principal u otro dispositivo o ubicación adecuada. Los datos de facturación pueden incluir, por ejemplo, información del seguro médico para un paciente evaluado mediante el kit de análisis (por ejemplo, nombre, proveedor del seguro y número de cuenta). Tal información puede ser útil, por ejemplo, cuando un proveedor del kit de análisis cobra por el kit por uso y/o cuando el proveedor necesita la información del seguro de los pacientes para presentar reclamaciones a los proveedores de seguros.

La Figura 1C muestra un sistema ilustrativo para generar un modelo predictivo. El sistema incluye una herramienta analítica 132 (por ejemplo, que incluye un módulo configurado para realizar una regresión de vectores de soporte para datos censurados (SVRC), una máquina de vectores de soporte (SVM) y/o una red neuronal) y una base de datos 134 de pacientes cuyos desenlaces se conocen al menos parcialmente. La herramienta analítica 132 puede incluir cualquier equipo, software o combinación de estos adecuados para determinar las correlaciones entre los datos de la base de datos 134 y una afección médica. El sistema en la Figura 1C también puede incluir una herramienta de procesamiento de imágenes 136 capaz de generar, por ejemplo, datos morfométricos con base en el tejido teñido con H y E o imágenes digitalizadas de este, datos morfométricos y/o datos moleculares basados en tejido adquirido mediante el uso de un microscopio de inmunofluorescencia múltiple (IF) o imágenes digitalizadas de tal tejido, o una combinación de estos. La herramienta 136 puede generar datos morfométricos y/o datos moleculares para, por

ejemplo, los pacientes conocidos cuyos datos están incluidos en la base de datos 134. Se describen más abajo, los ejemplos ilustrativos de herramientas de procesamiento de imágenes adecuadas de acuerdo con algunos ejemplos en relación con las Figuras 3-8.

5 La base de datos 134 puede incluir cualquier información adecuada del paciente, tal como datos de características clínicas, características morfométricas, características moleculares o una combinación de las mismas. La base de datos 134 también puede incluir datos que indiquen los desenlaces de los pacientes, tales como si los pacientes experimentaron una enfermedad o su recurrencia o progresión, y cuándo. Por ejemplo, la base de datos 134 puede incluir datos sin censura para pacientes (es decir, datos para pacientes cuyos desenlaces se conocen completamente),
 10 tales como datos de pacientes que han experimentado una afección médica (por ejemplo, estado patológico favorable o desfavorable) o su recurrencia o progresión. La base de datos 134 puede incluir de manera alternativa o adicional datos censurados de los pacientes (es decir, datos de pacientes cuyos desenlaces no se conocen completamente), tales como datos de pacientes que no han mostrado signos de una enfermedad o su recurrencia o progresión en una o más visitas de seguimiento a un médico. El uso de datos censurados en la herramienta analítica 132 puede aumentar la cantidad de datos disponibles para generar el modelo predictivo y, por lo tanto, puede mejorar ventajosamente la fiabilidad y el poder predictivo del modelo. Más abajo se describen los ejemplos de enfoques de aprendizaje de máquina, a saber, la regresión de vectores de soporte para datos censurados (SVRC) y una implementación particular de una red neuronal (NNci) que puede hacer uso de datos censurados y no censurados.

20 En un ejemplo, la herramienta analítica 132 puede realizar una regresión de vectores de soporte en datos censurados (SVRC). SVRC usa una función de pérdida/penalización que se modifica en relación con las máquinas de vectores de soporte (SVM) para permitir la utilización de datos censurados. Por ejemplo, los datos que incluyen características clínicas, moleculares y/o morfométricas de pacientes conocidos de la base de datos 134 pueden introducirse en la SVRC para determinar los parámetros para un modelo predictivo. Los parámetros pueden indicar la importancia relativa de las características de entrada, y pueden ajustarse para maximizar la capacidad de la SVRC de predecir los desenlaces de los pacientes conocidos.
 25

El uso de SVRC en la herramienta analítica 132 puede incluir la obtención, a partir de la base de datos 134, de vectores no lineales multidimensionales de información indicativa del estado de los pacientes, donde al menos uno de los
 30 vectores carece de una indicación de un momento de aparición de un evento o desenlace con respecto a un paciente correspondiente. La herramienta analítica 132 puede entonces realizar una regresión mediante el uso de los vectores para producir un modelo basado en el núcleo que proporciona un valor de salida relacionado con una predicción del tiempo hasta el evento basado en al menos parte de la información contenida en los vectores de información. La herramienta analítica 132 puede usar una función de pérdida para cada vector que contiene datos censurados que es diferente de una función de pérdida usada por la herramienta 132 para vectores que comprenden datos sin censurar. Una muestra de datos censurados puede manejarse de manera diferente porque puede proporcionar solo "información unilateral". Por ejemplo, en el caso de la predicción del tiempo de supervivencia, una muestra de datos censurados generalmente solo indica que el evento no ha sucedido dentro de un tiempo determinado, y no hay indicación de cuándo ocurrirá después de ese tiempo, si es que ocurre.
 35

40 La función de pérdida usada por la herramienta analítica 132 para datos censurados puede ser la siguiente:

$$45 \quad \text{Pérdidas}(f(\mathbf{x}), y, s = 1) = \begin{cases} C_s^*(e - \epsilon_s^*) & e > \epsilon_s^* \\ 0 & -\epsilon_s \leq e \leq \epsilon_s^* \\ C_s(\epsilon_s - e) & e < -\epsilon_s \end{cases}$$

50 donde

$$e = f(\mathbf{x}) - y;$$

55 y

$$f(\mathbf{x}) = \mathbf{W}^T \Phi(\mathbf{x}) + b$$

60 es una función de regresión lineal en una característica del espacio F . Aquí, \mathbf{W} es un vector en F y $\Phi(\mathbf{x})$ asigna la entrada \mathbf{x} a un vector en F .

65 Por el contrario, la función de pérdida usada por la herramienta 132 para datos sin censurar puede ser:

$$Pérdidas(f(\mathbf{x}), y, s = 0) = \begin{cases} C_n^*(e - \varepsilon_n^*) & e > \varepsilon_n^* \\ 0 & -\varepsilon_n \leq e \leq \varepsilon_n^* \\ C_n(\varepsilon_n - e) & e < -\varepsilon_n \end{cases}$$

donde

$$e = f(\mathbf{x}) - y$$

$$y \varepsilon_n^* \leq \varepsilon_n \quad \text{y} \quad C_n^* \geq C_n.$$

En la descripción anterior, las \mathbf{W} y b se obtienen al resolver un problema de optimización, cuya forma general es:

$$\min_{\mathbf{W}, b} \frac{1}{2} \mathbf{W}^T \mathbf{W}$$

$$\text{de manera que} \quad y_i - (\mathbf{W}^T \phi(x_i) + b) \leq \varepsilon$$

$$(\mathbf{W}^T \phi(x_i) + b) - y_i \leq \varepsilon$$

Sin embargo, esta ecuación supone que el problema de optimización convexa siempre es factible, lo cual puede no ser el caso. Además, se desea permitir pequeños errores en la estimación de la regresión. Es por estas razones que se usa una función de pérdida para SVRc. La pérdida permite un margen de maniobra para la estimación de la regresión. Idealmente, el modelo construido calculará exactamente todos los resultados con exactitud, lo que no es factible. La función de pérdida permite un intervalo de error respecto al ideal, y este intervalo se controla mediante las variables de holgura ξ y ξ^* , y una penalización C . Los errores que se desvían del ideal, pero que están dentro del intervalo definido por ξ y ξ^* , se cuentan, pero C mitiga su contribución. Cuanto más errónea sea la instancia, mayor será la penalización. Cuanto menos errónea (más cercana al ideal) sea la instancia, menor será la penalización. Este concepto de aumentar la penalización con el error da como resultado una pendiente, y C controla esta pendiente. Si bien pueden usarse varias funciones de pérdida, para una función de pérdida insensible a ε , la ecuación general se transforma en:

$$\min_{\mathbf{w}, b} P = \frac{1}{2} \mathbf{W}^T \mathbf{W} + C \sum_{i=1}^l (\xi_i + \xi_i^*)$$

$$\text{de manera que} \quad y_i - (\mathbf{W}^T \Phi(x_i) + b) \leq \varepsilon + \xi_i$$

$$(\mathbf{W}^T \Phi(x_i) + b) - y_i \leq \varepsilon + \xi_i^*$$

$$\xi_i, \xi_i^* \geq 0, \quad i = 1 \dots l$$

Para una función de pérdida insensible a ε de acuerdo con la invención (con diferentes funciones de pérdida aplicadas a datos censurados y sin censurar), esta ecuación se convierte en:

$$\min_{\mathbf{w}, b} P_c = \frac{1}{2} \mathbf{W}^T \mathbf{W} + \sum_{i=1}^l (C_i \xi_i + C_i^* \xi_i^*)$$

$$\text{de manera que} \quad y_i - (\mathbf{W}^T \Phi(x_i) + b) \leq \varepsilon_i + \xi_i$$

$$(\mathbf{W}^T \Phi(x_i) + b) - y_i \leq \varepsilon_i^* + \xi_i^*$$

$$\xi_i^{(*)} \geq 0, \quad i = 1 \dots l$$

$$\text{donde} \quad C_i^{(*)} = s_i C_s^{(*)} + (1 - s_i) C_n^{(*)}$$

$$\varepsilon_i^{(*)} = s_i \varepsilon_s^{(*)} + (1 - s_i) \varepsilon_n^{(*)}$$

El criterio de optimización penaliza los puntos de datos cuyos valores y difieren de $f(\mathbf{x})$ en más que ϵ . Las variables de holgura, ξ y ξ^* , corresponden a la magnitud de este exceso de desviación para desviaciones positivas y negativas, respectivamente. Este mecanismo de penalización tiene dos componentes, uno para datos sin censurar (es decir, sin censurar por la derecha) y otro para datos censurados. Aquí, ambos componentes están representados en la forma de funciones de pérdida que se denominan funciones de pérdida insensibles a ϵ .

En otro ejemplo, la herramienta analítica 132 puede incluir un módulo configurado para realizar regresión logística binaria al utilizar, al menos en parte, un paquete informático SAS disponible comercialmente configurado para análisis de regresión.

En otro ejemplo más, la herramienta analítica 132 puede incluir una red neuronal. En tal modalidad, la herramienta 132 incluye preferentemente una red neuronal que es capaz de utilizar datos censurados. Además, la red neuronal usa preferentemente una función objetivo sustancialmente de acuerdo con una aproximación (por ejemplo, derivada) del índice de concordancia (CI) para entrenar un modelo asociado (NNci).

Por ejemplo, cuando la herramienta analítica 132 incluye una red neuronal que se usa para predecir la progresión del cáncer de próstata, la red neuronal puede procesar datos de entrada para una cohorte de pacientes cuyos desenlaces con respecto a la progresión del cáncer de próstata se conocen al menos parcialmente para producir un resultado. Las características particulares seleccionadas para la entrada a la red neuronal pueden seleccionarse mediante el uso del SVRc descrito anteriormente (por ejemplo, implementado con una herramienta analítica 132) o cualquier otro proceso adecuado para la selección de características. Un módulo de error de la herramienta 132 puede determinar un error entre el resultado y el resultado deseado correspondiente a los datos de entrada (por ejemplo, la diferencia entre un desenlace predicho y el desenlace conocido para un paciente). La herramienta analítica 132 puede usar una función objetivo sustancialmente de acuerdo con una aproximación del CI para calificar el rendimiento de la red neuronal. La herramienta analítica 132 puede adaptar las conexiones ponderadas (por ejemplo, la importancia relativa de las características) de la red neuronal basándose en los resultados de la función objetivo.

El índice de concordancia puede expresarse como:

$$CI = \frac{\sum_{(i,j) \in \Omega} I(\hat{t}_i, \hat{t}_j)}{|\Omega|}$$

donde

$$I(\hat{t}_i, \hat{t}_j) = \left\{ \begin{array}{l} 1: \hat{t}_i > \hat{t}_j \\ 0: \text{de otra manera} \end{array} \right\},$$

y puede basarse en comparaciones por pares entre las estimaciones pronósticas \hat{t}_i y \hat{t}_j para los pacientes i y j , respectivamente. En este ejemplo, Ω consiste en todos los pares de pacientes $\{i,j\}$ que cumplen las siguientes condiciones:

- ambos pacientes i y j experimentaron recurrencia, y el tiempo de recurrencia t_i del paciente i es más corto que el tiempo de recurrencia t_j del paciente j ; o
- solamente el paciente i experimentó recurrencia, y t_i es más corto que el tiempo de la visita de seguimiento t_j del paciente j .

El numerador del CI representa el número de veces que el paciente en el que se predijo que habría recurrencia antes mediante la red neuronal realmente experimentó recurrencia antes. El denominador es el número total de pares de pacientes que cumplen las condiciones predeterminadas.

En general, cuando se incrementa el CI, preferentemente cuando se maximiza, el modelo es más exacto. Por lo tanto, al maximizar el CI de manera sustancial y preferida, o una aproximación del CI, se mejora el rendimiento de un modelo. De acuerdo con algunos ejemplos,

una aproximación del CI es la siguiente:

$$C = \frac{\sum_{(i,j) \in \Omega} R(\hat{t}_i, \hat{t}_j)}{|\Omega|}$$

donde

$$R(\hat{i}_i, \hat{i}_j) = \begin{cases} (-(\hat{i}_i - \hat{i}_j - \gamma))^n : \hat{i}_i - \hat{i}_j < \gamma \\ 0 : \text{de otra manera} \end{cases},$$

y donde $0 < \gamma \leq 1$ y $n > 1$. $R(\hat{i}_i, \hat{i}_j)$ puede considerarse como una aproximación a $l(\hat{i}_i - \hat{i}_j)$.

Otra aproximación del CI proporcionado de acuerdo con algunos ejemplos que se ha demostrado empíricamente que logra mejores resultados es la siguiente:

$$C_w = \frac{\sum_{(i,j) \in \Omega} -(\hat{i}_i - \hat{i}_j) \bullet R(\hat{i}_i, \hat{i}_j)}{D},$$

donde

$$D = \sum_{(i,j) \in \Omega} -(\hat{i}_i - \hat{i}_j)$$

es un factor de normalización. Aquí cada $R(\hat{i}_i, \hat{i}_j)$ se pondera por la diferencia entre \hat{i}_i y \hat{i}_j . El proceso de minimizar el C_w (o C) busca mover cada par de muestras en Ω para satisfacer $\hat{i}_i - \hat{i}_j > \gamma$ y así hacer $l(\hat{i}_i, \hat{i}_j) = 1$.

Cuando la diferencia entre los resultados de un par en Ω es mayor que el margen γ , este par de muestras dejará de contribuir a la función objetivo. Este mecanismo supera efectivamente el sobreajuste de los datos durante el entrenamiento del modelo y hace que la optimización se centre preferentemente en mover solo más pares de muestras en Ω para satisfacer $\hat{i}_i - \hat{i}_j > \gamma$. La influencia de las muestras de entrenamiento se ajusta adaptativamente de acuerdo con las comparaciones por pares durante el entrenamiento. Obsérvese que el margen positivo γ en R es preferible para un mejor rendimiento de la generalización. En otras palabras, los parámetros de la red neuronal se ajustan durante el entrenamiento al calcular el CI después de que se hayan introducido todos los datos del paciente. La red neuronal luego ajusta los parámetros con el objetivo de minimizar la función objetivo y así maximizar el CI. Como se usó anteriormente, el sobreajuste generalmente se refiere a la complejidad de la red neuronal. Específicamente, si la red es demasiado compleja, la red reaccionará a los datos "ruidosos". El sobreajuste es arriesgado, ya que puede conducir fácilmente a predicciones que están mucho más allá del intervalo de los datos de entrenamiento.

Datos Morfométricos Obtenidos del Tejido Teñido con H y E

Como se describió anteriormente, puede proporcionarse una herramienta de procesamiento de imágenes (por ejemplo, herramienta de procesamiento de imágenes 136) de acuerdo con algunos ejemplos que genera imágenes digitalizadas de muestras de tejido (por ejemplo, muestras de tejido teñidas con H y E) y/o mide características morfométricas de las imágenes o muestras de tejido. Por ejemplo, en algunas modalidades, la herramienta de procesamiento de imágenes puede incluir un microscopio óptico que captura imágenes de tejidos con un aumento de 20X mediante el uso de una Cámara Digital en Color SPOT Insight QE (KAI2000) y que produce imágenes de 1600 x 1200 píxeles. Las imágenes pueden almacenarse como imágenes con 24 bits por píxel en formato Tiff. Tal equipo es solo ilustrativo, y puede usarse cualquier otro equipo adecuado para capturar imágenes sin apartarse del alcance de la presente invención.

En algunos ejemplos, la herramienta de procesamiento de imágenes puede incluir cualquier equipo, software o combinación de estos adecuados para segmentar y clasificar objetos en las imágenes capturadas, y luego medir las características morfométricas de los objetos. Por ejemplo, tal segmentación de imágenes del tejido puede utilizarse para clasificar objetos patológicos en las imágenes (por ejemplo, clasificar objetos como citoplasma, lumen, núcleos, núcleos epiteliales, estroma, fondo, artefactos, glóbulos rojos, glándulas, otros objetos o cualquier combinación de estos). En un ejemplo, la herramienta de procesamiento de imágenes puede incluir el Definiens Cellenger Developer Studio disponible comercialmente (por ejemplo, v. 4.0) adaptado para realizar la segmentación y clasificación, por ejemplo, de algunos o todos los objetos patológicos descritos anteriormente y para medir diversas características morfométricas de estos objetos. Se describen detalles adicionales sobre el producto Definiens Cellenger en [13].

Por ejemplo, en algunos ejemplos, la herramienta de procesamiento de imágenes puede clasificar objetos como fondo si los objetos corresponden a partes de la imagen digital que no están ocupadas por tejido. Los objetos clasificados como citoplasma pueden ser el citoplasma de una célula, que puede ser un área amorfa (por ejemplo, área de color rosado que rodea un núcleo epitelial en una imagen, por ejemplo, de tejido teñido con H y E). Los objetos clasificados como núcleos epiteliales pueden ser los núcleos presentes dentro de las células epiteliales/células luminales y basales de la unidad glandular, que pueden aparecer como objetos redondos rodeados de citoplasma. Los objetos clasificados

como lumen pueden ser el espacio glandular central donde las células epiteliales depositan las secreciones, que pueden aparecer como áreas blancas cerradas rodeadas de células epiteliales. Ocasionalmente, el lumen puede llenarse con líquido prostático (que generalmente aparece rosado en el tejido teñido con H y E) u otros "restos" (por ejemplo, macrófagos, células muertas, etc.). Juntos, el lumen y el citoplasma y los núcleos epiteliales pueden clasificarse como una unidad de glándula. Los objetos clasificados como estroma pueden ser el tejido conectivo con diferentes densidades que mantiene la arquitectura del tejido prostático. El tejido del estroma puede estar presente entre las unidades de glándula, y puede tener una apariencia de color rojo a rosado en el tejido teñido con H y E. Los objetos clasificados como núcleos estromales pueden ser células alargadas con cantidades nulas o mínimas de citoplasma (fibroblastos). Esta categoría también puede incluir células endoteliales y células inflamatorias, y los núcleos epiteliales también pueden encontrarse dispersos dentro del estroma si hay presente un cáncer. Los objetos clasificados como glóbulos rojos pueden ser pequeños objetos redondos y rojos generalmente ubicados dentro de los vasos (arterias o venas), pero también pueden encontrarse dispersos en todo el tejido.

En algunos ejemplos, la herramienta de procesamiento de imágenes puede medir varias características morfométricas de objetos básicos de interés tales como núcleos epiteliales, citoplasma epitelial, estroma y lumen (incluidos descriptores matemáticos como desviaciones estándar, medianas y medias de los objetos), características basadas en espectros (por ejemplo, características de los canales rojo, verde, azul (RGB) tales como valores medios, desviaciones estándar, etc.), textura, transformación de ondícula, código fractal y/o características de dimensión, otras características representativas de la estructura, posición, tamaño, perímetro, forma (por ejemplo, asimetría, compacidad, ajuste elíptico, etc.), relaciones espaciales y de intensidad con objetos vecinos (por ejemplo, contraste), y/o datos extraídos de uno o más objetos complejos generados mediante el uso de dichos objetos básicos de interés como unidades estructurales con reglas que definen relaciones vecinas aceptables (por ejemplo, características de la "unidad de glándula"). En algunos ejemplos, la herramienta de procesamiento de imágenes puede medir estas características para cada instancia de cada objeto patológico identificado en la imagen, o un subconjunto de tales instancias. La herramienta de procesamiento de imágenes puede generar estas características, por ejemplo, para la evaluación mediante el modelo predictivo 102 (Figura 1A), el kit de análisis 122 (Figura 1B) o la herramienta analítica 132 (Figura 1C). Opcionalmente, la herramienta de procesamiento de imágenes también puede generar un resumen estadístico general de la imagen que resume cada una de las características medidas.

La Figura 3 es un diagrama de flujo de las etapas ilustrativas involucradas en la segmentación de imágenes y la clasificación de objetos (por ejemplo, en imágenes digitalizadas de tejido teñido con H y E) de acuerdo con algunos ejemplos.

Segmentación inicial. En una primera etapa, la herramienta de procesamiento de imágenes puede segmentar una imagen (por ejemplo, una muestra de tejido de biopsia con aguja teñida con H y E, una imagen de micromatriz de tejido teñido con H y E (TMA) o una tinción de H y E de un corte de tejido completo) en pequeños grupos de píxeles contiguos conocidos como objetos. Estos objetos pueden obtenerse mediante un método de crecimiento de regiones que encuentra regiones contiguas sobre la base de la similitud de color y la regularidad de la forma. El tamaño de los objetos puede variarse al ajustar algunos parámetros [14]. En este sistema, la unidad de procesamiento más pequeña suele ser un objeto, en lugar de un píxel. Por lo tanto, pueden realizarse algunos o todos los cálculos y operaciones de las características morfométricas con respecto a los objetos. Por ejemplo, cuando se aplica un umbral a la imagen, los valores de las características del objeto están sujetos al umbral. Como resultado, todos los píxeles dentro de un objeto se asignan a la misma clase. En un ejemplo, el tamaño de los objetos puede controlarse para que sea de 10-20 píxeles en el nivel más fino. Con base en este nivel, los niveles posteriores más altos y más gruesos se crean formando objetos más grandes a partir de los más pequeños en el nivel inferior.

Extracción del Fondo. Después de la segmentación inicial, la herramienta de procesamiento de imágenes puede segmentar la muestra de punción de tejido de la imagen desde el fondo (región transparente del portaobjetos) mediante el uso del umbral de intensidad y la envolvente convexa. El umbral de intensidad es un valor de intensidad que separa los píxeles de la imagen en dos clases: "muestra de punción de tejido" y "fondo". Cualquier píxel con un valor de intensidad mayor o igual al umbral se clasifica como un píxel del "muestra de punción de tejido", de lo contrario, el píxel se clasifica como un píxel de "fondo". La envolvente convexa de un objeto geométrico es el conjunto convexo más pequeño (polígono) que contiene ese objeto. Un conjunto S es convexo si, cuando dos puntos P y Q están dentro de S, entonces todo el segmento de línea PQ también está en S.

Segmentación Gruesa. En una etapa siguiente, la herramienta de procesamiento de imágenes puede volver a segmentar el primer plano (por ejemplo, muestra de punción de TMA) en regiones rugosas que corresponden a núcleos y espacios en blanco. Por ejemplo, la característica principal de los núcleos en las imágenes teñidas con H y E es que están teñidas de azul en comparación con el resto de los objetos patológicos. Por lo tanto, la diferencia en los valores de intensidad de los canales rojo y azul ($R-B$) puede usarse como una característica distintiva. Particularmente, para cada objeto de imagen obtenido en la etapa de segmentación inicial, puede determinarse la diferencia entre los valores de intensidad promedio de píxeles rojos y azules. La relación longitud/ancho también puede usarse para determinar si un objeto debe clasificarse como área de núcleos. Por ejemplo, los objetos que caen por debajo de un umbral de característica ($R-B$) y por debajo de un umbral de longitud/ancho pueden clasificarse como área de núcleos. De manera similar, puede usarse un umbral del canal verde para clasificar los objetos en la muestra de punción de tejido como espacios en blanco. El estroma del tejido está dominado por el color rojo. La diferencia de

intensidad d , la "razón de rojo" $r = R/(R+G+B)$ y la desviación estándar del canal rojo σ_R de los objetos de imagen pueden usarse para clasificar los objetos de estroma.

5 *Clasificación de Espacios en Blanco.* En el estadio de segmentación gruesa, las regiones del espacio en blanco pueden corresponder tanto al lumen (objeto patológico) como a artefactos (áreas de tejido roto) en la imagen. Los objetos de espacio en blanco más pequeños (área menor de 100 píxeles) suelen ser artefactos. Por lo tanto, la herramienta de procesamiento de imágenes puede aplicar un filtro de área para clasificarlos como artefactos.

10 *Desfusión y Clasificación de Núcleos.* En el estadio de segmentación gruesa, el área de núcleos a menudo se obtiene como regiones fusionadas contiguas que abarcan varios núcleos reales. Además, la región de núcleos también podría incluir un citoplasma circundante mal clasificado. Por lo tanto, puede ser necesario desfusionar estas áreas de núcleos fusionados para obtener núcleos individuales.

15 La herramienta de procesamiento de imágenes puede usar dos enfoques diferentes para desfusionar los núcleos. El primer enfoque puede basarse en un método de crecimiento de regiones que fusiona los objetos de imagen que constituyen el área de núcleos bajo restricciones de forma (redondez). Se ha determinado que este enfoque funciona bien cuando la fusión no es grave.

20 En el caso de fusión grave, la herramienta de procesamiento de imágenes puede usar un enfoque diferente con base en el aprendizaje supervisado. Este enfoque implica el marcado manual de las áreas de núcleos por un experto (patólogo). Las características de los objetos de imágenes que pertenecen a los núcleos marcados pueden usarse para diseñar clasificadores estadísticos.

25 En algunos ejemplos, la imagen de entrada puede incluir diferentes tipos de núcleos: núcleos epiteliales, fibroblastos, núcleos basales, núcleos endoteliales, núcleos apoptóticos y glóbulos rojos. Dado que el número de núcleos epiteliales se considera típicamente como una característica importante en la clasificación de la extensión del tumor, puede ser importante distinguir los núcleos epiteliales de los demás. La herramienta de procesamiento de imágenes puede lograr esto al clasificar los núcleos detectados en dos clases: núcleos epiteliales y "el resto" con base en las características de forma (excentricidad) y tamaño (área).

30 En un ejemplo, para reducir el número de dimensiones del espacio de características, la selección de características puede realizarse en el conjunto de entrenamiento mediante el uso de dos clasificadores diferentes: el clasificador bayesiano y el clasificador de los k vecinos más cercanos [12]. El método "dejando uno fuera" [13] puede usarse para la validación cruzada, y el método de búsqueda directa secuencial puede usarse para elegir las mejores características. Finalmente, pueden diseñarse dos clasificadores bayesianos con un número de características iguales a 1 y 5, respectivamente. Puede suponerse que las distribuciones condicionales de clases son gaussianas con matrices de covarianza diagonal.

40 El procedimiento de segmentación de imágenes y clasificación de objetos descrito anteriormente en relación con la Figura 3 es solo ilustrativo y puede usarse cualquier otro método o enfoque adecuado para medir las características morfométricas de interés en muestras o imágenes de tejidos.

45 Por ejemplo, en algunos ejemplos, puede usarse una herramienta de enmascaramiento digital (por ejemplo, Adobe Photoshop 7.0) para enmascarar partes de la imagen del tejido de modo que solo se incluya el tumor infiltrante en la segmentación, clasificación y/o análisis morfométrico posterior. Alternativa o adicionalmente, en algunos ejemplos, los lúmenes en las imágenes de los tejidos son identificados manualmente y enmascarados digitalmente (esbozados) por un patólogo en un esfuerzo por minimizar el efecto del contenido luminal (por ejemplo, cristales, mucina y concreciones secretoras) en la segmentación del objeto del lumen. Además, estos lúmenes esbozados pueden servir como un ancla para la segmentación automática de otros componentes celulares y tisulares, por ejemplo, de la manera como se describió más abajo.

50 En algunos ejemplos, el procedimiento de segmentación y clasificación identifica objetos de unidades de glándula en una imagen de tejido, donde cada objeto de la unidad de glándula incluye lumen, núcleos epiteliales y citoplasma epitelial. Los objetos de las unidades de glándula se identifican mediante un crecimiento uniforme y simétrico alrededor de los lúmenes como semillas. El crecimiento continúa alrededor de estos objetos a través de células epiteliales segmentadas espectralmente uniformes hasta que se encuentran células del estroma, artefactos de retracción, límites de tejido u otros objetos de las unidades de glándula. Estos definen los bordes de las glándulas, donde la precisión del borde está determinada por la precisión de diferenciar el citoplasma del tejido restante. En este ejemplo, sin la adición de condiciones de detención, puede ocurrir un crecimiento descontrolado de las glándulas conectadas. Por lo tanto, en algunos ejemplos, en primer lugar, los lúmenes pequeños (por ejemplo, mucho más pequeños que el área de un núcleo promedio) se ignoran como semillas de glándulas. En segundo lugar, el método de crecimiento controlado de la región continúa siempre que el área de cada anillo de crecimiento sucesivo sea mayor que el anillo anterior. Los segmentos de tejido no epitelial se excluyen de estas mediciones del área del anillo y, por lo tanto, amortiguan y detienen eficazmente el crecimiento de las glándulas asimétricas. Por lo tanto, las células epiteliales (incluidos los núcleos epiteliales más el citoplasma) no capturadas por la glándula, se clasifican como fuera de la unidad de glándula,

o pobremente asociadas con esta. De esta manera, también se identifican células epiteliales (incluidos los núcleos epiteliales más el citoplasma) fuera de las unidades de glándula.

En algunos ejemplos, puede proporcionarse una herramienta de procesamiento de imágenes que clasifica y agrupa los objetos en el tejido, que utiliza restricciones biológicamente definidas y semillas de alta certeza para la clasificación de objetos. En algunos ejemplos, tal herramienta puede depender menos de las características basadas en el color que los enfoques de clasificación anteriores. Por ejemplo, un enfoque más estructurado comienza con semillas de lumen de alta certeza (por ejemplo, con base en los lúmenes esbozados por expertos) y que se usan como anclas, y objetos segmentados de objetos de colores distintos. La distinción de lúmenes de otros objetos transparentes, tales como desgarros de tejidos, artefactos de retracción, vasos sanguíneos y defectos de la tinción, proporciona anclajes sólidos e información del objeto vecino para las semillas de clasificación basadas en el color. Las distribuciones de probabilidad de las nuevas características del objeto semilla, junto con el vecino más cercano y otras técnicas de agrupación, se usan para clasificar aún más los objetos restantes. La información biológica sobre los orgánulos celulares (por ejemplo, sus dimensiones, forma y ubicación con respecto a otros orgánulos) limita el crecimiento de los objetos clasificados. Debido a irregularidades entre los tejidos y características atípicas, pueden usarse múltiples pases del enfoque anterior para marcar todos los segmentos. Los resultados se retroalimentan al proceso como nuevas semillas, y el proceso se repite iterativamente hasta que se clasifiquen todos los objetos. En algunas modalidades, dado que con un aumento de 20x, los objetos de núcleos y subnúcleos pueden resolverse de manera demasiado gruesa para medir con precisión las características morfológicas, las mediciones de la forma, el tamaño y las subestructuras de los núcleos (textura de la cromatina y nucléolos) pueden medirse con un aumento de 40x (véase, por ejemplo, la Tabla 1). Para reducir el efecto de los errores de segmentación, las mediciones a 40x pueden diferenciar las propiedades de las características de los núcleos bien definidos (con base en los límites fuertemente definidos de forma elíptica y circular) de otros núcleos pobremente diferenciados.

La Figura 4A es una imagen de un tejido prostático teñido con H y E típico obtenido mediante una biopsia con aguja. La Figura 4B es una versión segmentada y clasificada de la imagen de la Figura 4A de acuerdo con algunos ejemplos, que muestra unidades de glándula 402 formadas por el lumen de semilla 404, núcleos epiteliales 406 y citoplasma epitelial 408. También segmentados y clasificados en la imagen procesada se encuentran células epiteliales tumorales aisladas/no asociadas a glándulas 410, que incluyen núcleos epiteliales y citoplasma epitelial. Aunque en la imagen original, el lumen de semilla 404, los núcleos epiteliales 406 y el citoplasma epitelial 408 de las unidades de glándula son rojos, azul oscuro y azul claro, respectivamente, y los núcleos epiteliales y el citoplasma epitelial de las células epiteliales tumorales aisladas/no asociadas a glándulas son de color verde y claro, respectivamente, la imagen se proporciona en escala de grises en la Figura 4B para facilitar la reproducibilidad. Las áreas negras/grises representan elementos benignos y artefactos del tejido que han sido eliminados digitalmente por el patólogo que revisó el caso.

Las características morfométricas ilustrativas generadas por ordenador que pueden medirse a partir de, por ejemplo, las imágenes digitalizadas de tejido teñido con H y E, se enumeran en la Tabla 5. Como se describe con mayor detalle más abajo, se encontró que todas las características enumeradas en la Tabla 5 se correlacionan con la progresión del cáncer de próstata en un análisis univariado. Cada característica denominada "IF/H y E" es una característica combinada formada mediante la combinación matemática de una o más características medidas a partir de imágenes de tejido teñido con H y E con una o más características medidas a partir de imágenes de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF).

Tabla 5. Características morfométricas en H y E

Nombre de la Característica	Dominio de la característica	Descripción
HE02_Lum_Are_Median	H y E	Mediana del área de lúmenes
orig_approximation_4	H y E	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 4 etapas de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de glándulas
orig_diag_detail_6	H y E	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles después de aplicar 6 etapas de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de glándulas
HEx2_nta_Lum_Are_Tot	H y E	Área relativa de lúmenes con relación al área total del tumor delineada o identificada de cualquier otra manera
HEx2_EpiNucAre2LumMeanAre	H y E	Relación entre el área nuclear epitelial total y el tamaño promedio de lúmenes
HEx2_nrm_ENWinGU_Are_Tot	H y E	Área relativa de núcleos epiteliales que están dentro (en el interior) de las unidades de glándula
HEx2_nrm_ENOutGU_Are_Tot	H y E	Área relativa de núcleos epiteliales que están fuera de las unidades de glándula

(continuación)

	Nombre de la Característica	Dominio de la característica	Descripción
5	HEx2_nrm_CytWinGU_Are_Tot	H y E	Área relativa del citoplasma epitelial dentro (en el interior) de las unidades de glándula
	HEx2_nrm_CytOutGU_Are_Tot	H y E	Área relativa del citoplasma epitelial fuera de las unidades de glándula
10	HEx2_RelArea_EpiNuc_Out2WinGU	H y E	Relación del área de núcleos epiteliales fuera de las unidades de glándula con relación al área de núcleos epiteliales dentro de las unidades de glándula
	HEx2_RelArea_Cyt_Out2WinGU	H y E	Relación del área del citoplasma epitelial fuera de las unidades de glándula al área del citoplasma epitelial dentro (en el interior) de las unidades de glándula
15	HEx2_RelArea_ENCyt_Out2WinGU	H y E	Relación del área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) fuera de las unidades de glándula y el área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) dentro de las unidades de glándula
20	HEx2_ntaENCYtOutGU2Tumor	H y E	Área de células epiteliales (núcleos más citoplasma) no asociadas con lúmenes normalizada con relación al área tumoral total
	HEx2_nrmLUM_ENOutGU_Are_Tot	H y E	Área relativa de núcleos epiteliales fuera de las unidades de glándula con respecto al área total de lúmenes
25	HEx2_nrmLUM_CytWinGU_Are_Tot	H y E	Área relativa del citoplasma epitelial dentro de las unidades de glándula con respecto al área total de lúmenes
	HEx2_nrmLUM_CytOutGU_Are_Tot	H y E	Área relativa de citoplasma epitelial fuera de las unidades de glándula con relación al área total de lúmenes
30	HEx2_nrmLUM_EpiNucCytOutGU	H y E	Área relativa de células epiteliales (núcleos + citoplasma) con relación al área total de lúmenes
	HEx2_nrm_ENCytWinGULum_Are_Tot	H y E	Relación del área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) dentro de las unidades de glándulas y el área total de lúmenes al área del tumor
35	HEx2_RelArea_ENCytLum_Out2WinGU	H y E	Área relativa de células epiteliales (núcleos + citoplasma) fuera de las unidades de glándula con respecto al área glandular, calculada como la suma del área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) dentro de las unidades de glándula y el área total de lúmenes
40	HEx2_RelArea_EpiNucCyt_Lum	H y E	Relación del área de células epiteliales (núcleo + citoplasma) con respecto al área de lúmenes
	HEx2_ntaLumContentArea	H y E	Área relativa de contenido luminal, es decir, espacio diferente de blanco restringido dentro de la máscara luminal
45	HEx2_nrmEpiNucBand5minus3	H y E	Mide las áreas de núcleos epiteliales distribuidos lejos de las unidades de glándula. Calculado mediante la medición de las áreas de núcleos epiteliales con centros que están en una banda a cierta distancia de los bordes del lumen. La banda incluye todos los núcleos epiteliales que están al menos a tres unidades del borde del lumen, pero dentro de 5 unidades del borde del lumen; una unidad es un número fijo establecido para ser aproximadamente el diámetro de un núcleo epitelial.
50	min_orig_L_detail5	H y E	Mínimo de las varianzas de los valores de píxeles en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 5 etapas de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes
55	RelAreaKi67post_2Lumen	IF/H y E	Relación del área relativa de los núcleos epiteliales positivos para Ki67 en imágenes de IF con respecto al área relativa de lúmenes en imágenes de H y E
60	RelAreapAKTpos_2Lumen	IF/H y E	Relación del área relativa de los núcleos epiteliales positivos para pAKT en imágenes de IF con respecto al área relativa de lúmenes en imágenes de H y E

65

(continuación)

	Nombre de la Característica	Dominio de la característica	Descripción
5	RelArealFM2EpiNuc_2Lumen	IF/H y E	Relación del área relativa de núcleos epiteliales en imágenes de IF con respecto al área relativa de lúmenes en las imágenes de H y E
10	RelAreARpAMACRp2Lumen	IF/H y E	Relación del área relativa de los núcleos epiteliales positivos para AR y positivos para AMACR en las imágenes de IF con respecto al área relativa de los lúmenes en las imágenes de H y E

15 Debe entenderse que las características morfométricas generadas por ordenador enumeradas en la Tabla 5 son solo ilustrativas, y que puede utilizarse cualquier característica morfométrica adecuada generada por ordenador. Por ejemplo, las características morfométricas adicionales generadas por ordenador (por ejemplo, características morfométricas que pueden medirse a partir de imágenes digitalizadas de tejido teñido con H y E) que pueden usarse en un modelo predictivo para predecir un desenlace con respecto a una afección médica se enumeran en las Tablas 1 y 11. Se cree que la experimentación adicional en el campo del cáncer de próstata, su indolencia, recurrencia, progresión u otro desenlace con respecto al cáncer de próstata, puede proporcionar información adicional con respecto a los tipos de características que tienen más probabilidades de correlacionarse con el desenlace. Los inventores esperan que la experimentación continua y/o el uso de otro equipo, software o una combinación de estos adecuados produzca otros diversos conjuntos de características generadas por ordenador (por ejemplo, un subconjunto de las características en las Tablas 1, 5 y 11) que puedan correlacionarse con estas y otras afecciones médicas.

Datos Morfométricos y/o Datos Moleculares Obtenidos de IF Múltiple

30 En algunos ejemplos, se proporciona una herramienta de procesamiento de imágenes (por ejemplo, la herramienta de procesamiento de imágenes 136) que genera imágenes digitalizadas de muestras de tejido sometidas a inmunofluorescencia (IF) (por ejemplo, IF múltiple) y/o mide características morfométricas y/o moleculares de las imágenes o muestras del tejido. En la microscopía de IF múltiple [15], múltiples proteínas en una muestra de tejido se marcan simultáneamente con diferentes colorantes fluorescentes conjugados con anticuerpos específicos para cada proteína en particular. Cada colorante tiene un espectro de emisión distinto y se une a su proteína objetivo dentro de un compartimento tisular, tal como el núcleo o el citoplasma. Por lo tanto, se toma una imagen del tejido marcado bajo una fuente de luz de excitación mediante el uso de una cámara multispectral unida a un microscopio. La imagen multispectral resultante se somete a una descomposición espectral para separar los espectros superpuestos de los marcadores fluorescentes. Las imágenes de IF múltiple sin mezclar tienen múltiples componentes, donde cada componente representa el nivel de expresión de una proteína en el tejido.

40 En algunos ejemplos, las imágenes de tejido sometido a IF múltiple se obtienen con un sistema de imagen espectral CRI Nuance (CRI, Inc., modelo 420-720 nm) montado en un microscopio Nikon 90i equipado con una fuente de luz de mercurio (Nikon) y un sistema Opti Quip 1600 LTS. En algunos ejemplos, la contratinción nuclear con DAPI se registra a una longitud de onda de 480 nm con el uso de un filtro de paso de banda para DAPI (Chroma). Alexa 488 puede capturarse entre 520 y 560 nm en intervalos de 10 nm mediante el uso de un filtro de FITC (Chroma). Alexa 555, 568 y 594 pueden registrarse entre 570 y 670 nm en intervalos de 10 nm con el uso de un filtro de paso largo personalizado (Chroma), mientras que Alexa 647 puede registrarse entre 640 y 720 nm en intervalos de 10 nm con el uso de un segundo filtro de paso largo personalizado (Chroma). Los espectros de los colorantes puros se registraron antes del experimento al diluir cada colorante Alexa por separado en reactivo protector de la fluorescencia SlowFade (Molecular Probes). En algunos ejemplos, las imágenes están sin mezclar mediante el uso del software Nuance Versión 1.4.2, donde las imágenes resultantes se guardan como imágenes cuantitativas en tiff en escala de grises y se envían para su análisis.

55 Por ejemplo, la Figura 5A muestra una imagen de IF múltiple de una muestra de tejido marcada con la contratinción 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) y el biomarcador citoqueratina 18 (CK18), que se une a las proteínas objetivo en los núcleos y el citoplasma, respectivamente. Aunque la imagen original era una imagen de pseudocolor que generalmente presentaba azul y verde correspondientes a DAPI y CK18, respectivamente, la imagen se proporciona en escala de grises en la Figura 5A para facilitar la reproducibilidad.

60 En algunos ejemplos, como alternativa o además de las características moleculares que se miden en imágenes digitalizadas de tejido sometido a IF múltiple, pueden medirse una o más características morfométricas en las imágenes de IF. Las características morfométricas en IF representan datos extraídos de objetos histológicos básicos de interés y/o de representaciones gráficas de imágenes binarias generadas a partir de, por ejemplo, una vista segmentada específica de una clase de objeto (por ejemplo, puede usarse una vista segmentada de núcleos epiteliales para generar un árbol expandido mínimo (MST) como se describió más abajo). Debido a su identificación altamente específica de componentes moleculares y la consecuente delimitación precisa de los compartimentos de tejido, en

comparación con las tinciones usadas en microscopía óptica, la microscopía de IF múltiple ofrece la ventaja de una segmentación de imágenes más confiable y precisa. En algunos ejemplos, la microscopía de IF múltiple puede reemplazar a la microscopía óptica por completo. En otras palabras, en algunas modalidades (por ejemplo, en dependencia de la afección médica bajo consideración), todas las características morfológicas y moleculares pueden medirse a través del análisis de imágenes de IF, lo que elimina así la necesidad de, por ejemplo, la tinción con H y E (por ejemplo, algunas o todas las características enumeradas en las tablas 1 y 2 podrían medirse a través del análisis de imágenes de IF).

En una imagen de inmunofluorescencia (IF), los objetos se definen al identificar un área de tinción fluorescente por encima de un umbral y luego, cuando corresponda, aplicar parámetros de forma y restricciones de vecindad para refinar las clases de objetos específicos. En algunos ejemplos, las clases morfológicas de interés de los objetos de IF incluyen objetos epiteliales (objetos positivos para citoqueratina 18 (CK18)) y núcleos epiteliales complementarios (objetos DAPI en asociación espacial con CK18). Específicamente, para las imágenes de IF, el proceso de descomponer la imagen en sus partes componentes es el resultado de una umbralización experta (es decir, la asignación de la señal "positiva" frente al fondo) junto con un proceso iterativo que emplea técnicas de aprendizaje de máquina. La razón de la señal del biomarcador al ruido de fondo se determina a través de un proceso de umbralización de la intensidad. A los fines de la asignación precisa de biomarcadores y la posterior generación de características, el aprendizaje supervisado se usa para modelar el umbral de intensidad para la discriminación de señales en función de las estadísticas del fondo de la imagen. Este proceso se utiliza para la determinación inicial de la identificación precisa por DAPI de los núcleos y luego la segmentación precisa posterior y la clasificación de los objetos DAPI como núcleos discretos. Se aplica un proceso similar para capturar e identificar un número máximo de células epiteliales CK18+, que es fundamental para asociar y definir un marcador con un compartimento celular específico. Estos enfoques se aplican luego a los marcadores de interés específicos, lo que resulta en la generación de características que reflejan los atributos de proteínas relevantes en estudio sobre la base de la intensidad y el área.

Segmentación de Imágenes de IF Múltiple. En algunos ejemplos, la herramienta de procesamiento de imágenes realiza la segmentación de imágenes de IF múltiple de la siguiente manera. Para permitir la extracción de características, los núcleos epiteliales (EN) y el citoplasma se segmentan a partir de las imágenes de IF mediante el uso de la plataforma de análisis de imágenes Definiens [16, 17]. La Figura 6 es un diagrama de flujo 600 de etapas ilustrativas involucradas en la segmentación y clasificación de imágenes de IF múltiple de acuerdo con algunos ejemplos.

El método de segmentación realizado por la herramienta de procesamiento de imágenes puede consistir en tres etapas de segmentación inicial en primitivos 602; clasificación de primitivos en núcleos, citoplasma y fondo 604; y refinamiento de primitivos clasificados para obtener la segmentación final 606. En algunos ejemplos, las operaciones de segmentación y extracción de características pueden aplicarse a regiones de interés (ROI) en la imagen. En algunos ejemplos, estas ROI pueden ser identificadas por un patólogo y pueden estar libres de tejido no tumoral y artefactos. En otras modalidades, estas regiones pueden identificarse automáticamente. La Figura 5B muestra la imagen de la Figura 5A segmentada en núcleos epiteliales (EN) 502, citoplasma 504 y núcleos estromales 506. Aunque en la imagen original, segmentada y clasificada, los EN 502 segmentados se muestran en color azul, el citoplasma segmentado 504 se muestra en verde, y los núcleos estromales segmentados 506 se muestran en color púrpura, la imagen se proporciona en escala de grises en la Figura 5B para facilitar la reproducibilidad.

Con referencia a la Figura 6, en un primer estadio de segmentación 602 los píxeles de la imagen se agrupan en pequeños objetos primitivos. Esta agrupación se basa en la similitud de los valores de intensidad y las características de la forma de los objetos resultantes. Para obtener los primitivos iniciales, el procedimiento de árbol cuádruple se aplica primero a la imagen. Los primitivos resultantes se agrupan luego con el uso de un procedimiento de segmentación multirresolución [16]. El procedimiento de árbol cuádruple usa la similitud de color para agrupar los píxeles, y el método multirresolución usa la similitud de color y la regularidad de la forma para formar primitivos. Un parámetro de escala controla el tamaño promedio de los primitivos en ambos métodos.

En el estadio 604, los primitivos en la imagen CK18 se clasifican en objetos prototipo de citoplasma y de fondo, donde el fondo consiste en autofluorescencia y unión no específica del colorante fluorescente al tejido. Esto se logra mediante la umbralización de la intensidad, en donde las intensidades promedio de los primitivos se comparan con los umbrales calculados a partir de las estadísticas de intensidad de todos los primitivos en la imagen CK18. Si la intensidad promedio de un primitivo está por debajo de un umbral T_{bajo} , se clasifica como un objeto prototipo de fondo. Si la intensidad promedio del primitivo está por encima de un umbral T_{alto} , se clasifica como un objeto prototipo de citoplasma. Los umbrales T_{bajo} y T_{alto} se derivan de un umbral T como $T_{bajo} = \alpha T_{bajo}$ y $T_{alto} = \alpha T_{alto}$. El umbral T se modela como una función lineal $T = \mathbf{A}^T \mathbf{X} + b$, donde $\mathbf{A} = [a_1, \dots, a_n]^T$ y $\mathbf{X} = [x_1, \dots, x_n]^T$ son parámetros del modelo y estadísticas de intensidad de todos los primitivos de imagen, respectivamente, y b es una constante. Los parámetros $\{\mathbf{A}, b\}$ se obtienen al ajustar el modelo a un conjunto de umbrales de referencia seleccionados por dos patólogos en un conjunto de imágenes de entrenamiento. Para evitar el sobreajuste del modelo, la selección de características se realiza en \mathbf{X} y, por lo tanto, muy pocos elementos de \mathbf{A}^T no son cero. Los parámetros α_{bajo} y α_{alto} controlan de la precisión de clasificación para los prototipos de clase resultantes. En un ejemplo ilustrativo, se usaron valores conservadores $\alpha_{bajo} = 0,33$ y $\alpha_{alto} = 1,5$ para obtener prototipos de clase confiables.

Los prototipos de clase obtenidos mediante el uso de la umbralización determinan la clasificación del resto de los primitivos mediante el uso de la regla de clasificación del vecino más cercano (NN). La regla NN clasifica cada primitivo como un objeto de citoplasma o de fondo si el objeto prototipo más cercano es un objeto de citoplasma o de fondo, respectivamente. La métrica para la regla NN es la distancia Euclidiana y los objetos se representan mediante el uso del vector $[m \ s]^T$, donde m y s denotan el promedio y desviación estándar de la intensidad del objeto.

En el estadio 606, los marcadores de clase de los objetos de citoplasma y de fondo se refinan aún más mediante el análisis de vecindad. Los objetos de fondo más pequeños que, por ejemplo, 12 píxeles en el área cuya longitud del borde con citoplasma en relación con su longitud total del borde es 0,6 o más, se reclasifican como citoplasma.

En referencia al estadio 604, en el primer estadio de segmentación de EN, los objetos prototipo de núcleos se identifican mediante la umbralización de la intensidad. El modelo de umbral de intensidad se construye mediante el uso de un procedimiento similar al descrito para clasificar los objetos prototipo de citoplasma. A continuación, los objetos de fondo cuya longitud de borde relativa para los núcleos es 0,66 o más se reclasifican como objetos prototipos de núcleos. Además, los objetos de fondo aislados más pequeños, por ejemplo, de 50 píxeles de área, se reasignan como objetos prototipo de núcleo.

Para construir núcleos individuales, los objetos prototipos de núcleos se someten a dos etapas de crecimiento de la región, una etapa de segmentación multiresolución y una etapa de limpieza final. En general, el crecimiento de la región consiste en utilizar objetos prototipos más brillantes como semillas y fusionar los objetos vecinos más oscuros con las semillas para formar núcleos individuales. En el siguiente ejemplo, el superobjeto para un objeto dado se obtiene fusionando el objeto con todos sus vecinos conectados. En el primer estadio de crecimiento de la región, los objetos prototipo cuyo brillo promedio en relación con el brillo de su superobjeto es 0,66 o más se identifican como semillas. Estos objetos se clasifican como núcleos si cumplen ciertos criterios de forma (por ejemplo, ancho y largo ≤ 25 píxeles, ajuste elíptico $\geq 0,6$, 35 píxeles $< \text{área} \leq 350$ píxeles), donde el ajuste elíptico [16] mide la similitud del objeto con una elipse perfecta. Cada núcleo identificado se hace crecer al fusionar los objetos vecinos más oscuros con él. El proceso anterior se repite en los objetos prototipo restantes mediante el uso de objetos con un brillo relativo de 0,9 o más como semillas. Siguiendo las etapas anteriores de crecimiento de la región, la segmentación de resolución múltiple se aplica a los objetos prototipo restantes para construir más núcleos. En la etapa de limpieza, los objetos prototipo restantes se fusionan con los núcleos individuales identificados en las etapas anteriores si es posible, o de lo contrario se clasifican como fondo. Finalmente, los núcleos cuya área tiene una superposición de, por ejemplo, 50 % o más con citoplasma se clasifican como EN. De lo contrario, se clasifican como núcleos estromales.

En algunos ejemplos, se proporcionan características morfométricas para su evaluación o uso dentro de un modelo predictivo que se derivan de (i) el árbol expandido mínimo (MST) que conecta los núcleos epiteliales (EN) en imagen(es) de IF múltiple y/o (ii) la dimensión fractal (FD) de los límites de las glándulas en imagen(es) de IF múltiple. Los autores de la presente invención han determinado que tales características son eficaces para la cuantificación de la arquitectura y la morfología de los tejidos. Los marcadores fluorescentes utilizadas en la microscopía de IF múltiple permiten una segmentación más confiable y precisa de los compartimentos de tejido sobre las tinciones convencionales utilizadas en la microscopía óptica, lo que permite una extracción de características más robustas. Solo a modo de ejemplo, mediante el uso del análisis univariado y el modelado multivariado, la eficacia y robustez de las características de MST y FD se demostraron en el estudio a gran escala y multicéntrico que se describió más abajo.

En algunos ejemplos, pueden combinarse dos o más características (por ejemplo, características clínicas, moleculares y/o morfométricas) para construir una característica combinada para la evaluación dentro de un modelo predictivo. Por ejemplo, una característica morfométrica como, por ejemplo, una característica del árbol expandido mínimo (MST) y/o una característica de dimensión fractal (FD), pueden combinarse con una característica clínica para formar una característica combinada. En un ejemplo, se seleccionó una característica combinada construida mediante el uso de la longitud media del borde del MST (una característica morfométrica) y el grado de Gleason del paciente (una característica clínica) en un modelo multivariado para la predicción de la progresión de la enfermedad. Por supuesto, son posibles otras combinaciones adecuadas de características.

Más abajo se describen ejemplos adicionales de características combinadas en relación con, por ejemplo, la Figura 9.

Características del Árbol Expandido Mínimo (MST). En algunos ejemplos, una o más características morfométricas usadas en un modelo predictivo pueden incluir o basarse en características de un árbol de expansión mínimo (MST) observado en imágenes digitalizadas de tejido sujeto a inmunofluorescencia múltiple (IF). Como se describió anteriormente, generalmente la microscopía de IF ofrece la ventaja de una segmentación de imagen más confiable y precisa en comparación con la microscopía óptica tradicional. Por ejemplo, los rasgos que caracterizan la arquitectura del tejido pueden extraerse del MST que conecta los centroides de todos los núcleos epiteliales (EN) en una muestra de tejido. En algunos ejemplos, después de la segmentación de una imagen de IF en objetos DAPI positivos para CK18, esta imagen segmentada puede usarse para crear un gráfico para la derivación de todas las características de MST. El MST de un gráfico se define como el árbol que conecta todos los vértices (aquí, centroides de EN) de modo que se minimiza la suma de las longitudes de las líneas (bordes) que conectan los vértices. Existen varios métodos para construir el MST de un gráfico. En algunos ejemplos,

puede usarse el método de Prim [35]. En otros ejemplos, pueden usarse otros métodos para construir el MST.

La Figura 7 es un diagrama de flujo 700 de etapas ilustrativas involucradas en la construcción de un árbol expandido mínimo (MST) de objetos dentro de una imagen digitalizada de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF) de acuerdo con algunos ejemplos. Sea $G = \{V, E\}$ que denota un gráfico con vértices V y bordes E , y sea $G_{MST} = \{V_{MST}, E_{MST}\}$ que denota el MST de G . Tal procedimiento puede realizarse por una herramienta de procesamiento de imágenes (por ejemplo, la herramienta de procesamiento de imágenes 136) o cualquier otro equipo, software o combinación de estos adecuados. El método comienza en el estadio 702 al agregar un vértice arbitrario v en V a V_{MST} , es decir, $V_{MST} = \{v\}$. Luego, en el estadio 704, el método determina el vértice más cercano en el resto del gráfico al actual G_{MST} . Es decir, el más corto borde de conexión de los vértices u y v se encuentra tal que $u \in V_{MST}$ y $v \notin V_{MST}$. En algunas modalidades, la longitud de cada borde es la distancia Euclidiana entre el par de vértices (por ejemplo, centroides de EN) que conecta. Luego, en el estadio 706, G_{MST} se actualiza al agregar v a V_{MST} y al agregar e a E_{MST} . El proceso de agregar vértices continúa en el estadio 608 hasta que todos se incluyan en V_{MST} . Como se indicó en el estadio 710, el MST se completa una vez que se han incluido todos los vértices en el gráfico.

La Figura 8A muestra un caso del MST de núcleos epiteliales (EN) identificados en una imagen de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF) de acuerdo con algunos ejemplos.

Como se muestra, el MST incluye vértices (aquí, centroides de EN) 802. El MST también incluye los bordes MST intraglandulares 804 y los bordes interglandulares 806. Aunque en la imagen original, segmentada y clasificada, los centroides de EN 802 y los bordes MST intraglandulares 804 están marcados en amarillo, los bordes interglandulares 806 están marcados en rojo, y los EN y el citoplasma segmentados están marcados en gris oscuro y gris claro, respectivamente (con EN de grados 1 y 3 delineados en verde y rojo, respectivamente, como se describe más abajo), la imagen se proporciona en escala de grises en la Figura 8A para facilitar la reproducibilidad. Otros compartimentos en la imagen están enmascarados para mayor claridad.

Una serie de características del MST de EN se han considerado en la literatura para el diagnóstico y el pronóstico del cáncer [19-23]; sin embargo, una limitación fundamental de los estudios fue que el análisis de imágenes se realizó en imágenes de microscopía óptica de muestras de tejido teñidas mediante el uso de tinciones convencionales como hematoxilina y eosina (H y E). En un ejemplo ilustrativo, se seleccionaron cinco características MST de imágenes de tejido sujeto a inmunofluorescencia múltiple (IF) para su uso potencial como características dentro de un modelo predictivo. Alternativa o adicionalmente, en otros ejemplos, pueden seleccionarse otras características de MST para su evaluación o uso dentro de un modelo predictivo de una afección médica. Las cinco características de MST seleccionadas fueron la media y desviación estándar de las longitudes de los bordes, y la distribución de grados para los vértices con grados 1 y 3 (véase la Figura 9). El grado de un vértice se refiere al número de bordes incidentes en el vértice. Por ejemplo, el grado de vértice (centroide de EN) 802 en la Figura 8A es 3. El vértice 808 en la figura 8A tiene un grado de 1. Aquí, la distribución de grados de un MST, d_i se define como $d_i = n_i/n$, donde n_i denota el número de vértices con grado i , y n es el número total de vértices. En este ejemplo, la distribución de grados hasta el grado 3 se consideró que los vértices con grados más altos eran raros y, por lo tanto, las estimaciones de sus proporciones no eran confiables. En otros ejemplos, pueden seleccionarse grados de 4 o más como características para la evaluación o uso dentro de un modelo predictivo.

En el ejemplo ilustrativo que se muestra en la Figura 8A, los bordes del MST conectan los núcleos epiteliales (EN) dentro de las glándulas (por ejemplo, el borde 704), así como a través de las glándulas (por ejemplo, el borde 706). Los presentes inventores han determinado que estos bordes intra e interglandulares cuantifican diferentes características del tejido. Mientras que las longitudes de los bordes intraglandulares caracterizan el grado en que los EN están invadiendo el estroma que rodea la glándula, los bordes interglandulares miden la separación entre las glándulas, lo que, para un determinado grado de Gleason, se debe en parte a la respuesta bioquímica del estroma al cáncer que resulta en la formación de tejido cicatricial. Para desacoplar estas dos características, los bordes del MST se clasificaron como intraglandulares e interglandulares, y la media y desviación estándar de las longitudes de los bordes se obtuvo por separado para cada una de las dos clases de bordes. En este estudio ilustrativo, la distribución de grados para los vértices que conectan los bordes interglándulas no fue informativa y, por lo tanto, no se consideró, aunque podría considerarse en otros ejemplos. Para clasificar los bordes del MST, el análisis de componentes conectados se realizó en regiones de glándulas, donde las regiones de glándulas consistían en la unión de regiones de EN y de citoplasma. Los bordes que conectan EN que pertenecen al mismo componente conectado se clasificaron como intraglandulares. Los bordes restantes se clasificaron como interglandulares. La longitud media del borde interglandular fue capaz de distinguir pacientes con buenos y malos desenlaces. Además, se correlacionó con el desenlace en la misma dirección que la longitud media del borde MST obtenida de todos los EN.

En algunos ejemplos, el enfoque MST como se describió anteriormente es un método basado en gráficos que opera en una máscara binaria. Por ejemplo, este enfoque puede aplicarse a máscaras binarias de lúmenes identificados (por ejemplo, en imágenes teñidas con H y E) u objetos DAPI/CK18 en imágenes de tejidos sometidos a inmunofluorescencia (IF). En otros ejemplos, podría usarse cualquier otro enfoque y/o enmascaramiento(s) adecuados basados en gráficos en relación con la medición de características de interés en el tejido o en las imágenes del mismo.

Dimensión Fractal de los Límites de las Glándulas. Los presentes inventores han determinado que la dimensión fractal (FD) de los límites entre las glándulas y el estroma circundante proporciona una medida cuantitativa de la irregularidad de la forma del límite. En general, la FD es una medida de la capacidad de relleno de espacio de un objeto. La FD de una línea recta es uno, mientras que la FD de una curva plana más irregular está entre 1 y 2. Los límites de las glándulas con el lumen y el estroma se definen como píxeles que tienen al menos un píxel no glandular y un píxel glandular entre sus 4 vecinos conectados (Figura 8B). Como los lúmenes y el estroma pueden parecer similares en las imágenes de IF múltiple, se usaron operaciones morfológicas para distinguirlos. Los lúmenes se definieron como píxeles que pertenecen a huecos en las regiones de la glándula, es decir, píxeles a los que no se puede llegar llenando la región no glandular a partir de los píxeles en el borde de la imagen. Dos características de FD se consideraron en un estudio ilustrativo: la FD de los límites glándula-estroma y la FD de los límites de la glándula con estroma y lúmenes (véase Figura 9). La Figura 8B muestra los límites de las glándulas con el estroma 810 y los límites de las glándulas con el lumen 812 como se identifica en una imagen de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF) de acuerdo con algunos ejemplos.

Aunque en la imagen procesada por la herramienta de procesamiento de imágenes, los límites de las glándulas con el estroma 810 y los límites de las glándulas con lumen 812 se muestran en color amarillo y rojo, respectivamente, la imagen se proporciona en escala de grises en la Figura 8B para facilitar la reproducibilidad. La FD se estimó mediante el uso del algoritmo de conteo de cuadros descrito más abajo.

En el conteo de cuadros, las cuadrículas de diferentes tamaños se colocan en la curva de interés y para cada cuadrícula se cuentan las celdas de la cuadrícula ocupadas por la curva. Para cada tamaño de cuadrícula, la cuadrícula se desplaza para encontrar la cobertura de la curva con el menor número de celdas ocupadas. Sea el par (s_i, N_i) , $i = 1, \dots, p$ denota el tamaño de la cuadrícula y el conteo de celdas correspondiente, respectivamente, donde p es el número de pares. La relación entre $\log(N)$ y $\log(s)$ se modela como una función lineal $\log(N) = a \log(s) + b$ a través de mínimos cuadrados, donde a y b denotan la pendiente y la intersección de la línea. La FD f se obtiene entonces como $f = -a$.

Una consideración práctica en la estimación de la FD es la elección del intervalo de s . En el presente estudio, debido a la resolución finita de imágenes digitales, una s pequeña tiende a subestimar la FD. Por otro lado, debido a la extensión finita de las imágenes, los valores grandes de s dan como resultado pocas celdas de cuadrícula ocupadas, lo que hace que la estimación de la FD tenga una gran varianza. La determinación de la s óptima también se ve confundida por el hecho de que, en algunos casos, los límites tumorales pueden no mostrar comportamiento fractal en absoluto o hacerlo en un intervalo finito de escalas.

El intervalo de s se seleccionó con base en las restricciones impuestas por la resolución finita y el tamaño de las imágenes, así como también el poder predictivo de la característica resultante. Inicialmente, el tamaño mínimo y máximo de los cuadros se estableció en 2 y 64, respectivamente, donde la elección del tamaño máximo se realizó empíricamente para garantizar que N fuera al menos 50 para la mayoría de las imágenes. Luego, los tamaños de los cuadros se establecieron en $s \in \{2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 32, 48, 64\}$, siguiendo aproximadamente una ley de potencia. Luego, para cada par de tamaños de cuadro consecutivos (es decir, (2, 3), (3, 4), ..., (48, 64)), se estimó la FD. El poder predictivo de las estimaciones de la FD se evaluó a través de un análisis univariado como se describió más abajo. El intervalo óptimo de s se seleccionó como el intervalo sobre el cual el poder predictivo de la FD se mantuvo estadísticamente significativo. La característica final de la FD se obtuvo con base en este intervalo de s .

Análisis de las características de MST y FD en imágenes de IF. Las muestras de biopsia de tejido se marcaron con la contratinción DAPI y múltiples biomarcadores, incluido el biomarcador CK18, y se tomaron imágenes mediante el uso de un sistema de imagen multiespectral CRI Nuance que produjo imágenes de 1280×1024 píxeles de 12 bits. Se tomaron imágenes de múltiples (típicamente tres) regiones de interés (ROI) para cada paciente. Las imágenes de los biomarcadores obtenidas de la descomposición espectral se segmentaron y las características de MST y FD se extrajeron de las imágenes segmentadas. Finalmente, los valores de las características que se extrajeron de las múltiples ROI del paciente se agregaron en un solo valor por característica tomando su mediana.

El valor predictivo de las características propuestas de MST y FD se estableció primero mediante análisis univariado. Esto se logró entrenando un modelo univariado de riesgos proporcionales de Cox [24] en cada característica y probando la significación del coeficiente del modelo entrenado mediante el uso de la prueba χ^2 de Wald. La Figura 8 muestra los valores p bilaterales y el CI de las características del árbol expandido mínimo (MST) y la dimensión fractal (FD) en el conjunto de entrenamiento, donde los valores del índice de concordancia (CI) varían de 0 a 1. Un CI de 0,5 indica que no hay relación entre la característica y el desenlace, mientras que los valores de CI inferiores y superiores a 0,5 corresponden a relaciones negativas y positivas con el desenlace, respectivamente. Como indica la tabla, a excepción de d_2 , un mayor valor de la característica corresponde a un tiempo más corto hasta el fracaso clínico (CF). Además, los presentes inventores han determinado que tanto las características de la FD como la distribución de grados de MST para el grado 3 (d_3) fueron altamente efectivas para predecir el CF en términos tanto del valor p de la prueba χ^2 como del CI. Cabe señalar que las dos características de la FD tuvieron un rendimiento similar. Se cree que el mismo proceso de carcinogénesis subyacente a la proliferación desinhibida de las células epiteliales impulsa la irregularidad de los límites de las glándulas con el estroma y el lumen, lo que resulta en un rendimiento de características similares.

La longitud media del borde intraglandular y total del MST también tuvo un poder predictivo comparable. Se cree que esto se debe a que ambas características están dominadas por bordes intraglandulares cuyo número es mucho mayor que el de los bordes interglandulares. Por otro lado, la correlación entre la longitud media del borde interglandular y el CF no fue significativa en este ejemplo. Para evaluar si la característica interglandular sería útil cuando se considerara dentro de un grupo de pacientes con grados de Gleason similares, particularmente Grado 3, se evaluó la correlación dentro del grupo de pacientes de grado 3. Esta correlación también fue insignificante en este ejemplo. Se sospecha que el número relativamente pequeño de distancias interglandulares que determina la característica es insuficiente para obtener una característica estable. Por lo tanto, es posible que se necesiten mayores ROI o un mayor número de ROI.

Los presentes inventores han determinado que la distribución de grados de MST tiene una interpretación intuitiva en términos de la arquitectura tumoral. Como se muestra en la Figura 8A, los vértices de grado 1 típicamente ocurren cuando un núcleo epitelial (EN) está bastante aislado de otro EN. Este es usualmente el caso de EN que invaden el estroma circundante. Los vértices de grado 2, por otro lado, típicamente corresponden a EN regularmente dispuestos dentro de la glándula. Finalmente, los vértices de grado 3 (y de grado superior) generalmente pertenecen a grupos de EN resultantes de una proliferación no inhibida. Por lo tanto, se espera que d_1 y d_3 estén correlacionadas negativamente con el tiempo hasta el fracaso clínico (CF), mientras que se espera lo contrario de d_2 .

Características Combinadas. Los presentes inventores señalaron que las características de dimensión fractal (FD) fueron las más efectivas para pacientes con grados de Gleason 3 y menores (CI = 0,395). Esta fue la motivación para crear una característica combinada. Para los grados de Gleason 4 o superiores, la característica combinada se estableció para el grado de Gleason. De lo contrario, se estableció para la característica de la FD escalada linealmente para el intervalo de 0 a 3. La longitud media del borde del MST y la distribución de grados para el grado 3 también fueron más efectivos para los grados de Gleason 3 y menores (CI = 0,415 y 0,434, respectivamente). Por lo tanto, se construyó una característica combinada para cada una de estas dos características al establecer la característica combinada en el grado de Gleason para los grados 4 y superiores, y estableciéndola en la característica de MST escalada linealmente al intervalo de 0 a 3 para los grados 3 y más bajos. Los CI univariados para estas características combinadas también se muestran en la Figura 9. En otros ejemplos, se puede utilizar cualquier otra característica combinada adecuada como, por ejemplo, cualquier combinación de características enumeradas en las Tablas 1-5, 9 y 11 y la Figura 9 que se correlacione con un desenlace de interés (por ejemplo, correlacionada con el desenlace en un análisis univariado).

En los ejemplos descritos en la presente descripción, se proporcionan sistemas y métodos para la detección de un compuesto inhibidor de una afección médica (por ejemplo, enfermedad). La Figura 10 es un diagrama de flujo de etapas ilustrativas involucradas en la detección de un compuesto inhibidor de acuerdo con un ejemplo. En el estadio 1002, puede obtenerse un primer conjunto de datos para un paciente que incluye uno o más datos clínicos, datos morfométricos y datos moleculares (por ejemplo, datos morfométricos y/o datos clínicos correspondientes a una o más de las características enumeradas en la Figura 9). Puede administrarse un compuesto de prueba al paciente en el estadio 1004. Después del estadio 1004, puede obtenerse un segundo conjunto de datos del paciente en la etapa 1006. El segundo conjunto de datos puede incluir o no los mismos tipos de datos (es decir, características) incluidos en el primer conjunto de datos. En el estadio 1008, el segundo conjunto de datos puede compararse con el primer conjunto de datos, donde un cambio en el segundo conjunto de datos después de la administración del compuesto de prueba indica que el compuesto de prueba es un compuesto inhibidor. La etapa 1008 de comparación de los conjuntos de datos puede incluir, por ejemplo, comparar una salida generada por un modelo predictivo de acuerdo con un ejemplo que responde a una entrada del primer conjunto de datos con una salida generada por el modelo predictivo que responde a una entrada del segundo conjunto de datos, donde el modelo predictivo puede predecir la afección médica que se considera. Por ejemplo, el compuesto inhibidor puede ser un fármaco dado, y la presente invención puede determinar si el fármaco es eficaz como tratamiento médico para una afección médica.

Ejemplo 1: Predicción de la Progresión del Cáncer de Próstata

De acuerdo con un ejemplo ilustrativo, se desarrolló un modelo predictivo para su uso en muestras de punción de biopsia de diagnóstico de tejido prostático, donde el modelo predice la probabilidad de progresión avanzada del cáncer de próstata incluso después de una prostatectomía radical con intención curativa. Este modelo predictivo se desarrolló a partir de datos de una cohorte de pacientes de múltiples instituciones seguida durante una mediana de 8 años. Las características evaluadas en relación con la generación del modelo incluyeron características morfométricas extraídas de la biopsia con aguja para el diagnóstico de próstata, características moleculares correspondientes a un perfil expandido de biomarcadores in situ y varias características clínicas. El modelo predictivo puede utilizarse, por ejemplo, en el momento del diagnóstico de cáncer de próstata y antes del tratamiento, para proporcionar una evaluación objetiva del riesgo del paciente de progresión del cáncer de próstata. Se cree que el modelo resultante de este estudio, que predice con precisión el desenlace, ayudará a identificar a los pacientes que, por ejemplo, pueden beneficiarse de las terapias ajustadas por el riesgo.

Un método diseñado prospectivamente se aplicó retrospectivamente a una cohorte de pacientes con cáncer de próstata clínicamente localizado o localmente avanzado. Los sujetos del estudio consistieron en 1027 hombres

tratados con prostatectomía radical entre 1989 y 2003 en 5 hospitales universitarios. El modelo predictivo de la progresión clínica (metástasis a distancia, recurrencia independiente de andrógenos y/o mortalidad por cáncer de próstata) se derivó de las características seleccionadas a través del aprendizaje supervisado multivariado. El rendimiento del modelo predictivo se midió mediante el índice de concordancia.

Se desarrolló un modelo de estratificación de riesgo mediante el uso de un conjunto de entrenamiento de 686 pacientes con 87 eventos de fracaso clínico. En general, el modelo predictivo incluye los niveles de receptor de andrógenos y Ki67, PSA preoperatorio, puntuación de Gleason de la biopsia, grado de Gleason predominante y 2 características histomorfológicas cuantitativas de la muestra de tejido prostático. El modelo tuvo un índice de concordancia de 0,74, sensibilidad del 78 %, especificidad del 69 % y razón de riesgo de 5,12 para predecir la progresión clínica dentro de los 8 años posteriores a la prostatectomía. La validación en una cohorte independiente de 341 pacientes con 44 eventos de fracaso clínico arrojó un índice de concordancia de 0,73, sensibilidad del 76 %, especificidad del 64 % y razón de riesgo de 3,47. Esto fue significativamente mayor que la precisión (índice de concordancia de 0,69) del nomograma preoperatorio comúnmente usado.

Como lo demostró el presente estudio, la incorporación de datos de morfometría y biomarcadores relacionados en el espacio es superior a las variables clínicas solas (incluida la etapa clínica, la puntuación de Gleason de la biopsia y el PSA) para, por ejemplo, predecir la progresión de la enfermedad dentro de los 8 años posteriores a la prostatectomía. La evaluación de la señalización del receptor de andrógenos y la actividad proliferativa en la biopsia es importante para la estratificación precisa del paciente. De manera significativa, este estudio también demostró el poder predictivo de una característica del árbol expandido mínimo (MST) obtenida de imágenes digitalizadas de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF).

Pacientes y muestras. Se compiló información sobre 1487 pacientes tratados con prostatectomía radical entre 1989 y 2003 para el cáncer de próstata localizado o localmente avanzado para los que se disponía de muestras de tejido. Se excluyeron los pacientes que fueron tratados por cáncer de próstata antes de la prostatectomía. La cohorte (67 % -33 %) se distribuyó al azar y se dividió entre conjuntos de entrenamiento y validación con proporciones similares de eventos de fracaso clínico y equilibrados demográficamente.

El fracaso clínico (CF) se especificó previamente como cualquiera de tres eventos: 1) evidencia radiográfica o patológica inequívoca de metástasis, castración o no castración (incluida la enfermedad esquelética o enfermedad de tejidos blandos en ganglios linfáticos u órganos sólidos); 2) aumento de PSA en estado de castración; o 3) muerte atribuida al cáncer de próstata. El tiempo hasta el fracaso clínico se definió como el tiempo desde la prostatectomía radical hasta el primero de estos eventos. Si un paciente no experimentó un fracaso clínico en su última visita, o su desenlace en el momento de su visita más reciente era desconocido, entonces el desenlace del paciente se consideró censurado.

El grado de Gleason dominante de la biopsia (bGG) y la puntuación de Gleason se obtuvieron de la reevaluación de los cortes de biopsia para el diagnóstico primario obtenidos del(de los) bloque(s) de parafina seleccionado(s) por el patólogo. El estadio clínico se evaluó mediante una revisión retrospectiva de los registros clínicos.

Solo se estudiaron más a fondo los pacientes con datos clínico-patológicos, morfométricos y moleculares completos, así como también con la información completa de los desenlaces; los pacientes evaluables totalizaron 686 en el conjunto de entrenamiento y 341 en el conjunto de validación (véase la Tabla 6 más abajo). Las características de estos 1027 pacientes fueron similares a las de 1487 en la cohorte original. 340 (33 %) de 1027 pacientes tuvieron recurrencia de PSA y 338 (33 %) había recibido terapia secundaria. 12 de 1027 (1 %) murieron de la enfermedad y 157 (15 %) murieron por otras causas. Se excluyeron pacientes debido a la mala calidad de la muestra de biopsia y/o datos clínicos incompletos. La Tabla 7 más abajo proporciona una revisión completa del informe de pacientes.

Tabla 6. Características de los pacientes en las cohortes de entrenamiento y validación.

Característica	Entrenamiento n = 686	Validación n = 341
Edad promedio, años	63,6	64
PSA preoperatorio		
≤10 ng/ml	460 (67,1 %)	231 (67,7 %)
> 10 ng/ml	226 (32,9 %)	110 (32,3 %)
Grado de Gleason Dominante		
2	25 (3,6 %)	8 (2,3 %)
3	524 (76,4 %)	246 (72,1 %)
4	130 (19,0 %)	85 (24,9 %)
5	7 (1,0 %)	2 (0,6 %)

(continuación)		
Característica	Entrenamiento n = 686	Validación n = 341
Edad promedio, años	63,6	64
Puntuación de Gleason		
4	5 (0,7 %)	4 (1,2 %)
5	31 (4,5 %)	7 (2,1 %)
6	294 (42,9 %)	159 (46,6 %)
7	287 (41,8 %)	137 (40,2 %)
8	46 (6,7 %)	25 (7,3 %)
9	17 (2,5 %)	8 (2,3 %)
10	6 (0,9 %)	1 (0,3 %)
Estadio Clínico		
T1a	6 (0,9 %)	3 (0,9 %)
T1c	263 (38,3 %)	116 (34,0 %)
T2	374 (54,5 %)	198 (58,1 %)
T3	27 (3,9 %)	15 (4,4 %)
Ausente	16 (2,3 %)	9 (2,6 %)
Eventos de fracaso clínico	87 (12,7 %)	44 (12,9 %)
Aumento del PSA en estado de castración	77 (11,2 %)	40 (11,7 %)
Escaneo óseo positivo	9 (1,3 %)	4 (1,2 %)
Muerte por cáncer de próstata	1 (0,1 %)	0

Tabla 7. Pacientes en cohortes completas y finales, y eventos de fracaso clínico en la cohorte final.

Pacientes	Institución					Total
	1	2	3	4	5	
Cohorte Completa	74	501	600	233	79	1487
Cohorte Final	50	267	565	131	14	1027
% Incluido	67,6	53,3	94,2	56,2	17,7	69,1
Número de Pacientes del Conjunto de Entrenamiento						
	50	182	359	87	8	686
Número de eventos de CF						
	9	26	41	11	0	87
% de Eventos	18,0	14,3	11,4	12,6	0	12,7
Número de Pacientes del Conjunto de Validación						
	0	85	206	44	6	341
Número de eventos de CF						
	0	10	27	6	1	44
% de Eventos de CF	0	11,8	13,1	13,6	16,7	12,9

De cada paciente se obtuvieron hasta 7 láminas sin teñir y/o bloques de parafina. Las láminas y los cortes obtenidos de los bloques se tiñeron con hematoxilina y eosina (H y E). Se seleccionaron los cortes con un contenido tumoral máximo y representativos de la puntuación de Gleason del paciente, incluidas áreas del mayor grado de Gleason del paciente, para su posterior análisis.

Análisis de imágenes de tejido teñido con H y E. Tres patólogos obtuvieron hasta tres imágenes digitalizadas de H y E a partir de muestras de biopsia de sección completa y evaluaron de forma independiente el contenido tumoral general, el grado de Gleason y la calidad (propiedades de tinción, detalles morfológicos y artefactos). Con una herramienta de enmascaramiento digital (aquí, Adobe Photoshop 7.0), solo se incluyó el tumor infiltrante para el análisis morfométrico. El contorno del lumen de las glándulas tumorales individuales se usó para reflejar con precisión la arquitectura general de la glándula. Se usó una herramienta de análisis de imágenes para generar características morfométricas, que incluyen específicamente características histológicas cuantitativas con base en las propiedades celulares del cáncer de próstata (por ejemplo, relación del área nuclear epitelial con el área del lumen de la glándula). Para un paciente dado, el valor final para cada característica morfométrica fue la mediana del valor en todo el tumor del paciente disponible para su estudio.

En el análisis morfométrico del tejido teñido con H y E, aunque el objeto "unidad de glándula" se aproxima a una unidad de glándula verdadera, quizás sea un nombre poco apropiado. La relación prevista capturada en este objeto es la existente entre lúmenes y núcleos epiteliales estrechamente asociados. La definición de tal objeto y, por lo tanto, de una subclase nuclear (aquí, los estrechamente asociados con lúmenes) permite, por sustracción, estudiar los núcleos no estrechamente asociados o distantes de lúmenes. Es la variedad de posibles relaciones entre los objetos descritos, las subclases nucleares (por extensión, las subclases de citoplasma epitelial), y el área total del tumor que comprenden características asociadas (directa o indirectamente) con la unidad de glándula. De acuerdo con algunos ejemplos, se crean objetos de unidades de glándula mediante un crecimiento uniforme y simétrico alrededor de los

lúmenes como semillas de la manera descrita anteriormente, que identifica no solo las unidades de glándula sino también las células epiteliales no capturadas por la glándula, es decir, las células epiteliales fuera o pobremente asociadas con la unidad de glándula.

5 La característica específica de H y E seleccionada en el modelo multivariado descrito en este ejemplo (Figura 11) representa el área relativa de las células epiteliales que están pobremente asociadas con las unidades de glándula. Específicamente, esta característica se define como el área de células epiteliales (núcleos más citoplasma) no asociadas con lúmenes normalizada con respecto al área total del tumor. Fisiopatológicamente, esta característica y la mayoría de sus variantes capturan una progresión en el grado del tumor de próstata. Lo más intuitivo es la progresión simple de un patrón de Gleason 3 de bajo grado, en el que la mayoría de los núcleos epiteliales están estrechamente asociados con lúmenes, a un patrón de Gleason 5 de alto grado, en el que la mayoría de los núcleos epiteliales no están asociados con lúmenes. Un poco más sutil es la progresión de un patrón de Gleason simple 3 a un patrón 4. En el patrón 4, un mayor número de glándulas tendrán lúmenes muy pequeños o nulos, con células cancerosas epiteliales como nidos "sin lumen" o lúmenes pequeños que rodean asimétricamente, lo que conduce a un mayor valor de la característica.

Una característica distintiva dirigida a características tumorales similares a las características de la unidad de glándula es la característica "banda nuclear epitelial 5 menos 3". Esta característica mide el área nuclear epitelial dentro de anillos concéntricos estáticos (bandas) alrededor de los lúmenes. Restar el contenido de los anillos más internos de los anillos más externos da un área de núcleos distantes de los lúmenes. Como se esperaba, la dirección de la correlación univariada cambia para el área nuclear epitelial estrechamente asociada con lúmenes (banda 1) frente al área más distante de los lúmenes (banda 5 menos 3). Lo que diferencia a la "banda 5 menos 3" de la característica de "unidad de glándula" descrita anteriormente es que "la banda 5 menos 3" incluye solo el área nuclear epitelial asociada con un lumen, mientras que la unidad de glándula incluye un área nuclear bastante distante o completamente no asociada con lúmenes. Por lo tanto, estas dos características se superponen, particularmente en el patrón 4 de Gleason.

Inmunofluorescencia Múltiple Cuantitativa. Se cuantificaron múltiples antígenos en secciones únicas de tejido por inmunofluorescencia. Se realizaron dos ensayos múltiples en biopsias de próstata con aguja con anticuerpos marcados con el fluorocromo Alexa para los siguientes antígenos: a) Ensayo múltiple 1: receptor de andrógenos (AR), racemasa (AMACR), citoqueratina 18 (CK18), TP73L (p63) y queratina de alto peso molecular; b) Ensayo múltiple 2: Ki67, AKT fosforilada, CD34, CK18 y AMACR (Tabla 8). Ambos ensayos múltiples contenían 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) para teñir los núcleos. Con base en los perfiles espectrales distintivos de los fluorocromos, se adquirieron imágenes en escala de grises específicas de antígeno. Se usó una herramienta de análisis de imágenes para localizar los antígenos individuales. Con el uso de la distribución de antígenos y los mapas de intensidad basados en píxeles, la herramienta de análisis de imágenes identificó los tipos de células y los compartimentos celulares (por ejemplo, células epiteliales lumbinales, núcleos epiteliales/estromales) y se cuantificó AR, Ki67, AKT fosforilada, CD34 y AMACR en tumor de próstata, glándulas benignas y estroma. Se empleó el modelado estadístico de aprendizaje de máquina para determinar los umbrales óptimos para la intensidad de fluorescencia y asignar esquemas de clasificación para perfiles positivos y negativos. Para un paciente dado, el valor final para cada característica de inmunofluorescencia fue la mediana del valor en todo el tumor del paciente disponible para su estudio.

Antes de la incorporación a los ensayos inmunofluorescentes múltiples, todos los anticuerpos se valoraron mediante el uso de procedimientos operativos estándar inmunohistoquímicos e inmunofluorescentes.

La desparafinación y la rehidratación de las muestras de tejido se realizaron según los procedimientos operativos estándar. La recuperación de antígeno se realizó al hervir los portaobjetos en un horno microondas durante 7,5 minutos en Solución de Revelado 1X (BioCare Medical). Los portaobjetos se dejaron enfriar durante 20 minutos a temperatura ambiente y luego se enjuagaron con dH₂O. Todas las etapas posteriores se realizaron en un equipo Nemesis 7200 Automated Slide Stainer (BioCare Medical).

Las muestras de tejido se sometieron a las siguientes etapas de tratamiento de prehibridación. Para ayudar a penetrar las estructuras celulares del tejido, las muestras se incubaron en PBT (PBS + Tritón-X 100 al 0,2 %) a temperatura ambiente durante treinta minutos, seguido de un enjuague de tres minutos en TBS. Para ayudar a reducir la autofluorescencia de los tejidos, las muestras se incubaron en alcohol ácido (HCl al 1 % en etanol al 70 %) a temperatura ambiente durante veinte minutos, seguido de un enjuague de tres minutos en TBS. El bloqueo de los sitios de unión no específicos se realizó al incubar los portaobjetos en Reactivo de Bloqueo de IF (BSA 0,5 mg/ml en PBS) a temperatura ambiente durante veinte minutos. No se realizaron lavados entre la etapa de bloqueo y la etapa de hibridación posterior.

Se combinaron dos conjuntos cada uno de 5 anticuerpos (Tabla 8) con DAPI en ensayos múltiples "quintuples". El análisis "Múltiple-1" incluye un cóctel de anticuerpo anti-racemasa (AMACR; clon 13H4, Zeta Corporation) a una dilución de 1:50 con citoqueratina de alto peso molecular (HMW CK; clon 34βE12, Dako) a una dilución de 1:50 y p63 (clon BC4A4, BioCare Medical) a una dilución de 1:10 en reactivo de bloqueo al 1 %. Se aplicaron 400 μl de esta mezcla de anticuerpos a la muestra de tejido, y se permitió que los anticuerpos se unieran a temperatura ambiente durante una hora. La incubación fue seguida por un enjuague de tres minutos en TBS.

- 5 Para la etapa de marcaje, se preparó un cóctel de fragmento Fab anti-IgG de conejo Zenon Alexa Fluor 488, fragmento Fab anti- IgG1 de ratón Zenon Alexa Fluor 555 y fragmento Fab anti-IgG2a de ratón Zenon Alexa Fluor 594 en reactivo de bloqueo al 1 % al doble de las concentraciones recomendadas por el fabricante (dilución 1:50 para cada fragmento Fab). Se aplicaron aproximadamente 400 µl de este cóctel de marcaje a las muestras de tejido, y las muestras de tejido se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción de marcaje fue seguida por un enjuague de tres minutos en TBS.
- 10 Las muestras de tejido se trataron luego con una segunda ronda de unión y marcaje de anticuerpos. Se preparó un cóctel de anticuerpo anti-CK-18 (péptido sintético, CalBiochem) a una dilución 1:1250 y anti-receptor de andrógenos (AR, clon AR441, Fisher (LabVision)) a una dilución 1:10 en reactivo de bloqueo al 1 %. Se aplicaron aproximadamente 400 µl de este cóctel de anticuerpos a la muestra de tejido, y se permitió que los anticuerpos se unieran a temperatura ambiente durante una hora. La hibridación fue seguida por un enjuague de tres minutos en TBS.
- 15 Para la segunda etapa de marcaje, se preparó un cóctel de fragmento Fab anti-IgG de conejo Zenon Alexa Fluor 647 y fragmento Fab anti-IgG1 de ratón Zenon Alexa Fluor 568 en reactivo de bloqueo al 1 % al doble de las concentraciones recomendadas por el fabricante (dilución 1:50 para cada fragmento Fab). Se aplicaron aproximadamente 400 µl de este cóctel de marcaje a las muestras de tejido, y las muestras de tejido se incubaron y enjuagaron como se describió para la primera etapa de marcaje.
- 20 El análisis "Múltiple-2" incluye un cóctel de anticuerpos anti-racemasa (AMACR; clon 13H4, Zeta Corporation) a una dilución 1:50 y Ki67 (clon K2, Ventana) a una dilución 1:2 en reactivo de bloqueo al 1 %. Se aplicaron 400 µl de esta mezcla de anticuerpos a la muestra de tejido, y se permitió que los anticuerpos se unieran a temperatura ambiente durante una hora. La incubación fue seguida por un enjuague de tres minutos en TBS.
- 25 Para la etapa de marcaje, se preparó un cóctel de fragmento Fab anti-IgG de conejo Zenon Alexa Fluor 488 y fragmento Fab anti-IgG1 de ratón Zenon Alexa Fluor 555 en reactivo de bloqueo al 1 % al doble de las concentraciones recomendadas por el fabricante (dilución 1:50 para cada fragmento Fab). Se aplicaron aproximadamente 400 µl de este cóctel de marcaje a las muestras de tejido, y las muestras de tejido se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción de marcaje fue seguida por un enjuague de tres minutos en TBS.
- 30 Las muestras de tejido se trataron luego con una segunda ronda de unión y marcaje de anticuerpos. Se preparó un cóctel de anticuerpo anti-CK-18 (péptido sintético, CalBiochem) a una dilución 1:1250 y anti-CD34 (clon QBEnd-10, Dako) a una dilución 1:100 en reactivo de bloqueo al 1 %. Se aplicaron aproximadamente 400 µl de este cóctel de anticuerpos a la muestra de tejido, y se permitió que los anticuerpos se unieran a temperatura ambiente durante una hora. La hibridación fue seguida por un enjuague de tres minutos en TBS.
- 35 Para la segunda etapa de marcaje, se preparó un cóctel de fragmento Fab anti-IgG de conejo Zenon Alexa Fluor 647 y fragmento Fab anti-IgG1 de ratón Zenon Alexa Fluor 568 en reactivo de bloqueo al 1 % al doble de la concentración recomendada por el fabricante (dilución 1:50 para el fragmento Fab anti-IgG de conejo) o en la concentración recomendada por el fabricante (dilución 1:100 para el fragmento anti-IgG1 de ratón). Se aplicaron aproximadamente 400 µl de este cóctel de marcaje a las muestras de tejido, y las muestras de tejido se incubaron y enjuagaron como se describió para la primera etapa de marcaje.
- 40 Las muestras de tejido se trataron luego con una tercera ronda de unión y marcaje de anticuerpos. El Fosfo-AKT (clon 736E11, Cell Signaling) se diluyó a 1:100 en reactivo de bloqueo al 1 %. Se aplicaron aproximadamente 400 µl de esta dilución de anticuerpos a la muestra de tejido, y se permitió que el anticuerpo se uniera a temperatura ambiente durante una hora. La hibridación fue seguida por un enjuague de tres minutos en TBS.
- 45 Para la tercera etapa de marcaje, se preparó el fragmento Fab anti-IgG de conejo Zenon Alexa Fluor 594 en reactivo de bloqueo al 1 % a la concentración recomendada por el fabricante (dilución 1:100 para el fragmento de anti-IgG de conejo). Se aplicaron aproximadamente 400 µl de este cóctel de marcaje a las muestras de tejido, y las muestras de tejido se incubaron y enjuagaron como se describió para la primera etapa de marcaje.
- 50 Se realizó una etapa de fijación en todas las muestras de tejido al incubar las muestras en formalina al 10 % a temperatura ambiente durante 10 minutos, seguido de un enjuague de tres minutos en TBS. Las muestras se incubaron en dilactato de DAPI (Invitrogen) a 0,15 µg/ml a temperatura ambiente durante 10 minutos, seguido de un enjuague de tres minutos en TBS.
- 55 Se aplicaron aproximadamente 30,0 µl de solución de montaje con reactivo protector de la fluorescencia *SlowFade* Gold (Invitrogen) a las muestras, que luego se cubrieron con un cubreobjetos. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta que se pudo realizar el análisis.
- 60 Las imágenes se adquirieron con el sistema de imagen espectral CRI Nuance (CRI, Inc., modelo 420-720 nm) descrito anteriormente. Los espectros de los colorantes puros se registraron antes del experimento al diluir cada colorante Alexa por separado en reactivo protector de la fluorescencia *SlowFade* (Molecular Probes). El colorante diluido se
- 65

extendió sobre un portaobjetos de vidrio, se cubrió con un cubreobjetos y se escaneó con el mismo intervalo y rango que el colorante respectivo en el experimento con tejido. Se asignaron regiones representativas de fluorescencia de fondo para completar las bibliotecas espectrales para el proceso de descomposición espectral.

5 Tabla 8. Anticuerpos usados para ensayos inmunofluorescentes quintuples.

Ensayo múltiple	Anticuerpo	Vendedor	Catálogo #	Clon	Isotipo	Dilución
10 Múltiple-1	CK-18	CalBiochem	AP1021	Péptido sintético	RIgG	1:1250
	AMACR	Zeta Corp.	Z2001	13H4	RIgG	1:50
	HMW CK	Dako	M0630	34βE12	MIgG1	1:50
	p63	Biocare Medical	CM163	BC4A4	MIgG2a	1:10
	AR	Fisher (LV)	MS-443-P	AR441	MIgG1	1:10
15 Múltiple-2	CK-18	CalBiochem	AP1021	Péptido sintético	RIgG	1:1250
	AMACR	Zeta Corp.	Z2001	13H4	RIgG	1:50
	Ki67	Ventana	790-2910	K2	MIgG1	1:2
	CD34	Dako	M7165	QBEnd-10	MIgG1	1:100
	Fosfo-AKT	Cell Signaling	3787	736E11	RIgG	1:100

20 A partir de las imágenes de IF, puede evaluarse la concentración y distribución de biomarcadores en el tejido al medir el brillo de los elementos de las imágenes. La evaluación de imágenes de IF permite una evaluación objetiva y automática de los biomarcadores, por ejemplo, con fines de pronóstico y diagnóstico. Uno de los desafíos encontrados con las imágenes de IF es que la intensidad medida puede asociarse no solo con el biomarcador particular para el que está destinado el anticuerpo, sino con la unión no específica, que a menudo puede ser más fuerte que la unión específica. Por ejemplo, los biomarcadores de núcleos se encuentran en núcleos epiteliales. En este ejemplo, la unión del anticuerpo del biomarcador nuclear en el estroma sería una unión no específica. La unión inespecífica del biomarcador nuclear puede observarse no solo en el exterior, sino también en el interior de los núcleos, lo que puede causar que el ruido contamine la intensidad medida del biomarcador dentro de los núcleos.

30 La medición del biomarcador dentro, por ejemplo, de los núcleos epiteliales puede presentarse como la suma de dos componentes: ruido y señal. El "ruido" es la parte de la intensidad medida atribuible a la unión no específica. La "Señal" es la parte de intensidad, por ejemplo, en los núcleos epiteliales atribuible a la unión específica y relacionada con la afección médica en consideración. Toda la intensidad observada fuera, por ejemplo, de los núcleos epiteliales también puede considerarse "ruido". Por ejemplo, con base en las observaciones con respecto al biomarcador AR, se plantean las siguientes hipótesis: 1. el ruido en los núcleos epiteliales es proporcional al ruido fuera de los núcleos epiteliales; 2. los mismos factores afectan la unión no específica en los núcleos epiteliales y estromales; 3. se supone que, para cada imagen, hay un valor umbral de intensidad del biomarcador en los núcleos epiteliales de manera que la mayoría de los núcleos epiteliales con una intensidad superior al umbral contienen algún exceso del biomarcador (aunque los núcleos con intensidad medida pueden tener algún biomarcador también, su nivel es difícil de evaluar, porque la medición se ve afectada por el ruido aleatorio); 4. el exceso del biomarcador en los núcleos epiteliales está relacionado con la progresión de la enfermedad, mientras que el ruido no. Estas hipótesis fueron respaldadas por análisis de datos.

45 Se consideraron dos tipos de umbrales: 1. umbral bajo: los núcleos con una intensidad superior a este umbral tienen varios niveles de concentración de biomarcador. Para evaluar la abundancia del biomarcador con el umbral bajo, es mejor usar características que tengan en cuenta la variabilidad de la intensidad entre los núcleos. Por ejemplo, la intensidad promedio puede usarse para este propósito; y 2. umbral alto: los núcleos con una intensidad por encima de este umbral tienen una intensidad similar, cercana a la más alta observada. La proporción de núcleos con intensidad por encima del umbral alto puede usarse para estimar la abundancia de AR en los núcleos epiteliales. Con base en la hipótesis 2 anterior, se propone encontrar estos umbrales mediante el uso de los valores de ruido en los núcleos estromales.

55 En cada imagen, se calculó una serie de percentiles de intensidad de biomarcadores en núcleos estromales. Por lo general, el segundo percentil, todos los percentiles del quinto al noventa y cinco se calculan con la etapa 5 y el percentil 99. El objetivo es seleccionar el mismo percentil de núcleos estromales en todas las imágenes, como un umbral bajo (umbral alto) para la separación de los núcleos epiteliales con exceso de biomarcador. Para lograr este objetivo, para cada percentil de la intensidad en los núcleos estromales, se determina que todos los núcleos epiteliales tienen la intensidad por encima del umbral. Para estos núcleos, se evalúa su intensidad promedio y área relativa. También se evalúa la correlación de estas características con, por ejemplo, la progresión de la enfermedad en nuestros datos de entrenamiento. El percentil de los núcleos estromales que producen la intensidad promedio más fuertemente correlacionada se selecciona como umbral bajo, el percentil que produce la relativa más fuertemente correlacionada son características se selecciona como umbral alto.

65 En varios ejemplos, pueden usarse diferentes enfoques para medir características de interés de las imágenes de IF y/o para preparar las imágenes para tales mediciones. Por ejemplo, en algunas modalidades, los artefactos en las imágenes de tejidos pueden ser delineados por un patólogo o automáticamente para excluirlos de la segmentación

(por ejemplo, para Mple-1 descrito anteriormente). En algunas modalidades, el área del tumor a segmentar puede ser delineada por un patólogo o automáticamente (por ejemplo, para Mple-2 descrito anteriormente). En algunos ejemplos, no pueden usarse artefactos ni máscaras tumorales (por ejemplo, puede realizarse la segmentación en toda la imagen). En algunos ejemplos, la segmentación inicial puede realizarse con un enfoque de árbol cuádruple (por ejemplo, para Mplex-1 y/o Mplex-2 descritos anteriormente) lo que puede dar como resultado una segmentación inicial más rápida. En otros ejemplos, puede usarse un enfoque de resolución múltiple para la segmentación inicial.

En algunos ejemplos, puede usarse un umbral de CK-18 derivado de la imagen para clasificar el citoplasma (por ejemplo, Mplex-1). En otros ejemplos, puede usarse un umbral de CK-18 derivado de la imagen para la clasificación del vecino más cercano a la semilla (por ejemplo, Mplex-2), lo que puede hacer que la detección del citoplasma sea más consistente en una variedad de imágenes.

En algunos ejemplos, puede usarse un umbral de DAPI derivado de la imagen, la razón de la señal de DAPI con el superobjeto, múltiples pases de segmentación de resolución múltiple y crecimiento de núcleos para segmentar los núcleos (por ejemplo, Mplex-1 y/o Mplex-2), lo que puede dar como resultado, por ejemplo, una mejor segmentación de los núcleos. En otros ejemplos, solo se puede usar un umbral de DAPI derivado de la imagen y múltiples pases de segmentación de resolución múltiple para segmentar los núcleos.

En algunos ejemplos, HMWCK y P63 pueden usarse para encontrar células basales y excluirlas midiendo el AR en mediciones epiteliales, lo que puede mejorar la precisión de la medición. En algunos ejemplos, pueden detectarse núcleos epiteliales asociados a unidades de glándula y no asociados a unidades de glándula (por ejemplo, Mplex-1 y/o Mplex-2). En algunos ejemplos, la asociación de AMACR puede evaluarse en unidades de glándula (por ejemplo, Mplex-1 y/o Mplex-2) o pequeños objetos CK-18.

En algunos ejemplos, la clasificación de núcleos epiteliales positivos para AR puede basarse en un umbral de AR derivado de percentiles de AR de los núcleos estromales (por ejemplo, Mplex-1). En otros ejemplos, la clasificación de núcleos epiteliales positivos para AR puede basarse en la presencia de subobjetos positivos para AR pequeños y brillantes que se encuentran mediante el uso de un umbral derivado de la imagen. En algunos ejemplos, la clasificación de núcleos epiteliales positivos para Ki67 puede realizarse con base en un umbral derivado de percentiles de Ki67 de la imagen.

En algunos ejemplos, los percentiles múltiples de la señal de AR en núcleos epiteliales y estromales se determinan para el análisis (por ejemplo, Mplex-1 y Mplex-2). En algunos ejemplos, las mediciones de núcleos individuales pueden incluir área, posición y media de AR de cada núcleo (por ejemplo, Mplex-1). En algunos ejemplos, las mediciones de núcleos individuales pueden incluir área, posición y media de Ki67 de cada núcleo (por ejemplo, Mplex-2) para su uso en, por ejemplo, la determinación del MST en las imágenes.

En algunos ejemplos, los núcleos epiteliales están en clases por la intensidad del AR y la densidad de los núcleos (por ejemplo, Mplex-1). En algunos ejemplos, los vasos sanguíneos se detectan mediante el uso de CD34 (por ejemplo, Mplex-2). En algunos ejemplos, pueden detectarse múltiples biomarcadores por núcleo, por ejemplo, núcleos que expresan Ki67 y pAKT simultáneamente (por ejemplo, Mplex-2).

Análisis Estadístico. En este ejemplo, el modelo predictivo se construyó mediante el uso de la regresión de vectores de soporte para datos censurados (SVRc), que es un enfoque que aprovecha la capacidad de la regresión de vectores de soporte para manejar datos de alta dimensión, pero está adaptado para su uso con datos censurados. Este enfoque puede aumentar la precisión predictiva de un modelo sobre la del modelo de Cox.

Junto con SVRc, se empleó una Selección de Características de Muestreo que se desarrolló específicamente para SVRc. En el método de SVRc con Selección de Características de Muestreo, una etapa de filtrado inicial elimina las características que no se correlacionan de manera univariada con el desenlace de interés. A continuación, se hacen N divisiones diferentes de los datos de entrenamiento; en cada división, aproximadamente dos tercios del total de casos de entrenamiento se asignan de manera aleatoria a un subconjunto de entrenamiento y aproximadamente un tercio del total de casos de entrenamiento se asignan de manera aleatoria a un subconjunto de prueba. En este estudio, se generaron N = 25 divisiones.

El método comienza con un proceso de selección de características "voraz hacia adelante" que comienza con todas las características que pasaron el filtro inicial. Los modelos se crean al aumentar el número de características, de manera que el primer modelo se construye sobre una sola característica. Para cada característica, se construyen N modelos mediante el uso de esta característica en los subconjuntos de entrenamiento en todas las divisiones, luego se prueban en los N subconjuntos de prueba respectivos. El rendimiento general de cada característica se promedia en las N ejecuciones. Se selecciona la característica con el mejor rendimiento general. En la siguiente etapa, cada característica se agrega a la característica seleccionada y nuevamente se construyen y prueban N modelos en todas las divisiones. Se selecciona la característica cuya adición resultó en el mejor rendimiento general. El método continúa de esta manera hasta que no haya más características que mejoren el rendimiento.

Posteriormente, se emplea un enfoque de selección de características "voraz hacia atrás". Se elimina cada característica y se construyen y prueban N modelos sin esa característica en todas las divisiones. La característica cuya eliminación da como resultado el mejor rendimiento general se elimina, y el procedimiento se repite hasta que el rendimiento del modelo deja de mejorar debido a la eliminación de las características. Esta etapa simplifica la complejidad del modelo y elimina las características que inicialmente pudieron haber sido importantes, pero su contribución de información se encapsula dentro de una característica agregada posteriormente.

Finalmente, el modelo SVRc completo se entrena mediante el uso de todas las características seleccionadas en la cohorte de entrenamiento completa. El peso de cada característica dentro del modelo final es una medida de la contribución relativa de la información de esa característica en la predicción del desenlace de un paciente. Un peso positivo implica una correlación positiva con el desenlace (los valores crecientes de la característica están asociados con un mayor tiempo de supervivencia) mientras que un peso negativo implica una correlación negativa con el desenlace (los valores crecientes de la característica están asociados con un tiempo más corto hasta el evento).

Se emplearon cuatro métricas para evaluar el rendimiento del modelo: el índice de concordancia (índice c), la sensibilidad y la especificidad y la razón de riesgo. El índice c estima la probabilidad de que, de un par de pacientes comparables elegidos al azar, el paciente con el mayor tiempo predicho hasta el fracaso clínico (CF) a partir del modelo, experimente el CF en un tiempo más corto que el otro paciente. El índice de concordancia se basa en comparaciones por pares entre dos pacientes seleccionados al azar que cumplen con cualquiera de los siguientes criterios: (1) ambos pacientes experimentaron el evento y el tiempo del evento de un paciente es más corto que el del otro paciente, o (2) solo un paciente experimentó el evento y su tiempo hasta el evento es más corto que el tiempo de seguimiento del otro paciente. El índice de concordancia para un modelo multivariable varía de 0,5 (el modelo realiza lo mismo que lanzar una moneda) a 1,0 (el modelo tiene la capacidad perfecta para discriminar).

Para estimar la sensibilidad y la especificidad, típicamente evaluadas para una salida binaria, se seleccionó un período de tiempo clínicamente significativo (CF dentro de 8 años) para separar los eventos tempranos de los tardíos. Los pacientes cuyo desenlace fue censurado antes de los 8 años fueron excluidos de esta estimación. La salida del modelo se ajustó inversamente a una puntuación entre 0 y 100 (tiempos sin CF más largos tienen una puntuación más baja y tiempos de supervivencia más cortos tienen una puntuación más alta). Posteriormente, cada valor de la puntuación del modelo se tomó uno tras otro como un posible punto de corte de la predicción. Para cada uno de estos posibles puntos de corte, se evaluó la sensibilidad y especificidad de la clasificación. La sensibilidad se definió como el porcentaje de pacientes que experimentaron CF dentro de los 8 años que se predijeron correctamente; la especificidad se definió como el porcentaje de pacientes que no experimentaron CF dentro de los 8 años que se predijeron correctamente. Cada punto de corte fue evaluado por el producto de su sensibilidad y especificidad. El punto de corte con el valor más alto del producto se seleccionó como el punto de corte predictivo, y su sensibilidad y especificidad se consideraron la sensibilidad y especificidad del modelo. En este modelo, se seleccionó un punto de corte de 30,195, lo que indica que, si se considera que los pacientes con una puntuación en escala superior a 30,195 experimentan CF dentro de los 8 años posteriores a la prostatectomía radical, y los pacientes con una puntuación en escala inferior a 30,195 se consideran sin CF durante 8 años, el modelo tendrá una sensibilidad y especificidad del 78 % y 69 % en el entrenamiento y 76 % y 64 % en la validación.

La razón de riesgo también se calculó para comparar la estratificación para pacientes con bajo riesgo/alto riesgo de CF dentro de los 8 años mediante el uso del mismo punto de corte empleado para la sensibilidad/especificidad. La razón de riesgo en el entrenamiento fue de 5,12 y en la validación de 3,47.

El índice c también se usó para medir la correlación univariada con CF para cada característica predictiva. La interpretación del índice c para la correlación univariada es similar a la de los índices c del modelo mencionado anteriormente. Para la correlación univariada, un índice c de 0,5 indica correlación aleatoria. Los valores entre 0,5 y 0 indican una correlación negativa con el desenlace; cuanto más cerca de 0, mejor será el poder predictivo. Los valores entre 0,5 y 1 indican correlación positiva con el desenlace; cuanto más cerca de 1, mejor es el poder predictivo. Una regla heurística usada fue que las características con un índice de concordancia superior a 0,6 (para características de correlación positiva) o inferior a 0,4 (para características de correlación negativa) son significativas. Los valores de 0,4 y 0,6 se aproximan a un valor p de 0,05.

Se generó una probabilidad para cada puntuación del modelo SVRc al analizar la probabilidad de CF dentro de 8 años en cada percentil de los puntajes del modelo SVRc en los datos de entrenamiento. Luego se calculó una función de probabilidad para generar una probabilidad de CF dentro de 8 años para cada puntaje del modelo.

Resultados

Características de los pacientes en el conjunto de entrenamiento. En el conjunto de entrenamiento de 686 pacientes, 87 (12,7 %) tuvieron fracaso clínico después de la prostatectomía: 9 con un examen óseo positivo, 77 con un aumento del PSA en estado de castración y 1 con muerte por cáncer de próstata. A estos 686 pacientes se les realizó un seguimiento durante una mediana de 96 meses después de la prostatectomía. Las características de los pacientes se detallan en la Tabla 6 anterior. En análisis univariados, el PSA preoperatorio, la puntuación de Gleason de la biopsia y el grado de Gleason dominante de la biopsia (bGG) fueron las únicas variables clínicas asociadas con el fracaso

clínico (Índice de concordancia $\leq 0,4$ o $\geq 0,6$; Tabla 9). En la Tabla 9, las características enumeradas en negrita se seleccionaron finalmente en el modelo predictivo final. Las características de H y E IF/H y E se describen anteriormente en relación con la Tabla 5. Las características de MST/IF se describen anteriormente en relación con la Figura 9. Además, la característica "CombIFePiNucMeanEdgeLengthIntra" es una característica combinada que representa la longitud media del borde de los núcleos epiteliales para los bordes interglandulares para los grados de Gleason 3 e inferior, y el propio grado de Gleason para los grados de Gleason 4 y 5. La característica de MST/IF "CombIFePiNucMeanEdgeLengthIntra" es una característica combinada que representa la longitud media del borde de los núcleos epiteliales para los bordes intraglandulares para los grados de Gleason 3 e inferior, y el propio grado de Gleason para los grados de Gleason 4 y 5. La característica de IF "IFx1_RelAreEpi_ARpAMACRp2EN" es una característica normalizada de área e intensidad que representa la proporción de núcleos epiteliales que expresan niveles positivos de AR y AMACR. La característica "CombinedIF_ARepinucnormint" es una característica combinada que representa el nivel normalizado de intensidad de AR en los núcleos epiteliales para los grados de Gleason 3 e inferior, y el propio grado de Gleason para los grados de Gleason 4 y 5. La característica "CombinedIFx1_RelAreNGA2Cyt_4lowG1" es una característica combinada que representa el área relativa de contenido no asociado con glándulas con relación al citoplasma para los grados de Gleason 3 e inferiores, y el propio grado de Gleason para los grados 4 y 5. La característica "CombLowGleARpAMACRpLum_HighGLKi67" es una característica combinada que es diferente en dependencia del área relativa de lúmenes en el tejido de un paciente o su imagen (por ejemplo, imagen de tejido teñido con H y E). Se deriva un punto de corte óptimo para el área relativa de lúmenes. Para los pacientes con un valor menor o igual al punto de corte, se usa la característica de IF que representa el área relativa de los núcleos epiteliales positivos para AR y positivos para AMACR. Para los pacientes con un valor mayor que el punto de corte, se usa la característica de IF que representa la proporción de núcleos epiteliales positivos para Ki67.

Tabla 9. Características usadas como entrada para el desarrollo del modelo. La inclusión se basó en el índice de concordancia para predecir el fracaso clínico en la cohorte de entrenamiento en análisis univariado.

	Característica	Dominio de la característica	Índice de Concordancia
30	PSA preoperatorio	clínico	0,373
	Grado de Gleason dominante de la Biopsia	clínico	0,371
	Puntuación de Gleason de la Biopsia	clínico	0,336
	IFx1_RelAreEpi_ARpAMACRp2EN	IF	0,375
	proportion_edge_2_epinuc	MST/IF	0,606
35	proportion_edge_3_epinuc	MST/IF	0,364
	HE02_Lum_Are_Median	H y E	0,654
	orig_approximation_4	H y E	0,637
	orig_diag_detail_6	H y E	0,654
	HEx2_nta_Lum_Are_Tot	H y E	0,635
40	HEx2_EpiNucAre2LumMeanAre	H y E	0,388
	HEx2_nrm_ENWinGU_Are_Tot	H y E	0,645
	HEx2_nrm_ENOutGU_Are_Tot	H y E	0,355
	HEx2_nrm_CytWinGU_Are_Tot	H y E	0,638
	HEx2_nrm_CytOutGU_Are_Tot	H y E	0,362
45	HEx2_RelArea_EpiNuc_Out2WinGU	H y E	0,353
	HEx2_RelArea_Cyt_Out2WinGU	H y E	0,360
	HEx2_RelArea_ENCyt_Out2WinGU	H y E	0,348
	HEx2_ntaENCYtOutGU2Tumor	H y E	0,347
	HEx2_nrmLUM_ENOutGU_Are_Tot	H y E	0,353
50	HEx2_nrmLUM_CytWinGU_Are_Tot	H y E	0,341
	HEx2_nrmLUM_CytOutGU_Are_Tot	H y E	0,340
	HEx2_nrmLUM_EpiNucCytOutGU	H y E	0,343
	HEx2_nrm_ENCytWinGULum_Are_Tot	H y E	0,610
	HEx2_RelArea_ENCytLum_Out2WinGU	H y E	0,345
55	HEx2_RelArea_EpiNucCyt_Lum	H y E	0,341
	HEx2_ntaLumContentArea	H y E	0,643
	HEx2_nrmEpiNucBand5minus3	H y E	0,378
	min_orig_L_detail5	H y E	0,646
	CombinedIFePiNucMeanEdgeLength	MST/IF	0,330
60	CombinedIF_ARepinucnormint	IF	0,324
	CombLowGleAR_HighGLKi67	IF	0,306
	CombinedIFx1_RelAreNGA2Cyt_4lowG1	IF	0,331
	RelAreaKi67post_2Lumen	IF/H y E	0,315
	RelAreapAKTpos_2Lumen	IF/H y E	0,344
65	RelAreaIFM2EpiNuc_2Lumen	IF/H y E	0,383
	RelAreARpAMACRp2Lumen	IF/H y E	0,342

(continuación)

	Característica	Dominio de la característica	Índice de Concordancia
5	CombLowGleARpAMACRplum_HighGLKi67	IF	0,313
	CombIFepiNucMeanEdgeLengthInter	MST/IF	0,349
	CombIFepiNucMeanEdgeLengthIntra	MST/IF	0,328

10 Análisis de las imágenes histológicas. A partir de las áreas del tumor en imágenes digitalizadas de las muestras de punción de biopsia teñidas con H y E de cada paciente, se generó una serie de características morfométricas que reflejan la arquitectura tisular general, incluida la distribución de las células tumorales y su relación con las estructuras glandulares. Veintisiete características histológicas mostraron una asociación significativa con el fracaso clínico en los análisis univariados (índice de concordancia $\leq 0,4$ o $\geq 0,6$; véase Tabla 9).

15 Inmunofluorescencia cuantitativa. AMACR como marcador puede usarse para identificar y caracterizar células tumorales individuales [25]. En el estudio actual, AR, Ki67 y AKT fosforilada se cuantificaron en células tumorales epiteliales positivas para AMACR y negativas para AMACR, y luego se generaron múltiples características relacionadas con los niveles de AR, Ki67, AKT fosforilada y AMACR. También se usó un marcador endotelial, CD34, para evaluar la vascularización general dentro del estroma del cáncer de próstata y las características construidas del área total de los vasos y las características que relacionan la distribución de los vasos con los objetos glandulares y epiteliales. Finalmente, las inmunofluorescencias con DAPI y CK18 se usaron para cuantificar la morfometría tumoral mediante funciones de árbol expandido mínimo (MST). En general, las características de MST representan la proximidad entre las células tumorales y su distribución con respecto a las glándulas y entre sí. Para las características de MST, AR y Ki67, se construyó una serie de características compuestas que incorporan un desencadenante clínico, bGG dominante, para la determinación de la evaluación del marcador (por ejemplo, si $bGG \leq 3$ usa la característica de AR; $bGG > 3$ usa la característica de Ki67). Una meta fue identificar cambios sutiles en la morfología y biología entre los tumores con bGG dominantes 3 y 4 que puedan afectar el desenlace.

30 En el entrenamiento, el 10 % de los pacientes no censurados (36 de 303) con un bGG ≤ 3 tuvieron una progresión clínica dentro de los 8 años posteriores a la prostatectomía. De este grupo, 19 de 36 casos (52 %) tenían niveles altos de AR, lo que sugiere que la expresión de AR discrimina de manera importante de la enfermedad indolente, especialmente en los cánceres de grado bajo. En comparación, 31 de 55 pacientes no censurados (36 %) con bGG > 3 tuvieron progresión clínica dentro de los 8 años posteriores a la prostatectomía. En este grupo, se determinó que los niveles crecientes de Ki67 eran aditivos con bGG con respecto a un tiempo reducido para la progresión clínica.

35 Desarrollo del Modelo. Se desarrolló un modelo SVRc para predecir el fracaso clínico a partir de los datos de los 686 pacientes del conjunto de entrenamiento. El modelado comenzó con las 40 variables que mostraron asociación con el fracaso clínico en los análisis univariados (Tabla 9). El aprendizaje multivariado supervisado dio como resultado un modelo optimizado que contenía 6 características (que se enumeran en negrita en la Tabla 9), que se enumeran en la Figura 11 en orden de importancia en el modelo predictivo final.

45 Las características clínicas seleccionadas por el modelo fueron el PSA preoperatorio, la puntuación de Gleason de biopsia y el bGG dominante. En general, las dos características de las imágenes, células infiltrantes individuales y topología celular, reflejan la arquitectura celular y tisular en la transición entre un patrón de Gleason dominante 3 y 4. El primero, con base en H y E en este ejemplo, cuantifica la proporción de células epiteliales tumorales que no están directamente asociadas con una estructura de glándula intacta. La segunda es una característica combinada de MST, que se basa en el bGG dominante como desencadenante (≤ 3 usa la función de MST; > 3 usa el grado real de Gleason (bGG dominante)) y cuantifica la proximidad entre las células tumorales según el grado de diferenciación y el contenido del estroma. Cuando se evalúa el bGG, la característica combinada tiene un peso negativo, mientras que la característica independiente de bGG evaluada en el modelo tiene un peso positivo.

55 Las figuras 12 y 13 son curvas de Kaplan-Meier para las dos características de imágenes que ilustran su capacidad para estratificar con precisión a los pacientes. La Figura 12 muestra las curvas de Kaplan-Meier para la característica morfométrica del área de células epiteliales tumorales aisladas (no asociadas al lumen) en relación con el área tumoral total (punto de corte 0,31, $p < 0,00001$), medido en imágenes de muestras de tejido por biopsia con aguja después de la tinción con H y E. La Figura 13 muestra las curvas de Kaplan-Meier para la característica morfométrica de la longitud media del borde en el árbol expandido mínimo (MST) de todos los bordes que conectan los centroides de los núcleos epiteliales, en combinación con la característica clínica del grado de Gleason (punto de corte 3,93, $p < 0,00001$), medido en imágenes de muestras de tejido por biopsia con aguja sometidas a inmunofluorescencia múltiple (IF). En ambos casos, los valores óptimos de punto de corte se calcularon mediante el uso de la prueba del orden logarítmico.

65 A partir de las características basadas en biomarcadores, el método de muestreo SVRc seleccionó solo la característica de inmunofluorescencia combinada (IF) del intervalo dinámico de AR y el contenido total de Ki67. Se predijo un tiempo más corto para el fracaso clínico al aumentar la proporción de células tumorales con alta expresión de AR en muestras con bGG clínico ≤ 3 , y altos niveles de Ki67 en muestras con bGG 4-5. Para AR, la característica calcula la relación entre los 90^{mo} y 10^{mo} percentiles de intensidad de AR en núcleos epiteliales y estromales,

respectivamente. Se demostró que los valores de intensidad de los núcleos estromales dentro del compartimento tumoral completo no estaban asociados con el desenlace y representan una buena medida del fondo, es decir, fluorescencia inespecífica en las imágenes. Esto permite la identificación de una señal positiva verdadera, así como la distribución de esa señal en el compartimento epitelial. El valor de AR se escala entre 0 y 3. Los valores mayores se asociaron con un tiempo de progresión más corto en pacientes con grado de Gleason dominante de la biopsia de ≤ 3 . Para Ki67, se midió el área relativa de los núcleos epiteliales que contienen una señal positiva de Ki67 en relación con el número total de núcleos epiteliales en el área solo tumoral de la biopsia con aguja. La asignación "positiva" de Ki67 se basó en los modelos de aprendizaje de máquina que incorporan valores de intensidad media para Ki67 en núcleos epiteliales seguidos de una umbralización mediante el uso de los núcleos estromales como línea de base para la señal fluorescente de fondo. Esta característica de Ki67 se escala entre 3 y 5. Los valores crecientes en pacientes con grado de Gleason dominante de la biopsia 4 y 5 se asociaron con un tiempo más corto para la progresión de la enfermedad. En este ejemplo, el área del tumor infiltrativo como se indica para AR y Ki67 fue previamente identificada y esbozada por el patólogo durante el procesamiento inicial de la imagen. En otros ejemplos, tal área tumoral puede identificarse automáticamente.

La Figura 14 muestra las curvas de Kaplan-Meier para pacientes estratificados de acuerdo con esta característica molecular combinada AR-Ki67, donde el punto de corte de la característica combinada fue 0,943 calculado con el uso de la prueba del orden logarítmico ($p < 0,00001$). Los resultados de inmunofluorescencia típicos (por ejemplo, vistos con aumento X200) para AR muestran AR en núcleos epiteliales con intensidad creciente de color azul (mínimo), rojo (moderado) a amarillo (alto), oro correspondiente a AMACR+, verde correspondiente a AMACR- y púrpura correspondiente a los núcleos estromales. Los resultados de inmunofluorescencia típicos (por ejemplo, vistos con aumento X200) para Ki67 muestran Ki67 (amarillo) en los núcleos epiteliales tumorales (azul) y púrpura correspondientes a los núcleos estromales.

El modelo de entrenamiento tuvo un índice de concordancia de 0,74. Cuando los pacientes se estratificaron según la puntuación del modelo inferior frente al superior a 30,19 (correspondiente a una probabilidad del fracaso clínico pronosticada por el modelo de 13,82 %), la razón de riesgo fue 5,12, la sensibilidad del 78 % y la especificidad del 69 % para predecir correctamente el fracaso clínico dentro de los 8 años. La Figura 15 muestra las curvas de Kaplan-Meier para pacientes en el conjunto de entrenamiento estratificadas por el valor o la puntuación generada por el modelo predictivo, que ilustra la capacidad del modelo para separar a los pacientes del conjunto de entrenamiento de acuerdo con el riesgo (razón de riesgo 5,12). Se predijo un riesgo bajo para puntajes del modelo $\leq 30,19$, mientras que se pronosticó alto riesgo para puntajes del modelo $> 30,19$. El eje y proporciona la probabilidad de permanecer sin progresión clínica y el eje x da el tiempo de seguimiento (en meses). El valor de p ($< 0,0001$) se estimó mediante la prueba del orden logarítmico.

Validación. El modelo fue validado mediante el uso de los datos de 341 pacientes con una mediana de seguimiento de 72 meses. Cuarenta y cuatro pacientes (12,9 %) tuvieron fracaso clínico, 4 con un examen óseo positivo y 40 con un aumento del PSA en estado de castración. El rendimiento del modelo resultó en un índice de concordancia de 0,73, razón de riesgo 3,47, sensibilidad 76 % y especificidad 64 % para predecir el fracaso clínico. Se generaron curvas de Kaplan-Meier separadas para pacientes cuyas puntuaciones del modelo eran superiores o inferiores a 30,19 (Figura 16; razón de riesgo 3,47). Estos dos grupos de pacientes diferían significativamente en el tiempo hasta el fracaso clínico (prueba del orden logarítmico $P < 0,0001$).

Discusión

Uno de los principales desafíos en el manejo de pacientes diagnosticados con cáncer de próstata localizado es determinar si un paciente determinado tiene un alto riesgo de morir por su enfermedad. Para abordar este problema, se proporciona una herramienta predictiva de acuerdo con algunas modalidades de la presente invención que puede usarse en el momento del diagnóstico: un modelo de pretratamiento que usa variables clínicas y características de muestras de biopsia de próstata con aguja para predecir el criterio de valoración objetivo del fracaso clínico tras la prostatectomía. La validación del modelo obtuvo un índice de concordancia de 0,73, razón de riesgo 3,47 ($p < 0,0001$), sensibilidad 76 % y especificidad 64 %. En comparación, el nomograma de recurrencia bioquímica preoperatoria a los 10 años [9] cuando se aplicó a la misma cohorte arrojó un índice de concordancia de 0,69 y una razón de riesgo de 2,34 ($p = 0,01$), lo que demuestra la precisión mejorada con un criterio de valoración clínicamente más relevante, obtenido con el enfoque de sistemas. Además, el modelo, en comparación con el nomograma de recurrencia del PSA postoperatorio a los 10 años [26], fue capaz de identificar dos veces el número de pacientes de alto riesgo clasificados por criterios clínicos tradicionales como grupo de riesgo intermedio. Se cree que un modelo de patología de sistemas que emplea múltiples características tumorales robustas producirá una evaluación de riesgo más objetiva de los pacientes actuales, particularmente en una práctica comunitaria, donde las variables patológicas seleccionadas son propensas a la subjetividad.

Una fortaleza del enfoque fue el uso de una gran cohorte de 5 centros en los Estados Unidos y Europa, lo que debería conferir una amplia aplicabilidad. Además, las características seleccionadas en el modelo final se realizaron de manera uniforme en todas las cohortes, lo que constituye un perfil robusto del paciente que debería ser útil para evaluar el curso probable de la enfermedad en un momento crucial para las decisiones de tratamiento.

Las variables clínicas seleccionadas en el modelo fueron PSA previo al tratamiento, puntuación de Gleason de la biopsia y bGG dominante. Se descubrió que tanto el PSA como la puntuación de Gleason de la biopsia son predictores importantes para la supervivencia general en una cohorte basada en la población no tratada y manejada de forma conservadora del Reino Unido [27, 28]. En ese estudio, el estadio clínico también predijo la supervivencia, aunque más débilmente. En el ejemplo presentado anteriormente, no se encontró que el estadio clínico sea un parámetro significativo en el análisis univariado y, por lo tanto, no se incluyó en el modelo multivariado.

Un bGG mayor se asoció con un peor desenlace en el análisis univariado; sin embargo, se asoció con un mejor desenlace en el modelo multivariado. Este fenómeno ilustra la "paradoja de la inversión" conocida en estadística; la variable está actuando como un control para otros factores durante el modelado [29-32]. Se cree que la reversión en el modelo de progresión de la enfermedad que se describe en la presente descripción resultó principalmente del impacto de las dos características combinadas, que contienen el bGG dominante como desencadenante (es decir, si $bGG \leq 3$ usar valores de MST o AR). Curiosamente, varios estudios han cuestionado la utilidad de la bGG dominante, especialmente para los patrones 3+4 y 4+3, dado que las probabilidades asociadas de recurrencia bioquímica se superponen sustancialmente, y que la bGG a menudo disminuye su grado al analizar la muestra de prostatectomía radical [33-35].

Un componente clave para el estudio actual descrito anteriormente son las estrategias morfométricas y de análisis de imágenes para evaluar la arquitectura de los tejidos y la distribución celular. La característica de MST en el modelo (Figura 11) refleja la distribución espacial de los núcleos epiteliales tumorales en una matriz estromal. Se optimizó para los patrones de bGG ≤ 3 para identificar cambios morfológicos sutiles que pueden relacionarse con propiedades de desdiferenciación. La característica de H y E evalúa la organización tumoral donde las estructuras de glándulas intactas y los límites de célula a célula comienzan a deteriorarse, como se identifica en la progresión de los tumores de grado 3 a 4 de Gleason. En el modelo final, los niveles crecientes para ambas características se asociaron con un tiempo más corto para la progresión clínica, lo que sugiere un fenotipo más agresivo capaz de invasión dentro de la próstata. En comparación, en este ejemplo, el modelo de biopsia no seleccionó las características morfométricas que fueron significativas con relación al fracaso clínico en un modelo anterior post-prostatectomía (por ejemplo, tamaño del lumen, composición de células tumorales) [36].

Se ha demostrado un papel central para AR y Ki67 en el crecimiento y la progresión del cáncer de próstata [25, 36, 37-42]. El modelo actual revela la importancia de AR y Ki67 específicamente en muestras de bajo y alto grado de Gleason, respectivamente. Se cree que esta evaluación diferencial de AR y Ki67 constituye un grado de tumor biológico que es importante para comprender el comportamiento, y que la utilización del bGG dominante como clasificador para la anotación de características permite la discriminación del riesgo de progresión de la enfermedad entre los cánceres de grado intermedio. Además, se cree que la activación aberrante de AR, posiblemente combinada con una translocación cromosómica temprana (por ejemplo, TMPRSS2:ERG) puede afectar las vías de señalización posteriores, lo que contribuye así a la evolución de la enfermedad metastásica por castración [43].

La evidencia previa en muestras de biopsia y prostatectomía ha relacionado el índice de marcaje de Ki67 con bGG y el desenlace. Sin embargo, al igual que con AR, la adopción clínica ha sido cuestionada debido principalmente a la falta de reproducibilidad, la falta de prácticas de laboratorio estandarizadas y la necesidad de determinar un punto de corte preciso y generalizable. El enfoque de incorporar estándares cuantitativos de inmunofluorescencia y aprendizaje de máquina para la normalización y la elección de umbral(es) pueden haber eludido estas limitaciones.

Finalmente, aunque asociado con el desenlace, la AKT fosforilada no se seleccionó en el modelo multivariado. Además, las características derivadas del contenido de vasos por CD34 no alcanzaron significación estadística univariada, aunque se observaron tendencias. Varios estudios han demostrado la participación de la AKT fosforilada en las vías de proliferación y supervivencia en el cáncer de próstata, y han relacionado el aumento de la AKT fosforilada con Ki-67, AR activado y un fenotipo resistente a hormonas [44-47]. El papel de CD34 es más controvertido, principalmente debido a los diferentes métodos para identificar y contar vasos en varios tipos de muestra [48-50]. En otras modalidades, AKT fosforilada y CD34 podrían incluirse como que tienen importancia pronóstica y predictiva en la progresión del cáncer de próstata y/o con respecto a otras afecciones médicas.

Para abordar la consistencia de los resultados de nuestro modelo actual, el modelo (con base en SVRc y la integración de sistemas de datos clinicopatológicos con análisis cuantitativo de imágenes de H y E e inmunofluorescencia) se comparó con los factores clinicopatológicos tradicionales, de forma independiente y en los nomogramas de Kattan. No hay herramientas disponibles para predecir la progresión de la enfermedad clínica en el momento del diagnóstico, por lo tanto, para la comparación, se usaron los nomogramas preoperatorios de Kattan, que predicen la recurrencia del PSA a intervalos de 5 y 10 años. La Tabla 10 ilustra el rendimiento de cada método para predecir el CF en la cohorte de validación. Las razones de riesgo se calcularon al identificar el punto de corte óptimo en el conjunto de entrenamiento y aplicándolo al conjunto de validación, como se describió anteriormente. Además, un análisis de sensibilidad y especificidad de los nomogramas frente al método de sistemas de acuerdo con un ejemplo en grupos de riesgo bajo e intermedio (según lo definido por los criterios de la AUA) indica que el método de sistemas es dos veces más efectivo para identificar pacientes que están en alto riesgo para el CF dentro de los 8 años, pero parece ser de riesgo bajo a intermedio con base en los perfiles clínicos.

Tabla 10. Resultados univariados y multivariados para predecir el CF dentro de los 8 años en la cohorte de validación.

Predictor	Índice C	Razón de Riesgo	Valor de p de la Razón de Riesgo
Edad en el momento de la biopsia	0,47	0,81	0,521
PSA Preoperatorio	0,67	1,93	0,030
Estadio Clínico	0,53	1,19	0,769
Grado de Gleason Dominante	0,60	2,29	0,007
Puntuación de Gleason	0,68	2,92	0,002
PSA en 5 años según Kattan	0,69	2,34	0,0053
Nomograma de Recurrencia			
PSA en 10 años según Kattan	0,69	2,62	0,0098
Nomograma de Recurrencia			
PSA en 10 años según Kattan	0,73	3,47	<0,0001
Nomograma de Recurrencia			

En conclusión, como resultado de este estudio se proporcionó una herramienta robusta y altamente precisa para predecir la progresión de la enfermedad en el momento del diagnóstico inicial. Se cree que los atributos biológicos y morfológicos dentro del modelo representan un fenotipo que complementará la práctica actual para determinar las opciones de tratamiento apropiadas y el seguimiento del paciente.

Ejemplo 2: Predicción de Patología Favorable (Enfermedad Indolente)

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se desarrolló un modelo predictivo para su uso en muestras de punción de biopsia de diagnóstico de tejido prostático, donde el modelo predice la probabilidad de que la enfermedad de un paciente sea indolente, es decir, la probabilidad de que un paciente tenga una patología favorable (enfermedad indolente) si el paciente se sometiera a una prostatectomía radical para tratar el cáncer de próstata en el paciente. Generalmente, las predicciones del modelo pueden ayudar a los pacientes y/o sus médicos a determinar si deben someterse a una prostatectomía radical u otro curso de tratamiento. Por ejemplo, una predicción indicativa de una enfermedad indolente (patología favorable) puede influir a favor de la espera vigilante u otro curso de tratamiento comparativamente menos agresivo. Por el contrario, un modelo de predicción indicativo de una enfermedad no indolente (patología desfavorable) puede influir a favor de una prostatectomía radical u otro tratamiento comparativamente más agresivo. Como otro ejemplo, una evaluación de una patología favorable puede llevar al médico y al paciente a buscar tratamientos duales, tales como la terapia hormonal junto con una prostatectomía radical. En este estudio, solo se emplearon como variables predictoras las características obtenidas de los datos disponibles en el momento de la biopsia.

Pacientes y Muestras. Se recopiló información sobre un total de 1487 pacientes que fueron tratados mediante prostatectomía radical entre 1989 y 2003 (es decir, los mismos pacientes descritos anteriormente en relación con el Ejemplo 1). No se incluyeron pacientes que fueron tratados por cáncer de próstata antes de la prostatectomía. Solo los pacientes con datos completos para todas las características relevantes (véanse Variables Independientes, más abajo) y solo aquellos con datos no faltantes para enfermedad indolente según lo evaluado por patología favorable (véase Definición de Punto Final, más abajo) fueron elegibles para el estudio. Se dividieron aleatoriamente entre conjuntos de entrenamiento y validación manteniendo el equilibrio demográfico. Investigadores que de otro modo no participaron en ningún aspecto del estudio realizaron esta división. El número final en el conjunto de entrenamiento ascendió a 628 y el tamaño final del conjunto de validación fue 280.

Definición de Punto Final. Un paciente se definió como con enfermedad indolente si y solo si: (a) tenía un estadio patológico evaluado por los datos de la prostatectomía como T2 o menos, (b) tenía una puntuación de Gleason total evaluada en la prostatectomía de seis (6) o menos siendo cada componente de la puntuación de Gleason (dominante y secundario) tres (3) o menos y (c) si su PSA "no desapareció" después de la cirugía, lo que significa que la primera lectura de PSA fue cero después de la cirugía. Los pacientes que cumplieron con esta definición se codificaron como un "1" para la enfermedad indolente y los que no lo hicieron se codificaron como un "0". Esta variable binaria fue la única medida dependiente del estudio.

Variables independientes. Las características clínicas, características morfométricas (con base en H y E e inmunofluorescencia (IF)) y características moleculares (basadas en IF) se examinaron para su posible inclusión en el conjunto de características que se someterán a la selección de características para el modelo final. Todas las características enumeradas en las Tablas 1-4 proporcionadas (es decir, las características que se usaron como punto de partida para el modelo de progresión de la enfermedad) se probaron en busca de asociaciones univariadas con estadio patológico favorable (FPS). Por ejemplo, se analizaron las características "IF01" e "IF02" que se midieron mediante el uso de MPLEX 1 y MPLEX 2 descritas anteriormente. Con base en la entrada de los expertos, también

se eliminaron de consideración varias características. Se eligió un conjunto de veintiséis (26) características, que se enumeran y describen en la Tabla 11, con base en sus asociaciones univariadas con la variable dependiente, es decir, estadio patológico favorable en este ejemplo. Las características se procesaron de modo que el intervalo de todas las características fuera de -1 a 1. Todos los valores de Wald-Chi Cuadrado proporcionados en la Tabla 11 tenían un valor de p de menos de 0,00000001 y un grado de libertad.

Tabla 11: Conjunto de Características de Entrada para el Desarrollo del Modelo de Estadio Patológico Favorable (FPS)

Nombre de la Característica	Tipo/Dominio	Significación Univariada para FPS (Valor de Wald-Chi-Cuadrado)	Descripción de la Característica
preop_psa	Clínico	38,176	Medición de PSA preoperatorio (ng/ml)
bxgg1	Clínico	29,730	Grado de Gleason Dominante de la Biopsia
bxgscore	Clínico	62,075	Grado de Gleason Dominante de la Biopsia
fd_3_8	Morph./IF	22,270	Dimensión fractal de los límites de la glándula evaluada por un intervalo de tamaño de caja de 3 a 8 píxeles
proportion_edge_2_epinuc	Morph./IF/MST	30,294	Proporción de núcleos epiteliales con un recuento de bordes de 2 en un árbol de expansión mínimo (MST) de todos los núcleos epiteliales
proportion_edge_3_epinuc	Morph./IF/MST	40,731	Proporción de núcleos epiteliales con un recuento de bordes de 3 en un árbol de expansión mínimo (MST) de todos los núcleos epiteliales
IFx2_RelAreEN_Ki67p_Ar ea2EN	Molec./IF	20,834	Área relativa de núcleos epiteliales que son Ki67 positivos
HE02_Lum_Are_Median	Morph./H Y E	21,490	Mediana del área de lúmenes
orig_approximation_1	Morph./IF	34,849	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 1 etapa de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de glándulas
orig_diag_detail_5	Morph./IF	38,624	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonal después de aplicar 5 etapas de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de glándulas
HEx2_nta_Lum_Are_Tot	Morph./H Y E	31,855	Área relativa de lúmenes
HEx2_EpiNucAre2LumMeanAre	Morph./H Y E	29,422	Relación entre el área nuclear epitelial total y el tamaño promedio de lúmenes
HEx2_nrm_ENWinGU_Are_Tot	Morph./H Y E	49,146	Área relativa de núcleos epiteliales que están dentro (en el interior) de las unidades de glándula
HEx2_nrm_ENOutGU_Are_Tot	Morph./H Y E	49,146	Área relativa de núcleos epiteliales que están fuera de las unidades de glándula
HEx2_RelArea_EpiNuc_Out2WinGU	Morph./H Y E	32,205	Relación entre el área de núcleos epiteliales fuera de una unidad de glándula y el área de núcleos epiteliales dentro de una unidad de glándula
HEx2_RelArea_ENCyt_Out2WinGU	Morph./H Y E	27,800	Relación entre el área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) fuera de una unidad de glándula y el área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) dentro de una unidad de glándula
HEx2_ntaENCytWinGU2Tumor	Morph./H Y E	18,289	Relación del área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) dentro de una unidad de glándula con respecto al área del tumor

(continuación)

5	Nombre de la Característica	Tipo/Dominio	Significación Univariada para FPS (Valor de Wald-Chi-Cuadrado)	Descripción de la Característica
10	HEx2_nrm_ENCytWinGULum_Are_Tot	Morph./H Y E	27,967	Relación del área de células epiteliales (núcleos + citoplasma) dentro de una unidad de glándula y el área total de lúmenes al área del tumor
15	HEx2_RelArea_EpiNucCyt_Lum	Morph./H Y E	28,797	Relación del área de células epiteliales (núcleo + citoplasma) con respecto al área de lúmenes
20	HEx2_sub_EpiNucDen1_3_Lum	Morph./H Y E	24,816	Mide el área de núcleos epiteliales de baja densidad en relación con los lúmenes al evaluar cada vecindad de núcleos epiteliales y calcular el porcentaje de área que corresponde a núcleos epiteliales. Estas áreas se agrupan clases en deciles del 10 % y cada decil se divide por el área total de núcleos epiteliales y luego se divide por el área total del lumen. Esta característica es la suma de los deciles 1 a 3.
30	HEx2_nrmEpiNucBand5minus3	Morph./H Y E	47,970	Mide las áreas de núcleos epiteliales distribuidos lejos de las unidades de glándula. Calculado mediante la medición de las áreas de núcleos epiteliales con centros que están en una banda a cierta distancia de los bordes del lumen. La banda incluye todos los núcleos epiteliales que están al menos a tres unidades del borde del lumen, pero dentro de 5 unidades del borde del lumen; una unidad es un número fijo establecido para ser aproximadamente el diámetro de un núcleo epitelial.
40	min_orig_L_detail4	Morph./H Y E	32,124	Mínimo de las varianzas de los valores de píxeles en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 4 etapas de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes
45	CombinedIFEpiNucMeanEdgeLength	Morph. (Combinado) /IF/MST	44,196	Característica combinada. Si el grado de Gleason dominante de la biopsia es ≤ 3 , es la longitud promedio del borde entre los núcleos epiteliales en un árbol de extensión mínimo (MST) de todos los núcleos epiteliales con una escala entre 0 y 3, si el Grado de Gleason es ≥ 4 , es en el lugar del Grado de Gleason.
55	CombLowGleAR_HighGLKi67	Molecular (combinado)/IF	39,608	Característica combinada. Si el Grado de Gleason dominante de la biopsia es ≤ 3 , el intervalo dinámico del AR se escala entre 0 y 3. Si el Grado es ≥ 4 , es el área relativa de núcleos epiteliales que son positivos para Ki67 (en una escala entre 3 y 5). El intervalo dinámico del AR se determina al calcular los percentiles de área de la intensidad del AR en los núcleos epiteliales y estromales. La diferencia entre los percentiles 90 y 10 de los núcleos epiteliales se normaliza por la diferencia entre los percentiles 90 y 10 de los núcleos estromales.

(continuación)

Nombre de la Característica	Tipo/Dominio	Significación Univariada para FPS (Valor de Wald-Chi-Cuadrado)	Descripción de la Característica
ComblowGleARpAMACRplum_HighGLKi67	Molecular (combinado)/IF	37,011	Característica combinada. Si el Grado de Gleason dominante de la biopsia es <= 3, es la relación entre el área de los núcleos epiteliales AR positivos y AMACR positivos con respecto al área del lumen (en una escala entre 0 y 3). Si el Grado es >=4, es el área relativa de los núcleos epiteliales que son positivos para Ki67 (en una escala entre 4 y 5).
CombIFepiNucMeanEdgeLengthInte	Morph. (Combinado) /MST/IF	34,348	La característica combinada, si el Grado de Gleason dominante de la biopsia es <= 3, después de calcular un MST de todos los núcleos epiteliales, es la longitud promedio del borde entre los núcleos epiteliales de diferentes glándulas en una escala entre 0 y 3, si el Grado de Gleason es >= 4, es en su lugar, el Grado de Gleason.

Resumen de Modelado y Análisis. Se empleó un análisis de regresión logística para establecer un modelo de enfermedad indolente con el conjunto de veintiséis (26) características enumeradas en la Tabla 11 como posibles predictores. La regresión logística binaria se describe generalmente en [62]. Para modelar se usó el procedimiento logístico (PROC LOGISTIC) con el método de selección de características escalonadas de un paquete de análisis estadístico SAS disponible comercialmente. De acuerdo con el método escalonado, se ajustaron una serie de modelos hasta que se determinó el modelo de mejor ajuste. Los predictores se agregaron uno a la vez si cumplían con el criterio de significación estadística (por ejemplo, 0,05 para el modelo en este ejemplo) en orden de la pequeñez de sus valores p, dados todos los demás predictores en el modelo. Si en cualquier estadio un predictor fallaba en ser significativo al nivel 0,05 dados otros predictores ahora en el modelo, se quitó de consideración. La convergencia se produjo cuando no se pudieron agregar ni eliminar predictores. En otras palabras, la convergencia tuvo lugar cuando todos los predictores del modelo eran significativos y ningún otro predictor potencial sería significativo si se añadiera al modelo.

El modelo final constaba de cinco características como predictores del estadio patológico favorable (FPS), a veces llamado enfermedad indolente. Juntas, estas características formaron un modelo que fue claramente significativo por la razón de verosimilitud de la prueba de chi-cuadrado ($\chi^2 = 161,34$ con cinco grados de libertad, $p < 0,0001$). Las características y sus respectivas estimaciones de parámetros que formaron el modelo de mejor ajuste con base en los datos de entrenamiento se enumeran en la Figura 17. El modelo se ajustó mediante el uso solo del conjunto de entrenamiento ($n = 628$). De estos 628 pacientes, 238 (37,90 %) tenían resultados de prostatectomía que indicaban la condición de Estadio Patológico Favorable. Los 390 pacientes restantes (62,1 %) no presentaban esta condición, por lo que se caracterizaron por tener un Estadio Patológico Desfavorable. Durante la generación del modelo, al parámetro de intercepción en SAS se le dio un peso de -10,5317.

Resultados. El modelo se validó en un conjunto de validación ($N = 280$). De los 280 pacientes, 102 (36,43 %) tenían la condición de estadio patológico favorable.

Los índices epidemiológicos que se muestran en la Tabla 12 se calcularon para el modelo con base en los datos de entrenamiento y validación. Las estadísticas de evaluación calculadas fueron: sensibilidad, especificidad y AUC (área bajo la curva característica del operador del receptor). Con base en los datos de entrenamiento, el AUC fue de 0,78 y la sensibilidad y la especificidad fueron de 0,75 y 0,69, respectivamente. Los índices epidemiológicos de validación fueron: AUC = 0,74, sensibilidad = 0,74 y especificidad = 0,65. Estos resultados confirmaron el poder predictivo del modelo FPS.

Tabla 12: Rendimiento del Modelo de Estadio Patológico Favorable (Enfermedad Indolente)

Características del Modelo	Entrenamiento (n = 628)	Validación (n = 280)
Sensibilidad	0,75	0,74
Especificidad	0,69	0,65
AUC	0,78	0,74

Con referencia a la Figura 17, las cinco características del modelo capturan los dominios de patología de los tres sistemas (clínico, morfométrico (H y E en este ejemplo) y molecular (IF MPLEX en este ejemplo)). Las dos características clínicas seleccionadas para su inclusión en el modelo fueron el PSA preoperatorio (estimación del peso de regresión = -4,232) y la puntuación de Gleason de la biopsia (estimación del peso de regresión = -2,0031).

También se seleccionaron dos características morfométricas de H y E para su inclusión en el modelo. La primera es la relación entre el área de núcleos epiteliales que están fuera de las unidades de glándulas y el área de núcleos epiteliales que están dentro (dentro) de las unidades de glándulas (estimación del peso de regresión = -6,3303). La segunda característica de H y E representa las áreas de núcleos epiteliales con centros que están en una banda a cierta distancia de los bordes del lumen (estimación del peso de regresión = -0,8374). La banda incluye todos los núcleos epiteliales que están al menos a tres unidades del borde del lumen, pero dentro de cinco unidades del borde del lumen, donde una unidad es un número fijo establecido para ser aproximadamente el diámetro de un núcleo epitelial.

La característica molecular IF MPLEX seleccionada para su inclusión en el modelo es una característica combinada que implica mediciones del AR y Ki67 (estimación del peso de regresión = -0,3375). En dependencia del grado de Gleason dominante de la biopsia del paciente, se usa uno u otro. Si el Grado de Gleason es ≤ 3 , se mide el intervalo dinámico del AR (y se escala entre 0 y 3). Si el Grado de Gleason es ≥ 4 , entonces se usa el área relativa de núcleos epiteliales que son Ki67 positivos (y se escala entre 3 y 5).

Metodología Estadística. La regresión logística binaria del tipo usado para generar el modelo de Estadio Patológico Favorable (Enfermedad Indolente) es un miembro de la clase de Modelos Lineales Generalizados (GLIM) que permiten modelar una amplia gama de tipos de variables dependientes a través de un compuesto lineal de variables independientes que ha sido sometido a una transformación de enlace.

Generalmente, en la regresión logística binaria, la variable dependiente es una variable categórica dicotómica y normalmente se codifica como '0' o '1'. Una codificación de '1' implica que ha ocurrido un evento o que una unidad experimental se encuentra en un estado o condición particular. Una codificación de '0', por otro lado, implica que no ha ocurrido un evento o que una unidad experimental no está en el estado o condición particular. Por ejemplo, los individuos podrían clasificarse como un '1' si han sufrido un ataque cardíaco antes de cumplir los cincuenta y cinco años y como un '0' si no han sufrido un ataque cardíaco antes de su cincuenta y cinco cumpleaños.

Las variables independientes en la regresión logística binaria pueden ser categóricas o continuas. Se usan para construir una combinación lineal que es útil para predecir la probabilidad de que la variable dependiente sea igual a uno. Por ejemplo, si la variable dependiente fuera si un individuo había sufrido un ataque cardíaco antes de los 55 años, un buen predictor probable sería la variable independiente categórica del estado de tabaquismo (es decir, '1' si la persona es fumadora y '0' si la persona no es fumadora). Otro predictor, de la variedad continua, que probablemente sería útil en la predicción, es el nivel de colesterol en sangre del individuo. Otros predictores pueden incluir el predictor categórico de antecedentes familiares ('1' si hay antecedentes familiares de enfermedad cardíaca y '0' si no) y el predictor continuo del porcentaje de grasa corporal.

En un modelo de regresión logística binaria, la variable dependiente se denota como Y y los predictores (variables independientes) se denotan con X (normalmente X₁, X₂, etc. para múltiples predictores). Como se indicó anteriormente, el modelo de regresión logística intenta predecir la probabilidad de que la variable dependiente sea igual a uno. Al hacerlo, emplea la siguiente ecuación para cualquier unidad experimental dada:

$$\Pr(Y = 1) = 1/[1 + \exp(-b_0 - \sum_{i=1}^p b_i X_i)] \quad (1)$$

donde: Pr(Y = 1) es la probabilidad de que Y sea igual a uno para cualquier individuo, exp(u) es la función exponencial (exp(u) = e^u), X_i es el valor del i-ésimo predictor, p es el número total de predictores en el modelo (la suma es de 1 a p), b₀ es la intersección del modelo y b_i es el coeficiente de la pendiente para el i-ésimo predictor. El término de intersección es un término de centrado para el modelo y el valor de 1/[1 + exp(-b₀)] da en esencia una probabilidad de línea base de que Y es igual a uno cuando todos los predictores tienen un valor simultáneo de cero. Los coeficientes de pendiente indican el impacto ponderado de cada predictor en el modelo. Juntos, los términos de intersección y pendiente pueden denominarse parámetros del modelo.

La negación del término exponencial se llama término logit y a veces se designa como L. El logit tiene una interpretación especial y también ayuda en la interpretación de los parámetros del modelo. La razón de la probabilidad de un evento a uno menos la probabilidad de ese evento se llama posibilidad del evento. El logaritmo natural de la posibilidad de un evento se denomina posibilidad logarítmica de un evento. Existe una correspondencia uno a uno entre probabilidad, posibilidad y posibilidad logarítmica. En otras palabras, si se conoce cualquiera de estos tres términos (probabilidad, posibilidad o posibilidad logarítmica), los otros dos se determinarán de forma única. Por ejemplo, si la probabilidad de un evento es 0,50, las posibilidades del evento serían 0,5/(1-0,5) = 1,0 y las posibilidades de registro serían log(1,0) = 0. En términos explícitos:

$$\text{Si posibilidad log} = R, \text{ Posibilidad} = e^R \text{ y Probabilidad} = 1/(1 + e^{-R}) \quad (2)$$

El término logit para un individuo da la posibilidad logarítmica de que Y es igual a uno para ese individuo. Por tanto, la intersección da la posibilidad logarítmica predicha de que Y es igual a uno cuando todos los predictores son iguales a cero. Los coeficientes de pendiente dan el cambio en la posibilidad logarítmica predicha de que Y es igual a uno a medida que sus respectivos predictores aumentan en una unidad. Por lo tanto, aunque el modelo de regresión logística es un modelo no lineal para la predicción de probabilidad, a través de transformaciones este modelo puede vincularse de nuevo a un modelo lineal para la predicción de una cantidad que es fácilmente convertible en probabilidad, es decir, razón log.

Para que el modelo sea de utilidad en la predicción, deben determinarse los valores adecuados de los parámetros del modelo. En el estadio de entrenamiento del modelo, se proporcionan datos que contienen valores para la variable dependiente (Y) y para varias características que pueden emplearse como predictores potenciales (X) para propósitos de modelado. Una vez que se ha seleccionado un conjunto de características, los valores óptimos para los parámetros pueden determinarse mediante un método conocido como Estimación de Máxima Verosimilitud, que se describe generalmente en [63]. En este método, se construye una función de probabilidad para los datos en función de los parámetros del modelo. Mediante el uso de técnicas de optimización analíticas o iterativas, se obtienen estimaciones numéricas para los parámetros del modelo que maximizan la función de verosimilitud. La función de verosimilitud en sí es, en el caso de la regresión logística, equivalente a la probabilidad conjunta de que todos los casos en el conjunto de datos tengan sus valores observados en Y dados sus valores en X. Al suponer un conjunto de datos con n casos de los cuales n₁ tienen un valor de '1' en Y y n₂ tienen un valor de '0' en Y, entonces la función de probabilidad para los datos es:

$$L(B) = \prod_{j=1}^{n_1} \Pr(Y = Y_j | X_{j1}, \dots, X_{jp}) \quad (3)$$

$$L(B) = \left\{ \prod_{j=1}^{n_1} 1/[1 + \exp(-b_0 - \sum_{i=1}^p b_i X_{ji})] \right\} *$$

$$\left\{ \prod_{j=1}^{n_2} \exp(-b_0 - \sum_{i=1}^p b_i X_{ji})/[1 + \exp(-b_0 - \sum_{i=1}^p b_i X_{ji})] \right\} \quad (4)$$

donde B es el vector de los parámetros del modelo = [b₀ b₁ ... b_p], y X_{ij} es el valor del i-ésimo predictor para la j-ésima observación en el conjunto de datos. La maximización de la función de verosimilitud rara vez es una tarea tan simple que la solución sea analítica. Como simplificación, el logaritmo natural de la función de verosimilitud se maximiza en oposición a la función de verosimilitud en sí. Esta etapa está justificada por la monotonicidad de la función logaritmo. Se requieren técnicas iterativas, donde las opciones típicas involucran el Método de Newton-Raphson y los Métodos de Mínimos Cuadrados Ponderados [63].

Estos métodos producen estimaciones no solo de los parámetros sino también de sus errores estándar. Como resultado y asumiendo tamaños de muestra razonablemente grandes, hay dos clases de pruebas estadísticas disponibles para propósitos de prueba de modelos. Una prueba ómnibus de ajuste del modelo es la prueba de razón de verosimilitud. En esta prueba, la probabilidad logarítmica final para un modelo se resta de la probabilidad logarítmica de un modelo nulo que involucra solo el término de intersección y no los predictores. Si esta diferencia se multiplica por dos negativos, se obtiene el estadístico de prueba de razón de verosimilitud. Esta estadística tendrá una distribución chi-cuadrado asintótica con grados de libertad iguales al número de predictores en el modelo. Si este valor es estadísticamente significativo a un nivel alfa preestablecido (por ejemplo, 0,05), la hipótesis nula de que ninguna de las variables en el modelo tiene poder predictivo es rechazada y el investigador puede concluir que al menos una de las variables independientes del modelo es un predictor útil de la probabilidad de que la variable dependiente sea igual a uno. Además, la razón de la estimación de la pendiente de cada predictor a su error estándar respectivo seguirá una distribución normal estándar asintótica, bajo la hipótesis nula de que el coeficiente de pendiente del predictor tiene un valor real de cero. Esto se denomina prueba de Wald y se emplea para probar la importancia de los predictores individuales.

Una vez que se establece un modelo, puede calcularse un conjunto de índices de evaluación para dar una visión más precisa de la precisión predictiva del modelo. El modelo arroja una probabilidad de que cada individuo tenga un valor de uno en Y. Parecería natural clasificar a cada individuo como un '1' si su probabilidad excediera de 0,50 y como un '0' si su probabilidad fuera menor o igual a 0,50. Sin embargo, aunque 0,50 parece intuitivamente correcto, no es necesariamente el mejor criterio para clasificar los casos. Más bien, el punto que se usa como "punto de corte" para la clasificación es el valor de probabilidad que maximiza el producto de la sensibilidad y la especificidad del modelo. La sensibilidad de un clasificador es igual a la proporción de casos reales de la condición en cuestión que están correctamente clasificados. Del mismo modo, la especificidad de un clasificador es la proporción de casos que no

tienen la condición que están correctamente clasificados. Se aplican diferentes puntos de corte a los datos de entrenamiento hasta que se obtiene el valor que produce el producto más alto de estas dos proporciones, sujeto a la restricción de que la diferencia no exceda 0,15.

5 En el caso del modelo logístico, la sensibilidad equivale a la proporción de individuos con un valor de uno en Y que se clasifican con un valor de uno en Y. En este contexto, la especificidad significa la proporción de individuos que tienen un valor de cero en Y que se clasifican con un cero en Y. Índices relacionados son el PPV (valor predictivo positivo), o la proporción de individuos que se clasifican como un '1' que en realidad son un '1' y el VPN (valor predictivo negativo), o la proporción de individuos clasificados como '0' que en realidad son un '0'.

10 Todos los índices antes mencionados dependen del establecimiento de un punto de corte como base para clasificar los casos. El AUC (Área Bajo la Curva) es un índice que no depende de la elección de un punto de corte. El término recibe el nombre del área bajo la curva de Características Operativas del Receptor (ROC). Esta curva es un gráfico, calculado a través de todos los posibles puntos de corte, de todas las coordenadas donde la abscisa es igual a uno menos la especificidad del clasificador y la ordenada es igual a la sensibilidad del clasificador. Según el Teorema, siempre es igual a la razón de recuentos de pares concordantes al producto de recuentos positivos por recuentos negativos. Un par de observaciones concordantes es un par donde un miembro del par tiene un valor Y de uno y el otro tiene un valor Y de cero y también donde las probabilidades del modelo son concordantes (es decir, la probabilidad de que el miembro del par que es realmente uno es mayor que la probabilidad de que el miembro del par sea realmente cero). Si las probabilidades son iguales en tal caso, se suma 0,5 al recuento de pares concordantes. Luego, el recuento de pares concordantes se divide por el producto de los recuentos positivos y negativos para obtener el AUC. Por ejemplo, suponga que el conjunto de datos contiene cincuenta observaciones con treinta instancias de Y igual a uno y veinte instancias de Y igual a cero. El producto de los recuentos positivos y negativos sería: $20 \times 30 = 600$. Suponga que el recuento de pares concordantes es igual a 360. El AUC sería entonces igual a $360/600 = 0,60$. Un AUC de 0,50 surgiría por pura casualidad y, por tanto, es un punto de referencia para un clasificador inútil, mientras que un valor de 1,0 indica que la probabilidad del modelo siempre está de acuerdo con el valor real de la variable dependiente. Cuanto más cerca esté el AUC de uno, mayor será el poder predictivo del modelo de regresión logística.

30 En resumen, el modelo de estadio patológico favorable (enfermedad indolente) generado de acuerdo con este ejemplo se generó con base en la regresión logística binaria. En este ejemplo, se usó la regresión logística binaria para predecir la probabilidad de que una variable dependiente dicotómica (estadio patológico favorable) asuma un valor de uno. Esto se logró al concebir que las posibilidades logarítmicas de que ocurra un evento sean predecibles a partir de una combinación lineal de variables independientes (características). Este compuesto lineal predijo una probabilidad por medio de una transformación que produce la ecuación del modelo logístico (véase la ecuación 3, arriba). Los parámetros del modelo se estimaron por máxima verosimilitud. La adecuación general del modelo se evaluó mediante la prueba de razón de verosimilitud de chi-cuadrado y la adecuación de cada predictor se evaluó mediante la prueba de Wald. La capacidad de predicción del modelo se confirmó al calcular la sensibilidad, la especificidad, el VPP, el VPN y el AUC del modelo.

40 Ejemplo 3: Estudios de Receptores de Andrógenos (AR) y Control de Líneas Celulares

De acuerdo con modalidades ilustrativas adicionales de la presente invención, se realizaron dos estudios que demostraron la asociación del receptor de andrógenos (AR) con la capacidad de respuesta o falta de respuesta a la terapia hormonal para el cáncer de próstata (Estudio 1) y la mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM) (Estudio 2), también conocida como muerte por cáncer de próstata. En relación con el Estudio 2, se incorporaron tres líneas celulares de cáncer de próstata que se sabe que expresan la proteína del AR alta (LNCaP) y de baja a ausente (DU145 y PC3) en los análisis de inmunofluorescencia (IF) para proporcionar una medida de reproducibilidad para el ensayo de IF múltiple. Aunque el Estudio 2 relacionado con la PCSM proporciona un ejemplo ilustrativo del uso de controles de líneas celulares, debe entenderse que los controles de líneas celulares pueden aplicarse en otras modalidades de la presente invención relacionadas, por ejemplo, con otras líneas celulares (por ejemplo, líneas celulares distintas de LNCaP, DU145 y PC3) y/u otros desenlaces en consideración (por ejemplo., desenlaces distintos de la PCSM).

55 Generalmente, el uso de controles de línea celular implica establecer la línea de base o las intensidades esperadas de expresión de proteínas (es decir, expresión del AR nuclear, en el ejemplo del Estudio 2) en las líneas celulares al someter las líneas celulares a un ensayo de IF múltiple (por ejemplo, al someter las líneas celulares al ensayo en múltiples experimentos para establecer intensidades medias para las líneas celulares). A continuación, las mismas líneas celulares se someten al mismo ensayo de IF múltiple simultáneamente con tejido (y/o células aisladas) para uno o más pacientes en consideración. Con base en el análisis cualitativo y/o cuantitativo de las líneas celulares sujetas al ensayo de IF multiplex, puede determinarse si el ensayo de IF múltiple se realizó en las líneas celulares (y se realizó simultáneamente en el tejido y/o células aisladas para pacientes en estudio) ha producido resultados fiables.

65 En algunas modalidades de la presente invención, si se detecta una irregularidad en los resultados del ensayo de IF múltiple con base en, por ejemplo, en una comparación cualitativa y/o cuantitativa de la línea de base o las intensidades esperadas en las líneas celulares frente a las intensidades reales medidas en las líneas celulares del ensayo realizado simultáneamente con tejido y/o células aisladas para el o los pacientes en consideración, los

resultados del ensayo que involucran el tejido del paciente y/o las células aisladas pueden descartarse (por ejemplo, no se consideran durante la generación del modelo y/o en evaluar el riesgo de una afección médica en el paciente con un modelo predictivo final). Alternativa o adicionalmente, en algunas modalidades, el tejido y/o las células aisladas para el paciente o pacientes en consideración (por ejemplo, y las líneas celulares) pueden volver a someterse al ensayo de IF múltiple una o más veces hasta que se logren resultados confiables. Una irregularidad puede resultar de y puede identificar la necesidad de corregir, por ejemplo, reactivos defectuosos o fuera de especificación y/u otros factores que afectan el rendimiento del ensayo.

En algunas modalidades de la presente invención, una o más características medidas a partir del tejido y/o células aisladas para el paciente o pacientes en consideración (por ejemplo, características que se usarán en la generación de modelos y/o en la evaluación del riesgo mediante un modelo predictivo final) puede normalizarse mediante una medición de las intensidades u otra medición relacionada con una o más de las líneas celulares, incluyendo, por ejemplo, la o las intensidades de las líneas celulares medidas en el ensayo realizado simultáneamente con el tejido y/o las células aisladas para el o los pacientes, la línea de base o las intensidades esperadas, una o más de otras medidas relacionadas con las líneas celulares, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, en algunas modalidades, como resultado de la normalización, las mediciones del tejido y/o células aisladas para el o los pacientes pueden ser usadas en análisis posteriores (por ejemplo, como características para su uso en la generación de modelos y/o evaluación con un modelo predictivo final) sin tener que volver a someter el tejido y/o las células aisladas al ensayo de IF múltiple. Las características derivadas de la población de células AR negativas también se han usado en la construcción del umbral AR positivo y tales valores también pueden aplicarse al evaluar el nivel/grado de señal de fluorescencia de fondo que afectará tanto a las células cultivadas como a los tejidos durante cualquier ensayo dado.

En otro aspecto de las modalidades de la presente invención, las células cultivadas (por ejemplo, células resistentes a la castración) con perfiles bioquímicos y fisiológicos conocidos pueden usarse para identificar un fenotipo de la enfermedad. Tal fenotipo puede caracterizarse, por ejemplo, por la presencia o ausencia de ciertos valores para una o más características inmunofluorescentes (IF) medibles a partir de imágenes de IF, u otras características. Por lo tanto, al someter el tejido o las células de tal paciente a los mismos análisis de IF, tales características pueden identificarse como presentes o ausentes dentro del tejido o las células del paciente (por ejemplo, al determinar así el estado de enfermedad de un paciente, riesgo de experimentar un desenlace con respecto a la enfermedad, o probable capacidad de respuesta o falta de respuesta a una terapia para la enfermedad). Por ejemplo, puede realizarse un ensayo de IF múltiple en el tejido o las células del paciente (por ejemplo, simultáneamente con las células cultivadas como control), y puede usarse una herramienta de análisis de imágenes para medir una o más características de IF dentro de imágenes de IF resultantes de tal análisis. Una solicitud ilustrativa de este enfoque es evaluar los niveles del AR en líneas celulares independientes de andrógenos (conocidas por impulsar la proliferación y el crecimiento celular) y comparar/contrastar con el AR en poblaciones de células dentro de muestras de tejido y extrapolar a un fenotipo más agresivo. Por supuesto, son posibles otros estudios farmacodinámicos, por ejemplo, en poblaciones de células tumorales aisladas (es decir, células tumorales circulantes), donde pueden evaluarse los niveles generales de proteína y puede compararse el intervalo dinámico de contenido de proteína (por ejemplo, contenido de proteína del AR) dentro de los materiales del paciente al contenido de proteína conocido dentro de las células cultivadas. Además, la capacidad de medir con precisión el contenido de proteínas en poblaciones de células cultivadas y aisladas permite la extrapolación directa y la comparación con valores de intensidad en poblaciones de células dentro de muestras de tejido. Por tanto, tales análisis pueden usarse para generar perfiles de biomarcadores dinámicos a partir de poblaciones de células de tejido in situ discretas y para impulsar el fenotipado específico de la enfermedad.

Estudio 1: El AR Predice la Respuesta a la Terapia Hormonal. En este estudio, se determinó que los niveles elevados de receptores de andrógenos en las células tumorales dentro de una biopsia eran altamente significativos ($p < 0,0001$) para predecir la resistencia a una terapia (en este ejemplo, ablación de andrógenos con o sin radioterapia de rescate). Previamente, se demostró que los niveles de AR en muestras de prostatectomía eran predictivos de la respuesta a la terapia después de la recurrencia [25]. En este estudio, se analizaron muestras de biopsia de 219 pacientes (cohorte de entrenamiento) que habían recibido terapia hormonal (+/- radioterapia de rescate), de los cuales 77 (35 %) progresaron con aumento de PSA castrado. En este análisis, las características enumeradas en la Figura 18 se determinaron en análisis univariados para predecir la capacidad de respuesta o la falta de respuesta a la terapia hormonal después de la recurrencia del cáncer de próstata. En general, las características indicativas de niveles crecientes de AR se asociaron significativamente con un tiempo reducido de fracaso (prueba del orden logarítmico con $p < 0,0001$). Una de tales características fue la característica de inmunofluorescencia (IF) del área del AR en células epiteliales tumorales AMACR (+) (Tabla 3, "IFx1_RelAreEpi_ARpAMACRp2EN"; valor de $p < 0,0001$). Otra de tales características fue la característica de IF del intervalo dinámico de intensidad del AR en las células epiteliales tumorales (Tabla 3, "IFx1_RelRise_EpiNuc_AR_StrNuc"; valor de $p < 0,0001$). Además, la característica morfométrica de la mediana del área del lumen medida en una imagen de tejido teñido con H y E (Tabla 1, "HE02_Lum_Are_Median") se asoció con el desenlace (prueba del orden logarítmico con $p < 0,01$), lo que respalda un papel adicional para la morfometría como un sustituto de la clasificación de Gleason. En este ejemplo, las variables clínicas que incluyen el PSA preoperatorio, el grado y la puntuación de Gleason de la biopsia no fueron significativas.

En algunas modalidades de la presente invención, se proporciona un modelo (por ejemplo, modelo multivariado) que predice la capacidad de respuesta o falta de respuesta a una terapia (por ejemplo, ablación de andrógenos) para una afección médica (por ejemplo, cáncer de próstata), que incluye una o más (por ejemplo, todas) de las características

enumeradas en la Figura 18 y/u otras características (por ejemplo, una o más características enumeradas en las Tablas 1-4). Por ejemplo, con base en las características derivadas o disponibles de otro modo en el momento de una biopsia de tejido para un paciente, el modelo puede generar un valor o puntuación indicativo de si la enfermedad del paciente responderá o no a la terapia y/o un tiempo para la progresión de la enfermedad después de administrar la terapia al paciente.

Estudio 2: El AR Predice el Tiempo hasta la Mortalidad Específica por Cáncer de Próstata (PCSM). Los niveles de los receptores de andrógenos (AR) en el cáncer de próstata se han asociado con la progresión de la enfermedad, incluida la recurrencia del PSA y la metástasis sistémica. Este estudio investigó si las variables clínicas basales previas al tratamiento y las características de las muestras tumorales (incluido el AR) de una cohorte de enfermedad metastásica resistente a la castración predicen el tiempo hasta la mortalidad específica por cáncer de próstata y la supervivencia general.

Las láminas/bloques de hematoxilina y eosina (H y E) y los datos del desenlace de una cohorte de 106 pacientes de enfermedad metastásica castrada (35 muestras de prostatectomía y 71 muestras de biopsia con aguja de próstata) se revisaron de forma independiente. Se realizaron la morfometría con H y E y la inmunofluorescencia cuantitativa. Las secciones se analizaron con un ensayo cuantitativo múltiple (IF) para CK18 (células epiteliales), DAPI (núcleos), p63/HMWK (células basales), AR y alfa-metil CoA - racemasa (AMACR). Imágenes adquiridas con software de imágenes espectrales y procesadas para la cuantificación de características de IF.

La cohorte de enfermedad avanzada tuvo una mediana de seguimiento de 12 años desde el diagnóstico, 49 hombres (47 %) tenían niveles de PSA iniciales ≥ 20 ng/ml, 55 hombres (53 %) tenían una suma de Gleason 8, 63 hombres (60 %) estaban muertos por la enfermedad y el 40 % estaban vivos (censurados). 66 pacientes tenían características inmunofluorescentes evaluables y la asociación con el desenlace se realizó mediante un modelo de Cox univariado y la regresión de vectores de soporte (SVRc). El PSA fue la única variable clínica asociada con el desenlace (CI 0,41; $p < 0,05$ prueba del orden logarítmico). La cantidad de AR presente dentro de los núcleos del tumor (independientemente de la procedencia del tejido y el tratamiento primario) se correlacionó significativamente con un mayor riesgo de acortar el tiempo hasta la mortalidad específica por cáncer de próstata (CI 0,36; $p < 0,05$ prueba del orden logarítmico). No hubo características con H y E que se correlacionaran.

Todas las características enumeradas en las Tablas 1-4 se probaron para determinar la correlación univariante con el criterio de valoración de la PCSM en este estudio. Mediante tal análisis univariado, el aumento de la expresión del AR nuclear en la biopsia de diagnóstico y/o en la muestra de prostatectomía radical, de una cohorte de enfermedad avanzada, se asoció con un tiempo reducido hasta la mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM). En la Tabla 14 a continuación se proporciona una lista de las características correlacionadas.

Introducción. El crecimiento del cáncer de próstata es el resultado de la señalización de andrógenos a través del receptor de andrógenos (AR) con tratamiento primario para la recidiva que incluye agonistas de LHRH, bloqueo de ligandos, inhibición de la activación del receptor y orquiectomía [65, 66]. Sin embargo, la respuesta es bastante variable y depende del estadio, la terapia previa y las características individuales del tumor. Aunque inicialmente tiene éxito, el cáncer eventualmente progresa a un estado resistente a los andrógenos que presagia el desarrollo de un fenotipo maligno. Además de castrar la secreción de PSA, varios estudios han documentado eventos moleculares, incluidas mutaciones y amplificación del gen del AR e hiperactivación de la señalización del AR [66].

Evidencia reciente ha demostrado que el ARN del AR y la proteína en la muestra de prostatectomía primaria se ha asociado con la progresión de la enfermedad [67, 68, 36, 37]. Además, se demostró previamente que un AR nuclear alto (nAR) en muestras de prostatectomía era predictivo de enfermedad sistémica y que los niveles aumentados se asociaban con una respuesta duradera reducida a la terapia hormonal y un tiempo más corto hasta la recaída de la enfermedad [25]. Juntas, estas observaciones apoyan la hipótesis de la desregulación del AR en la muestra primaria, posiblemente restringida a células madre y/o poblaciones clonales, que promueve el crecimiento tumoral y la metástasis [69].

La investigación del AR en el tejido prostático diagnóstico como indicador de la agresividad innata del tumor y su asociación con la respuesta a la terapia hormonal se ha estudiado durante más de 25 años. Las estrategias iniciales incorporaron ensayos bioquímicos para aislar la proteína del AR nuclear de los tejidos de biopsia de diagnóstico [70]. Esto fue seguido rápidamente por métodos inmunohistoquímicos (IHC) más estándar que incluían la evaluación del AR tanto en prostatectomía ($n = 640$) como en muestras metastásicas [71, 72]. En conjunto, estos esfuerzos ilustran la importancia de comprender los niveles del AR en el tejido prostático antes del tratamiento, con algunas similitudes obvias con el receptor de estrógeno en el cáncer de mama, pero también destacan la importancia de tener un ensayo que sea tanto reproducible como cuantitativo.

Los presentes inventores creen ser los primeros en tener niveles asociados de la proteína nAR en una muestra de cáncer de próstata no tratada con supervivencia específica del cáncer de próstata. Los estudios iniciales [25] enfatizaron un criterio de valoración combinado de la progresión de la enfermedad en una cohorte de prostatectomía sola local a localmente avanzada, con énfasis en un estado resistente a la castración potencialmente relevante para la intervención clínica. Para caracterizar aún más la importancia de los niveles de nAR en la manifestación de la

progresión de la enfermedad desde la respuesta hormonal adyuvante hasta la muerte, los presentes inventores buscaron una cohorte de la enfermedad más avanzada con un seguimiento extenso para determinar si los niveles de la proteína nAR estaban asociados con la mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM) y/o supervivencia global (OS).

5 Pacientes y Métodos. Se obtuvieron secciones de tejido fijadas con formalina y embebidas en parafina (FFPE) que representan la biopsia de próstata con aguja de diagnóstico (n = 71) o la muestra de prostatectomía radical (n = 35) de una cohorte de la enfermedad metastásica castrada. Las puntuaciones de Gleason se representaron como tres categorías (es decir, <, = y >7) y obtenidas después de una reevaluación de la biopsia de diagnóstico primario o la muestra de prostatectomía. Los pacientes habían sido seguidos durante una media de 12 años. La mortalidad específica por cáncer de próstata (PCSM) y la supervivencia general (OS) se calcularon en meses desde el diagnóstico y se revisaron los certificados de defunción para verificar la causa de la muerte. Todos los pacientes que aún estaban vivos en el último seguimiento fueron censurados en esa fecha. La progresión de la enfermedad se definió como evidencia clínica, histológica o radiográfica de enfermedad metastásica (ganglio linfático, hueso o tejido blando); o inicio de terapia hormonal (a discreción del médico), radiación, cirugía, quimioterapia o muerte certificada por cáncer de próstata. Los pacientes que habían recibido terapia neoadyuvante fueron excluidos del análisis.

Los pacientes con datos clínicos, patológicos y biométricos completos (morfometría e inmunofluorescencia), así como también los datos de desenlace (es decir, PCSM/OS) se estudiaron más a fondo. Como resultado de las métricas de control de calidad aplicadas que se describen más abajo, el número total de pacientes dentro de cada grupo (es decir, morfometría e inmunofluorescencia) varió. La demografía de toda la cohorte se muestra en la Tabla 13.

Morfometría con Hematoxilina y Eosina. Las secciones individuales se tiñeron con Hematoxilina y Eosina (H y E). Se adquirieron imágenes por triplicado con un microscopio de campo brillante Olympus con un aumento $\times 20$ con una cámara digital en color SPOT Insight QE (KAI2000; Diagnostic Instruments Inc.) y revisadas por dos patólogos (ciegos al desenlace) para determinar la calidad de la imagen y el contenido del tumor antes del análisis de la imagen. Todas las imágenes se enmascararon digitalmente con Adobe Photoshop 7.0 para aislar el tumor infiltrativo de la neoplasia intraepitelial de alto grado (HGPIN) y los elementos del tejido normal. El procesamiento de imágenes con H y E y la extracción de características se describen anteriormente en relación con las Figuras 3-8. Para la inclusión se requirió un contenido de tumor mínimo del 20 % dentro de dos campos microscópicos de 20X por muestra de cáncer de próstata. 61 de los 104 pacientes (59 %; 21 de prostatectomía radical y 40 muestras de biopsia) tenían suficiente calidad tumoral y componente invasivo (mínimo 20 %) para la extracción de características de H y E con la herramienta de análisis de imágenes.

Inmunofluorescencia Espectral Múltiple. El ensayo MPLEX-1 descrito anteriormente se usó para la evaluación de múltiples antígenos en una sola sección. Brevemente, se usaron anticuerpos marcados con el fluorocromo Alexa para el receptor de andrógenos (AR), racemasa (AMACR), citoqueratina 18 (CK18), TP73L (p63) y queratina de alto peso molecular (HMWK), junto con 4'-6-diamidino -2-fenilindol (DAPI) como tinción nuclear, en un ensayo "quintuple". Se adquirieron imágenes por triplicado de áreas representativas que incluían tanto el tumor infiltrante como la HGPIN, sin mezclar mediante el uso del software de imágenes espectrales (CRI, Woburn, MA) y enmascaradas digitalmente con Adobe Photoshop 7.0 para eliminar los artefactos, incluidos todos los tejidos benignos (negativos para AMACR) y elementos no tumorales. Luego, todas las imágenes se procesaron con la herramienta de análisis de imágenes fluorescentes para derivar características cuantitativas de los compartimentos celulares (por ejemplo, núcleos epiteliales, citoplasma y núcleos estromales). Las características de IF incluyen mediciones de la media, mediana, máximo y desviación estándar de la intensidad y distribución de la proteína AR en los núcleos epiteliales y estromales. La intensidad del AR representa la concentración del antígeno y se desarrolla mediante el uso de una escala de píxeles continua que permite construir un intervalo dinámico ampliado [25, 36]. En resumen, se usó el aprendizaje supervisado para discriminar la intensidad de la señal del fondo. Mediante el uso del análisis de imágenes orientado a objetos, un patólogo estableció umbrales expertos para marcadores individuales y modelos de regresión lineal construidos con resultados de características para guiar la precisión. Una vez completado, el método para el diseño del umbral se aplicó a todo el conjunto de imágenes de cohorte y se evaluó el rendimiento de la segmentación cualitativa antes de la extracción de datos.

Serie de Líneas Celulares de Cáncer de Próstata. Con el fin de proporcionar una medida de reproducibilidad para el ensayo de IF múltiple, se incorporaron en este estudio tres líneas celulares de cáncer de próstata que se sabe que expresan proteína AR alta (LNCaP) y de baja a ausente (DU145 y PC3). En esta modalidad, todas las células se obtuvieron de la American Tissue Culture Collection (ATCC) y se cultivaron hasta la confluencia de acuerdo con las especificaciones del proveedor. Los sedimentos de células individuales se resuspendieron a una densidad deseada en una solución de agar al 1 % (1: 1 Invitrogen, Carlsbad, CA), se fijaron con formalina tamponada al 10 % y se embebieron en moldes de parafina para crear series de suspensión celular que luego se seccionaron para el posterior análisis de IF como se describió más abajo.

Análisis Estadístico. El criterio de valoración principal de este estudio fue el tiempo transcurrido hasta la muerte por cáncer de próstata (PCSM). La censura se realizó solo si el paciente estaba vivo en el último seguimiento, independientemente de la progresión de la enfermedad y el estado del paciente se aclaró en diferentes momentos de seguimiento, es decir, muerte por cáncer de próstata y muerte por otras causas. La correlación univariada de las

características individuales de H y E e IF con la PCSM y OS se evaluó de acuerdo con el Índice de Concordancia (CI) y la prueba del orden logarítmico. Dado que se adquirieron múltiples imágenes para cada paciente, se desarrolló una función de agregación (es decir, media, mediana, máximo y mínimo) para manejar los valores de las características respectivas derivados de las imágenes individuales. La mejor función de agregación para una característica era aquella en la que el CI estaba más alejado del azar (0,5). El CI es comparable al área bajo la curva de las características operativas del receptor, pero es apropiado para datos censurados, y estima la probabilidad de que, de un par de pacientes comparables seleccionados al azar, el paciente con el tiempo predicho más alto para la PCSM del modelo experimente PCSM/OS en menos tiempo que el otro paciente. Esta función se aplicó luego a todos los pacientes. Se construyeron modelos multivariados con regresión vectorial de soporte para datos censurados (SVRc) que se desarrolló para manejar datos de alta dimensión mientras se adaptaba para su uso con registros censurados. La experiencia con SVRc ha demostrado que este enfoque puede aumentar la precisión predictiva de un modelo sobre la del modelo de Cox.

Resultados. Los 104 pacientes incluidos en el estudio tenían enfermedad local y avanzada (T1-T4), con 41 % (43), 32 % (33) y 27 % (28) manejados con prostatectomía radical, radiación o terapia hormonal primaria (dentro de un año de diagnóstico), respectivamente. El 47 % tenía niveles de PSA \geq 20 ng/ml y el 52 % tenía una Suma de Gleason $>$ 7 en el momento del diagnóstico. La mediana de seguimiento fue de 12 años. El 37,5 % de los pacientes tratados habían desarrollado recurrencia del PSA y el 60,6 % habían fallecido a causa de su enfermedad con un 39,4 % de pacientes censurados/vivos. La PCSM y la supervivencia global (OS) fueron los mismos para esta cohorte y, por lo tanto, solo se evaluó la PCSM. 85 de 104 pacientes (82 %) tenían valores de PSA en el momento del diagnóstico y, según el análisis univariado, esta fue la única característica clínica asociada con un mayor riesgo de reducción del tiempo hasta la PCSM; CI 0,41, (prueba del orden logarítmico $p = 0,0004$). En este ejemplo, ninguna característica de H y E se asoció con el criterio de valoración de supervivencia en un análisis univariado.

Inmunofluorescencia Cuantitativa. 66 de 104 pacientes (63 %) tenían propiedades tumorales y de tinción adecuadas para la extracción de características de IF. Las muestras de pacientes excluidas se dividieron uniformemente entre autofluorescencia y antigenicidad deficiente. Los 66 pacientes de IF (36 biopsias con aguja y 30 muestras de prostatectomía) fueron representativos por parámetros clínicos que incluían PSA, GS, tratamiento y estado de evento PCSM/OS de toda la cohorte (véase la Tabla 13).

Después del análisis de imágenes, se generaron 10 características de IF que representan una variedad de atributos de tejido y celular, incluidos los perfiles de área e intensidad positivos y negativos del AR nuclear (nAR), el tumor de AMACR positivo y negativo y la arquitectura general del tejido, incluidos los sustitutos del volumen del tumor (por ejemplo, epitelial contenido de citoplasma). Todas las características del área se normalizaron al área del tumor enmascarada digitalmente. De acuerdo con un proceso de desmezcla espectral y análisis de imágenes, una imagen compuesta de IF de cáncer de próstata infiltrativo de una biopsia con aguja se desmezcló con el software CRI para generar un perfil DAPI-nAR, que luego se procesó con la herramienta de análisis de imágenes para segmentar y clasificar núcleos individuales con base en su contenido de AR y su asociación con la expresión de AMACR. Además de medir el nAR total, se construyeron tres características de intensidad de nAR graduadas por IF independientes que van desde valores de intensidad baja (clase 1-3), media (clase 4-6) y alta (clase 7-10). Las características seleccionadas se normalizaron a componentes individuales del área del tumor únicamente.

Receptor de Andrógenos y Ki-67 en Líneas Celulares de Cáncer de Próstata. Después de desarrollar dos ensayos de inmunofluorescencia múltiple de 5 antígenos (Multiplex-1 y Multiplex-2, descritos anteriormente) mediante el uso de controles de tejido cualitativos en secciones de tejido de cáncer de próstata (CaP) fijadas con formalina y embebidas en parafina (FFPE), la evaluación del control se realizó mediante cuantificación de las características derivadas de señales. Como se describe con más detalle más abajo, se usaron tres líneas celulares CaP (LNCaP, PC-3, DU-145) como sustratos para un antígeno nuclear en cada múltiple [receptor de andrógenos (AR) y Ki-67]. Las células suspendidas en agar se fijaron con formalina, se embebieron en parafina (FFPE) como series (CSA = serie de suspensión celular) que contenían las tres líneas celulares. Los resultados del múltiple se registraron mediante un sistema de microscopio controlado por ordenador con una cámara Nuance (CRI, Woburn MA) y filtros para capturar imágenes en serie con una separación de 10 nm (intervalo de longitud de onda: 520 - 720 nm), incluidos los espectros de emisión para todos los flúores. Se crearon imágenes en escala de grises que identificaban la distribución del antígeno por su perfil espectral al desmezclar las señales de flúor en cada serie de imágenes. Los scripts de análisis de imágenes de alto rendimiento se adaptaron para medir las características de intensidad/área de AR o Ki-67 en núcleos CSA (clasificados como "objetos DAPI"), expresados como (1) intensidad media de todas las células, y (2) media y (3) porcentaje de células positivas por encima de un umbral derivado de secciones de control negativo. Con base en estas mediciones, los resultados de una ejecución de prueba (por ejemplo, una ejecución de prueba posterior) fueron validados por métricas de control dentro de los intervalos establecidos de antígeno/línea celular, un enfoque objetivo que supera en precisión y eficiencia los criterios visuales subjetivos.

Se demostró que las tres líneas celulares de cáncer de próstata (DU145, PC3 y LNCaP) proporcionan un recurso de material confiable e ilimitado para detectar y medir la expresión diferencial de la proteína nAR en un formato reproducible y sistemático. Para procesar las imágenes de inmunofluorescencia (IF) derivadas de las tres líneas celulares y construir parámetros de umbral para los niveles de AR positivos y negativos, se desarrolló un script específico de célula que incorporó el valor de intensidad media de nAR dentro de las líneas celulares negativas de

nAR (es decir, DU145 y PC3). Las Figuras 19A y 19B ilustran imágenes segmentadas de células LNCaP y PC3, respectivamente, con el umbral aplicado que determina los niveles de proteína nAR positivos y negativos. Posteriormente se estableció la estabilidad de los reactivos, ensayo, script y la incorporación de células como un medio rutinario de control de calidad/desempeño del ensayo. Como se muestra en las Figuras 20A y 20B, también se generaron gráficos de intensidad media donde se representó la intensidad del AR nuclear (eje y) frente al número de secuencia del experimento (eje x; número de experimento registrado como PA1 a PA82). En los gráficos, la intensidad del AR nuclear en LNCaP (LN) se mostró con puntos verdes, la intensidad del AR nuclear en DU145 (DU) se mostró con puntos rojos y la intensidad del AR nuclear en PC3 (PC) se mostró con puntos azules en los experimentos de inmunofluorescencia (IF) realizados durante un período de 10 semanas, aunque los gráficos se reproducen en las Figuras 20A y 20B en blanco y negro para facilitar la reproducibilidad. Se demostró una diferencia notable entre la línea celular positiva LNCaP AR (verde) frente a DU145 (rojo) y PC3 (azul) y también cuando se comparó con el gráfico de control negativo (Figura 20B) para las tres líneas celulares. Los gráficos de intensidad media (Figuras 20A y 20B) junto con las imágenes segmentadas (Figuras 19A y 19B) permiten la evaluación del ensayo de control de calidad visual y cuantitativo en tiempo real.

Marcador de proliferación celular Ki-67 en líneas celulares de cáncer de próstata. Como Ki-67 también es un antígeno nuclear expresado por las tres líneas celulares de cáncer de próstata (LNCaP, PC-3, DU-145), se usaron las mismas preparaciones de CSA usadas para las métricas de control del AR de manera idéntica para obtener el control métrico de Ki-67. En estas preparaciones de CSA, se encuentra que la expresión de Ki-67 es mayor en DU-145 y PC-3 que en LNCaP (DU-145 > PC-3 >> LNCaP). El procesamiento de imágenes, incluida la extracción y el análisis de las características métricas, se realizó como se describió anteriormente para el AR.

Generalmente, las células cultivadas y las secciones de tejido se han usado de forma rutinaria como controles en IF y otras técnicas de tinción (tal como la inmunohistoquímica) durante algún tiempo. Sin embargo, las evaluaciones de control se basan convencionalmente en la evaluación óptica cualitativa realizada por el patólogo o el técnico, que está sujeta a un amplio margen de error debido al sesgo del observador y, por lo tanto, no es adecuada para la comparación diaria. De acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, se proporciona un conjunto específico de características de imagen derivadas de señales cuantitativas para su utilización en combinación con un sustrato biológico (líneas celulares fijadas con formalina y embebidas en parafina suspendidas inicialmente en agar blando) como una medida absoluta de la consistencia de la IF. Por ejemplo, las tres líneas celulares (LNCaP, PC-3 y DU-145) con estado conocido con respecto a la expresión de los biomarcadores en cuestión (por ejemplo, los antígenos nucleares Receptor de Andrógenos (AR) y Ki-67) se someten a una reacción de IF diseñada para detectar estos biomarcadores. La reacción de IF puede hacerse como series positivas y negativas, donde las series negativas carecen del anticuerpo primario y, por lo tanto, solo informan la unión inespecífica del tinte fluorescente. Los resultados pueden registrarse posteriormente mediante un sistema de microscopio espectral controlado por ordenador como se describió anteriormente. Las imágenes en escala de grises que identifican la distribución de antígenos por su perfil espectral pueden crearse mediante el proceso de desmezcla de señales de flúor en cada serie de imágenes. Luego, las características cuantitativas se calculan al establecer un umbral constante que da como resultado que el 99-100 % de los núcleos en el reactivo de IF negativo estén por debajo de ese umbral. Posteriormente, los núcleos se segmentaron (identificaron) con base en su intensidad Dapi (4',6-diamidino-2-fenilindol), lo que resultó en un grupo de "objetos Dapi" en la imagen. La segmentación/clasificación de núcleos individuales es posible mediante el ajuste de la concentración de células en medio de agar para lograr una dispersión y separación adecuadas. En algunas modalidades, para cada imagen de control positivo se recopilan una o más (por ejemplo, todas) de las siguientes medidas, u otras medidas adecuadas o similares:

- a. La intensidad media de biomarcadores en la población total de núcleos celulares
- b. La intensidad media del biomarcador en la población de núcleos celulares positivos (núcleos con intensidad por encima del umbral correspondiente)
- c. El porcentaje de núcleos de células positivas se calcula como: $(\text{área de núcleos de células positivas} / \text{área de todos los núcleos de células}) * 100$

En algunas modalidades, para cada imagen de control negativo, pueden recopilarse las siguientes medidas u otras medidas adecuadas o similares:

- a. La intensidad media de biomarcadores en la población total de núcleos celulares

En algunas modalidades, las diversas mediciones pueden representarse para cada ejecución de ensayo múltiple en un gráfico continuo usado para establecer intervalos de valores de control aceptables (véanse, por ejemplo, las Figuras 20 y 20B). Los límites de estos intervalos pueden usarse para evaluar la variabilidad/reproducibilidad y la validez última de los resultados.

Análisis de Características Univariadas. Dado un tamaño de muestra de 66 pacientes y una tasa de eventos del 52 %, un cálculo del poder estadístico demostró que había suficiente número de pacientes y eventos (poder >0,8 con un $\alpha = 0,05$) para detectar tamaños de efecto de moderados a grandes. Las correlaciones observadas en este análisis se

encuentran dentro de este intervalo. Del conjunto total de características, 10 de 22 demostraron un CI estadísticamente significativo de 0,37 a 0,69 (prueba del orden logarítmico, $p < 0,05$), como se muestra en la Tabla 14.

Tabla 14. Características Clínicas y de IF Asociadas Con la PCSM

5

Característica	Descripción de la Característica	CI	Chi Cuadrado	Valor de P
PSA		0,40918	12,4069	0,0004
IFx1_RelAreEpi_ARp2EN	Área relativa de núcleos epiteliales AR+	0,36364	4,0963	0,043
La suma de las siguientes características: IFx1_RelAre_EpiNucARp_Density 07 IFx1_RelAre_EpiNucARp_Density 08 IFx1_RelAre_EpiNucARp_Density 09 IFx1_RelAre_EpiNucARp_Density 10	Suma normalizada de intensidad de AR Bin7-10/área nuclear total. Esto representa el área de núcleos epiteliales con valores de alta intensidad.	0,39644	5,8111	0,0159
IFx1_Rati_EpNARpAMACRn2ART	Intensidad media del AR en núcleos AMACR(-)	0,40553	4,4371	0,0352
IFx1_Rati_EpNARpAMACRp2ART	Intensidad media del AR en núcleos AMACR(+)	0,39684	4,3158	0,0378
IFx1_EN_ARTotInt_Avg	Intensidad total del AR+ en todos los núcleos Epiteliales	0,3834	6,1746	0,013
IFx1_Sum_BinEN_ARTotInt07_09	Suma normalizada de la intensidad del AR en clases más altas/área nuclear total	0,38617	4,4839	0,0342
IF01_nExInd_EN_ARp	Intensidad del AR normalizada en todos los núcleos Epiteliales	0,37154	5,9344	0,0148
IF01_Rati_EN_Flux_ARp2AR	Intensidad Promedio del AR Normalizada/Luminancia Epitelial Total (intensidad x brillo)	0,37154	5,6017	0,0179
IFx1_RelAreEpi_ARnAMACRp2EN	Área de núcleos Epiteliales AR-AMA CR +/área nuclear epitelial total	0,6419	6,2762	0,0122
IFx1_EpiNucARn_AreaTotal	Área Epitelial AR(-)/área nuclear total	0,63636	4,0963	0,043

El CI ponderado es una medida de correlación univariada con la supervivencia general para cada característica predictiva. Un índice de 0,5 indica una correlación aleatoria, los valores $< 0,5$ y 0 indican una correlación negativa y positiva con el desenlace, respectivamente. Esto demuestra que el aumento de los niveles de proteína nAR, ya sea por el área ocupada dentro de un núcleo definido por el tumor DAPI, o la intensidad (brillo), se asocian con un mayor riesgo de reducción del tiempo de la PCSM. Estas características son independientes de si la muestra fue una prostatectomía o una muestra de biopsia con aguja y ambas se correlacionaron con el desenlace.

La Figura 21 es un gráfico de una curva de Kaplan-Meier que ilustra la capacidad de la característica que representa la suma normalizada de nAR presente en los niveles más altos (es decir, clases 7-10) para estratificar a los pacientes en grupos de bajo y alto riesgo de muerte de enfermedad. 66 pacientes fueron estratificados por niveles altos del AR (clases 7-10) normalizados al área nuclear de la célula tumoral (punto de corte 0,27, $p < 0,0001$). 60 pacientes tenían un riesgo bajo de muerte por enfermedad, mientras que 6 pacientes tenían un riesgo alto de muerte por enfermedad. El nivel de la clase 7-10 representa la intensidad máxima de nAR medida en células tumorales y exhibió el valor de CI más alto de todas las clases evaluadas para discriminar pacientes con respecto al desenlace. A modo de comparación, dos características que identifican la presencia de núcleos que no contienen proteína AR tienen un CI $> 0,6$, lo que demuestra que niveles reducidos de nAR dentro del tumor se asocian con un mayor tiempo de supervivencia.

Se generaron modelos multivariados; sin embargo, debido al número limitado de pacientes con características de dominio completo (es decir, Modelo 1: 66 pacientes y 10 características de IF y Modelo 2: 56 pacientes con 10 características de IF y 1 valor clínico (PSA)), los resultados, aunque apoyaron, no fueron concluyentes. (Modelo 1: CI 0,65 y Modelo 2 CI 0,64, respectivamente). De importancia, en el Modelo 2 clínico combinado y de IF, solo el área relativa de núcleos epiteliales tumorales que eran AR negativos y AMACR positivos se asoció con el desenlace (mayor cantidad, más tiempo hasta la PCSM).

Discusión. El eje de señalización del AR es una de las vías más estudiadas en el crecimiento del cáncer de próstata y la respuesta a la terapia. Si bien la abstinencia de andrógenos sigue siendo el tratamiento principal para la recurrencia, la respuesta es variable y depende de varios factores, incluido el estadio de la enfermedad, los tratamientos previos y las características individuales del tumor. Desafortunadamente, muchos tumores progresarán en un período de 2 años a pesar de un estado de andrógenos castrados, muy probablemente como resultado de una

reactivación aberrante de la señalización del AR [73, 74]. La morbilidad asociada con la terapia hormonal y la respuesta variable, especialmente para pacientes de riesgo bajo e intermedio, ilustran la necesidad de desarrollar un fenotipo tumoral medible que se correlacione con la respuesta clínica objetiva y la supervivencia.

5 Se informó anteriormente un enfoque de análisis de imágenes orientado a objetos y específico de células para identificar y cuantificar los niveles de la proteína nAR en poblaciones discretas de células tumorales en muestras de prostatectomía fijadas con formalina y embebidas en parafina (FFPE) [25, 36]. El proceso corrige automáticamente la fluorescencia de fondo en las muestras de pacientes mientras genera características únicas que están asociadas con el desenlace clínico. En este estudio, al aplicar este método a muestras de diagnóstico archivadas de pacientes en
10 una cohorte de enfermedad metastásica castrada, se determinó que el aumento de nAR en las células tumorales también se asoció con un mayor riesgo de tener un tiempo más corto hasta la muerte por cáncer de próstata (PCSM). La única variable clínica que se asoció con el desenlace (de forma univariante) fue el PSA, independientemente de la procedencia del tejido y el tratamiento primario. La falta de una asociación entre la puntuación de Gleason y el desenlace es intrigante; sin embargo, se cree que esto puede reflejar tanto la alta frecuencia de Gleason > 7 (es decir, 8-10) en la cohorte como el enfoque usado para la categorización de la puntuación de Gleason en este análisis. Un estudio reciente en una cohorte poblacional, manejada de manera conservadora del Reino Unido también encontró que el PSA era un determinante significativo para predecir la supervivencia [27]. La regulación conocida de la expresión del PSA por la actividad del gen del AR y la utilidad del PSA en el seguimiento de la progresión de la enfermedad, sugeriría que estos marcadores son complementarios y, por tanto, útiles para predecir el desenlace.

20 El cáncer de próstata es el segundo cáncer diagnosticado con mayor frecuencia en hombres [1] y, aunque se maneja eficazmente con cirugía y/o radiación, hasta 70 000 hombres experimentarán una recurrencia de PSA solo que requerirá algún tipo de terapia que incluya radiación pélvica y/o ablación hormonal [75]. El tratamiento ideal no está claro con las opciones actuales determinadas por variables clínicas, nomogramas postoperatorios [10, 26] y algoritmos de patología basados en sistemas [25, 36]. Un análisis retrospectivo reciente de 635 pacientes estadounidenses después de la cirugía demostró que la radioterapia de rescate administrada dentro de los 2 años de la recidiva aumentaba la supervivencia específica del cáncer de próstata en pacientes con un tiempo de duplicación del PSA inferior a 6 meses [76]. Esta observación fue independiente de otros factores de pronóstico clínico y sugiere que la enfermedad pélvica residual es más frecuente de lo que se pensaba originalmente y que comprender los factores biológicos que impulsan la proliferación del cáncer de próstata y la diseminación local en el momento del diagnóstico es importante para un plan de tratamiento adecuado. Los datos de este estudio sugieren que incluso en una población con enfermedad avanzada, la información dentro del tumor primario sigue siendo de importancia pronóstica y potencialmente de importancia terapéutica. Mediante la utilización de análisis de imágenes y modelado matemático, los presentes inventores han podido evaluar la heterogeneidad tumoral en el contexto de la expresión de biomarcadores (es decir, intensidad del AR y características de área en este ejemplo) y fenotipo celular (por ejemplo, Células tumorales AMACR positivas y negativas). Es a través de estos análisis que se identificaron una serie de características relacionadas que se correlacionan directa e inversamente con el desenlace. De interés, en ambos modelos multivariados preliminares, un mayor número de células tumorales positivas para AMACR y negativas para nAR se asociaron con un tiempo más largo hasta la PCSM. Este hallazgo concuerda con una asociación anterior de expresión de AMACR y muerte específica por cáncer de próstata y respalda además el mandato de una caracterización tumoral más completa y completa, especialmente en el momento del diagnóstico [77].

45 Tradicionalmente, los mecanismos biológicos que vinculan al AR en la muestra primaria con el crecimiento tumoral y la respuesta a la terapia no se comprenden del todo. La interacción conocida del AR con varias vías, incluidas las cascadas de señalización PTEN-PI3K-PAKT y NF-kappaB, apoyaría una variedad de procesos relacionados con el crecimiento relevantes para la progresión de la enfermedad [78, 79]. Datos recientes asocian la localización nuclear de NF-kappaB con la invasión de los ganglios linfáticos en los tumores primarios de próstata por IHC [80]. Los presentes inventores creen que los factores responsables de la enfermedad sistémica están presentes dentro de la próstata en el momento del diagnóstico. De hecho, se encontró que la pérdida observada de PTEN y el aumento de Akt fosforilada en muestras de prostatectomía son altamente predictivas de recurrencia bioquímica, especialmente cuando se asocia con la puntuación de Gleason de la prostatectomía [81]. Un informe reciente también aborda los determinantes de la línea germinal (SNP) en las vías de síntesis de andrógenos y su importancia pronóstica para la respuesta a la terapia hormonal [82]. Los presentes inventores creen que está presente un microambiente interno dentro de la próstata que promueve la progresión de la enfermedad y es predictivo del desenlace. Los presentes
55 inventores creen que, dada la heterogeneidad tisular del cáncer de próstata, los enfoques analíticos que discriminan los tipos de células y asignan valores cuantitativos a las proteínas marcadoras deberían ser más fiables que las técnicas basadas en derivadas o subjetivas (ADN/ARN).

60 En resumen, al establecer una metodología y un proceso para una evaluación sólida de proteínas, incluida la incorporación de un ensayo de línea celular de biomarcadores cuantitativos, se ha identificado y clasificado una población de células que expresa niveles muy altos del AR y es predictiva de un fenotipo más agresivo. Los presentes inventores creen que un estudio adicional con respecto al eje de activación del AR (por ejemplo, fosforilación del AR, cofactores [47]) demostrará además su papel como mecanismo para la progresión incontrolada del cáncer de próstata.

65

Referencias

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, y otros. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008;58(2):71-96.
- 5 2. Holmberg L, Bill-Axelson A, Helgesen F, y otros. A randomized trial comparing radical prostatectomy with watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med.* 2002; 347 (11): 781-789.
3. Bill-Axelson A, Holmberg L, Ruutu M, y otros. Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med.* 2005; 352 (19): 1977-1984.
- 10 4. Klotz L. Active surveillance versus radical treatment for favorable-risk localized prostate cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2006;7(5):355-362.
- 5 5. Dall'Era MA, Cooperberg MR, Chan JM, y otros. Active surveillance for early-stage prostate cancer: review of the current literature. *Cancer.* 2008; 112(8): 1650-1659.
- 6 6. Albertsen PC, Hanley JA, Fine J. 20-year outcomes following conservative management of clinically localized prostate cancer. *Jama.* 2005;293(17):2095-2101.
- 20 7. Telesca D, Etzioni R, Gulati R. Estimating lead time and overdiagnosis associated with PSA screening from prostate cancer incidence trends. *Biometrics.* 2008; 64(1): 10-19.
- 8 8. Barry MJ, Kaufman DS, Wu C-L. Case 15-2008: A 55 year-old-man with an elevated prostate-specific antigen level and early-stage prostate cancer. *NEJM* 2008;358:2161-2168.
- 25 9. Makarov DV, Trock BJ, Humphreys EB, y otros. Updated nomogram to predict pathologic stage of prostate cancer given prostate-specific antigen level, clinical stage, and biopsy Gleason score (Partin tables) based on cases from 2000 to 2005. *Urology.* 2007;69(6):1095-1101.
- 30 10. Stephenson AJ, Scardino PT, Eastham JA, y otros. Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(10):715-717.
11. Freedland SJ, Humphreys EB, Mangold LA, y otros. Risk of prostate cancer-specific mortality following biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Jama.* 2005;294(4):433-439.
- 35 12. F.E. Harrell y otros. "Evaluating the yield of medical tests," *JAMA*, 247(18):2543-2546, 1982.
13. Definiens Cellenger Architecture: A Technical Review, April 2004.
- 40 14. Baatz M. y Schäpe A., "Multiresolution Segmentation - An Optimization Approach for High Quality Multi-scale Image Segmentation," En *Angewandte Geographische Informationsverarbeitung XII*, Strobl, J., Blaschke, T., Grieseb-ner, G. (eds.), Wichmann-Verlag, Heidelberg, 12-23, 2000.
15. C. Vonesch, F. Aguet, J. L. Vonesch, y M. Unser, "The colored revolution of bioimaging," *IEEE Signal Proc. Mag.*, vol. 23, no. 3, pp. 20-31, May 2006.
- 45 16. Definiens AG, Definiens Developer 6 Reference Book. Definiens AG, Munich, Alemania, 2006.
17. M. Teverovskiy, Y. Vengrenyuk, A. Tabesh, M. Sapir, S. Fogarasi, H. Pang, F. M. Khan, S. Hamann, P. Capodiecici, M. Clayton, R. Kim, G. Fernandez, R. Mesa-Tejada, y M. J. Donovan, "Automated localization and quantification of protein multiplexes via multispectral fluorescence imaging," in *Proc. IEEE Int. Symp. Biomed. I mag.*, Paris, Francia, Mayo de 2008, pp. 300-303.
- 50 18. T. H. Cormen, C. E. Leiserson, R. L. Rivest, y C. Stein, *Introduction to Algorithms*, 2da ed. MIT Press, Cambridge, MA, 2001.
- 55 19. J. Sudb0, R. Marcelpoil, A. Reith, "New algorithms based on the Voronoi diagram applied in a pilot study on normal mucosa and carcinomas," *Anal. Cell. Pathol.*, vol. 21, pp. 71-86, 2000.
- 60 20. P. J. van Diest, J. C. Fleege, y J. P. Baak, "Syntactic structure analysis in invasive breast cancer: Analysis of reproducibility, biologic background, and prognostic value," *Human Pathol.*, vol. 23, pp. 876-83, 1992.
21. M. Brinkhuis, J. P. Baak, G. A. Meijer, P. J. van Diest, O. Mogensen, P. Bichel, y J. P. Neijt, "Value of quantitative pathological variables as prognostic factors in advanced ovarian carcinoma," *J. Clin. Pathol.*, vol. 49, 142-148, 1996.
- 65

22. K Coleman, P. J. van Diest, J. P. Baak, y J. Mullaney, "Syntactic structure analysis in uveal melanomas," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 78, pp. 871-874, 1994.
- 5 23. B. Weyn, G. van de Wouwer, S. Kumar-Singh, A. van Daele, P. Scheunders, E. van Marck, y W. Jacob, "Computer-assisted differential diagnosis of malignant mesothelioma based on syntactic structure analysis," *Cytometry*, vol. 35, pp. 23-29, 1999.
- 10 24. D. R. Cox, "Regression models and life tables (with discussion)," *J. Roy. Stat. Soc. B*, vol. 34, pp. 187-220, 1972.
- 15 25. Donovan MJ, Hamann S, Clayton M, y otros. A systems pathology approach for the prediction of prostate cancer progression after radical prostatectomy. *J Clin Oncol.*, 26:3923-29, 2008.
- 20 26. Stephenson AJ, Scardino PT, Eastham JA, y otros. Postoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Clin Oncol.* 2005;23(28):7005-7012.
- 25 27. Cuzick J, Fisher G, Kattan MW, y otros. Long-term outcome among men with conservatively treated localised prostate cancer. *Br J Cancer.* 2006;95(9):1186-1 194.
- 30 28. Kattan MW, Cuzick J, Fisher G, y otros. Nomogram incorporating PSA level to predict cancer-specific survival for men with clinically localized prostate cancer managed without curative intent. *Cancer.* 2008;1 12(1):69-74.
- 35 29. Tu YK, Gunnell D, Gilthorpe MS. Simpson's Paradox, Lord's Paradox, and Suppression Effects are the same phenomenon - the reversal paradox. *Emerg Themes Epidemiol.* 2008;5:2.
- 40 30. Bertrand PV, Holder RL. A quirk in multiple regression: the whole regression can be greater than the sum of its parts. *Statistician.* 1988;37(4/5):371-374.
- 45 31. Julious SA, Mullee MA. Confounding and Simpson's paradox. *Bmj.* 1994;309(6967):1480-1481.
- 50 32. Smaletz O, Scher HI, Small EJ, y otros. Nomogram for overall survival of patients with progressive metastatic prostate cancer after castration. *J Clin Oncol.* 2002;20(19):3972-3982.
- 55 33. Gonzalgo ML, Bastian PJ, Mangold LA, y otros. Relationship between primary Gleason pattern on needle biopsy and clinicopathologic outcomes among men with Gleason score 7 adenocarcinoma of the prostate. *Urology.* 2006;67(1):115-119.
- 60 34. Grober ED, Tsihlias J, Jewett MA, y otros. Correlation of the primary Gleason pattern on prostate needle biopsy with clinico-pathological factors in Gleason 7 tumors. *Can J Urol.* 2004;11(1):2157-2162.
- 65 35. Muntener M, Epstein JI, Hernandez DJ, y otros. Prognostic significance of Gleason score discrepancies between needle biopsy and radical prostatectomy. *Eur Urol.* 2008;53(4):767-775; discusión 775-766.
36. Cordon-Cardo C, Kotsianti A, Verbel DA, y otros. Improved prediction of prostate cancer recurrence through systems pathology. *J Clin Invest.* 2007;117(7):1876-1883.
37. Inoue T, Segawa T, Shiraishi T, y otros. Androgen receptor, Ki67, and p53 expression in radical prostatectomy specimens predict treatment failure in Japanese population. *Urology.* 2005;66(2):332-337.
38. Bettencourt MC, Bauer JJ, Sesterhenn IA, Mostofi FK, McLeod DG, Moul JW. Ki-67 expression is a prognostic marker of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Urol.* 1996; 156(3): 1064-1068.
39. Bubendorf L, Tapia C, Gasser TC, y otros. Ki67 labeling index in core needle biopsies independently predicts tumor-specific survival in prostate cancer. *Hum Pathol.* 1998;29(9):949-954.
40. Mucci NR, Rubin MA, Strawderman MS, Montie JE, Smith DC, Pienta KJ. Expression of nuclear antigen Ki-67 in prostate cancer needle biopsy and radical prostatectomy specimens. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(23):1941-1942.
41. Pollack A, DeSilvio M, Khor LY, y otros. Ki-67 staining is a strong predictor of distant metastasis and mortality for men with prostate cancer treated with radiotherapy plus androgen deprivation: Radiation Therapy Oncology Group Trial 92-02. *J Clin Oncol.* 2004;22(11):2133-2140.
42. Aaltomaa S, Karja V, Lipponen P, y otros. Expression of Ki-67, cyclin D1 and apoptosis markers correlated with survival in prostate cancer patients treated by radical prostatectomy. *Anticancer Res.* 2006;26(6C):4873-4878.

43. Morris DS, Tomlins SA, Montie JE, Chinnaiyan AM. The discovery and application of gene fusions in prostate cancer. *BJU Int.* 2008.
- 5 44. Kim J, Jia L, Stallcup MR, Coetzee GA. The role of protein kinase A pathway and cAMP responsive element-binding protein in androgen receptor-mediated transcription at the prostate-specific antigen locus. *J Mol Endocrinol.* 2005;34(1):107-118.
- 10 45. Shimizu Y, Segawa T, Inoue T, y otros. Increased Akt and phosphorylated Akt expression are associated with malignant biological features of prostate cancer in Japanese men. *BJU Int.* 2007;100(3):685-690.
46. Wang Y, Kreisberg JI, Ghosh PM. Cross-talk between the androgen receptor and the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in prostate cancer. *Curr Cancer Drug Targets.* 2007;7(6):591-604.
- 15 47. McCall P, Gemmell LK, Mukherjee R, Bartlett JM, Edwards J. Phosphorylation of the androgen receptor is associated with reduced survival in hormone-refractory prostate cancer patients. *Br J Cancer.* 2008; 98(6):1094-1101.
- 20 48. de la Taille A, Katz AE, Bagiella E, y otros. Microvessel density as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy. A comparison of CD34 and CD31. *Am J Clin Pathol.* 2000;113(4):555-562.
49. Halvorsen OJ, Haukaas S, Hoisaeter PA, Akslen LA. Independent prognostic importance of microvessel density in clinically localized prostate cancer. *Anticancer Res.* 2000;20(5C):3791-3799.
- 25 50. Khatami A, Pihl CG, Norrby K, Hugosson J, Damber JE. Is tumor vascularity in prostate core biopsies a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy? *Acta Oncol.* 2005;44(4):362-368.
51. Cristianini N, Shawe-Taylor J. An introduction to support vector machines and other kernel-based learning methods. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2000.
- 30 52. Lee Y-J, Mangasarian OL, Wolberg WH. Breast cancer survival and chemotherapy: a support vector machine analysis. *DIMACS Series in Discrete Mathematics and Theoretical Computer Science.* 2000;55:1-10.
- 35 53. van Diest PJ, Fleege JC, Baak JP. Syntactic structure analysis in invasive breast cancer: analysis of reproducibility, biologic background, and prognostic value. *Hum Pathol.* 1992;23 (8): 876-883.
54. Coleman K, van Diest PJ, Baak JP, Mullaney J. Syntactic structure analysis in uveal melanomas. *Br J Ophthalmol.* 1994;78(11):871-874.
- 40 55. Jain, A. K., 1989. *Fundamentals of Digital Image Processing.* Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
56. Kattan, MW, Eastham, JA, Wheeler, TM y otros: Counseling men with prostate cancer: A Nomogram for predicting the presence of small, moderately differentiated, confined tumors. *Journal of Urology* 170:1792-1797, 2003.
- 45 57. Boccon-Gibod, LM, Dumonceau, O., Toubanc, M. y otros: Micro-Focal Prostate Cancer: A Comparison of Biopsy and Radical Prostatectomy Specimen Features. *European Urology*, 48: 895-899, 2005.
- 50 58. Gofrit, O. N., Zorn, K. C., Taxy, J. B. y otros: Predicting the Risk of Patients with Biopsy Gleason Score 6 to Harbor a Higher Grade Cancer. *Journal of Urology*, 178: 1925-1928, 2007.
59. Ochiai, A., Trncoso, P., Chen, M.E. y otros: The Relationship between Tumor Volume and the Number of Positive Cores in Men Undergoing Multisite Extended Biopsy: Implication For Expectant Management. *Journal of Urology*, 174: 2164-2168, 2005.
- 55 60. Ochiai, A., Trpkov, K., Yilmaz, A. y otros: Validation of a Prediction Model for Low Volume/Low Grade Cancer: Application in Selecting Patients for Active Surveillance. *Journal of Urology*, 177: 904-910, 2007.
- 60 61. Roemeling, S., Roobol, M. J., Kattan, M.W. y otros: Nomogram Use for the Prediction of Indolent Prostate Cancer. *Cancer*, 110: 2218-2221, 2007.
62. Hosmer, D.W. y Lemeshow, S. (2000) *Applied Logistic Regression (Segunda ed.)*, John Wiley y Sons, Nueva York.
- 65 63. Rao, C.R. (1973) *Linear Statistical Inference and its Applications (Segunda ed.)*, John Wiley y Sons, Nueva York.

64. McCullagh, P. and Nelder, J.A. (1989) *Generalized Linear Models*, CRC/Chapman y Hall, Londres.
65. Huggins C, Hodges CV: Studies on prostate cancer: I: The effects of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res* 1941; 1:293-297.
- 5 66. Chen Y, Sawyers CL, Scher HI. Targeting the androgen receptor pathway in prostate cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2008; 8:4408.
67. Rosner IL, Ravindranath L, Furusato B, Chen Y, Gao C, Cullen J, Sesterhenn IA, McLeod DG, Srivastava S, Petrovics G. Higher tumor to benign ratio of the androgen receptor mRNA expression associates with prostate cancer progression after radical prostatectomy. *Urology* 2007; 70:1225-9.
- 10 68. Li, R., Wheeler, T., Dai, H., Frolov, A., Thompson, T., y Ayala, G.. High level of androgen receptor is associated with aggressive clinicopathologic features and decreased biochemical recurrence-free survival in prostate: cancer patients treated with radical prostatectomy. *Am J Surg Pathol* 2004; 28:928-934.
- 15 69. Sharifi N, Hurt EM, Farrar WL. Androgen receptor expression in prostate cancer stem cells: is there a conundrum? *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008; 62:921-3.
- 20 70. Connolly JG, Mobbs BG. Clinical applications and value of receptor levels in treatment of prostate cancer. *Prostate* 1984; 5:477-83.
71. Pertschuk LP, Schaeffer H, Feldmn JG, Macchia RJ, Kim YD, Eisenberg K, Brithwaite LV, Axiotis, CA, Prins G, Green GL. Immunostaining for prostate cancer androgen receptor in paraffin identified a subset of men with a poor prognosis. *Lab Invest.* 1995; 73: 302-5.
- 25 72. Sadi MV, Barrack ER: Image analysis of androgen receptor immunostaining in metastatic prostate cancer. Heterogeneity as a predictor of response to hormonal therapy. *Cancer* 1993; 71:2574-80.
- 30 73. Moul JW, Banez LL, Freedland SJ. Rising PSA in nonmetastatic prostate cancer. *Oncology* 2007; 21:1436-45.
74. Chen CD, Welsbie DS, Tran C, y otros: Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. *Nat Med* 2004;10:33-9.
- 35 75. Bianco FJ. Paradigms in androgen/castrate resistant states of prostate cancer in a biomarker era. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 2008; 26:408-414.
76. Trock BJ, Misop H, Freedland S, Humphreys EB, De Weese TL, Partin AW, Walsh PC. Prostate cancer-specific survival following salvage radiotherapy vs. observation in men with biochemical recurrence after radical prostatectomy. *JAMA* 2008; 299:2760-2769.
- 40 77. Rubin MA, Bismar TA, Mucci L. y otros. Decreased alpha-methylacyl CoA expression in localized prostate cancer is associated with an increased rate of biochemical recurrence and cancer-specific death. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14:1424-32.
- 45 78. Dan HC, Cooper MJ, Cogswell PC, Duncan JA, Ting JP, Baldwin AS. Akt-dependent regulation of NF-kappaB is controlled by mTOR and Raptor in association with IKK. *Genes Dev* 2008; 1:1490-500.
79. Ko S, Shi L, Kim S, Song CS, Chatterjee B. Interplay of nuclear factor-kappaB ad B-myb in the negative regulation of androgen receptor expression by tumor necrosis factor alpha. *Mol endocrinol.* 2008; 22: 273-86.
- 50 80. Lessard L, Karakiewicz PI, Bellon-Gaonon P, ALam-Fahmy M, Ismail HA, Mes-Masson Am, Saad, F. Nuclear localization of nuclear factor-kappyB p65 in primary prostate tumors is highly predictive of pelvic lymph node metastases. *Clin Cancer Res* 2006; 1:5741-5.
- 55 81. Bedolla R, Prihoda TJ, Kreisberg JI, Malik SN, Krishnegowda NK, Troyer DA, Ghosh PM. Determining risk of biochemical recurrence in prostate cancer by immunohistochemical detection of PTEN expression an Akt activation. *Clin Cancer Res* 2007; 1:3860-7.
- 60 82. Sharifi N, Dahut WL, Figg WD. The genetics of castration-resistant prostate cancer: What can the germline tell us? *Clin Cancer Res* 2008; 14:4691-3.
- 65

Tabla 1. Características morfométricas (por ejemplo, que pueden medirse en imágenes de tejido teñido con H y E)

En algunas modalidades, las características de la Tabla 1 que tienen un prefijo "HE03" o "HEX3" se miden en imágenes de tejidos con un aumento de 40x. Las características HE03 pueden medirse directamente a partir de las imágenes, mientras que las características HEX3 se derivan/calculan a partir de las características HE03. En algunas modalidades, las características de la Tabla 1 que tienen un prefijo "HE02" o "HEX2" se miden en imágenes de tejido con un aumento de 20x. Las características HE02 pueden medirse directamente a partir de las imágenes, mientras que las características HEX2 se derivan/calculan a partir de las características HE02.

	Característica	Descripción
10		Características morfométricas y de color de los artefactos identificados
	HE02_Art_Are_Mean	
	HE02_Art_Are_Std	
15	HE02_Art_Are_Tot	
	HE02_Art_ElpFit_Mean	
	HE02_Art_ElpFit_Std	
	HE02_Art_LOW_Mean	
	HE02_Art_LOW_Std	
20	HE02_Art_Num	
	HE02_Art_OrgBri_Mean	
	HE02_Art_OrgBri_Std	
	HE02_Art_Ptr_Mean	
	HE02_Art_Ptr_Std	
25		Características morfométricas y de color de los núcleos agrupados
	HE02_CluNuc_Are_Mean	
	HE02_CluNuc_Are_Std	
	HE02_CluNuc_Are_Tot	
	HE02_CluNuc_Num	
30		Características morfométricas y de color del contenido luminal
	HE02_Cra_Are_Mean	
	HE02_Cra_Are_Std	
	HE02_Cra_Are_Tot	
	HE02_Cra_Num	
35	HE02_Cra_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_Cra_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_Cra_OrgBri_Mean	
	HE02_Cra_OrgBri_Std	
40	HE02_Cra_OrgGre_MeanMean	
	HE02_Cra_OrgGre_MeanStd	
	HE02_Cra_OrgH_Mean	
	HE02_Cra_OrgH_Std	
	HE02_Cra_OrgI_Mean	
45	HE02_Cra_OrgI_Std	
	HE02_Cra_OrgQ_Mean	
	HE02_Cra_OrgQ_Std	
	HE02_Cra_OrgRed_MeanMean	
	HE02_Cra_OrgRed_MeanStd	
50	HE02_Cra_OrgS_Mean	
	HE02_Cra_OrgS_Std	
	HE02_Cra_OrgV_Mean	
	HE02_Cra_OrgV_Std	
	HE02_Cra_OrgY_Mean	
55	HE02_Cra_OrgY_Std	
		Características morfométricas y de color del citoplasma dentro y fuera de las unidades de glándula.
	HE02_CytOGU_Are_Tot	
	HE02_CytOutGU_Are_Tot	
60	HE02_CytOutGU_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_CytOutGU_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_CytOutGU_OrgGre_MeanMean	
	HE02_CytOutGU_OrgGre_MeanStd	
	HE02_CytOutGU_OrgRed_MeanMean	
65	HE02_CytOutGU_OrgRed_MeanStd	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_CytWIGU_Are_Tot	
	HE02_CytWinGU_Are_Tot	
5	HE02_CytWinGU_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_CytWinGU_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_CytWinGU_OrgGre_MeanMean	
	HE02_CytWinGU_OrgGre_MeanStd	
10	HE02_CytWinGU_OrgRed_MeanMean	
	HE02_CytWinGU_OrgRed_MeanStd	
	HE02_Cyt_Are_Mean	Propiedades morfológicas y de color del citoplasma
	HE02_Cyt_Are_Std	
	HE02_Cyt_Are_Tot	
15	HE02_Cyt_Num	
	HE02_Cyt_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_Cyt_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_Cyt_OrgBri_Mean	
	HE02_Cyt_OrgBri_Std	
20	HE02_Cyt_OrgGre_MeanMean	
	HE02_Cyt_OrgGre_MeanStd	
	HE02_Cyt_OrgH_Mean	
	HE02_Cyt_OrgH_Std	
25	HE02_Cyt_OrgI_Mean	
	HE02_Cyt_OrgI_Std	
	HE02_Cyt_OrgQ_Mean	
	HE02_Cyt_OrgQ_Std	
	HE02_Cyt_OrgRed_MeanMean	
	HE02_Cyt_OrgRed_MeanStd	
30	HE02_Cyt_OrgS_Mean	
	HE02_Cyt_OrgS_Std	
	HE02_Cyt_OrgV_Mean	
	HE02_Cyt_OrgV_Std	
35	HE02_Cyt_OrgY_Mean	
	HE02_Cyt_OrgY_Std	
	HE02_DStr_Are_Mean	Propiedades morfológicas y de color del estroma oscuro
	HE02_DStr_Are_Std	
	HE02_DStr_Are_Tot	
40	HE02_DStr_Num	
	HE02_DStr_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_DStr_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_DStr_OrgBri_Mean	
	HE02_DStr_OrgBri_Std	
45	HE02_DStrOrgGre_MeanMean	
	HE02_DStr_OrgGre_MeanStd	
	HE02_DStr_OrgH_Mean	
	HE02_DStr_OrgH_Std	
50	HE02_DStr_OrgI_Mean	
	HE02_DStr_OrgI_Std	
	HE02_DStr_OrgQ_Mean	
	HE02_DStr_OrgQ_Std	
	HE02_DStr_OrgRed_MeanMean	
	HE02_DStr_OrgRed_MeanStd	
55	HE02_DStr_OrgS_Mean	
	HE02_DStr_OrgS_Std	
	HE02_DStr_OrgV_Mean	
	HE02_DStr_OrgV_Std	
60	HE02_DStr_OrgY_Mean	
	HE02_DStr_OrgY_Std	
		Propiedades morfológicas de los núcleos oscuros divididos en clases, y también de diferentes combinaciones de estas clases.
65	HE02_DarNucBin0_1_Are_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_DarNucBin0_1_Are_Tot	
5	HE02_DarNucBin0_1_Num	
	HE02_DarNucBin0_2_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin0_2_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin0_2_Num	
10	HE02_DarNucBin0_3_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin0_3_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin0_3_Num	
	HE02_DarNucBin0_4_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin0_4_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin0_4_Num	
15	HE02_DarNucBin0_5_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin0_5_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin0_5_Num	
	HE02_DarNucBin0_6_Are_Mean	
20	HE02_DarNucBin0_6_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin0_6_Num	
	HE02_DarNucBin0_7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin0_7_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin0_7_Num	
25	HE02_DarNucBin0_8_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin0_8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin0_8_Num	
	HE02_DarNucBin0_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin0_Are_Tot	
30	HE02_DarNucBin0_Num	
	HE02_DarNucBin1_2_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin1_2_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin1_2_Num	
35	HE02_DarNucBin1_3_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin1_3_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin1_3_Num	
	HE02_DarNucBin1_4_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin1_4_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin1_4_Num	
40	HE02_DarNucBin1_5_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin1_5_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin1_5_Num	
	HE02_DarNucBin1_6_Are_Mean	
45	HE02_DarNucBin1_6_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin1_6_Num	
	HE02_DarNucBin1_7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin1_7_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin1_7_Num	
50	HE02_DarNucBin1_8_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin1_8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin1_8_Num	
	HE02_DarNucBin1_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin1_Are_Tot	
55	HE02_DarNucBin1_Num	
	HE02_DarNucBin2_3_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin2_3_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin2_3_Num	
60	HE02_DarNucBin2_4_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin2_4_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin2_4_Num	
	HE02_DarNucBin2_5_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin2_5_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin2_5_Num	
65	HE02_DarNucBin2_6_Are_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_DarNucBin2_6_Are_Tot	
5	HE02_DarNucBin2_6_Num	
	HE02_DarNucBin2_7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin2_7_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin2_7_Num	
10	HE02_DarNucBin2_8_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin2_8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin2_8_Num	
	HE02_DarNucBin2_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin2_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin2_Num	
15	HE02_DarNucBin3_4_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin3_4_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin3_4_Num	
	HE02_DarNucBin3_5_Are_Mean	
20	HE02_DarNucBin3_5_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin3_5_Num	
	HE02_DarNucBin3_6_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin3_6_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin3_6_Num	
25	HE02_DarNucBin3_7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin3_7_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin3_7_Num	
	HE02_DarNucBin3_8_Are_Mean	
30	HE02_DarNucBin3_8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin3_8_Num	
	HE02_DarNucBin3_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin3_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin3_Num	
35	HE02_DarNucBin4_5_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin4_5_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin4_5_Num	
	HE02_DarNucBin4_6_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin4_6_Are_Tot	
40	HE02_DarNucBin4_6_Num	
	HE02_DarNucBin4_7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin4_7_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin4_7_Num	
	HE02_DarNucBin4_8_Are_Mean	
45	HE02_DarNucBin4_8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin4_8_Num	
	HE02_DarNucBin4_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin4_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin4_Num	
50	HE02_DarNucBin5_6_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin5_6_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin5_6_Num	
	HE02_DarNucBin5_7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin5_7_Are_Tot	
55	HE02_DarNucBin5_7_Num	
	HE02_DarNucBin5_8_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin5_8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin5_8_Num	
	HE02_DarNucBin5_Are_Mean	
60	HE02_DarNucBin5_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin5_Num	
	HE02_DarNucBin6_7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin6_7_Are_Tot	
65	HE02_DarNucBin6_7_Num	
	HE02_DarNucBin6_8_Are_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_DarNucBin6_8_Are_Tot	
5	HE02_DarNucBin6_8_Num	
	HE02_DarNucBin6_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin6_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin6_Num	
	HE02_DarNucBin7_8_Are_Mean	
10	HE02_DarNucBin7_8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin7_8_Num	
	HE02_DarNucBin7_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin7_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin7_Num	
15	HE02_DarNucBin8_Are_Mean	
	HE02_DarNucBin8_Are_Tot	
	HE02_DarNucBin8_Num	
		Propiedades morfométricas y de color de los núcleos epiteliales dentro y fuera de las unidades de glándula.
20	HE02_ENOutGU_Are_Mean	
	HE02_ENOutGU_Are_StdMean	
	HE02_ENOutGU_Are_Tot	
	HE02_ENOutGU_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_ENOutGU_OrgBlu_MeanStd	
25	HE02_ENOutGU_OrgGre_MeanMean	
	HE02_ENOutGU_OrgGre_MeanStd	
	HE02_ENOutGU_OrgRed_MeanMean	
	HE02_ENOutGU_OrgRed_MeanStd	
	HE02_ENWinGU_Are_Mean	
30	HE02_ENWinGU_Are_StdMean	
	HE02_ENWinGU_Are_Tot	
	HE02_ENWinGU_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_ENWinGU_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_ENWinGU_OrgGre_MeanMean	
35	HE02_ENWinGU_OrgGre_MeanStd	
	HE02_ENWinGU_OrgRed_MeanMean	
	HE02_ENWinGU_OrgRed_MeanStd	
		Características morfométricas de los núcleos epiteliales agrupados
40	HE02_EpiCluNuc_Are_Mean	
	HE02_EpiCluNuc_Are_Std	
	HE02_EpiCluNuc_Are_Tot	
	HE02_EpiCluNuc_Num	
		Características morfométricas de los núcleos epiteliales aislados
45	HE02_EpilsoNuc_Are_Mean	
	HE02_EpilsoNuc_Are_Median	
	HE02_EpilsoNuc_Are_Std	
	HE02_EpilsoNuc_Are_Tot	
	HE02_EpilsoNuc_Num	
50		Área de núcleos epiteliales distanciados a ciertos píxeles predefinidos de los lúmenes
	HE02_EpiNucAt0Dia_Are_Tot	
	HE02_EpiNucAt1Dia_Are_Tot	
	HE02_EpiNucAt2Dia_Are_Tot	
	HE02_EpiNucAt3Dia_Are_Tot	
55	HE02_EpiNucAt4Dia_Are_Tot	
	HE02_EpiNucAt5Dia_Are_Tot	
		Características morfométricas y de color de los núcleos epiteliales divididos en clases con base en la densidad nuclear/proximidad a los vecinos.
60	HE02_EpiNucDen01_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen01_Are_Std	
	HE02_EpiNucDen01_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen01_Num	
	HE02_EpiNucDen01_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen01_OrgBri_Std	
65	HE02_EpiNucDen02_Are_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucDen02_Are_Std	
5	HE02_EpiNucDen02_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen02_Num	
	HE02_EpiNucDen02_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen2_OrgBri_Std	
10	HE02_EpiNucDen03_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen03_Are_Std	
	HE02_EpiNucDen03_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen03_Num	
	HE02_EpiNucDen03_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen03_OrgBri_Std	
15	HE02_EpiNucDen04_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen04_Are_Std	
	HE02_EpiNucDen04_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen04_Num	
	HE02_EpiNucDen04_OrgBri_Mean	
20	HE02_EpiNucDen04_OrgBri_Std	
	HE02_EpiNucDen05_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen05_Are_Std	
	HE02_EpiNucDen05_Are_Tot	
25	HE02_EpiNucDen05_Num	
	HE02_EpiNucDen05_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen05_OrgBri_Std	
	HE02_EpiNucDen06_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen06_Are_Std	
30	HE02_EpiNucDen06_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen06_Num	
	HE02_EpiNucDen06_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen06_OrgBri_Std	
	HE02_EpiNucDen07_Are_Mean	
35	HE02_EpiNucDen07_Are_Std	
	HE02_EpiNucDen07_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen07_Num	
	HE02_EpiNucDen07_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen07_OrgBri_Std	
40	HE02_EpiNucDen08_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen08_Are_Std	
	HE02_EpiNucDen08_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen08_Num	
	HE02_EpiNucDen08_OrgBri_Mean	
45	HE02_EpiNucDen08_OrgBri_Std	
	HE02_EpiNucDen09_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen09_Are_Std	
	HE02_EpiNucDen09_Are_Tot	
50	HE02_EpiNucDen09_Num	
	HE02_EpiNucDen09_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen09_OrgBri_Std	
	HE02_EpiNucDen_10_Are_Mean	
	HE02_EpiNucDen10_Are_Std	
55	HE02_EpiNucDen_10_Are_Tot	
	HE02_EpiNucDen10_Num	
	HE02_EpiNucDen10_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNucDen10_OrgBri_Std	
60	HE02_EpiNucOGU_Are_Mean	Área promedio de los núcleos epiteliales fuera de las unidades de glándula
	HE02_EpiNucOGU_Are_Tot	Área total de los núcleos epiteliales fuera de las unidades de glándula
65	HE02_EpiNucSizBin0_1_Are_Mean	Características morfométricas y de color de diferentes combinaciones de clases donde los núcleos epiteliales han sido agrupados en clases en dependencia el tamaño.

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin0_1_Are_Tot	
5	HE02_EpiNucSizBin0_1_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_1_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_1_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_1_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_1_Gre_MeanStd	
10	HE02_EpiNucSizBin0_1_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_1_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_1_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Are_Tot	
15	HE02_EpiNucSizBin0_2_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Gre_MeanStd	
20	HE02_EpiNucSizBin0_2_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_2_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Are_Tot	
25	HE02_EpiNucSizBin0_3_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Gre_MeanStd	
30	HE02_EpiNucSizBin0_3_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_3_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Are_Tot	
35	HE02_EpiNucSizBin0_4_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Gre_MeanStd	
40	HE02_EpiNucSizBin0_4_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_4_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Are_Tot	
45	HE02_EpiNucSizBin0_5_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Gre_MeanStd	
50	HE02_EpiNucSizBin0_5_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_5_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Bri_Mean	
60	HE02_EpiNucSizBin0_6_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_6_Red_Mean	
65	HE02_EpiNucSizBin0_6_RedMeanStd	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Are_Mean	
5	HE02_EpiNucSizBin0_7_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Gre_Mean	
10	HE02_EpiNucSizBin0_7_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_7_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Are_Mean	
15	HE02_EpiNucSizBin0_8_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Gre_Mean	
20	HE02_EpiNucSizBin0_8_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_8_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_Are_Mean	
25	HE02_EpiNucSizBin0_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin0_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_Bri_Mean	
30	HE02_EpiNucSizBin0_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin0_Num	
	HE02_EpiNucSizBin0_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin0_Red_MeanStd	
35	HE02_EpiNucSizBin1_2_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Bri_Mean	
40	HE02_EpiNucSizBin1_2_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Num	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_2_Red_MeanStd	
45	HE02_EpiNucSizBin1_3_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_3_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin1_3_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_3_Blu_MeanStd	
50	HE02_EpiNucSizBin1_3_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_3_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_3_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_3_Num	
	HE02_EpiNucSizBin1_3_Red_Mean	
55	HE02_EpiNucSizBin1_3_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Blu_Mean	
60	HE02_EpiNucSizBin1_4_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Num	
65		

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin1_4_Red_Mean	
5	HE02_EpiNucSizBin1_4_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Blu_MeanStd	
10	HE02_EpiNucSizBin1_5_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Num	
	HE02_EpiNucSizBin1_5_Red_Mean	
15	HE02_EpiNucSizBin1_5_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Blu_MeanStd	
20	HE02_EpiNucSizBin1_6_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Num	
	HE02_EpiNucSizBin1_6_Red_Mean	
25	HE02_EpiNucSizBin1_6_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Blu_Mean	
30	HE02_EpiNucSizBin1_7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Num	
35	HE02_EpiNucSizBin1_7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_7_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Blu_Mean	
40	HE02_EpiNucSizBin1_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Num	
45	HE02_EpiNucSizBin1_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_8_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_Are_Tot	
50	HE02_EpiNucSizBin1_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin1_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_Gre_MeanStd	
55	HE02_EpiNucSizBin1_Num	
	HE02_EpiNucSizBin1_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin1_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Are_Tot	
60	HE02_EpiNucSizBin2_3_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Gre_Mean	

65

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Gre_MeanStd	
5	HE02_EpiNucSizBin2_3_Num	
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_3_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_4_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_4_Are_Tot	
10	HE02_EpiNucSizBin2_4_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_4_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_4_Bri_Mean	
	HE02EpiNucSizBin2_4_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_4_Gre_MeanStd	
15	HE02_EpiNucSizBin2_4_Num	
	HE02_EpiNucSizBin2_4_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_4_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Are_Tot	
20	HE02_EpiNucSizBin2_5_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Gre_MeanStd	
25	HE02_EpiNucSizBin2_5_Num	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_5_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Are_Tot	
30	HE02_EpiNucSizBin2_6_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Gre_MeanStd	
35	HE02_EpiNucSizBin2_6_Num	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_6_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Are_Tot	
40	HE02_EpiNucSizBin2_7_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Gre_MeanStd	
45	HE02_EpiNucSizBin2_7_Num	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_7_Red_MeanStd	
50	HE02_EpiNucSizBin2_8_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_8_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin2_8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_8_Bri_Mean	
55	HE02_EpiNucSizBin2_8_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_8_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin2_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_Red_MeanStd	
60	HE02_EpiNucSizBin2_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin2_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin2_Bri_Mean	
65	HE02_EpiNucSizBin2_Gre_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin2_Gre_MeanStd	
5	HE02_EpiNucSizBin2_Num	
	HE02_EpiNucSizBin2_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin2_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Are_Tot	
10	HE02_EpiNucSizBin3_4_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Gre_MeanStd	
15	HE02_EpiNucSizBin3_4_Num	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_4_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Are_Tot	
20	HE02_EpiNucSizBin3_5_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Gre_MeanStd	
25	HE02_EpiNucSizBin3_5_Num	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_5_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Are_Mean	
30	HE02_EpiNucSizBin3_6_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Gre_Mean	
35	HE02_EpiNucSizBin3_6_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Num	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_6_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Are_Mean	
40	HE02_EpiNucSizBin3_7_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Gre_Mean	
45	HE02_EpiNucSizBin3_7_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Num	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_7_Red_MeanStd	
50	HE02_EpiNucSizBin3_8_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Bri_Mean	
55	HE02_EpiNucSizBin3_8_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_8_Red_MeanStd	
60	HE02_EpiNucSizBin3_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin3_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin3_Bri_Mean	
65	HE02_EpiNucSizBin3_Gre_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin3_Gre_MeanStd	
5	HE02_EpiNucSizBin3_Num	
	HE02_EpiNucSizBin3_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin3_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Are_Tot	
10	HE02_EpiNucSizBin4_5_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Gre_MeanStd	
15	HE02_EpiNucSizBin4_5_Num	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_5_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Are_Tot	
20	HE02_EpiNucSizBin4_6_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Gre_MeanStd	
25	HE02_EpiNucSizBin4_6_Num	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_6_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Are_Tot	
30	HE02_EpiNucSizBin4_7_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Gre_MeanStd	
35	HE02_EpiNucSizBin4_7_Num	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_7_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Are_Tot	
40	HE02_EpiNucSizBin4_8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Gre_MeanStd	
45	HE02_EpiNucSizBin4_8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_8_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_Are_Tot	
50	HE02_EpiNucSizBin4_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin4_Num	
	HE02_EpiNucSizBin4_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin4_Red_MeanStd	
60	HE02_EpiNucSizBin5_6_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_6_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin5_6_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_6_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_6_Bri_Mean	
65	HE02_EpiNucSizBin5_6_Gre_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin5_6_Gre_MeanStd	
5	HE02_EpiNucSizBin5_6_Num	
	HE02_EpiNucSizBin5_6_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_6_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Are_Tot	
10	HE02_EpiNucSizBin5_7_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Gre_MeanStd	
15	HE02_EpiNucSizBin5_7_Num	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_7_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Are_Tot	
20	HE02_EpiNucSizBin5_8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Gre_MeanStd	
25	HE02_EpiNucSizBin5_8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_8_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_Are_Tot	
30	HE02_EpiNucSizBin5_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_Gre_Mean	
35	HE02_EpiNucSizBin5_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin5_Num	
	HE02_EpiNucSizBin5_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin5_Red_MeanStd	
40	HE02_EpiNucSizBin6_7_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Bri_Mean	
45	HE02_EpiNucSizBin6_7_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Num	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_7_Red_MeanStd	
50	HE02_EpiNucSizBin6_8_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Bri_Mean	
55	HE02_EpiNucSizBin6_8_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_8_Red_MeanStd	
60	HE02_EpiNucSizBin6_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin6_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin6_Bri_Mean	
65	HE02_EpiNucSizBin6_Gre_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNucSizBin6_Gre_MeanStd	
5	HE02_EpiNucSizBin6_Num	
	HE02_EpiNucSizBin6_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin6_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Are_Tot	
10	HE02_EpiNucSizBin7_8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Gre_MeanStd	
15	HE02_EpiNucSizBin7_8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_8_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin7_Are_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_Are_Tot	
20	HE02_EpiNucSizBin7_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin7_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_Gre_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_Gre_MeanStd	
25	HE02_EpiNucSizBin7_Num	
	HE02_EpiNucSizBin7_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin7_Red_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin8_Are_Mean	
30	HE02_EpiNucSizBin8_Are_Tot	
	HE02_EpiNucSizBin8_Blu_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin8_Blu_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin8_Bri_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin8_Gre_Mean	
35	HE02_EpiNucSizBin8_Gre_MeanStd	
	HE02_EpiNucSizBin8_Num	
	HE02_EpiNucSizBin8_Red_Mean	
	HE02_EpiNucSizBin8_Red_MeanStd	
40	HE02_EpiNucWIGU_Are_Mean	Área promedio de los núcleos epiteliales dentro de las unidades de glándula
	HE02_EpiNucWIGU_Are_Tot	Área total de los núcleos epiteliales dentro de las unidades de glándula
		Características morfométricas y de color de los núcleos epiteliales
45	HE02_EpiNuc_Are_Mean	
	HE02_EpiNuc_Are_Median	
	HE02_EpiNuc_Are_Std	
	HE02_EpiNuc_Are_Tot	
	HE02_EpiNuc_ElpFit_Mean	
50	HE02_EpiNuc_ElpFit_Median	
	HE02_EpiNuc_ElpFit_Std	
	HE02_EpiNuc_LOW_Mean	
	HE02_EpiNuc_LOW_Median	
	HE02_EpiNuc_LOW_Std	
55	HE02_EpiNuc_Num	
	HE02_EpiNuc_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_EpiNuc_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_EpiNuc_OrgBri_Mean	
	HE02_EpiNuc_OrgBri_Std	
60	HE02_EpiNuc_OrgGre_MeanMean	
	HE02_EpiNuc_OrgGre_MeanStd	
	HE02_EpiNuc_OrgH_Mean	
	HE02_EpiNuc_OrgH_Std	
	HE02_EpiNuc_OrgI_Mean	
65	HE02_EpiNuc_OrgI_Std	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_EpiNuc_OrgQ_Mean	
5	HE02_EpiNuc_OrgQ_Std	
	HE02_EpiNuc_OrgRed_CF100_MeanStd	
	HE02_EpiNuc_OrgRed_CF200_MeanStd	
	HE02_EpiNuc_OrgRed_CF300_MeanStd	
	HE02_EpiNuc_OrgRed_CF400_MeanStd	
10	HE02_EpiNuc_OrgRed_CF500_MeanStd	
	HE02_EpiNuc_OrgRed_MeanMean	
	HE02_EpiNuc_OrgRed_MeanStd	
	HE02_EpiNuc_OrgS_Mean	
	HE02_EpiNuc_OrgS_Std	
15	HE02_EpiNuc_OrgV_Mean	
	HE02_EpiNuc_OrgV_Std	
	HE02_EpiNuc_OrgY_Mean	
	HE02_EpiNuc_OrgY_Std	
20	HE02_IsoEpiNuc_ElpFit_Mean	Características morfométricas y de color de los núcleos epiteliales aislados
	HE02_IsoEpiNuc_ElpFit_Median	
	HE02_IsoEpiNuc_ElpFit_Std	
	HE02_IsoEpiNuc_LOW_Mean	
25	HE02_IsoEpiNuc_LOW_Median	
	HE02_IsoEpiNuc_LOW_Std	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgBlu_StdMean	
30	HE02_IsoEpiNuc_OrgBri_Mean	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgBri_Std	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgGre_MeanMean	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgGre_MeanStd	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgGre_StdMean	
35	HE02_IsoEpiNuc_OrgRed_MeanMean	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgRed_MeanStd	
	HE02_IsoEpiNuc_OrgRed_StdMean	
	HE02_IsoEpiNuc_ShaInd_Mean	
	HE02_IsoEpiNuc_ShaInd_Std	
40	HE02_IsoNuc_Are_Mean	
	HE02_IsoNuc_Are_Std	
	HE02_IsoNuc_Are_Tot	
	HE02_IsoNuc_Num	
45	HE02_IsoStrNuc_Are_Mean	
	HE02_IsoStrNuc_Are_Std	
	HE02_IsoStrNuc_Are_Tot	
	HE02_IsoStrNuc_Num	
	HE02_LStr_Are_Mean	Características morfométricas y de color del estroma claro
50	HE02_LStr_Are_Std	
	HE02_LStr_Are_Tot	
	HE02_LStr_Num	
	HE02_LStr_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_LStr_OrgBlu_MeanStd	
55	HE02_LStr_OrgBri_Mean	
	HE02_LStr_OrgBri_Std	
	HE02_LStr_OrgGre_MeanMean	
	HE02_LStr_OrgGre_MeanStd	
	HE02_LStr_OrgH_Mean	
60	HE02_LStr_OrgH_Std	
	HE02_LStr_OrgI_Mean	
	HE02_LStr_OrgI_Std	
	HE02_LStr_OrgQ_Mean	
65	HE02_LStr_OrgQ_Std	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_LStr_OrgRed_MeanMean	
5	HE02_LStr_OrgRed_MeanStd	
	HE02_LStr_OrgS_Mean	
	HE02_LStr_OrgS_Std	
	HE02_LStr_OrgV_Mean	
	HE02_LStr_OrgV_Std	
10	HE02_LStr_OrgY_Mean	
	HE02_LStr_OrgY_Std	
		Características morfométricas de los núcleos claros que han sido agrupados en intervalos
	HE02_LigNucBin0_1_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_1_Are_Tot	
15	HE02_LigNucBin0_1_Num	
	HE02_LigNucBin0_2_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_2_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin0_2_Num	
20	HE02_LigNucBin0_3_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_3_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin0_3_Num	
	HE02_LigNucBin0_4_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_4_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin0_4_Num	
25	HE02_LigNucBin0_5_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_5_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin0_5_Num	
	HE02_LigNucBin0_6_Are_Mean	
30	HE02_LigNucBin0_6_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin0_6_Num	
	HE02_LigNucBin0_7_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_7_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin0_7_Num	
35	HE02_LigNucBin0_8_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin0_8_Num	
	HE02_LigNucBin0_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin0_Are_Tot	
40	HE02_LigNucBin0_Num	
	HE02_LigNucBin1_2_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin1_2_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin1_2_Num	
45	HE02_LigNucBin1_3_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin1_3_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin1_3_Num	
	HE02_LigNucBin1_4_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin1_4_Are_Tot	
50	HE02_LigNucBin1_4_Num	
	HE02_LigNucBin1_5_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin1_5_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin1_5_Num	
	HE02_LigNucBin1_6_Are_Mean	
55	HE02_LigNucBin1_6_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin1_6_Num	
	HE02_LigNucBin1_7_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin1_7_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin1_7_Num	
60	HE02_LigNucBin1_8_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin1_8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin1_8_Num	
	HE02_LigNucBin1_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin1_Are_Tot	
65	HE02_LigNucBin1_Num	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_LigNucBin2_3_Are_Mean	
5	HE02_LigNucBin2_3_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin2_3_Num	
	HE02_LigNucBin2_4_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin2_4_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin2_4_Num	
10	HE02_LigNucBin2_5_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin2_5_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin2_5_Num	
	HE02_LigNucBin2_6_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin2_6_Are_Tot	
15	HE02_LigNucBin2_6_Num	
	HE02_LigNucBin2_7_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin2_7_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin2_7_Num	
	HE02_LigNucBin2_8_Are_Mean	
20	HE02_LigNucBin2_8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin2_8_Num	
	HE02_LigNucBin2_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin2_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin2_Num	
25	HE02_LigNucBin3_4_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin3_4_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin3_4_Num	
	HE02_LigNucBin3_5_Are_Mean	
30	HE02_LigNucBin3_5_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin3_5_Num	
	HE02_LigNucBin3_6_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin3_6_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin3_6_Num	
35	HE02_LigNucBin3_7_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin3_7_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin3_7_Num	
	HE02_LigNucBin3_8_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin3_8_Are_Tot	
40	HE02_LigNucBin3_8_Num	
	HE02_LigNucBin3_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin3_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin3_Num	
45	HE02_LigNucBin4_5_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin4_5_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin4_5_Num	
	HE02_LigNucBin4_6_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin4_6_Are_Tot	
50	HE02_LigNucBin4_6_Num	
	HE02_LigNucBin4_7_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin4_7_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin4_7_Num	
	HE02_LigNucBin4_8_Are_Mean	
55	HE02_LigNucBin4_8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin4_8_Num	
	HE02_LigNucBin4_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin4_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin4_Num	
60	HE02_LigNucBin5_6_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin5_6_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin5_6_Num	
	HE02_LigNucBin5_7_Are_Mean	
65	HE02_LigNucBin5_7_Are_Tot	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_LigNucBin5_7_Num	
5	HE02_LigNucBin5_8_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin5_8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin5_8_Num	
	HE02_LigNucBin5_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin5_Are_Tot	
10	HE02_LigNucBin5_Num	
	HE02_LigNucBin6_7_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin6_7_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin6_7_Num	
	HE02_LigNucBin6_8_Are_Mean	
15	HE02_LigNucBin6_8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin6_8_Num	
	HE02_LigNucBin6_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin6_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin6_Num	
20	HE02_LigNucBin7_8_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin7_8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin7_8_Num	
	HE02_LigNucBin7_Are_Mean	
25	HE02_LigNucBin7_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin7_Num	
	HE02_LigNucBin8_Are_Mean	
	HE02_LigNucBin8_Are_Tot	
	HE02_LigNucBin8_Num	
30	HE02_Lum_Are_Mean	Características morfométricas luminales
	HE02_Lum_Are_Median	
	HE02_Lum_Are_Std	
	HE02_Lum_Are_Tot	
35	HE02_Lum_ElpFit_Mean	
	HE02_Lum_ElpFit_Std	
	HE02_Lum_LOW_Ave	
	HE02_Lum_LOW_Mean	
	HE02_Lum_LOW_Std	
40	HE02_Lum_Num	
	HE02_Lum_Ptr_Mean	
	HE02_Lum_Ptr_Std	
	HE02_MDTumor_Are_Tot	Características morfométricas y de color del área tumoral definida manualmente.
45	HE02_MDTumor_Num	
	HE02_MDTumor_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_MDTumor_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_MDTumor_OrgBri_Mean	
	HE02_MDTumor_OrgBri_Std	
50	HE02_MDTumor_OrgGre_MeanMean	
	HE02_MDTumor_OrgGre_MeanStd	
	HE02_MDTumor_OrgH_Mean	
	HE02_MDTumor_OrgH_Std	
	HE02_MDTumor_OrgI_Mean	
55	HE02_MDTumor_OrgI_Std	
	HE02_MDTumor_OrgQ_Mean	
	HE02_MDTumor_OrgQ_Std	
	HE02_MDTumor_OrgRed_MeanMean	
	HE02_MDTumor_OrgRed_MeanStd	
60	HE02_MDTumor_OrgS_Mean	
	HE02_MDTumor_OrgS_Std	
	HE02_MDTumor_OrgV_Mean	
	HE02_MDTumor_OrgV_Std	
	HE02_MDTumor_OrgY_Mean	
65	HE02_MDTumor_OrgY_Std	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_Nuc_Are_Mean	Características nucleares
5	HE02_Nuc_Are_Std	
	HE02_Nuc_Are_Tot	
	HE02_Nuc_Num	
	HE02_PDNUc_Are_Mean	Características morfométricas y de color de los núcleos pobremente definidos
10	HE02_PDNUc_Are_Std	
	HE02_PDNUc_Are_Tot	
	HE02_PDNUcElpFit_Mean	
	HE02_PDNUcElpFit_Std	
15	HE02_PDNUc_LOW_Mean	
	HE02_PDNUc_LOW_Std	
	HE02_PDNUc_Num	
	HE02_PDNUc_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_PDNUc_OrgBlu_MeanStd	
20	HE02_PDNUc_OrgBlu_StdMean	
	HE02_PDNUc_OrgBri_Mean	
	HE02_PDNUc_OrgBri_Std	
	HE02_PDNUc_OrgGre_MeanMean	
	HE02_PDNUc_OrgGre_MeanStd	
25	HE02_PDNUc_OrgGre_StdMean	
	HE02_PDNUc_OrgRed_MeanMean	
	HE02_PDNUc_OrgRed_MeanStd	
	HE02_PDNUc_OrgRed_StdMean	
30	HE02_PDNUc_Shalnd_Mean	Características morfométricas y de color de los núcleos estromales
	HE02_PDNUc_Shalnd_Std	
	HE02_StrNuc_Are_Mean	Características morfométricas y de color de los núcleos estromales
	HE02_StrNuc_Are_Median	
35	HE02_StrNuc_Are_Std	
	HE02_StrNuc_Are_Tot	
	HE02_StrNuc_ElpFit_Mean	
	HE02_StrNuc_ElpFit_Median	
	HE02_StrNuc_ElpFit_Std	
40	HE02_StrNuc_LOW_Mean	
	HE02_StrNuc_LOW_Median	
	HE02_StrNuc_LOW_Std	
	HE02_StrNuc_Num	
	HE02_StrNuc_OrgBlu_MeanMean	
45	HE02_StrNuc_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_StrNuc_OrgBri_Mean	
	HE02_StrNuc_OrgBri_Std	
	HE02_StrNuc_OrgGre_MeanMean	
	HE02_StrNuc_OrgGre_MeanStd	
50	HE02_StrNuc_OrgH_Mean	
	HE02_StrNuc_OrgH_Std	
	HE02_StrNuc_OrgI_Mean	
	HE02_StrNuc_OrgI_Std	
	HE02_StrNuc_OrgQ_Mean	
55	HE02_StrNuc_OrgQ_Std	
	HE02_StrNuc_OrgRed_MeanMean	
	HE02_StrNuc_OrgRed_MeanStd	
	HE02_StrNuc_OrgS_Mean	
	HE02_StrNuc_OrgS_Std	
60	HE02_StrNuc_OrgV_Mean	Características morfométricas de un objeto combinado de estroma y citoplasma
	HE02_StrNuc_OrgV_Std	
	HE02_StrNuc_OrgY_Mean	
	HE02_StrNuc_OrgY_Std	
65	HE02_StrPla_Are_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_StrPla_Are_Tot	
5	HE02_StrPla_Num	
	HE02_StrPla_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_StrPla_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_StrPla_OrgBlu_StdMean	
10	HE02_StrPla_OrgGre_MeanMean	
	HE02_StrPla_OrgGre_MeanStd	
	HE02_StrPla_OrgGre_StdMean	
	HE02_StrPla_OrgH_Mean	
	HE02_StrPla_OrgH_Std	
	HE02_StrPla_OrgI_Mean	
15	HE02_StrPla_OrgI_Std	
	HE02_StrPla_OrgQ_Mean	
	HE02_StrPla_OrgQ_Std	
	HE02_StrPla_OrgRed_MeanMean	
20	HE02_StrPla_OrgRed_MeanStd	
	HE02_StrPla_OrgRed_StdMean	
	HE02_StrPla_OrgS_Mean	
	HE02_StrPla_OrgS_Std	
	HE02_StrPla_OrgV_Mean	
25	HE02_StrPla_OrgV_Std	
	HE02_StrPla_OrgY_Mean	
	HE02_StrPla_OrgY_Std	
	HE02_Str_Are_Mean	Características morfométricas y de color del estroma
	HE02_Str_Are_Std	
30	HE02_Str_Are_Tot	
	HE02_Str_Num	
	HE02_Str_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_Str_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_Str_OrgBri_Mean	
35	HE02_Str_OrgBri_Std	
	HE02_Str_OrgGre_MeanMean	
	HE02_Str_OrgGre_MeanStd	
	HE02_Str_OrgH_Mean	
	HE02_Str_OrgH_Std	
40	HE02_Str_OrgI_Mean	
	HE02_Str_OrgI_Std	
	HE02_Str_OrgQ_Mean	
	HE02_Str_OrgQ_Std	
	HE02_Str_OrgRed_MeanMean	
45	HE02_Str_OrgRed_MeanStd	
	HE02_Str_OrgS_Mean	
	HE02_Str_OrgS_std	
	HE02_Str_OrgV_Mean	
50	HE02_Str_OrgV_Std	
	HE02_Str_OrgY_Mean	
	HE02_Str_OrgY_Std	
	HE02_TumorWoWS_Are_Tot	Características morfométricas y de color del área tumoral sin espacio en blanco
55	HE02_TumorWoWS_Num	
	HE02_TumorWoWS_OrgBlu_MeanMean	
	HE02_TumorWoWS_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_TumorWoWS_OrgBri_Mean	
	HE02_TumorWoWS_OrgBri_Std	
60	HE02_TumorWoWS_OrgGre_MeanMean	
	HE02_TumorWoWS_OrgGre_MeanStd	
	HE02_TumorWoWS_OrgH_Mean	
	HE02_TumorWoWS_OrgH_Std	
	HE02_TumorWoWS_OrgI_Mean	
65	HE02_TumorWoWS_OrgI_Std	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE02_TumorWoWS_OrgQ_Mean	
5	HE02_TumorWoWS_OrgQ_Std	
	HE02_TumorWoWS_OrgRed_MeanMean	
	HE02_TumorWoWS_OrgRed_MeanStd	
	HE02_TumorWoWS_OrgS_Mean	
	HE02_TumorWoWS_OrgS_Std	
10	HE02_TumorWoWS_OrgV_Mean	
	HE02_TumorWoWS_OrgV_Std	
	HE02_TumorWoWS_OrgYIQBri_Mean	
	HE02_TumorWoWS_OrgYIQBri_Std	
	HE02_TumorWoWS_OrgY_Mean	
15	HE02_TumorWoWS_OrgY_Std	
	HE02_WDEpiNuc_Are_Mean	Características morfométricas y de color de los núcleos epiteliales bien definidos
	HE02_WDEpiNuc_Are_Median	
	HE02_WDEpiNuc_Are_Std	
20	HE02_WDEpiNuc_Are_Tot	
	HE02_WDEpiNuc_ElpFit_Mean	
	HE02_WDEpiNuc_ElpFit_Median	
	HE02_WDEpiNuc_ElpFit_Std	
25	HE02_WDEpiNuc_LOW_Mean	
	HE02_WDEpiNuc_LOW_Median	
	HE02_WDEpiNuc_LOW_Std	
	HE02_WDEpiNuc_Num	
	HE02_WDEpiNuc_OrgBlu_MeanMean	
30	HE02_WDEpiNuc_OrgBlu_MeanStd	
	HE02_WDEpiNuc_OrgBlu_StdMean	
	HE02_WDEpiNuc_OrgBri_Mean	
	HE02_WDEpiNuc_OrgBri_Std	
	HE02_WDEpiNuc_OrgGre_MeanMean	
35	HE02_WDEpiNuc_OrgGre_MeanStd	
	HE02_WDEpiNuc_OrgGre_StdMean	
	HE02_WDEpiNuc_OrgRed_MeanMean	
	HE02_WDEpiNuc_OrgRed_MeanStd	
40	HE02_WDEpiNuc_OrgRed_StdMean	
	HE02_WDEpiNuc_ShaIInd_Mean	
	HE02_WDEpiNuc_ShaIInd_Std	
	HE02_WSAIInTumAre_Are_Tot	
	"mst_mean_length_lum"	Longitud promedio del borde MST de los lúmenes
45	"mst_std_length_lum"	Desviación estándar de la longitud del borde MST entre los lúmenes
	"proportion_edge 1 lum"	Proporción de los lúmenes con un borde de conexión MST
	"proportion edge 2 lum"	Proporción de los lúmenes con dos bordes de conexión MST.
50	"proportion edge 3 lum"	Proporción de los lúmenes con tres bordes de conexión MST
	"proportion edge 4 lum"	Proporción de los lúmenes con cuatro bordes de conexión MST
55	"proportion edge 5 lum"	Proporción de los lúmenes con cinco bordes de conexión MST
	"HE02_CytOGU_Are_Tot"	Características epiteliales y del citoplasma dentro y fuera de las unidades de glándula
	"HE02_CytOutGU_Are_Tot"	
	"HE02_CytWIGU_Are_Tot"	
60	"HE02_CytWinGU_Are_Tot"	
	"HE02_EpiNucOGU_Are_Mean"	
	"HE02_EpiNucOGU_Are_Tot"	
	"HE02_EpiNucWIGU_Are_Mean"	
65	"HE02_EpiNucWIGU_Are_Tot"	

(continuación)

	Característica	Descripción
		Características morfométricas normalizadas de varios componentes del tejido
5	"HEX2_RelNumIsoEpiNuc2AreaEpiNuc"	
	"HEX2_RelNumIsoEpiNuc2MDTumor"	
	"HEX2_RelNumWellDefEpiNuc2MDTumor"	
	"HEX2_RelNumIsoEpiNuc2NumEpiNuc"	
	"HEX2_RelAre_EpilsoNuc2EpiNucArea"	
10	"HEX2RelNum_EpilsoNuc2EpiNucArea"	
	"HEX2_nta_Cyt_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_EpiNuc_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_Lum_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_StrNuc_Are_Tot"	
15	"HEX2_nta_Str_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_LStr_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_DStr_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_Cra_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_IsoNuc_Are_Tot"	
20	"HEX2_nta_Nuc_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_EpilsoNuc_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_IsoStrNuc_Are_Tot"	
	"HEX2_nta_WDEpiNuc_Are_Tot"	
	"HEX2_RelAre_IsoNuc2EpiNucArea"	
25	"HEX2RelAre_EpilsoNuc2EpiNucArea"	
	"HEX2_RelAre_WDEpiNuc2EpiNucArea"	
	"HEX2_EpiNucAre2LumMeanAre"	
	"HEX2_nrm_ENWinGU_Are_Tot"	
30	"HEX2_nrm_ENOutGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrm_CytWinGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrm_CytOutGU_Are_Tot"	
	"HEX2_RelArea_EpiNuc_Out2WinGU"	
	"HEX2_RelArea_Cyt_Out2WinGU"	
35	"HEX2_RelArea_ENCyt_Out2WinGU"	
	"HEX2_ntaENCytWinGU2Tumor"	
	"HEX2_ntaENCYtOutGU2Tumor"	
	"HEX2_ntaWhiteSpace"	
	"HEX2_nrmMDT_ENWinGU_Are_Tot"	Normalizado con respecto al área tumoral
40	"HEX2_nrmMDT_ENOutGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrmMDT_CytWinGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrmMDT_CytOutGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrmLUM_ENWinGU_Are_Tot"	Normalizado con respecto al área luminal
45	"HEX2_nrmLUM_ENOutGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrmLUM_CytWinGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrmLUM_CytOutGU_Are_Tot"	
	"HEX2_nrmLUM_EpiNucCytWinGU"	
	"HEX2_nrmLUM_EpiNucCytOutGU"	
50	"HEX2_nrm_ENCytWinGULum_Are_Tot"	
	"HEX2_RelArea_ENCytLum_Out2WinGU"	
	"HEX2_LumenDensity"	
	"HEX2_RelArea_EpiNucCyt_Lum"	
	"HEX2_RelArea_IsoEpiNuc_Lumen"	
55	"HEX2_RelArea_Artifact_Lumen"	
	"HEX2_RelArea_EpiNuc_Lumen"	
	"HEX2_RelArea_Nuc_Lumen"	
	"HEX2_RelArea_EpiNuc_Cyt"	
	"HEX2_RelArea_LumContent_Lumen"	
60	"HEX2_ntaLumContentArea"	
	"HEX2_nrm_Cyt_OrgRed_MeanStd"	
	"HEX2_nrm_Cyt_OrgGre_MeanStd"	
	"HEX2_nrm_Cyt_OrgBlu_MeanStd"	
	"HEX2_CytOrgSumRGBMeanStd"	
65	"HEX2_CytNrmSumRGBMeanStd"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"HEX2 nrm1_CytOutGU_OrgRedMeanStd"	Características de color normalizadas
5	"HEX2 nrm1_CytOutGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_CytOutGU_OrgBluMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_CytOutGU_OrgRedMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_CytOutGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_CytOutGU_OrgBluMeanStd"	
10	"HEX2_CytOutGUOrgSumRGBMeanStd"	
	"HEX2_CytOutGUNrm1SumRGBMeanStd"	
	"HEX2_CytOutGUNrm2SumRGBMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_CytWinGU_OrgRedMeanStd"	
15	"HEX2 nrm1_CytWinGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_CytWinGU_OrgBluMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_CytWinGU_OrgRedMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_CytWinGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_CytWinGU_OrgBluMeanStd"	
20	"HEX2_CytWinGUOrgSumRGBMeanStd"	
	"HEX2_CytWinGUNrm1SumRGBMeanStd"	
	"HEX2_CytWinGUNrm2SumRGBMeanStd"	
	"HEX2 nrm_EpiNucOrgRed_MeanStd"	
25	"HEX2 nrm_EpiNucOrgGre_MeanStd"	
	"HEX2 nrm_EpiNucOrgBlu_MeanStd"	
	"HEX2 nrmSN_EpiNucOrgRed_MeanStd"	
	"HEX2 nrmSN_EpiNucOrgGre_MeanStd"	
	"HEX2 nrmSN_EpiNucOrgBlu_MeanStd"	
30	"HEX2_EpiNucOrgSumRGBMeanStd"	
	"HEX2_EpiNucNrmSumRGBMeanStd"	
	"HEX2_EpiNucNrmSNSumRGBMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_ENOutGU_OrgRedMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_ENOutGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_ENOutGU_OrgBluMeanStd"	
35	"HEX2 nrm2_ENOutGU_OrgRedMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_ENOutGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_ENOutGU_OrgBluMeanStd"	
	"HEX2_ENOutGUOrgSumRGBMeanStd"	
40	"HEX2_ENOutGUUnrm1SumRGBMeanStd"	
	"HEX2_ENOutGUUnrm2SumRGBMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_ENWinGU_OrgRedMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_ENWinGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm1_ENWinGU_OrgBluMeanStd"	
45	"HEX2 nrm2_ENWinGU_OrgRedMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_ENWinGU_OrgGreMeanStd"	
	"HEX2 nrm2_ENWinGU_OrgBluMeanStd"	
	"HEX2_ENWinGUOrgSumRGBMeanStd"	
50	"HEX2_ENWinGUUnrm1SumRGBMeanStd"	
	"HEX2_ENWinGUUnrm2SumRGBMeanStd"	
	"HEX2 nrm_EpiNucDen01_Are_Tot"	Clases de densidad normalizados por el total de todas las clases
	"HEX2 nrm_EpiNucDen02_Are_Tot"	
	"HEX2 nrm_EpiNucDen03_Are_Tot"	
55	"HEX2 nrm_EpiNucDen04_Are_Tot"	
	"HEX2 nrm_EpiNucDen05_Are_Tot"	
	"HEX2 nrm_EpiNucDen06_Are_Tot"	
	"HEX2 nrm_EpiNucDen07_Are_Tot"	
60	"HEX2 nrm_EpiNucDen08_Are_Tot"	
	"HEX2 nrm_EpiNucDen09_Are_Tot"	
	"HEX2_nrm_EpiNucDen10_Are_Tot"	
	"HEX2_sub_EpiNucDen1_3_Lum"	
	"HEX2_RelAreHi2Lo_EpiNucDen_10to2"	
65	"HEX2_RelAreHi2Lo_EpiNucDen_10to3"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"HEX2 RelAreHi2Lo EpiNucDen 10to4"	
5	"HEX2 RelAreHi2Lo EpiNucDen 10to5"	
	"HEX2 RelAreHi2Lo EpiNucDen 10to6"	
	"HEX2 RelAreHi2Lo EpiNucDen 10to7"	
	"HEX2 RelAreHi2Lo EpiNucDen 10to8"	
	"HEX2 sub EpiNucDen8 10 Lum"	
10	"HEX2 nrm EpiNucAt1Dia Are Tot"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt2Dia Are Tot"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt3Dia Are Tot"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt4Dia Are Tot"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt5Dia Are Tot"	
15	"HEX2 nrm EpiNucAt1Dia2MDT"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt2Dia2MDT"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt3Dia2MDT"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt4Dia2MDT"	
	"HEX2 nrm EpiNucAt5Dia2MDT"	
20	"HEX2 EpiNucBand5minus4"	
	"HEX2 EpiNucBand4minus3"	
	"HEX2 EpiNucBand3minus2"	
	"HEX2 EpiNucBand2minus1"	
25	"HEX2 nrmEpiNucBand5minus4"	
	"HEX2 nrmEpiNucBand5minus3"	
	"HEX2 nrmEpiNucBand5minus2"	
	"HEX2 nrmEpiNucBand4minus3"	
	"HEX2 nrmEpiNucBand4minus2"	
30	"HEX2 nrmEpiNucBand3minus2"	
	"HEX2 nrmEpiNucBand2minus1"	
	"HEX2 nrmMDT EpiNucBand5minus4"	
	"HEX2 nrmMDT EpiNucBand5minus3"	
	"HEX2 nrmMDT EpiNucBand5minus2"	
35	"HEX2 nrmMDT EpiNucBand4minus3"	
	"HEX2 nrmMDT EpiNucBand4minus2"	
	"HEX2 nrmMDT EpiNucBand3minus2"	
	"HEX2 nrmMDT EpiNucBand2minus1"	
40	"HEX2 EpiNuc Num1 8"	
	"HEX2 EpiNuc Are1 8"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin1 Num"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin2 Num"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin3 Num"	
45	"HEX2 nrmEpiNucSizBin4 Num"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin5 Num"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin6 Num"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin7 Num"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin8 Num"	
50	"HEX2 nrmEpiNucSizBin1 Are"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin2 Are"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin3 Are"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin4 Are"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin5 Are"	
55	"HEX2 nrmEpiNucSizBin6 Are"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin7 Are"	
	"HEX2 nrmEpiNucSizBin8 Are"	
60	"min_orig L_detail1"	Mínimo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 1 paso de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
65	"min_orig L_detail2"	Mínimo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 2 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.

(continuación)

Característica	Descripción
5	Mínimo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 3 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"min_orig_L_detail3"	
10	Mínimo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 4 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"min_orig_L_detail4"	
15	Mínimo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"min_orig_L_detail5"	
20	Mínimo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 6 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
'min_orig_L,_detail6'	
25	Mínimo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 7 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"min_orig_L_detail7"	
30	Máximo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 1 paso de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"max_orig_L_detail1"	
35	Máximo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 2 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"max_orig_L_detail2"	
40	Máximo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 3 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"max_orig_L_detail3"	
45	Máximo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 4 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"max_orig_L_detail4"	
50	Máximo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"max_orig_L_detail5"	
55	Máximo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 6 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"max_orig_L_detail6"	
60	Máximo de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 7 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"max_orig_L_detail7"	
65	Suma de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 1 paso de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"sum_orig_L_detail1"	
60	Suma de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 2 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"sum_orig_L_detail2"	
65	Suma de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 3 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
"sum_orig_L_detail3"	

(continuación)

	Característica	Descripción
5	"sum_orig_L_detail4"	Suma de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 4 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
10	"sum_orig_L_detail5"	Suma de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
15	"sum_orig_L_detail6"	Suma de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 6 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
20	"sum_orig_L_detail7"	Suma de las varianzas en las subbandas de detalle horizontal y vertical después de aplicar 7 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
	"WaveletRatio_Lumendiag_6_5"	Razón de las varianzas en las subbandas de detalle diagonal después de aplicar 6 y 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de lúmenes.
	HE03_CluNuc_Are_Mean	Mediciones en los Núcleos Agrupados
	HE03_CluNuc_Are_Std	
25	HE03_CluNuc_Are_Tot	
	HE03_CluNuc_Num	
	HE03_Cyt_Are_Mean	Mediciones morfométricas y de color en el citoplasma
	HE03_Cyt_Are_Std	
	HE03_Cyt_Are_Tot	
30	HE03_Cyt_Num	
	HE03_Cyt_OrgBlu_MeanMean	
	HE03_Cyt_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_Cyt_OrgBri_Mean	
	HE03_Cyt_OrgBri_Std	
35	HE03_Cyt_OrgGre_MeanMean	
	HE03_Cyt_OrgGre_MeanStd	
	HE03_Cyt_OrgH_Mean	
	HE03_Cyt_OrgH_Std	
40	HE03_Cyt_OrgI_Mean	
	HE03_Cyt_OrgI_Std	
	HE03_Cyt_OrgQ_Mean	
	HE03_Cyt_OrgQ_Std	
	HE03_Cyt_OrgRed_MeanMean	
45	HE03_Cyt_OrgRed_MeanStd	
	HE03_Cyt_OrgS_Mean	
	HE03_Cyt_OrgS_Std	
	HE03_Cyt_OrgV_Mean	
	HE03_Cyt_OrgV_Std	
50	HE03_Cyt_OrgY_Mean	
	HE03_Cyt_OrgY_Std	
	HE03_DarNucBin0_3_Are_Mean	Mediciones morfométricas y de color en los Núcleos Oscuros
	HE03_DarNucBin0_3_Are_Tot	
55	HE03_DarNucBin0_3_Num	
	HE03_DarNucBin0_5_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin0_5_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin0_5_Num	
60	HE03_DarNucBin0_7_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin0_7_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin0_7_Num	
	HE03_DarNucBin0_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin0_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin0_Num	
65	HE03_DarNucBin1_3_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin1_3_Are_Tot	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_DarNucBin1_3_Num	
5	HE03_DarNucBin1_5_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin1_5_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin1_5_Num	
	HE03_DarNucBin1_7_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin1_7_Are_Tot	
10	HE03_DarNucBin1_7_Num	
	HE03_DarNucBin1_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin1_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin1_Num	
	HE03_DarNucBin2_3_Are_Mean	
15	HE03_DarNucBin2_3_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin2_3_Num	
	HE03_DarNucBin2_5_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin2_5_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin2_5_Num	
20	HE03_DarNucBin2_7_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin2_7_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin2_7_Num	
	HE03_DarNucBin2_Are_Mean	
25	HE03_DarNucBin2_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin2_Num	
	HE03_DarNucBin3_5_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin3_5_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin3_5_Num	
30	HE03_DarNucBin3_7_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin3_7_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin3_7_Num	
	HE03_DarNucBin3_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin3_Are_Tot	
35	HE03_DarNucBin3_Num	
	HE03_DarNucBin4_5_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin4_5_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin4_5_Num	
	HE03_DarNucBin4_7_Are_Mean	
40	HE03_DarNucBin4_7_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin4_7_Num	
	HE03_DarNucBin4_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin4_Are_Tot	
45	HE03_DarNucBin4_Num	
	HE03_DarNucBin5_7_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin5_7_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin5_7_Num	
	HE03_DarNucBin5_Are_Mean	
50	HE03_DarNucBin5_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin5_Num	
	HE03_DarNucBin6_7_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin6_7_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin6_7_Num	
55	HE03_DarNucBin6_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin6_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin6_Num	
	HE03_DarNucBin7_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin7_Are_Tot	
60	HE03_DarNucBin7_Num	
	HE03_DarNucBin8_Are_Mean	
	HE03_DarNucBin8_Are_Tot	
	HE03_DarNucBin8_Num	
65	HE03_EpiCluNuc_Are_Mean	Mediciones en los núcleos epiteliales agrupados
	HE03_EpiCluNuc_Are_Std	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiCluNuc_Are_Tot	
	HE03_EpiCluNuc_Num	
5	HE03_EpilsoNuc_Are_Mean	Mediciones en los núcleos epiteliales aislados
	HE03_EpilsoNuc_Are_Median	
	HE03_EpilsoNuc_Are_Std	
	HE03_EpilsoNuc_Are_Tot	
10	HE03_EpilsoNuc_Num	
	HE03_EpiNucEro1_Blu_MeanStd	Mediciones de color de núcleos epiteliales erosionados
	HE03_EpiNucEro1_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucEro1_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucEro1_Bri_StdMean	
15	HE03_EpiNucEro1_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucEro1_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucEro1_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucEro1_Red_StdMean	
20	HE03_EpiNucEro2_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucEro2_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucEro2_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucEro2_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucEro2_Gre_MeanStd	
25	HE03_EpiNucEro2_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucEro2_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucEro2_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_1_Are_Mean	Mediciones de color y área de los núcleos epiteliales divididos en diferentes clases con base en el tamaño.
30	HE03_EpiNucSizBin0_2_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Blu_RA	
35	HE03_EpiNucSizBin0_3_Blu_RASD	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Bri_RA	
40	HE03_EpiNucSizBin0_3_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Gre_RA	
45	HE03_EpiNucSizBin0_3_Gre_RASD	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Red_RA	
50	HE03_EpiNucSizBin0_3_Red_RASD	
	HE03_EpiNucSizBin0_3_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_4_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Blu_Mean	
55	HE03_EpiNucSizBin0_5_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Blu_RASD	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Bri_Mean	
60	HE03_EpiNucSizBin0_5_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Gre_MeanStd	
65	HE03_EpiNucSizBin0_5_Gre_RA	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiNucSizBin0-5_Gre_RAStd	
5	HE03_EpiNucSizBin0_5_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin0_5_Red_RAStd	
10	HE03_EpiNucSizBin0_5_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_6_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Blu_MeanStd	
15	HE03_EpiNucSizBin0_7_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Bri_MeanStd	
20	HE03_EpiNucSizBin0_7_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Gre_MeanStd	
25	HE03_EpiNucSizBin0_7_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Red_MeanStd	
30	HE03_EpiNucSizBin0_7_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_7_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin0_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_Are_Mean	
35	HE03_EpiNucSizBin0_Are_Tot	
	HE03_EpiNucSizBin0_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_Gre_Mean	
40	HE03_EpiNucSizBin0_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin0_Num	
	HE03_EpiNucSizBin0_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin0_Red_MeanStd	
45		Después de dividir los núcleos epiteliales en diferentes clases con base en el tamaño, el color y las mediciones del área de varias combinaciones de las clases.
	HE03_EpiNucSizBin1_2_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Blu_Mean	
50	HE03_EpiNucSizBin1_3_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Bri_Mean	
55	HE03_EpiNucSizBin1_3_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Gre_MeanStd	
60	HE03_EpiNucSizBin1_3_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Red_MeanStd	
65	HE03_EpiNucSizBin1_3_Red_RA	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiNucSizBin1_3_Red_RAStd	
5	HE03_EpiNucSizBin1_3_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_4_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Blu_MeanStd	
10	HE03_EpiNucSizBin1_5_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Bri_MeanStd	
15	HE03_EpiNucSizBin1_5_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Gre_MeanStd	
20	HE03_EpiNucSizBin1_5_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Red_MeanStd	
25	HE03_EpiNucSizBin1_5_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_5_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin1_6_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Are_Mean	
30	HE03_EpiNucSizBin1_7_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Blu_StdMean	
35	HE03_EpiNucSizBin1_7_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Bri_StdMean	
40	HE03_EpiNucSizBin1_7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Gre_StdMean	
45	HE03_EpiNucSizBin1_7_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_7_Red_StdMean	
50	HE03_EpiNucSizBin1_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_Are_Tot	
	HE03_EpiNucSizBin1_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_Blu_MeanStd	
55	HE03_EpiNucSizBin1_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin1_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin1_Num	
	HE03_EpiNucSizBin1_Red_Mean	
60	HE03_EpiNucSizBin1_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Blu_RA	
65	HE03_EpiNucSizBin2_3_Blu_RAStd	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Blu_StdMean	
5	HE03_EpiNucSizBin2_3_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Gre_Mean	
10	HE03_EpiNucSizBin2_3_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Red_Mean	
15	HE03_EpiNucSizBin2_3_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_3_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_4_Are_Mean	
20	HE03_EpiNucSizBin2_5_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Blu_RA	
25	HE03_EpiNucSizBin2_5_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Bri_RA	
30	HE03_EpiNucSizBin2_5_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Gre_RAStd	
35	HE03_EpiNucSizBin2_5_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_5_Red_RAStd	
40	HE03_EpiNucSizBin2_5_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_6_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Blu_Mean	
45	HE03_EpiNucSizBin2_7_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Bri_Mean	
50	HE03_EpiNucSizBin2_7_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Gre_MeanStd	
55	HE03_EpiNucSizBin2_7_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Red_MeanStd	
60	HE03_EpiNucSizBin2_7_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_7_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin2_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_Are_Mean	
65	HE03_EpiNucSizBin2_Are_Tot	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiNucSizBin2_Blu_Mean	
5	HE03_EpiNucSizBin2_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin2_Num	
10	HE03_EpiNucSizBin2_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin2_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_4_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Are_Mean	
15	HE03_EpiNucSizBin3_5_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Btu_StdMean	
20	HE03_EpiNucSizBin3_5_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Gre_Mean	
25	HE03_EpiNucSizBin3_5_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Gre_StdMean	
30	HE03_EpiNucSizBin3_5_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_5_Red_StdMean	
35	HE03_EpiNucSizBin3_6_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Blu_RA	
40	HE03_EpiNucSizBin3_7_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Bri_RA	
45	HE03_EpiNucSizBin3_7_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Gre_RAStd	
50	HE03_EpiNucSizBin3_7_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin3_7_Red_RAStd	
55	HE03_EpiNucSizBin3_7_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin3_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_Are_Tot	
60	HE03_EpiNucSizBin3_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin3_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin3_Num	
65	HE03_EpiNucSizBin3_Red_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiNucSizBin3_Red_MeanStd	
5	HE03_EpiNucSizBin4_5_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Blu_RAStd	
10	HE03_EpiNucSizBin4_5_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Bri_StdMean	
15	HE03_EpiNucSizBin4_5_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Gre_StdMean	
20	HE03_EpiNucSizBin4_5_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_5_Red_StdMean	
25	HE03_EpiNucSizBin4_6_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Blu_MeanStd	
30	HE03_EpiNucSizBin4_7_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Blu_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Bri_MeanStd	
35	HE03_EpiNucSizBin4_7_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Gre_RA	
40	HE03_EpiNucSizBin4_7_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Red_RA	
45	HE03_EpiNucSizBin4_7_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_7_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin4_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_Are_Mean	
50	HE03_EpiNucSizBin4_Are_Tot	
	HE03_EpiNucSizBin4_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_Gre_Mean	
55	HE03_EpiNucSizBin4_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin4_Num	
	HE03_EpiNucSizBin4_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin4_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin5_6_Are_Mean	
60	HE03_EpiNucSizBin_5_7_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Blu_RAStd	
65	HE03_EpiNucSizBin5_7_Blu_StdMean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Bri_Mean	
5	HE03_EpiNucSizBin5_7_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Bri_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Gre_MeanStd	
10	HE03_EpiNucSizBin5_7_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Gre_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Red_MeanStd	
15	HE03_EpiNucSizBin5_7_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Red_RAStd	
	HE03_EpiNucSizBin5_7_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin5_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_Are_Mean	
20	HE03_EpiNucSizBin5_Are_Tot	
	HE03_EpiNucSizBin5_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin5_Bri_Mean	
25	HE03_EpiNucSizBin5_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin5_Num	
	HE03_EpiNucSizBin5_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin5_Red_MeanStd	
30	HE03_EpiNucSizBin6_7_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Blu_RA	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Blu_RAStd	
35	HE03_EpiNucSizBin6_7_Blu_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Bri_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Bri_RA	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Bri_StdMean	
40	HE03_EpiNucSizBin6_7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Gre_RA	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Gre_RAStd	
45	HE03_EpiNucSizBin6_7_Gre_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Red_RA	
	HE03_EpiNucSizBin6_7_Red_RAStd	
50	HE03_EpiNucSizBin6_7_Red_StdMean	
	HE03_EpiNucSizBin6_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_Are_Tot	
	HE03_EpiNucSizBin6_Blu_Mean	
55	HE03_EpiNucSizBin6_Blu_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin6_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin6_Num	
60	HE03_EpiNucSizBin6_Red_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin6_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin7_8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin7_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin7_Are_Tot	
65	HE03_EpiNucSizBin7_Blu_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_EpiNucSizBin7_Blu_MeanStd	
5	HE03_EpiNucSizBin7_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin7_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin7_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin7_Num	
	HE03_EpiNucSizBin7_Red_Mean	
10	HE03_EpiNucSizBin7_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin8_Are_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin8_Are_Tot	
	HE03_EpiNucSizBin8_Blu_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin8_Blu_MeanStd	
15	HE03_EpiNucSizBin8_Bri_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin8_Gre_Mean	
	HE03_EpiNucSizBin8_Gre_MeanStd	
	HE03_EpiNucSizBin8_Num	
	HE03_EpiNucSizBin8_Red_Mean	
20	HE03_EpiNucSizBin8_Red_MeanStd	
	HE03_EpiNuc_Are_Mean	Mediciones morfométricas, de color y de área de los núcleos epiteliales
	HE03_EpiNuc_Are_Median	
25	HE03_EpiNuc_Are_Std	
	HE03_EpiNuc_Are_Tot	
	HE03_EpiNuc_ElpFit_Mean	
	HE03_EpiNuc_ElpFit_Median	
	HE03_EpiNuc_ElpFit_Std	
30	HE03_EpiNuc_LOW_Mean	
	HE03_EpiNuc_LOW_Median	
	HE03_EpiNuc_LOW_Std	
	HE03_EpiNuc_Num	
	HE03_EpiNuc_OrgBlu_MeanMean	
35	HE03_EpiNuc_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_EpiNuc_OrgBri_Mean	
	HE03_EpiNuc_OrgBri_Std	
	HE03_EpiNuc_OrgGre_MeanMean	
	HE03_EpiNuc_OrgGre_MeanStd	
40	HE03_EpiNuc_OrgH_Mean	
	HE03_EpiNuc_OrgH_Std	
	HE03_EpiNuc_OrgI_Mean	
	HE03_EpiNuc_OrgI_Std	
	HE03_EpiNuc_OrgQ_Mean	
45	HE03_EpiNuc_OrgQ_Std	
	HE03_EpiNuc_OrgRed_MeanMean	
	HE03_EpiNuc_OrgRed_MeanStd	
	HE03_EpiNuc_OrgS_Mean	
50	HE03_EpiNuc_OrgS_Std	
	HE03_EpiNuc_OrgV_Mean	
	HE03_EpiNuc_OrgV_Std	
	HE03_EpiNuc_OrgY_Mean	
	HE03_EpiNuc_OrgY_Std	
55	HE03_IsoEpiNuc_ElpFit_Mean	Mediciones morfométricas, de color y de área de los núcleos epiteliales y estromales aislados
	HE03_IsoEpiNuc_ElpFit_Median	
	HE03_IsoEpiNuc_ElpFit_Std	
	HE03_IsoEpiNuc_LOW_Mean	
60	HE03_IsoEpiNuc_LOW_Median	
	HE03_IsoEpiNuc_LOW_Std	
	HE03_IsoEpiNuc_OrgBlu_MeanMean	
	HE03_IsoEpiNuc_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_IsoEpiNuc_OrgBlu_StdMean	
65	HE03_IsoEpiNuc_OrgBri_Mean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_IsoEpiNuc_OrgBri_Std	
5	HE03_IsoEpiNuc_OrgGre_MeanMean	
	HE03_IsoEpiNuc_OrgGre_MeanStd	
	HE03_IsoEpiNuc_OrgGre_StdMean	
	HE03_IsoEpiNuc_OrgRed_MeanMean	
	HE03_IsoEpiNuc_OrgRed_MeanStd	
10	HE03_IsoEpiNuc_OrgRed_StdMean	
	HE03_IsoEpiNuc_Shalnd_Mean	
	HE03_IsoEpiNuc_Shalnd_Std	
	HE03_IsoNuc_Are_Mean	
	HE03_IsoNuc_Are_Std	
15	HE03_IsoNuc_Are_Tot	
	HE03_IsoNuc_Num	
	HE03_IsoStrNuc_Are_Mean	
	HE03_IsoStrNuc_Are_Std	
	HE03_IsoStrNuc_Are_Tot	
20	HE03_IsoStrNuc_Num	
	HE03_LENSizBin0_Are_Mean	Mediciones morfométricas y de color de los núcleos epiteliales probables
	HE03_LENSizBin0_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin0_Num	
25	HE03_LENSizBin1_Are_Mean	
	HE03_LENSizBin1_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin1_Num	
	HE03_LENSizBin2_Are_Mean	
30	HE03_LENSizBin2_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin2_Num	
	HE03_LENSizBin3_Are_Mean	
	HE03_LENSizBin3_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin3_Num	
35	HE03_LENSizBin4_Are_Mean	
	HE03_LENSizBin4_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin4_Num	
	HE03_LENSizBin5_Are_Mean	
40	HE03_LENSizBin5_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin5_Num	
	HE03_LENSizBin6_Are_Mean	
	HE03_LENSizBin6_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin6_Num	
45	HE03_LENSizBin7_Are_Mean	
	HE03_LENSizBin7_Are_Tot	
	HE03_LENSizBin7_Num	
	HE03_LENSizBin8_Are_Mean	
	HE03_LENSizBin8_Are_Tot	
50	HE03_LENSizBin8_Num	
	HE03_LEN_Are_Mean	
	HE03_LEN_Are_Q50	
	HE03_LEN_Are_Q75	
	HE03_LEN_Are_Q90	
55	HE03_LEN_Are_Q95	
	HE03_LEN_Ar_Tot	
	HE03_LEN_Com_Mean	
	HE03_LEN_ElpFit_Mean	
	HE03_LEN_Num	
60	HE03_LEN_OrgBlu_MeanMean	
	HE03_LEN_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_LEN_OrgBlu_StdMean	
	HE03_LEN_OrgBri_MeanMean	
	HE03_LEN_OrgBri_StdMean	
65	HE03_LEN_OrgGre_MeanMean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_LEN_OrgGre_MeanStd	
5	HE03_LEN_OrgGre_StdMean	
	HE03_LEN_OrgH_MeanMean	
	HE03_LEN_OrgH_StdMean	
	HE03_LEN_OrgI_MeanMean	
	HE03_LEN_OrgQ_MeanMean	
10	HE03_LEN_OrgRed_MeanMean	
	HE03_LEN_OrgRed_MeanStd	
	HE03_LEN_OrgRed_StdMean	
	HE03_LEN_OrgS_MeanMean	
	HE03_LEN_OrgS_StdMean	
15	HE03_LEN_OrgV_MeanMean	
	HE03_LEN_OrgV_StdMean	
	HE03_LEN_OrgY_MeanMean	
	HE03_LEN_Rou_Mean	
	HE03_LEN_Shalnd_Mean	
20	HE03_LENw0N_Are_Mean	
	HE03_LENw0N_Are_Tot	
	HE03_LENw0N_Corn_Mean	
	HE03_LENw0N_ElpFit_Mean	
	HE03_LENw0N_Num	
25	HE03_LENw0N_OrgBlu_MeanMean	
	HE03_LENw0N_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_LENw0N_OrgBlu_StdMean	
	HE03_LENw0N_OrgBri_MeanMean	
30	HE03_LENw0N_OrgBri_StdMean	
	HE03_LENw0N_OrgGre_MeanMean	
	HE03_LENw0N_OrgGre_MeanStd	
	HE03_LENw0N_OrgGre_StdMean	
	HE03_LENw0N_OrgH_MeanMean	
35	HE03_LENw0N_OrgH_StdMean	
	HE03_LENw0N_OrgI_MeanMean	
	HE03_LENw0N_OrgQ_MeanMean	
	HE03_LENw0N_OrgRed_MeanMean	
	HE03_LENw0N_OrgRed_MeanStd	
40	HE03_LENw0N_OrgRed_StdMean	
	HE03_LENw0N_OrgS_MeanMean	
	HE03_LENw0N_OrgS_StdMean	
	HE03_LENw0N_OrgV_MeanMean	
	HE03_LENw0N_OrgY_StdMean	
45	HE03_LENw0N_OrgY_MeanMean	
	HE03_LENw0N_Rou_Mean	
	HE03_LENw0N_Shalnd_Mean	
	HE03_LENw1N_Are_Mean	
50	HE03_LENw1N_Are_Tot	
	HE03_LENw1N_Com_Mean	
	HE03_LENw1N_ElpFit_Mean	
	HE03_LENw1N_Num	
	HE03_LENw1N_OrgBlu_MeanMean	
55	HE03_LENw1N_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_LENw1N_OrgBlu_StdMean	
	HE03_LENw1N_OrgBri_MeanMean	
	HE03_LENw1N_OrgBri_StdMean	
	HE03_LENw1N_OrgGre_MeanMean	
60	HE03_LENw1N_OrgGre_MeanStd	
	HE03_LENw1N_OrgGre_StdMean	
	HE03_LENw1N_OrgH_MeanMean	
	HE03_LENw1N_OrgH_StdMean	
	HE03_LENw1N_OrgI_MeanMean	
65	HE03_LENw1N_OrgQ_MeanMean	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_LENw1N_OrgRed_MeanMean	
5	HE03_LENw1N_OrgRed_MeanStd	
	HE03_LENw1N_OrgRed_StdMean	
	HE03_LENw1N_OrgS_MeanMean	
	HE03_LENw1N_OrgS_StdMean	
10	HE03_LENw1N_OrgV_MeanMean	
	HE03_LENw1N_OrgV_StdMean	
	HE03_LENw1N_OrgY_MeanMean	
	HE03_LENw1N_Rou_Mean	
	HE03_LENw1N_ShaInd_Mean	
15	HE03_LENw2N_Are_Mean	
	HE03_LENw2N_Are_Tot	
	HE03_LENw2N_Com_Mean	
	HE03_LENw2N_ElpFit_Mean	
	HE03_LENw2N_Num	
20	HE03_LENw2N_OrgBlu_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_LENw2N_OrgBlu_StdMean	
	HE03_LENw2N_OrgBri_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgBri_StdMean	
25	HE03_LENw2N_OrgGre_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgGre_MeanStd	
	HE03_LENw2N_OrgGre_StdMean	
	HE03_LENw2N_OrgH_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgH_StdMean	
30	HE03_LENw2N_OrgI_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgQ_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgRed_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgRed_MeanStd	
	HE03_LENw2N_OrgRed_StdMean	
35	HE03_LENw2N_OrgS_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgS_StdMean	
	HE03_LENw2N_OrgV_MeanMean	
	HE03_LENw2N_OrgV_StdMean	
40	HE03_LENw2N_OrgY_MeanMean	
	HE03_LENw2N_Rou_Mean	
	HE03_LENw2N_ShaInd_Mean	
	HE03_LigNucBin0_3_Are_Mean	Mediciones morfométricas y de color de los núcleos claros
	HE03_LigNucBin0_3_Are_Tot	
45	HE03_LigNucBin0_3_Num	
	HE03_LigNucBin0_5_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin0_5_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin0_5_Num	
50	HE03_LigNucBin0_7_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin0_7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin0_7_Num	
	HE03_LigNucBin0_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin0_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin0_Num	
55	HE03_LigNucBin1_3_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin1_3_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin1_3_Num	
	HE03_LigNucBin1_5_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin1_5_Are_Tot	
60	HE03_LigNucBin1_5_Num	
	HE03_LigNucBin1_7_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin1_7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin1_7_Num	
	HE03_LigNucBin1_Are_Mean	
65	HE03_LigNucBin1_Are_Tot	

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_LigNucBin1_Num	
5	HE03_LigNucBin2_3_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin2_3_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin2_3_Num	
	HE03_LigNucBin2_5_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin2_5_Are_Tot	
10	HE03_LigNucBin2_5_Num	
	HE03_LigNucBin2_7_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin2_7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin2_7_Num	
	HE03_LigNucBin2_Are_Mean	
15	HE03_LigNucBin2_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin2_Num	
	HE03_LigNucBin3_5_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin3_5_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin3_5_Num	
20	HE03_LigNucBin3_7_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin3_7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin3_7_Num	
	HE03_LigNucBin3_Are_Mean	
25	HE03_LigNucBin3_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin3_Num	
	HE03_LigNucBin4_5_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin4_5_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin4_5_Num	
30	HE03_LigNucBin4_7_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin4_7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin4_7_Num	
	HE03_LigNucBin4_Are_Mean	
35	HE03_LigNucBin4_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin4_Num	
	HE03_LigNucBin5_7_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin5_7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin5_7_Num	
	HE03_LigNucBin5_Are_Mean	
40	HE03_LigNucBin5_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin5_Num	
	HE03_LigNucBin6_7_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin6_7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin6_7_Num	
45	HE03_LigNucBin6_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin6_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin6_Num	
	HE03_LigNucBin7_Are_Mean	
50	HE03_LigNucBin7_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin7_Num	
	HE03_LigNucBin8_Are_Mean	
	HE03_LigNucBin8_Are_Tot	
	HE03_LigNucBin8_Num	
55	HE03_NoWhi_Are_Tot	
	HE03_NucLikTis_Are_Tot	
	HE03_Nuc_Are_Mean	Características del área de todos los núcleos
	HE03_Nuc_Are_Std	
	HE03_Nuc_Are_Tot	
60	HE03_Nuc_Num	
	HE03_Nuclli_Are_Mean	Características del área de los nucleolos
	HE03_Nuclli_Are_Q50	
	HE03_Nuclli_Are_Q75	
65	HE03_Nuclli_Are_Q90	

(continuación)

	Característica	Descripción	
	HE03_Nucli_Are_Q95		
5	HE03_PDNuc_Are_Mean	Características morfométricas y de color de los núcleos pobremente definidos	
	HE03_PDNuc_Are_Std		
	HE03_PDNuc_Are_Tot		
	HE03_PDNuc_ElpFit_Mean		
10	HE03_PDNuc_ElpFit_Std		
	HE03_PDNuc_LOW_Mean		
	HE03_PDNuc_LOW_Std		
	HE03_PDNuc_Num		
	HE03_PDNuc_OrgBlu_MeanMean		
15	HE03_PDNuc_OrgBlu_MeanStd		
	HE03_PDNuc_OrgBlu_StdMean		
	HE03_PDNuc_OrgBri_Mean		
	HE03_PDNuc_OrgBri_Std		
	HE03_PDNuc_OrgGre_MeanMean		
20	HE03_PDNuc_OrgGre_MeanStd		
	HE03_PDNuc_OrgGre_StdMean		
	HE03_PDNuc_OrgRed_MeanMean		
	HE03_PDNuc_OrgRed_MeanStd		
25	HE03_PDNuc_OrgRed_StdMean		
	HE03_PDNuc_Shalnd_Mean		
	HE03_PDNuc_Shalnd_Std		
	HE03_StrNuc_Are_Mean		Características morfométricas y de color de los núcleos estromales
30	HE03_StrNuc_Are_Median		
	HE03_StrNuc_Are_Std		
	HE03_StrNuc_Are_Tot		
	HE03_StrNuc_ElpFit_Mean		
	HE03_StrNuc_ElpFit_Median		
35	HE03_StrNuc_ElpFit_Std		
	HE03_StrNuc_LOW_Mean		
	HE03_StrNuc_LOW_Median		
	HE03_StrNuc_LOW_Std		
	HE03_StrNuc_Num		
40	HE03_StrNuc_OrgBlu_MeanMean		
	HE03_StrNuc_OrgBlu_MeanStd		
	HE03_StrNuc_OrgBri_Mean		
	HE03_StrNuc_OrgBri_Std		
	HE03_StrNuc_OrgGre_MeanMean		
45	HE03_StrNuc_OrgGre_MeanStd		
	HE03_StrNuc_OrgH_Mean		
	HE03_StrNuc_OrgH_Std		
	HE03_StrNuc_OrgI_Mean		
50	HE03_StrNuc_OrgI_Std		
	HE03_StrNuc_OrgQ_Mean		
	HE03_StrNuc_OrgQ_Std		
	HE03_StrNuc_OrgRed_MeanMean		
	HE03_StrNuc_OrgRed_MeanStd		
55	HE03_StrNuc_OrgS_Mean		
	HE03_StrNuc_OrgS_Std		
	HE03_StrNuc_OrgV_Mean		
	HE03_StrNuc_OrgV_Std		
	HE03_StrNuc_OrgY_Mean		
60	HE03_StrNuc_OrgY_Std		
	HE03_Str_Are_Mean	Mediciones morfométricas y de color del estroma	
	HE03_Str_Are_Std		
	HE03_Str_Are_Tot		
	HE03_Str_Num		
65	HE03_Str_OrgBlu_MeanMean		

(continuación)

	Característica	Descripción
	HE03_Str_OrgBlu_MeanStd	
5	HE03_Str_OrgBri_Mean	
	HE03_Str_OrgBri_Std	
	HE03_Str_OrgGre_eanMean	
	HE03_Str_OrgGre_MeanStd	
10	HE03_Str_OrgH_Mean	
	HE03_Str_OrgH_Std	
	HE03_Str_OrgI_Mean	
	HE03_Str_OrgI_Std	
	HE03_Str_OrgQ_Mean	
	HE03_Str_OrgQ_Std	
15	HE03_Str_OrgRed_MeanMean	
	HE03_Str_OrgRed_MeanStd	
	HE03_Str_OrgS_Mean	
	HE03_Str_OrgS_Std	
20	HE03_Str_OrgV_Mean	
	HE03_Str_OrgV_Std	
	HE03_Str_OrgY_Mean	
	HE03_Str_OrgY_Std	
25	HE03_WDEpiNuc_Are_Mean	Mediciones morfométricas y de color de los núcleos epiteliales bien definidos
	HE03_WDEpiNuc_Are_Median	
	HE03_WDEpiNuc_Are_Std	
	HE03_WDEpiNuc_Are_Tot	
30	HE03_WDEpiNuc_ElpFit_Mean	
	HE03_WDEpiNuc_ElpFit_Median	
	HE03_WDEpiNuc_ElpFit_Std	
	HE03_WDEpiNuc_LOW_Mean	
	HE03_WDEpiNuc_LOW_Median	
	HE03_WDEpiNuc_LOW_Std	
35	HE03_WDEpiNuc_Num	
	HE03_WDEpiNuc_OrgBlu_MeanMean	
	HE03_WDEpiNuc_OrgBlu_MeanStd	
	HE03_WDEpiNuc_OrgBlu_StdMean	
40	HE03_WDEpiNuc_OrgBri_Mean	
	HE03_WDEpiNuc_OrgBri_Std	
	HE03_WDEpiNuc_OrgGre_MeanMean	
	HE03_WDEpiNuc_OrgGre_MeanStd	
	HE03_WDEpiNuc_OrgGre_StdMean	
45	HE03_WDEpiNuc_OrgRed_MeanMean	
	HE03_WDEpiNuc_OrgRed_MeanStd	
	HE03_WDEpiNuc_OrgRed_StdMean	
	HE03_WDEpiNuc_ShaInd_Mean	
	HE03_WDEpiNuc_ShaInd_Std	
50	HE03_Whi_Are_Tot	
	"HEx2_LENwNcli_NumTotal"	Mediciones normalizadas de los núcleos epiteliales probables
	"HEx2_LENwNcli_AreTotal"	
55	"HEx3_RelNumw0Nucleoli"	Proporciones de los números de los nucleolos
	"HEx3_RelNumw1Nucleoli"	
	"HEx3_RelNumw2Nucleoli"	
	"HEx3_RelNumwNucleoli"	
	"HEx3_RelAreaw0Nucleoli"	
	"HEx3_RelAreaw1Nucleoli"	
60	"HEx3_RelAreaw2Nucleoli"	
	"HEx3_RelAreawNucleoli"	
		Características de color normalizadas de los núcleos epiteliales. SN indica normalización por los Núcleos Estromales
65	"HEx3_nrmSN_EpiNuc_OrgRed_MnMn"	
	"HEx3_nrmS_EpiNuc_OrgRed_MnMn"	
	"HEx3_nrmSN_EpiNuc_OrgGre_MnMn"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"HEX3 nrmS EpiNuc OrgGre MnMn"	
5	"HEX3 nrmSN EpiNuc OrgBlu MnMn"	
	"HEX3 nrmS EpiNuc OrgBlu MnMn"	
	"HEX3 nrmSN EpiNuc OrgQ Mn"	
	"HEX3 nrmS EpiNuc OrgQ Mn"	
	"HEX3 nrmSN EpiNuc OrgI Mn"	
10	"HEX3 nrmS EpiNuc OrgI Mn"	
	"HEX3 nrm EpiNucOrgRed MeanStd"	
	"HEX3 nrm EpiNucOrgGre MeanStd"	
	"HEX3 nrm EpiNucOrgBlu MeanStd"	
15	"HEX3 nrmSN EpiNucOrgRed MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN EpiNucOrgGre MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN EpiNucOrgBlu MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN2 EpiNucOrgRed MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN2 EpiNucOrgGre MeanStd"	
20	"HEX3 nrmSN2 EpiNucOrgBlu MeanStd"	
	"HEX3 nrmS EpiNucOrgRed MeanStd"	
	"HEX3 nrmS EpiNucOrgGre MeanStd"	
	"HEX3 nrmS EpiNucOrgBlu MeanStd"	
	"HEX3 EpiNucOrgSumRGBMeanStd"	
25	"HEX3 EpiNucNrmSumRGBMeanStd"	
	"HEX3 EpiNucNrmSNSumRGBMeanStd"	
	"HEX3 nrm EpNucBin0 7 Red StdMean"	
	"HEX3 nrm EpNucBin0 7 Gre StdMean"	
	"HEX3 nrm EpNucBin0 7 Blu StdMean"	
30	"HEX3 nrmSN EpNucBn0 7 RedStdMean"	
	"HEX3 nrmSN EpNucBn0 7 GreStdMean"	
	"HEX3 nrmSN EpNucBn0 7 BluStdMean"	
	"HEX3 nrmS EpNucBn0 7 RedStdMean"	
	"HEX3 nrmS EpNucBn0 7 GreStdMean"	
35	"HEX3 nrmS EpNucBn0 7 BluStdMean"	
	"HEX3 nrm EpNucBn4 5 Br MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN EpNucB4 5 Br MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN2 EpNucB4 5 Br MeanStd"	
	"HEX3 nrmS EpNucB4 5 Br MeanStd"	
40	"HEX3 nrm EpNucBn4 5 Br StdMean"	
	"HEX3 nrmSN EpNucB4 5 Br StdMean"	
	"HEX3 nrmSN2 EpNucB4 5 Br StdMean"	
	"HEX3 nrmS EpNucB4 5 Br StdMean"	
45	"HEX3 nrm EpNucBn4 5 Red StdMean"	
	"HEX3 nrmSN EpNucB4 5 Red StdMean"	
	"HEX3 nrmS EpNucB4 5 Red StdMean"	
	"HEX3 nrm EpNucBn4 7 Br MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN EpNucB4 7 Br MeanStd"	
50	"HEX3 nrmSN2 EpNucB4 7 Br MeanStd"	
	"HEX3 nrm EpNucB3 7 Red StdMean"	
	"HEX3 nrmSN EpNucB3 7 Red StdMean"	
	"HEX3 nrmS EpNucB3 7 Red StdMean"	
	"HEX3 nrm EpiNucEr1 Red MeanStd"	
55	"HEX3 nrm EpiNucEr1 Gre MeanStd"	
	"HEX3 nrm EpiNucEr1 Blu MeanStd"	
	"HEX3 nrm EpiNucEr1 Bri MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN EpiNucEr1 Red MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN EpiNucEr1 Gre MeanStd"	
60	"HEX3 nrmSN EpiNucEr1 Blu MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN EpiNucEr1 Bri MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN2 EpNucEr1 Red MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN2 EpNucEr1 Gre MeanStd"	
	"HEX3 nrmSN2 EpNucEr1 Blu MeanStd"	
65	"HEX3 nrmSN2 EpNucEr1 Bri MeanStd"	
	"HEX3 ENER1orgSumRGBMeanStd"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"HEX3 ENEr1nrmSumRGBMeanStd"	
5	"HEX3 nrm EpiNucEr2 Red MeanStd"	
	"HEX3 nrm EpiNucEr2 Gre MeanStd"	
	"HEX3 nrm EpiNucEr2 Blu MeanStd"	
	"HEX3 ENEr2orgSumRGBMeanStd"	
	"HEX3 ENEr2nrmSumRGBMeanStd"	
10		Características del área normalizada de los núcleos epiteliales en grupos totales, agrupados, aislados y probables.
	"HEX3 nrm TiEpiNuc Are Tot"	
	"HEX3 nrm TiEpiCluNuc Are Tot"	
	"HEX3 nrm TiEpiCluNuc Num"	
15	"HEX3 nrm TiEpilsoNuc Are Tot"	
	"HEX3 nrm TiEpilsoNuc Num"	
	"HEX3 nrm TiEpiNuc Num"	
	"HEX3 nrm TiEpiNuc NucLikTis"	
20	"HEX3 nrm EpiNuc Are Tot2Cyt"	
	"HEX3 nrm EpiCluNuc Are Tot2Cyt"	
	"HEX3 nrm EpiCluNuc Num2Cyt"	
	"HEX3 nrm EpilsoNuc Are Tot2Cyt"	
	"HEX3 nrm EpilsoNuc Num2Cyt"	
25	"HEX3 nrm EpiNuc Num2Cyt"	
	"HEX3 nrm NucLikTis2Cyt"	
	"HEX3 TotArea EpNucBin"	
	"HEX3 TotArea LENucBin"	
30		Clases normalizadas de los núcleos epiteliales divididos por tamaño
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin0 Are Tot"	
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin1 Are Tot"	
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin2 Are Tot"	
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin3 Are Tot"	
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin4 Are Tot"	
35	"HEX3 nrm EpiNucSizBin5 Are Tot"	
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin6 Are Tot"	
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin7 Are Tot"	
	"HEX3 nrm EpiNucSizBin8 Are Tot"	
40		Clases normalizadas de los núcleos epiteliales probables divididos por tamaño
	"HEX3 nrm LENSizBin0 Are Tot"	
	"HEX3 nrm LENSizBin1 Are Tot"	
	"HEX3 nrm LENSizBin2 Are Tot"	
	"HEX3 nrm LENSizBin3 Are Tot"	
	"HEX3 nrm LENSizBin4 Are Tot"	
45	"HEX3 nrm LENSizBin5 Are Tot"	
	"HEX3 nrm LENSizBin6 Are Tot"	
	"HEX3 nrm LENSizBin7 Are Tot"	
	"HEX3 nrm LENSizBin8 Are Tot"	
50	"HEX3 A0"	
	"HEX3 A1"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin0 Are Tot"	Clases normalizadas de los núcleos oscuros
	"HEX3 nrm0 DarNucBin0 3 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin0 5 Are Tot"	
55	"HEX3 nrm0 DarNucBin0 7 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin1 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin1 3 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin1 5 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin1 7 Are Tot"	
60	"HEX3 nrm0 DarNucBin2 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin2 3 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin2 5 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin2 7 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin3 Are Tot"	
65	"HEX3 nrm0 DarNucBin3 5 Are Tot"	
	"HEX3 nrm0 DarNucBin3 7 Are Tot"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"HEX3_nrm0_DarNucBin4_Are_Tot"	
5	"HEX3_nrm0_DarNucBin4_5_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm0_DarNucBin4_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm0_DarNucBin5_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm0_DarNucBin5_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm0_DarNucBin6_Are_Tot"	
10	"HEX3_nrm0_DarNucBin6_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm0_DarNucBin7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm0_DarNucBin8_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin0_Are_Tot"	
15	"HEX3_nrm1_DarNucBin0_3_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin0_5_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin0_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin1_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin1_3_Are_Tot"	
20	"HEX3_nrm1_DarNucBin1_5_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin1_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin2_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin2_3_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin2_5_Are_Tot"	
25	"HEX3_nrm1_DarNucBin2_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin3_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin3_5_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin3_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin4_Are_Tot"	
30	"HEX3_nrm1_DarNucBin4_5_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin4_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin5_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin5_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin6_Are_Tot"	
35	"HEX3_nrm1_DarNucBin6_7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin7_Are_Tot"	
	"HEX3_nrm1_DarNucBin8_Are_Tot"	

40 Tabla 2. Características Morfométricas (por ejemplo, que pueden medirse en imágenes de tejido sometido a inmunofluorescencia múltiple (IF))

	Característica	Descripción
	"fd_3_8"	Dimensión fractal de los objetos de glándula identificados por CK18.
45	"fd_3_8_fillholes"	Dimensión fractal de los objetos de glándula identificados por CK18, con huecos luminales rellenos durante el preprocesamiento.
	"mst_mean_length_epinuc"	Longitud promedio de MST entre los núcleos epiteliales
	"mst_std_length_epinuc"	Desviación estándar de la longitud de MST entre los núcleos epiteliales
50	"proportion_edge_1_epinuc"	Proporción de los núcleos epiteliales con un borde de conexión MST.
	"proportion_edge_2_epinuc"	Proporción de los núcleos epiteliales con dos bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_3_epinuc"	Proporción de los núcleos epiteliales con tres bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_4_epinuc"	Proporción de los núcleos epiteliales con cuatro bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_5_epinuc"	Proporción de los núcleos epiteliales con cinco bordes de conexión MST.
55	"mst_mean_length_intra_epinuc"	Longitud promedio de MST entre los núcleos epiteliales que están restringidos al espacio positivo a CK18, es decir, restringidos por glándulas.
	"mst_std_length_intra_epinuc"	Desviación de la longitud de MST entre núcleos epiteliales que están restringidos al espacio positivo a CK18, es decir, restringidos por glándulas.
	"mst_mean_length_strnuc"	Longitud promedio de MST entre los núcleos estromales
	"mst_std_length_strnuc"	Desviación Estándar de la longitud de MST entre los núcleos estromales
60	"proportion_edge_1_strnuc"	Proporción de los núcleos estromales con un borde de conexión MST.
	"proportion_edge_2_strnuc"	Proporción de los núcleos estromales con dos bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_3_strnuc"	Proporción de los núcleos estromales con tres bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_4_strnuc"	Proporción de los núcleos estromales con cuatro bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_5_strnuc"	Proporción de los núcleos estromales con cinco bordes de conexión MST.
65	"mst_mean_length_endnuc"	Longitud promedio de MST entre los núcleos endoteliales

(continuación)

	Característica	Descripción
	"mst_std_length_endnuc"	Desviación estándar de la longitud de MST entre los núcleos endoteliales
5	"proportion_edge_1_endnuc"	Proporción de los núcleos endoteliales con un borde de conexión MST.
	"proportion_edge_2_endnuc"	Proporción de los núcleos endoteliales con dos bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_3_endnuc"	Proporción de los núcleos endoteliales con tres bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_4_endnuc"	Proporción de los núcleos endoteliales con cuatro bordes de conexión MST.
	"proportion_edge_5_endnuc"	Proporción de los núcleos endoteliales con cinco bordes de conexión MST.
10	"iforig_approximation_1"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 1 paso de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
15	"iforig_approximation_2"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 2 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
	"iforig_approximation_3"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 3 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
20	"iforig_approximation_4"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 4 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
	"iforig_approximation_5"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
25	"iforig_approximation_6"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 6 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
30	"iforig_approximation_7"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de aproximación después de aplicar 7 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
	"iforig_horiz_detail_1"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles horizontales después de aplicar 1 paso de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
35	"iforig_horiz_detail_2"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles horizontales después de aplicar 2 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
	"iforig_horiz_detail_3"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles horizontales después de aplicar 3 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
40	"iforig_horiz_detail_4"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles horizontales después de aplicar 4 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
45	"iforig_horiz_detail_5"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles horizontales después de aplicar 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
	"iforig_horiz_detail_6"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles horizontales después de aplicar 6 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
50	"iforig_horiz_detail_7"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles horizontales después de aplicar 7 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
	"iforig_vert_detail_1"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles verticales después de aplicar 1 paso de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
55	"iforig_vert_detail_2"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles verticales después de aplicar 2 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
	"iforig_vert_detail_3"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles verticales después de aplicar 3 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
60	"iforig_vert_detail_4"	Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles verticales después de aplicar 4 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
65		

ES 2 817 778 T3

(continuación)

Característica	Descripción
5	"iforig_vert_detail_5" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles verticales después de aplicar 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
10	"iforig_vert_detail_6" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles verticales después de aplicar 6 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
15	"iforig_vert_detail_7" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles verticales después de aplicar 7 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
15	"iforig_diag_detail_1" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonales después de aplicar 1 paso de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
20	"iforig_diag_detail_2" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonales después de aplicar 2 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
20	"iforig_diag_detail_3" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonales después de aplicar 3 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
25	"iforig_diag_detail_4" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonales después de aplicar 4 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
25	"iforig_diag_detail_5" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonales después de aplicar 5 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
30	"iforig_diag_detail_6" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonales después de aplicar 6 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
35	"iforig_diag_detail_7" Varianza de los valores de píxeles en la subbanda de detalles diagonales después de aplicar 7 pasos de transformada de ondícula no diezmada a una máscara de citoplasma epitelial según lo identificado por CK18.
35	"min_IForig_detail1" Mínimo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_1" y "iforig_vert_detail_1".
40	"min_IForig_detail2" Mínimo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_2" y "iforig_vert_detail_2".
40	"min_IForig_detail3" Mínimo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_3" y "iforig_vert_detail_3".
40	"min_IForig_detail4" Mínimo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_4" y "iforig_vert_detail_4".
45	"min_IForig_detail5" Mínimo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_5" y "iforig_vert_detail_5".
45	"min_IForig_detail6" Mínimo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_6" and "iforig_vert_detail_6".
50	"min_IForig_detail7" Mínimo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_7" y "iforig_vert_detail_7".
50	"max_IForig_detail1" Máximo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_1" y "iforig_vert_detail_1".
55	"max_IForig_detail2" Máximo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_2" y "iforig_vert_detail_2".
55	"max_IForig_detail3" Máximo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_3" y "iforig_vert_detail_3".
55	"max_IForig_detail4" Máximo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_4" y "iforig_vert_detail_4".
60	"max_IForig_detail5" Máximo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_5" y "iforig_vert_detail_5".
60	"max_IForig_detail6" Máximo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_6" y "iforig_vert_detail_6".
60	"max_IForig_detail7" Máximo de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_7" y "iforig_vert_detail_7".
65	"sum_IForig_detail1" Suma de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_1" y "iforig_vert_detail_1".

(continuación)

Característica	Descripción
5 "sum IForig_detail2"	Suma de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_2" y "iforig_vert_detail_2".
"sum IForig_detail3"	Suma de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_3" y "iforig_vert_detail_3".
"sum IForig_detail4"	Suma de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_4" y "iforig_vert_detail_4".
10 "sum IForig_detail5"	Suma de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_5" y "iforig_vert_detail_5".
"sum IForig_detail6"	Suma de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_6" y "iforig_vert_detail_6".
15 "sum IForig_detail7"	Suma de las características definidas anteriormente "iforig_horiz_detail_7" y "iforig_vert_detail_7".
'IFwaveletratio_diag6_7'	Razón de las características definidas anteriormente "iforig_diag_detail_6" y "iforig_diag_detail_7".

Tabla 3. Características de Inmunofluorescencia (IF) Molecular

En algunas modalidades, las características en la Tabla 3 que tienen el prefijo "IF01" se miden mediante el uso de MPLE 1 como se describió anteriormente, mientras que "IFx1" se refiere a características derivadas/calculadas a partir de las características de MPLE 1. De manera similar, en algunas modalidades, "IF02" se refiere a las características medidas mediante el uso de MPLE 2 descrito anteriormente, mientras que "IFx2" se refiere a características derivadas/calculadas a partir de las características de MPLE 2.

Característica	Descripción
"IF01_AMACR_Threshold"	AMACR_Umbral
"IF01_AR_Percentile"	Características específicas del AR
"IF01_AR_Threshold"	
"IF01_AR_Trigger"	
"IF01_BasNuc_Area"	Características de los Núcleos Basales
"IF01_BasNuc_DAPI_Mean"	
"IF01_BasNuc_p63_Mean"	
"IF01_CK18_AMACRpObj_AMACR_Mean"	CK18_ solo y con AMACR_intensidad y características morfométricas
"IF01_CK18_AMACRpObj_AreaTotal"	
"IF01_CK18_AreaTotal"	
"IF01_CK18_CK18_Mean"	
"IF01_CK18_Threshold"	
"IF01_CytAMACRn_AMACR_MeanMean"	
"IF01_CytAMACRn_AMACR_StdMean"	
'IF01_CytAMACRn_AMACR_StdStd'	
"IF01_CytAMACRn_AreaTotal"	
"IF01_CytAMACRp_AMACR_MeanMean"	
"IF01_CytAMACRp_AMACR_StdMean"	
"IF01_CytAMACRpAMACR_StdStd"	
"IF01_CytAMACRp_AreaTotal"	
"IF01_Cyt_AR_Mean"	Características de intensidad y percentiles del AR en el citoplasma (CK18)
"IF01_Cyt_AR_Perc_02"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_05"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_10"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_15"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_20"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_25"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_30"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_35"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_40"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_45"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_50"	
"IF01_Cyt_AR_Perc_55"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF01_Cyt_AR_Perc_60"	
5	"IF01_Cyt_AR_Perc_65"	
	"IF01_Cyt_AR_Perc_70"	
	"IF01_Cyt_AR_Perc_75"	
	"IF01_Cyt_AR_Perc_80"	
	"IF01_Cyt_AR_Perc_85"	
10	"IF01_Cyt_AR_Perc_90"	
	"IF01_Cyt_AR_Perc_95"	
	"IF01_Cyt_AR_Perc_99"	
	"IF01_CytoAMACRn_AMACR_MeanStd"	
	"IF01_CytoAMACRp_AMACR_MeanStd"	
15	"IF01_DAPI_Threshold"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRn_AR_Mean2"	Características de intensidad del AR y el AMACR en los núcleos epiteliales
	"IF01_EpiNucARnAMACRn_AR_MeanMean"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRn_AR_MeanStd"	
20	"IF01_EpiNucARnAMACRn_AR_StdMean"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRn_AR_StdStd"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRn_AreaTotal"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRp_AR_Mean2"	
25	"IF01_EpiNucARnAMACRp_AR_MeanMean"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRp_AR_MeanStd"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRp_AR_StdMean"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRp_AR_StdStd"	
	"IF01_EpiNucARnAMACRp_AreaTotal"	
30	"IF01_EpiNucARn_ARFlux_Mean"	
	"IF01_EpiNucARn_AR_Mean"	
	"IF01_EpiNucARn_Num"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRn_AR_Mean2"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRn_AR_MeanMean"	
35	"IF01_EpiNucARpAMACRn_AR_MeanStd"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRn_AR_StdMean"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRn_AR_StdStd"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRn_AreaTotal"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRp_AR_Mean2"	
40	"IF01_EpiNucARpAMACRp_AR_MeanMean"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRp_AR_MeanStd"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRp_AR_StdMean"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRp_AR_StdStd"	
	"IF01_EpiNucARpAMACRp_AreaTotal"	
45	"IF01_EpiNucARp_ARFlux_Mean"	
	"IF01_EpiNucARp_AR_Mean"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin01_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin02_Area"	
50	"IF01_EpiNucARp_DensityBin03_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin04_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin05_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin06_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin07_Area"	
55	"IF01_EpiNucARp_DensityBin08_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin09_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_DensityBin10_Area"	
	"IF01_EpiNucARp_Num"	Percentiles de intensidad positiva al AR
	"IF01_EpiNucARp_Perc_02"	
60	"IF01_EpiNucARp_Perc_05"	
	"IF01_EpiNucARp_Perc_10"	
	"IF01_EpiNucARp_Perc_15"	
	"IF01_EpiNucARp_Perc_20"	
	"IF01_EpiNucARp_Perc_25"	
65	"IF01_EpiNucARp_Perc_30"	
	"IF01_EpiNucARp_Perc_35"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF01 EpiNucARp Perc 40"	
5	"IF01 EpiNucARp Perc 45"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 50"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 55"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 60"	
10	"IF01 EpiNucARp Perc 65"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 70"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 75"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 80"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 85"	
15	"IF01 EpiNucARp Perc 90"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 95"	
	"IF01 EpiNucARp Perc 99"	
	"IF01 EpiNuc ARFlux Mean"	
	"IF01 EpiNuc AR Mean"	
20	"IF01 EpiNuc AR Perc 02"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 05"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 10"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 15"	
25	"IF01 EpiNuc AR Perc 20"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 25"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 30"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 35"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 40"	
30	"IF01 EpiNuc AR Perc 45"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 50"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 55"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 60"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 65"	
35	"IF01 EpiNuc AR Perc 70"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 75"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 80"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 85"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 90"	
40	"IF01 EpiNuc AR Perc 95"	
	"IF01 EpiNuc AR Perc 99"	
	"IF01 EpiNuc AreaTotal"	
	"IF01 EpiNuc DAPI Mean"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin01 Area"	
45	"IF01 EpiNuc DensityBin02 Area"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin03 Area"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin04 Area"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin05 Area"	
50	"IF01 EpiNuc DensityBin06 Area"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin07 Area"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin08 Area"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin09 Area"	
	"IF01 EpiNuc DensityBin10 Area"	
55		Características relativas a los niveles extremadamente altos del AR (HOT) que se calculan mediante el uso de los percentiles del AR en los núcleos epiteliales
	"IF01 EpiNuc Hot2AMACRn AR Mean"	
	"IF01 EpiNuc Hot2AMACRn Area"	
60	"IF01 EpiNuc Hot2AMACRp AR Mean"	
	"IF01 EpiNuc Hot2AMACRp Area"	
	"IF01 EpiNuc Hot2 AR Mean"	
	"IF01 EpiNuc Hot2 Area"	
	"IF01 EpiNuc HotAMACRn AR Mean"	
	"IF01 EpiNuc HotAMACRn Area"	
65	"IF01 EpiNuc HotAMACRp AR Mean"	
	"IF01 EpiNuc HotAMACRp Area"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF01 EpiNuc_Hot_AR_Mean"	
5	"IF02 EpiNuc_Hot_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin00_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin01_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin02_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin03_Area"	
10	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin04_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin05_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin06_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin07_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin08_Area"	
15	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin09_Area"	
	"IF01 EpiNuc_NormARIntBin10_Area"	
	"IF01 EpiNuc_Num"	
	"IF01 GU_Area"	
	"IF01_HMWCKSignal_Area"	
20	"IF01_HMWCKSignal_HMWCK_Mean"	
	"IF01_HMWCK_Threshold"	
	"IF01_NGA_Area"	Características No Asociadas a las glándulas
	"IF01_NGA_Number"	
25	"IF01_Nuc_DAPI_Mean"	
	"IF01_P63_Threshold"	
	"IF01_Scene_AMACR_Mean"	
	"IF01_Scene_AR_Mean"	
	"IF01_Scene_CK18_Mean"	
30	"IF01_Scene_DAPI_Mean"	
	"IF01_Scene_HMWCK_Mean"	
	"IF01_Scene_p63_Mean"	
	"IF01_StrNuc_AR_Mean"	AR en las características de los Núcleos Estromales
	"IF01_StrNuc_AR_Mean2"	
35	"IF01_StrNuc_AR_Perc_02"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_05"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_10"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_15"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_20"	
40	"IF01_StrNuc_AR_Perc_25"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_30"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_35"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_40"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_45"	
45	"IF01_StrNuc_AR_Perc_50"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_55"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_60"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_65"	
50	"IF01_StrNuc_AR_Perc_70"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_75"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_80"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_85"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_90"	
55	"IF01_StrNuc_AR_Perc_95"	
	"IF01_StrNuc_AR_Perc_99"	
	"IF01_StrNuc_AreaTotal"	
	"IF01_StrNuc_DAPI_Mean"	
	"IF01_StrNuc_Num"	
60	"IF01_Stroma_AR_Mean"	
	"IF01_Stroma_AR_Perc_02"	
	"IF01_Stroma_AR_Perc_05"	
	"IF01_Stroma_AR_Perc_10"	
	"IF01_Stroma_AR_Perc_15"	
65	"IF01_Stroma_AR_Perc_20"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF01 Stroma AR Perc 25"	
5	"IF01 Stroma AR Perc 30"	
	"IF01 Stroma AR Perc 35"	
	"IF01 Stroma AR Perc 40"	
	"IF01 Stroma AR Perc 45"	
	"IF01 Stroma AR Perc 50"	
10	"IF01 Stroma AR Perc 55"	
	"IF01 Stroma AR Perc 60"	
	"IF01 Stroma AR Perc 65"	
	"IF01 Stroma AR Perc 70"	
	"IF01 Stroma AR Perc 75"	
15	"IF01 Stroma AR Perc 80"	
	"IF01 Stroma AR Perc 85"	
	"IF01 Stroma AR Perc 90"	
	"IF01 Stroma AR Perc 95"	
	"IF01 Stroma AR Perc 99"	
20	"IFx1 EpiNucARp AreaTotal"	Área normalizada y características de intensidad
	"IFx1 EpiNucARn AreaTotal"	
	"IFx1 RelAreCyt AMACRp2Cyt"	
	"IFx1 RelAreNGA2Cyt"	
25	"IFx1' RelAreEpi ARp2EN"	
	"IFx1 RelAreEpi ARpAMACRp2EN"	
	"IFx1 RelAreEpi ARpAMACRn2EN"	
	"IFx1 RelAreEpi ARnAMACRp2EN"	
	"IFx1 RelAreEpi ARnAMACRn2EN"	
30	"IFx1 RelAreEpi Hot22EN"	
	"IFx1 RelAreEpi Hot2EN"	
	"IFx1 RelAreEpi HotAMACRp2EN"	
	"IFx1 RelAreEpi Hot2AMACRp2EN"	
	"IFx1 RelAreEpi HotAMACRn2EN"	
35	"IFx1 RelAreEpi Hot2AMACRn2EN"	
	"IFx1HotInt nrmStrNuc85"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin00"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin01"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin02"	
40	"IFx1 EN NormARTotIntBin03"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin04"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin05"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin06"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin07"	
45	"IFx1 EN NormARTotIntBin08"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin09"	
	"IFx1 EN NormARTotIntBin10"	
	"IFx1 Sum BinEN ARTotInt01_03"	
50	"IFx1 Sum BinEN ARTotInt04_06"	
	"IFx1 Sum BinEN ARTotInt07_09"	
	"IFx1 EN ARTotInt_Avg"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density01"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density02"	
55	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density03"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density04"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density05"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density06"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density07"	
60	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density08"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density09"	
	"IFx1 RelAre EpiNucARp Density10"	
	"IFx1 Sum EpiNucARp Density01_03"	
	"IFx1 Sum EpiNucARp Density04_06"	
65	"IFx1 Sum EpiNucARp Density07_09"	
	"IFx1 RelAre EpiNuc Density01"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density02"	
5	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density03"	
	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density04"	
	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density05"	
	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density06"	
	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density07"	
10	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density08"	
	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density09"	
	"IFx1_RelAre_EpiNuc_Density10"	
	"IFx1_Sum_EpiNuc_Density01_03"	
	"IFx1_Sum_EpiNuc_Density04_06"	
15	"IFx1_Sum_EpiNuc_Density07_09"	
	"IFx1_ExInd_EN_ARp"	
	"IFx1_RatInt_CytAMACRp2n"	
	"IFx1_RatInt_AR_EpN2Cyt"	
	"IFx1_RatInt_ARp_EpN2Cyt"	
20	"IFx1_RatInt_ARp_EpN2CtAMACRp"	
	"IFx1_RatInt_ARp_EpN2CtAMACRn"	
	"IFx1_RatInt_ENARpAMACRp2AnAMp"	
	"IFx1_RatInt_ENARpAMACRn2AnAMn"	
25	"IFx1_Rati_EpNARpAMACRp2ART"	
	"IFx1_Rati_EpNARpAMACRn2ART"	
	"IFx1_Rati_EpNARp2ART"	
	"IFx1_Rati_EpNAR2ART"	
	"IF01_Rati_EN_Flux_ARp2AR"	
30	"IF01_Rati_EN_Flux_ARp2ARn"	
	"IFx1_ExInd_EN_AMACRp"	
	"IFx1_ExInd_EN_AMACRn"	
	"IFx1_nExInd_EN_AMACRp"	
	"IF01_nExInd_EN_AMACRn"	
35	"IF01_nExInd_EN_ARp"	
	"IFx1_RelRise_EpiNuc_AR_StrNuc"	Intervalo dinámico del AR, diferencia en los percentiles de los núcleos epiteliales en relación con los percentiles de los núcleos estromales
40	"IFx1_RelRise_EpiNuc_AR_THR"	Intervalo dinámico del AR, diferencia en los percentiles de los núcleos epiteliales con respecto al umbral del AR
	"IF02_AMACR_Threshold"	Umbral de AMACR
	"IF02_CD34_Area"	
45	"IF02_CD34ProximalCut05_Area"	Características para detectar CD34 próximo a vasos sanguíneos
	"IF02_CD34Proximal_AMACRn_Area"	
	"IF02_CD34Proximal_AMACRp_Area"	
50	"IF02_CD34Proximal_Area"	
	"IF02_CK18_AreaTotal"	
	"IF02_CK18_Threshold"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Mean"	Intensidades de Ki67 y percentiles en el citoplasma (CK18)
55	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_02"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_05"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_10"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_15"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_20"	
60	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_25"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_30"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_35"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_40"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_45"	
65	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_50"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_55"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_60"	
5	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_65"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_70"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_75"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_80"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_85"	
10	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_90"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_95"	
	"IF02_Cyt_Ki67_Perc_99"	
		Intensidades de pAKT y percentiles en el citoplasma (CK18)
15	"IF02_Cyt_pAKT_Mean"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_02"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_05"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_10"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_15"	
20	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_20"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_25"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_30"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_35"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_40"	
25	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_45"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_50"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_55"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_60"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_65"	
30	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_70"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_75"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_80"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_85"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_90"	
35	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_95"	
	"IF02_Cyt_pAKT_Perc_99"	
	"IF02_DAPI_Threshold"	
	"IF02_EpiNuc_Area"	
		Características morfométricas y de área de Ki67 en los núcleos epiteliales
40	"IF02_EpiNuc_Ki67Neg_Area"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67Neg_Ki67_Mean"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67Neg_Ki67_Std"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67Pos_Area"	
45	"IF02_EpiNuc_Ki67Pos_Ki67_Mean"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67Pos_Ki67_Std"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Mean"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_02"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_05"	
50	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_10"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_15"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_20"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_25"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_30"	
55	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_35"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_40"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_45"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_50"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_55"	
60	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_60"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_65"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_70"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_75"	
	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_80"	
65	"IF02_EpiNuc_Ki67_Perc_85"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF02 EpiNuc Ki67 Perc 90"	
5	"IF02 EpiNuc Ki67 Perc 95"	
	"IF02 EpiNuc Ki67 Perc 99"	
	"IF02 EpiNuc Ki67 Std"	
	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRn Area"	Características conjuntas de Ki67 y AMACR en los núcleos epiteliales
10	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRn Ki67 Mn"	
	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRn Ki67 Std"	
	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRn Num"	
	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRp Area"	
15	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRp Ki67 Mn"	
	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRp Ki67 Std"	
	"IF02 EpiNuc Ki67nAMACRp Num"	
	"IF02 EpiNuc Ki67nPAKTn Area"	Características conjuntas de Ki67 y pAKT en los núcleos epiteliales
20	"IF02 EpiNuc Ki67nPAKTp Area"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRn Area"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRn Ki67 Mn"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRn Ki67 Std"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRn Num"	
25	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRp Area"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRp Ki67 Mn"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRp Ki67 Std"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pAMACRp Num"	
30	"IF02 EpiNuc Ki67pPAKTn Area"	
	"IF02 EpiNuc Ki67pPAKTp Area"	
	"IF02 EpiNuc Num"	
	"IF02 EpiNuc pAKTNeg Area"	Intensidad de pAKT y características morfométricas
	"IF02 EpiNuc pAKTNeg pAKT Mean"	
	"IF02 EpiNuc pAKTNeg pAKT Std"	
35	"IF02 EpiNuc pAKTPos Area"	
	"IF02 EpiNuc pAKTPos pAKT Mean"	
	"IF02 EpiNuc pAKTPos pAKT Std"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Mean"	
40	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 02"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 05"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 10"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 15"	
45	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 20"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 25"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 30"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 35"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 40"	
50	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 45"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 50"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 55"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 60"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 65"	
55	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 70"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 75"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 80"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 85"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 90"	
60	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 95"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Perc 99"	
	"IF02 EpiNuc pAKT Std"	
	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRn Area"	Características conjuntas de pAKT y AMACR.
	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRn Num"	
65	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRn pAKT Mn"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRn pAKT Std"	
5	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRp Area"	
	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRp Num"	
	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRp pAKT Mn"	
	"IF02 EpiNuc pAKTnAMACRp pAKT Std"	
10	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRn Area"	
	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRn Num"	
	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRn pAKT Mn"	
	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRn pAKT Std"	
	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRp Area"	
15	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRp Num"	
	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRp pAKT Mn"	
	"IF02 EpiNuc pAKTpAMACRp pAKT Std"	
	"IF02 GU Area"	
	"IF02 Ki67 Percentile"	
20	"IF02 Ki67 Threshold"	
	"IF02 Ki67 Trigger"	
	"IF02 NGA Area"	Área No Asociada a Glándulas
	"IF02 StrNuc Area"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Mean"	Características de Ki67 en los Núcleos Estromales
25	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 02"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 05"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 10"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 15"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 20"	
30	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 25"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 30"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 35"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 40"	
35	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 45"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 50"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 55"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 60"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 65"	
40	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 70"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 75"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 80"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 85"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 90"	
45	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 95"	
	"IF02 StrNuc Ki67 Perc 99"	
	"IF02 StrNuc Num"	
	"IF02 StrNuc pAKT Mean"	Características de pAKT en los núcleos estromales
50	"IF02 StrNuc pAKT Perc 02"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 05"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 10"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 15"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 20"	
55	"IF02 StrNuc pAKT Perc 25"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 30"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 35"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 40"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 45"	
60	"IF02 StrNuc pAKT Perc 50"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 55"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 60"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 65"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 70"	
65	"IF02 StrNuc pAKT Perc 75"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 80"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 85"	
5	"IF02 StrNuc pAKT Perc 90"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 95"	
	"IF02 StrNuc pAKT Perc 99"	
	"IF02 Stroma Ki67 Mean"	Características de Ki67 en el Estroma
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 02"	
10	"IF02 Stroma Ki67 Perc 05"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 10"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 15"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 20"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 25"	
15	"IF02 Stroma Ki67 Perc 30"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 35"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 40"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 45"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 50"	
20	"IF02 Stroma Ki67 Perc 55"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 60"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 65"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 70"	
25	"IF02 Stroma Ki67 Perc 75"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 80"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 85"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 90"	
	"IF02 Stroma Ki67 Perc 95"	
30	"IF02 Stroma Ki67 Perc 99"	
	"IF02 Stroma pAKT Mean"	Características de pAKT en el Estroma
	"IF02 Stroma pAKT Perc 02"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 05"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 10"	
35	"IF02 Stroma pAKT Perc 15"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 20"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 25"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 30"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 35"	
40	"IF02 Stroma pAKT Perc 40"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 45"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 50"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 55"	
45	"IF02 Stroma pAKT Perc 60"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 65"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 70"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 75"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 80"	
50	"IF02 Stroma pAKT Perc 85"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 90"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 95"	
	"IF02 Stroma pAKT Perc 99"	
	"IF02 Tumor Area"	
55	"IF02 pAKT Threshold"	
	"IFx2 RelAreEN Ki67p Area2EN"	Características de área normalizadas
	"IFx2 RelAreEN Ki67p Area2MDT"	
	"IFx2 RelAreEN Ki67p Area2GU"	
	"IFx2 RelAreEN Ki67pAMACRp2EN"	
60	"IFx2 RelAreEN Ki67pAMACRn2EN"	
	"IFx2 RelAreEN Ki67nAMACRp2EN"	
	"IFx2 RelAreEN Ki67nAMACRn2EN"	
	"IFx2 RelAreEN pAKTp2 Area2EN"	
	"IFx2 RelAreEN pAKTp Area2MDT"	
65	"IFx2 RelAreEN pAKTp Area2GU"	
	"IFx2 RelAreEN pAKTpAMACRp2EN"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IFx2_RelAreEN_pAKTpAMACRn2EN"	
5	"IFx2_RelAreEN_pAKTnAMACRp2EN"	
	"IFx2_RelAreEN_pAKTnAMACRn2EN"	
	"IFx2_sumRelAreEN_Ki67_pAKT"	
	"IFx2_RelAre_GU2MDT"	
	"IFx2_RelAre_CK182MDT"	
10	"IFx2_RelAre_EN_Ki67nPAKTn2EN"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67nPAKTp2EN"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67pPAKTn2EN"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67pPAKTp2EN"	
15	"IFx2_RelAre_EN_Ki67nPAKTn2GU"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67nPAKTp2GU"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67pPAKTn2GU"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67pPAKTp2GU"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67nPAKTn2MDT"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67nPAKTp2MDT"	
20	"IFx2_RelAre_EN_Ki67pPAKTn2MDT"	
	"IFx2_RelAre_EN_Ki67pPAKTp2MDT"	
	"IFx2_sumRelAreKi67npAKTpn"	Características de intensidad normalizadas
	"IFx2_nrmKi67pMean2EpiNucMean"	
25	"IFx2_nrmKi67pMean2Thrh"	
	"IFx2_nrmKi67pMean2StrNucMean"	
	"IFx2_nrmKi67pMean2StrNucP50"	
	"IFx2_nrmKi67pMean2StrNucP95"	
	"IFx2_nrmKi67pAMACRpMean2SNmn"	
30	"IFx2_nrmKi67pAMACRnMean2SNmn"	
	"IFx2_nrmKi67nAMACRpMean2SNmn"	
	"IFx2_nrmKi67nAMACRnMean2SNmn"	
	"IFx2_nrmKi67pAMACRpMean2Thrh"	
	"IFx2_nrmKi67pAMACRnMean2Thrh"	
35	"IFx2_nrmKi67nAMACRpMean2Thrh"	
	"IFx2_nrmKi67nAMACRnMean2Thrh"	
	"IFx2_nrmKi67pAMACRpMean2SNp50"	
	"IFx2_nrmKi67pAMACRnMean2SNp50"	
	"IFx2_nrmKi67nAMACRpMean2SNp50"	
40	"IFx2_nrmKi67nAMACRnMean2SNp50"	
	"IFx2_nrmKi67pAMACRpMean2SNp95"	
	"IFx2_nrmKi67pAMACRnMean2SNp95"	
	"IFx2_nrmKi67nAMACRpMean2SNp95"	
45	"IFx2_nrmKi67nAMACRnMean2SNp95"	
	"IFx2_nrmKi67nMean2Thrh"	
	"IFx2_nrmKi67EpiNucMean2Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNucKi67IntTotal2MDT"	
	"IFx2_nrmEpiNucKi67pIntTotal2MDT"	
50	"IFx2_nrmEpiNucKi67nIntTotal2MDT"	
	"IFx2_nrmEpiNucKi67IntTotal2GU"	
	"IFx2_nrmEpiNucKi67pIntTotal2GU"	
	"IFx2_nrmEpiNucKi67nIntTotal2GU"	
	"IFx2_nrmEpiNucKi67IntTotal2EN"	
55	"IFx2_nrmEpiNucKi67pIntTotal2EN"	
	"IFx2_nrmEpiNucKi67nIntTotal2EN"	
	"IFx2_RatiEpiNucKi67pInt2MDT"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p02Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p05Thrh"	
60	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p10Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p15Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p20Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p25Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p30Thrh"	
65	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p35Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p40Thrh"	

(continuación)

	Característica	Descripción
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p45Thrh"	
5	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p50Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p55Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p60Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p65Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p70Thrh"	
10	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p75Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p80Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p85Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p90Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p95Thrh"	
15	"IFx2_nrmEpiNuc_Ki67_p99Thrh"	
	"IFx2_RelRiseKi67StrNuc"	
	"IFx2_RelRiseKi67Thrh"	
	"IFx2_nrmpAKTpMean2EpiNucMean"	
	"IFx2_nrmpAKTpMean2Thrh"	
20	"IFx2_nrmpAKTpMean2StrNucMean"	
	"IFx2_nrmpAKTpMean2StrNucP50"	
	"IFx2_nrmpAKTpMean2StrNucP95"	
	"IFx2_nrmpAKTpAMACRpMean2SNmn"	
	"IFx2_nrmpAKTpAMACRpMean2Thrh"	
25	"IFx2_nrmpAKTpAMACRpMean2SNp50"	
	"IFx2_nrmpAKTpAMACRpMean2SNp95"	
	"IFx2_nrmpAKTEpiNucMean2Thrsh"	
	"IFx2_nrmEpiNucpAKTIntTotal2MDT"	
30	"IFx2_nrmEpiNucpAKTIntTotal2GU"	
	"IFx2_nrmEpiNucpAKTIntTotat2EN"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p02Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p05Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p10Thrh"	
35	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p15Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p20Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p25Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p30Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p35Thrh"	
40	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p40Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p45Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p50Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p55Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p60Thrh"	
45	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p65Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p70Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p75Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p80Thrh"	
50	"IFx2nrmEpiNuc_pAKT_p85Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p90Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p95Thrh"	
	"IFx2_nrmEpiNuc_pAKT_p99Thrh"	
	"IFx2_RelRisepAKTStrNuc"	
55	"IFx2_RelRisepAKTThrh"	
	"IFx2_RelArea_EpiNuc2Cyt"	
	"IFx2_RelAreCD34_ProxArea2EN"	Normalizaciones del área de CD34 proximal a los vasos sanguíneos
	"IFx2_RelAreCD34_ProxAMACRn2EN"	
60	"IFx2_RelAreCD34_ProxAMACRp2EN"	
	"IFx2_RelAreCD34_ProxArea2CK18"	
	"IFx2_RelAreCD34_ProxAMACRn2CK18"	
	"IFx2_RelAreCD34_ProxAMACRp2CK18"	
	"IFx2_RelAre_CD34Prox2CD34"	
65	"IFx2_RelAre_CD34ProxAMACRn2CD34"	

(continuación)

Característica	Descripción
5	"IFx2_RelAre_CD34ProxAMACRp2CD34"
	"IFx2_RelAre_Ki67PosArea2CD34"
	"IFx2_RelAre_pAKTPosArea2CD34"
	"IFx2_RelAr_CD34Proxcut052EN"
	"IFx2_RelAr_CD34Proxcut052MDT"
10	"IFx2_RelAreCD34_ProxArea2EN"
	"IFx2_RelAreCD34_ProxAMACRn2EN"
	"IFx2_RelAreCD34_ProxAMACRp2EN"
	"IFx2_RelAreCD34_ProxArea2CK18"

Tabla 4. Características Clínicas

Característica	
15	Número del total de muestras de punción de biopsia
20	Porcentaje de muestras de punción de biopsia positivas
	Edad
	Longitud del tumor en las muestras de punción de biopsia
25	Porcentaje del tumor en las muestras de punción de biopsia
	Estadio Clínico
	PSA
	Grado de Gleason Dominante
30	Grado de Gleason Secundario
	Suma de Gleason

REIVINDICACIONES

1. Aparato para evaluar si es probable que un paciente tenga un estadio patológico favorable de cáncer de próstata, el aparato comprende:
- 5
- (a) un dispositivo de obtención de imágenes de fluorescencia configurado para registrar al menos una imagen de muestra de una muestra de tejido de un paciente, la muestra de tejido tratada con una pluralidad de anticuerpos marcados con un fluorocromo, en donde los anticuerpos se seleccionan para unirse con al menos AR y Ki67;
- 10
- (b) una base de datos configurada para almacenar datos del paciente que incluyen valores de datos de las características clínicas para el paciente que comprenden un valor indicativo de la puntuación de Gleason de la biopsia (bGS) y el grado de Gleason de la biopsia (bGG) del paciente y un valor indicativo del nivel de antígeno prostático específico (PSA) en la sangre del paciente; y
- 15
- (c) un procesador configurado para:
- (i) evaluar la al menos una imagen de muestra registrada por el dispositivo de obtención de imágenes y generar:
- uno o más valores de características moleculares indicativos de un intervalo dinámico del AR combinado donde los valores de bGG medidos son ≤ 3 , y un Ki67 total donde el valor de bGG medido es ≥ 4 , y
- 20
- una pluralidad de mediciones morfométricas, que incluyen: (i) una relación entre el área de núcleos epiteliales fuera de las unidades de glándula y el área de núcleos epiteliales dentro de las unidades de glándula; y (ii) un área de núcleos epiteliales distribuidos lejos de las unidades de glándula;
- (ii) combinar los valores de características moleculares, las mediciones morfométricas y los valores de datos de características clínicas en la base de datos;
- 25
- (iii) evaluar los datos del paciente con un modelo predictivo configurado para generar un valor con base en las características evaluadas; y
- (iv) asignar al paciente a una categoría de bajo riesgo de aparición de cáncer cuando el valor de salida está por debajo de un umbral predeterminado y asignar al paciente a una categoría de alto riesgo cuando el valor de salida está por encima del umbral predeterminado.
- 30
2. El aparato de la reivindicación 1, en donde el modelo predictivo es predictivo de si es probable que el paciente tenga un estadio patológico según lo evaluado por los datos de prostatectomía de T2 o menos, una puntuación de Gleason total evaluada en la prostatectomía de seis o menos con cada componente de la puntuación de Gleason siendo de tres o menos y que tiene una primera lectura de PSA después de la prostatectomía de aproximadamente cero.
- 35
3. Un método para evaluar si es probable que un paciente tenga un estadio patológico favorable de cáncer de próstata, el método comprende:
- 40
- (a) registrar, mediante el uso de un dispositivo de obtención de imágenes de fluorescencia configurado para registrar al menos una imagen de muestra de una muestra de tejido que se ha obtenido de un paciente, la muestra de tejido se trata con una pluralidad de anticuerpos marcados con un fluorocromo, en donde los anticuerpos se seleccionan para unirse con al menos AR y Ki67;
- 45
- (b) almacenar, mediante el uso de una base de datos, los datos del paciente que incluyen los valores de los datos de las características clínicas del paciente que comprenden un valor indicativo de la puntuación de Gleason de la biopsia (bGS) y el grado de Gleason de la biopsia (bGG) del paciente y un valor indicativo del nivel de antígeno prostático específico (PSA) en la sangre del paciente;
- (c) evaluar, la al menos una imagen de muestra registrada por el dispositivo de obtención de imágenes;
- 50
- (d) generar uno o más valores de características moleculares indicativos de un intervalo dinámico del AR combinado donde los valores de bGG medidos son ≤ 3 , y un Ki67 total donde el valor de bGG medido es ≥ 4 y una pluralidad de mediciones morfométricas, que incluyen: (i) una relación del área de los núcleos epiteliales fuera de las unidades de glándulas y el área de los núcleos epiteliales dentro de las unidades de glándulas; y (ii) un área de los núcleos epiteliales distribuidos lejos de las unidades de glándulas;
- (e) combinar los valores de características moleculares, mediciones morfométricas y valores de los datos de las características clínicas en la base de datos;
- 55
- (f) evaluar los datos del paciente con un modelo predictivo configurado para generar un valor con base en las características evaluadas; y
- (g) asignar al paciente a una categoría de bajo riesgo de aparición de cáncer cuando el valor de salida está por debajo de un umbral predeterminado y asignar al paciente a una categoría de alto riesgo cuando el valor de salida está por encima del umbral predeterminado.
- 60
4. El método de la reivindicación 3, en donde la medición morfométrica del área de los núcleos epiteliales distribuidos lejos de las unidades de glándula comprende una medición morfométrica del área de los núcleos epiteliales con centros en una banda ubicada a una distancia predeterminada de los bordes del lumen.
- 65

5. El método de la reivindicación 4, en donde la banda ubicada a una distancia predeterminada de los bordes del lumen comprende la región entre tres y cinco unidades lejos de un borde del lumen, donde una unidad es aproximadamente igual a un diámetro de un núcleo epitelial.
- 5 6. Un medio legible por ordenador que comprende instrucciones ejecutables por ordenador registradas en el mismo para realizar un método cuando se ejecuta mediante un sistema de procesamiento de datos, que comprende:
- 10 (a) acceder al menos a una imagen de muestra de una muestra de tejido de un paciente, la imagen de muestra se obtiene mediante un dispositivo de obtención de imágenes de fluorescencia, y la muestra de tejido se ha tratado con una pluralidad de anticuerpos marcados con un fluorocromo, en donde los anticuerpos se seleccionan para unirse con al menos AR y Ki67;
- 15 (b) almacenar, mediante el uso de una base de datos, los datos del paciente que incluyen los valores de los datos de las características clínicas del paciente que comprenden un valor indicativo de la puntuación de Gleason de la biopsia (bGS) y el grado de Gleason de la biopsia (bGG) del paciente y un valor indicativo del nivel de antígeno prostático específico (PSA) en la sangre del paciente;
- 20 (c) evaluar, la al menos una imagen de muestra registrada por el dispositivo de obtención de imágenes;
- (d) generar uno o más valores de características moleculares indicativos de un intervalo dinámico del AR combinado donde los valores de bGG medidos son ≤ 3 , y un Ki67 total donde el valor de bGG medido es ≥ 4 y una pluralidad de mediciones morfométricas, que incluyen: (i) una relación del área de los núcleos epiteliales fuera de las unidades de glándulas y el área de los núcleos epiteliales dentro de las unidades de glándulas; y (ii) un área de los núcleos epiteliales distribuidos lejos de las unidades de glándulas;
- 25 (e) combinar los valores de características moleculares, mediciones morfométricas y valores de los datos de las características clínicas en la base de datos;
- (f) evaluar los datos del paciente con un modelo predictivo configurado para generar un valor con base en las características evaluadas; y
- 30 (g) asignar al paciente a una categoría de bajo riesgo de aparición de cáncer cuando el valor de salida está por debajo de un umbral predeterminado y asignar al paciente a una categoría de alto riesgo cuando el valor de salida está por encima del umbral predeterminado.

Figura 1A

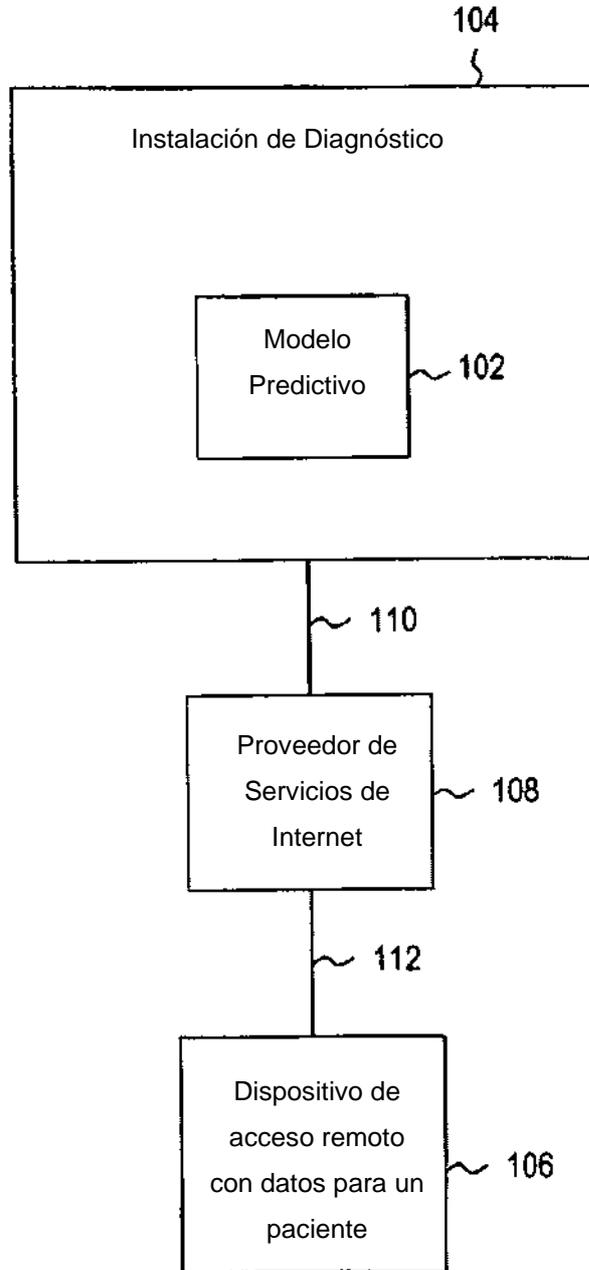


Figura 1B

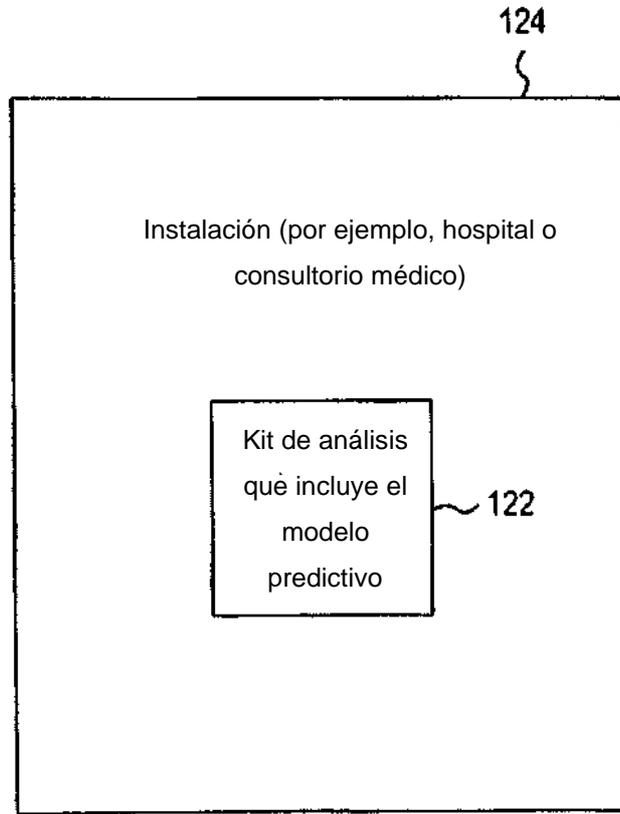


Figura 1C

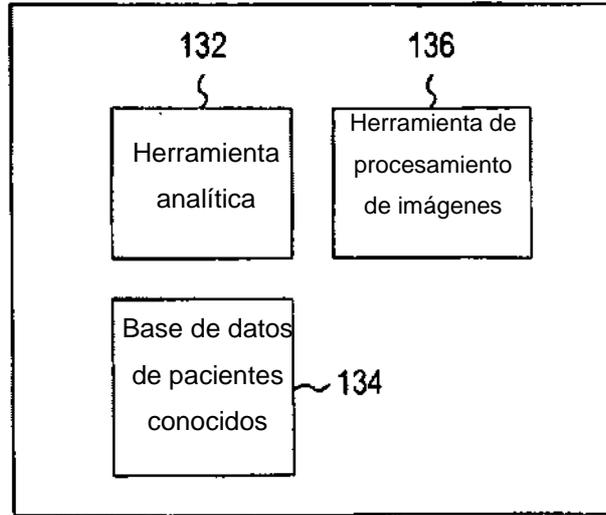


Figura 2

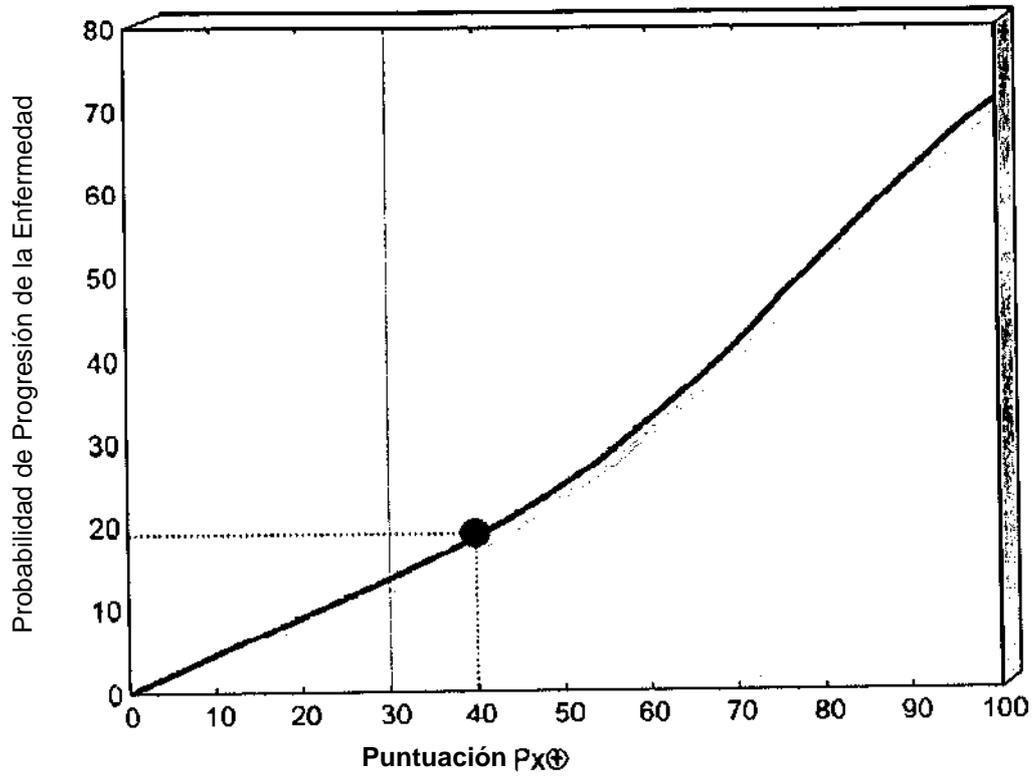
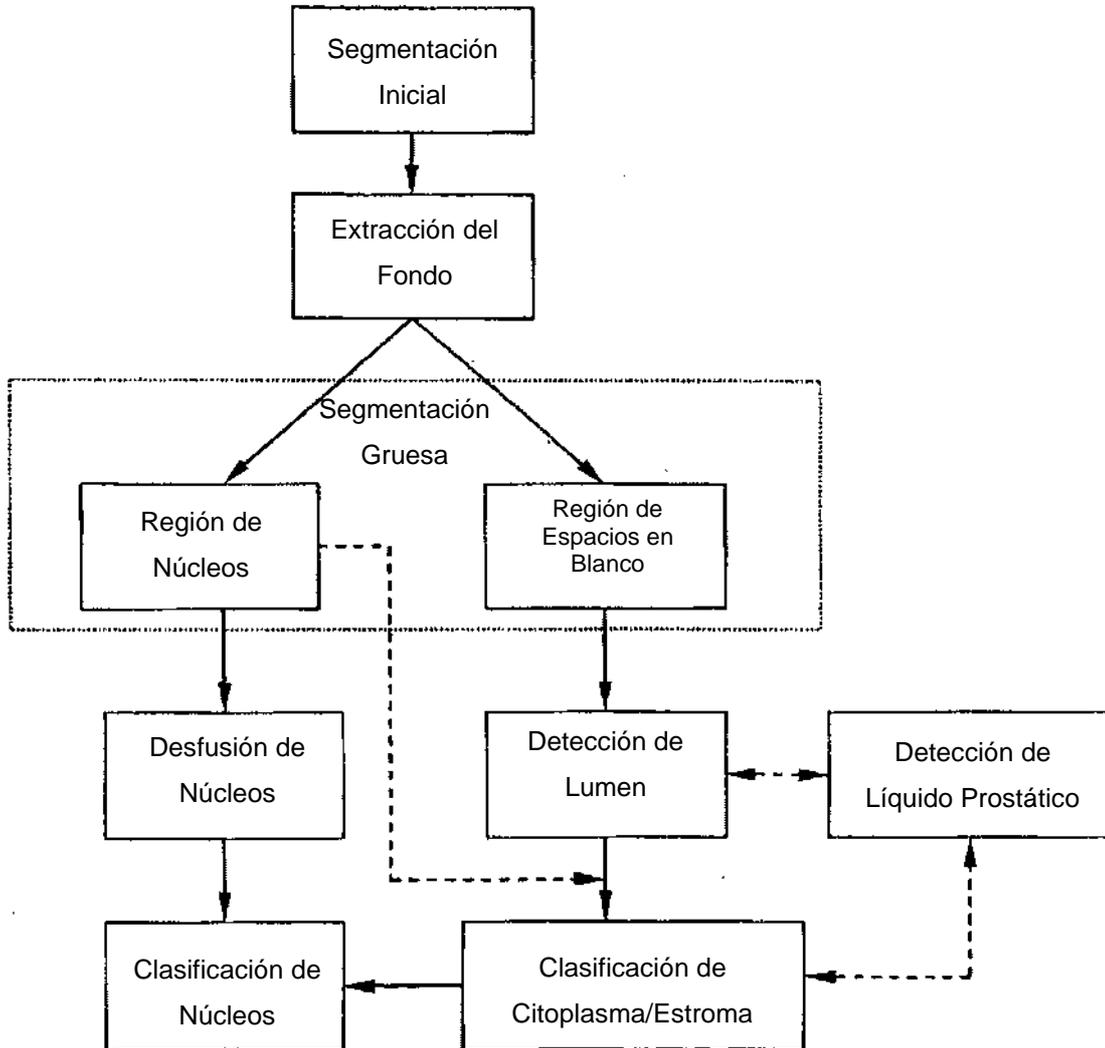


Figura 3



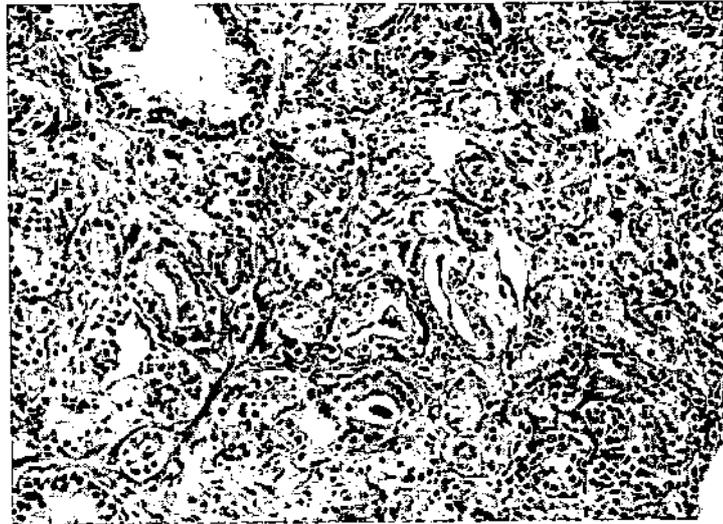


Figura 4A

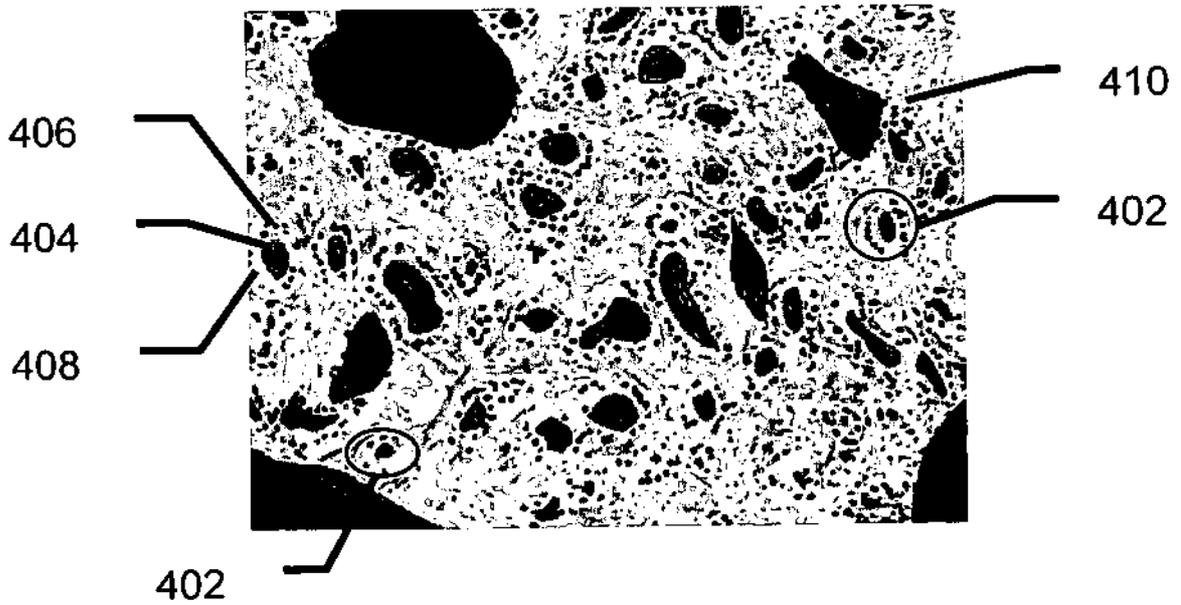


Figura 4B



Figura 5A

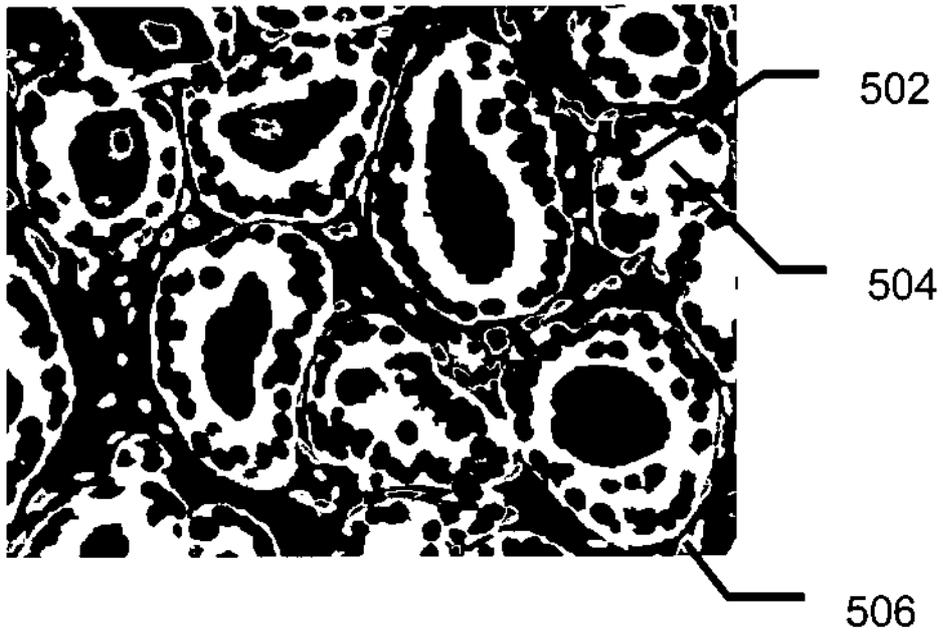


Figura 5B

600

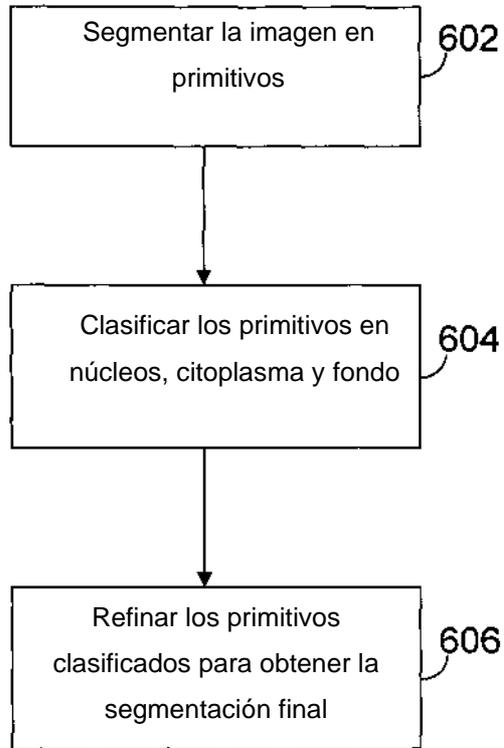


Figura 6

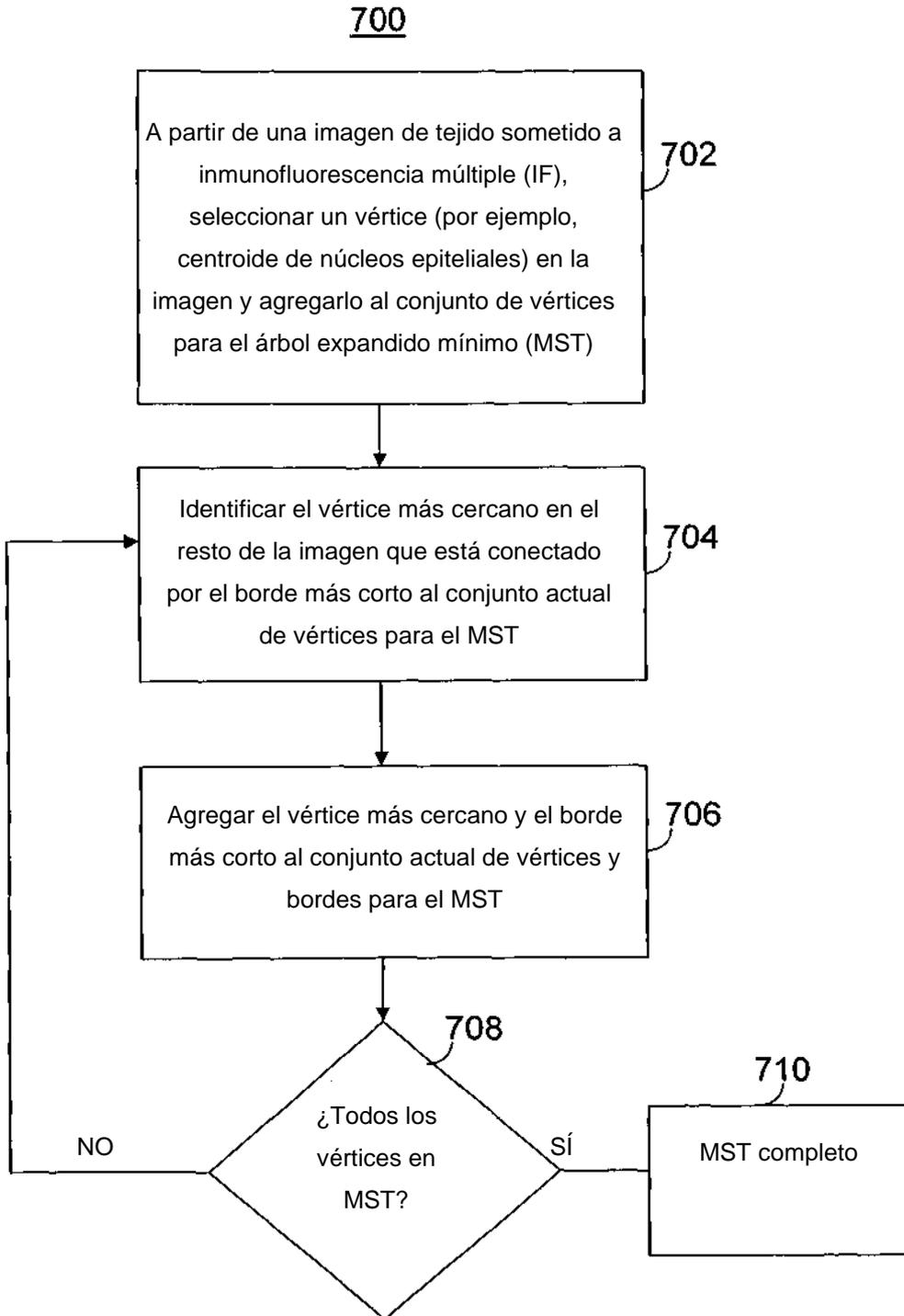


Figura 7

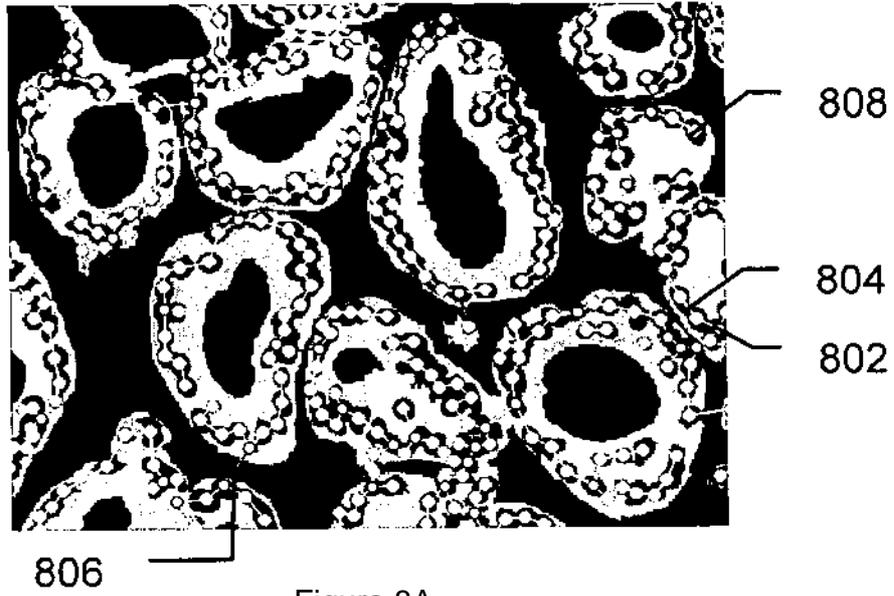


Figura 8A

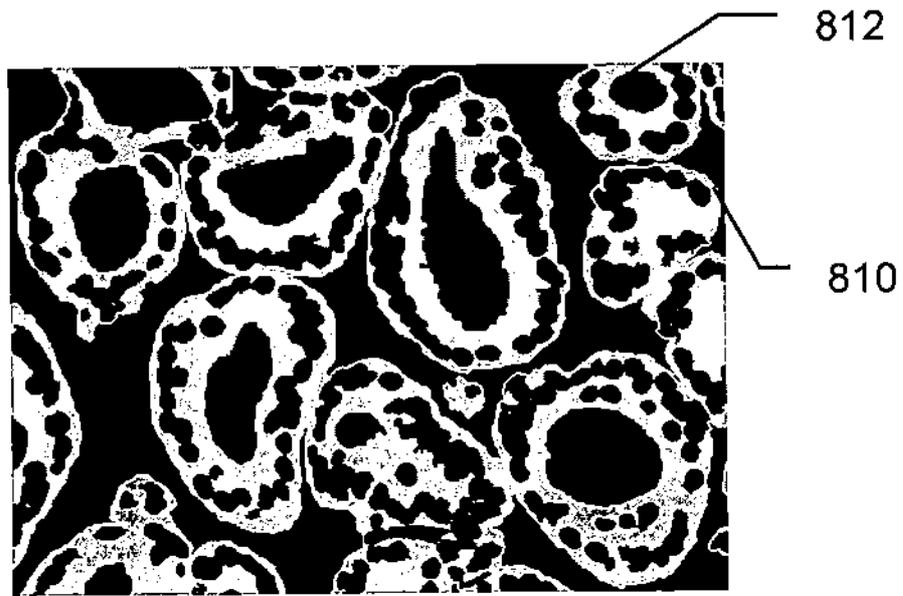


Figura 8B

	Característica	valor de p χ^2	CI
FD	Límites de las Glándulas (con Estroma)	0,0001	0,348
	Límites de las Glándulas (Todos)	0,0001	0,343
MST	Longitud Media del Borde (todos)	0,0043	0,416
	Longitud Media del Borde (Intraglándulas)	0,0044	0,418
	Longitud Media del Borde (Interglándulas)	0,3130	0,459
	Desv. Estándar de Longitudes del Borde (Todos)	0,1220	0,446
	Desv. estándar de Longitudes del Borde (Intraglándulas)	0,0295	0,424
	Desv. estándar de Longitudes del Borde (Interglándulas)	0,2564	0,470
	Distribución de Grados para el Grado 1 (d_1)	0,0032	0,403
	Distribución de Grados para el Grado 2 (d_2)	0,0018	0,606
	Distribución de Grados para el Grado 3 (d_3)	0,0001	0,364
	Combinado	FD (Glándula-Estroma) + Grado de Gleason	< 0,0001
Longitud Media del Borde (Todos) + Grado de Gleason		< 0,0001	0,330
d_3 + grado de Gleason		<0,0001	0,321

Figura 9

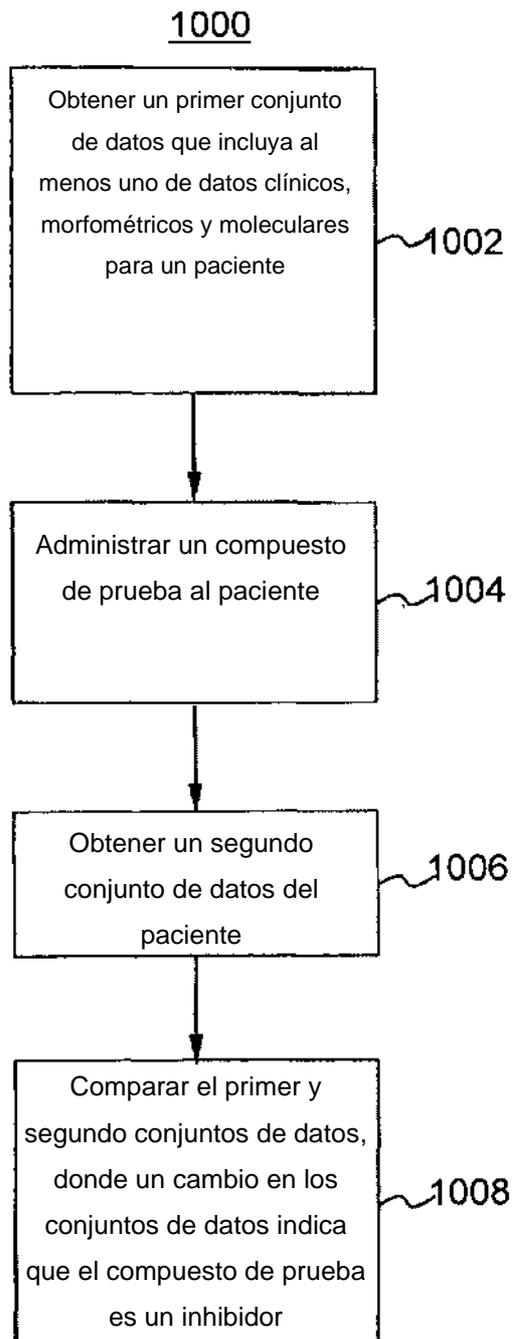


Figura 10

Ejemplo 1: Características Seleccionadas para la Predicción de la Progresión de la Enfermedad

Característica	Valor de P Univariado	Peso en el Modelo
<u>Clinico</u>		
PSA preoperatorio	<0,00001	-24,479
Grado de Gleason Dominante de la Biopsia	<0,0001	23,140
Puntuación de Gleason de la Biopsia	<0,00001	-17,512
<u>Molecular (Combinado)</u>		
Intervalo Dinámico del AR Combinado en bGG bajo, Ki67 Total en bGG Alto	<0,00001	-16,005
<u>Morfométrico (Combinado)</u>		
Distancia Media Combinada entre las Células Tumorales Epiteliales (MST) en bGG Bajo, Grado Real en bGG Alto	<0,00001	-13,521
<u>Morfométrico</u>		
Área de Células Epiteliales Tumorales Aisladas (No Asociadas al Lumen) en Relación con el Área Tumoral Total	<0,00001	-6,852

Figura 11

Característica: Área de
Células Epiteliales Tumorales Aisladas (No Asociadas al Lumen) en Relación con el
Área Tumoral Total

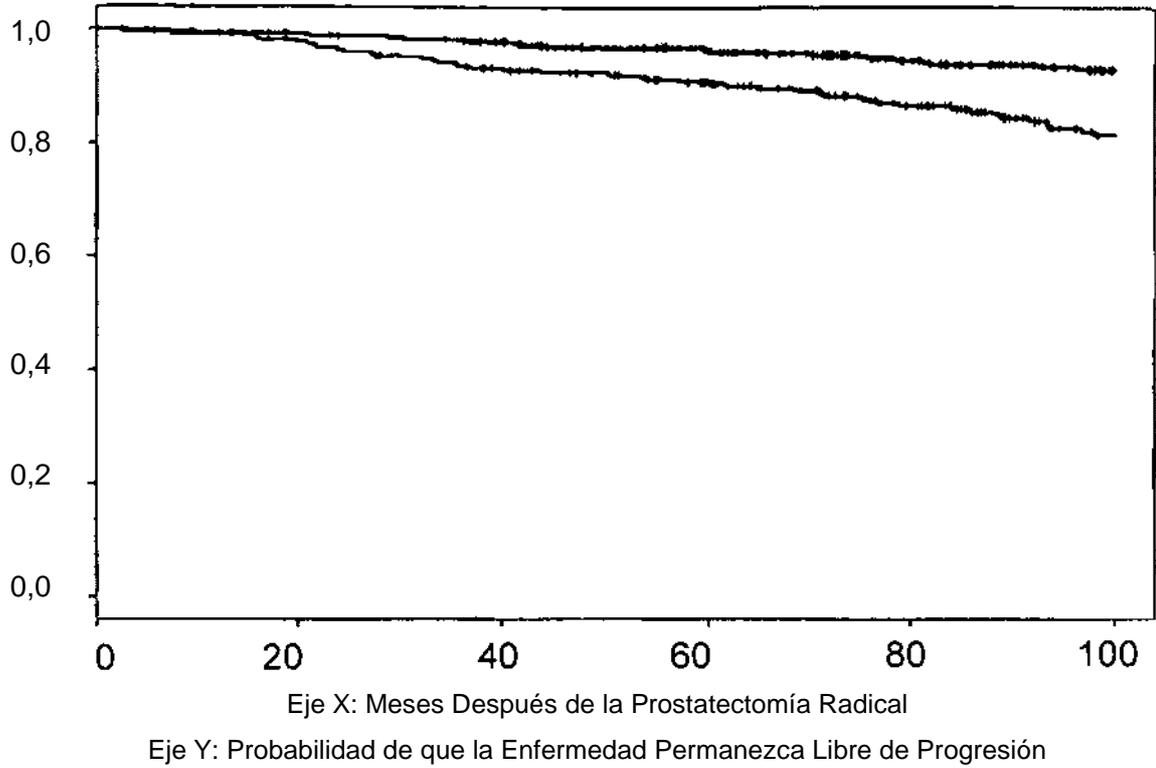


Figura 12

Característica: Distancia Media Combinada Entre las Células Tumorales Epiteliales (MST) en bGG Bajo, Grado Real en bGG Alto

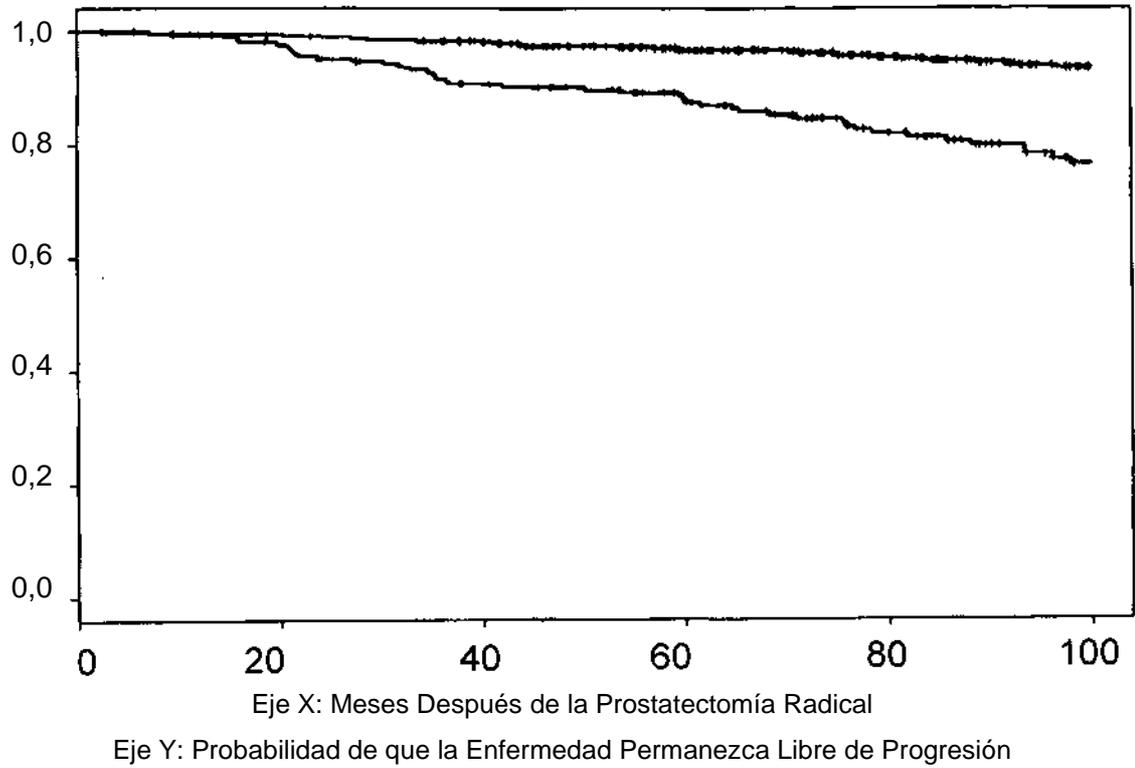


Figura 13

Característica: Intervalo Dinámico del AR Combinado en bGG Bajo, Ki67
Total en bGG Alto

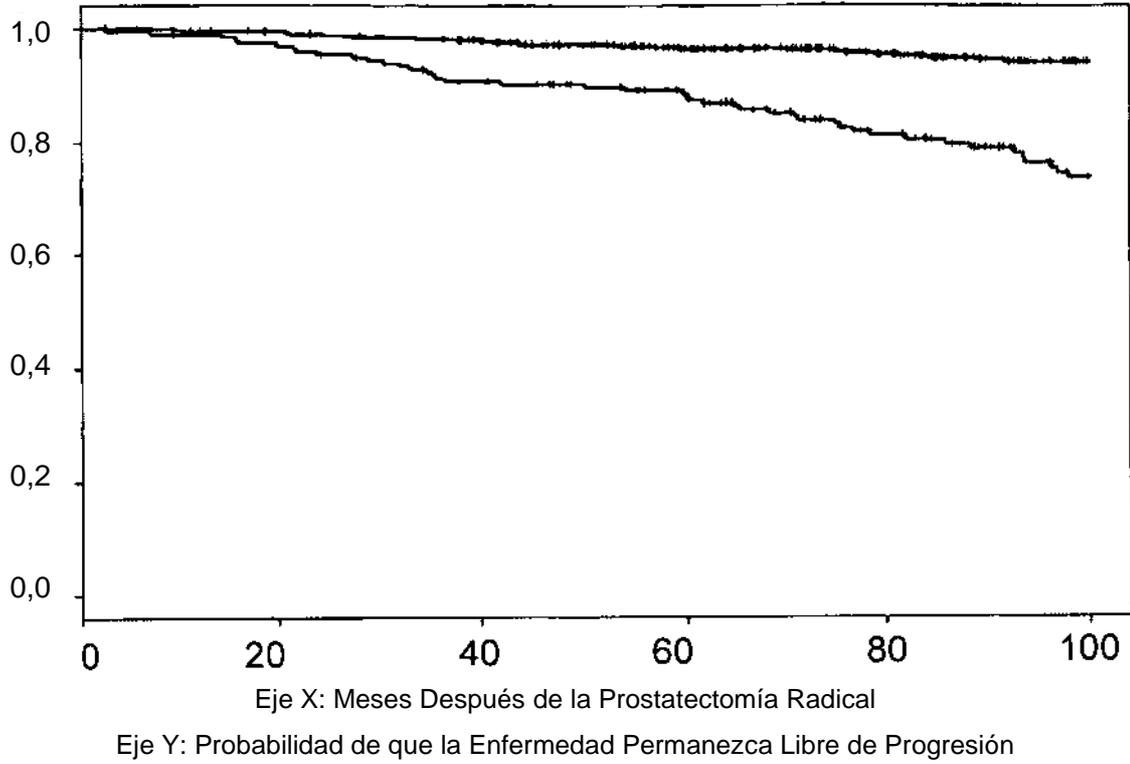


Figura 14

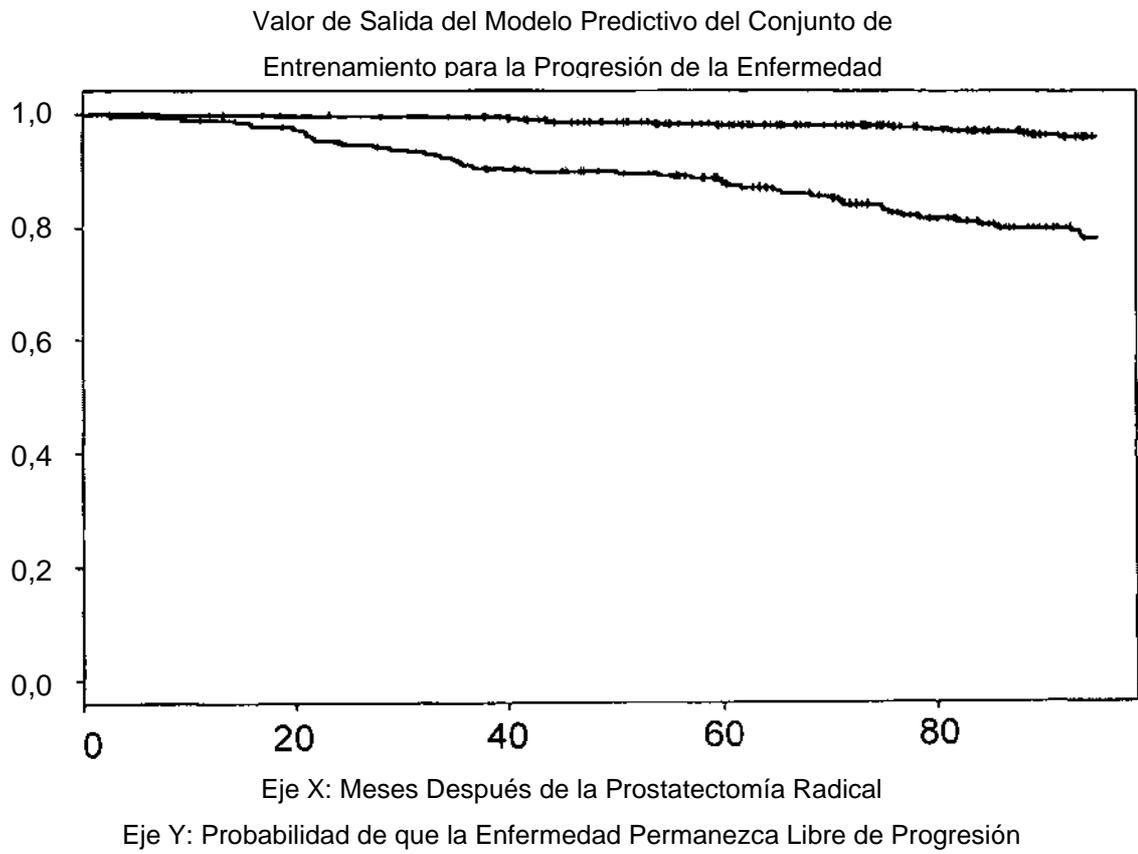


Figura 15

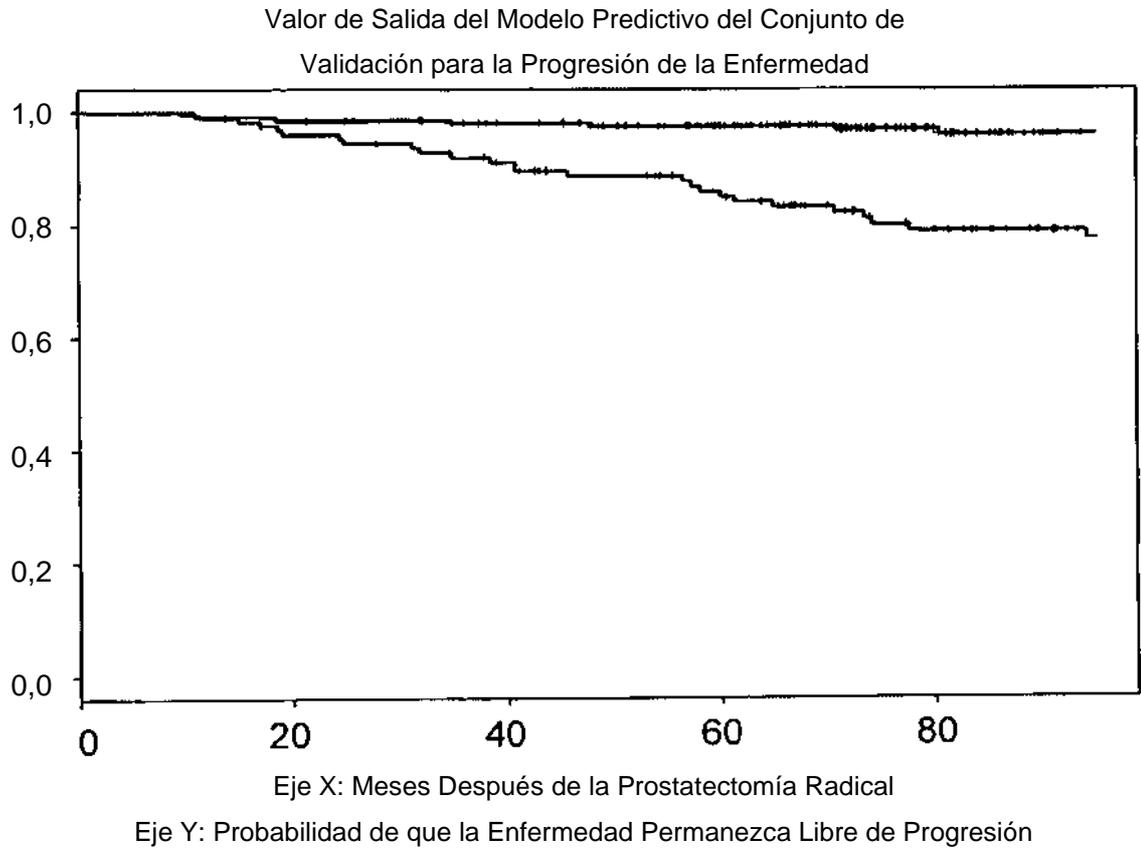


Figura 16

Ejemplo 2: Características Seleccionadas para la Predicción del Estadio Patológico Favorable (Enfermedad Indolente)

Característica	Valor de P Univariado	Peso en el Modelo
<u>Clinico</u>		
PSA preoperatorio	<0,001	-4,232
Puntuación de Gleason de la Biopsia	<0,001	-2,0031
<u>Molecular (Combinado)</u>		
Intervalo Dinámico del AR Combinado en bGG bajo, Ki67 Total en bGG Alto	<0,001	-0,3375
<u>Morfométrico</u>		
Área de los Núcleos Epiteliales Fuera de las Unidades de Glándulas	<0,001	-6,3303
Área de los Núcleos Epiteliales Dentro de las Unidades de Glándulas		
Área de los Núcleos Epiteliales Distribuidos Lejos de las Unidades de Glándulas	<0,001	-0,8374

Figura 17

Ejemplo 3, Estudio 1: Características Asociadas con la Capacidad de Respuesta a la
Terapia Hormonal y Tiempo Hasta la Progresión Clínica

Característica	Valor de P Univariado
<u>Molecular</u>	
Área del AR en las Células Epiteliales Tumorales AMACR (+)	<0,0001
Intervalo Dinámico de la Intensidad del AR en las Células Epiteliales Tumorales	<0,0001
<u>Morfométrico</u>	
Mediana del Área del Lumen	<0,01

Figura 18

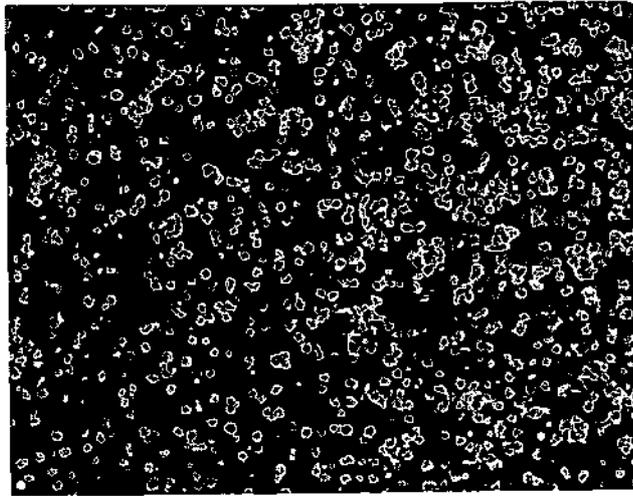


Figura 19A

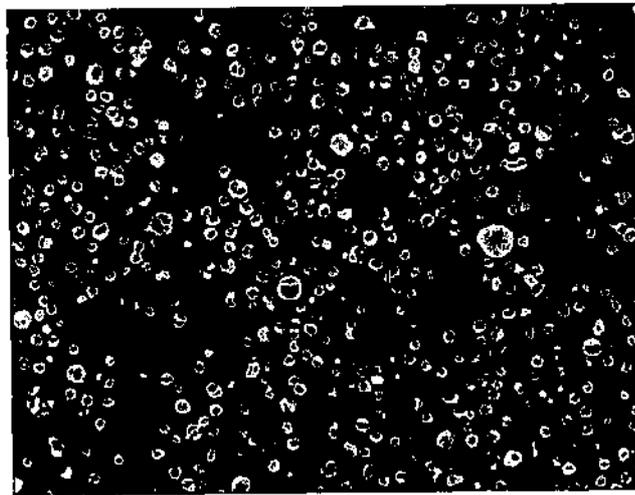


Figura 19B

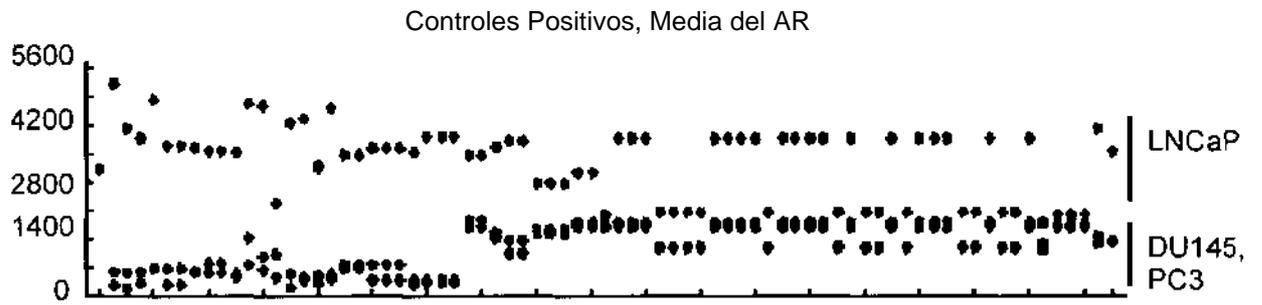


Figura 20A

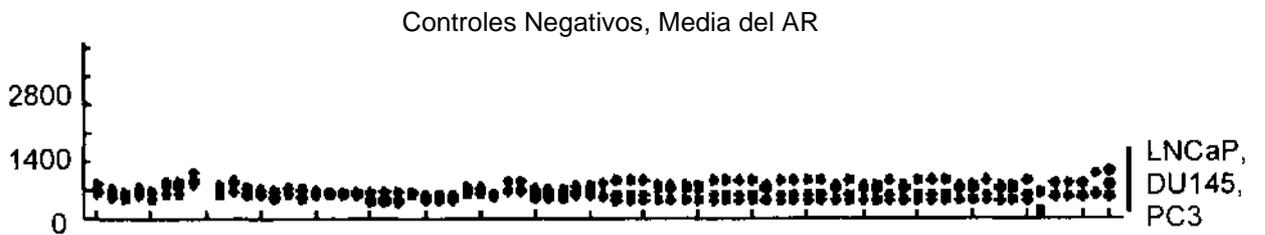


Figura 20B

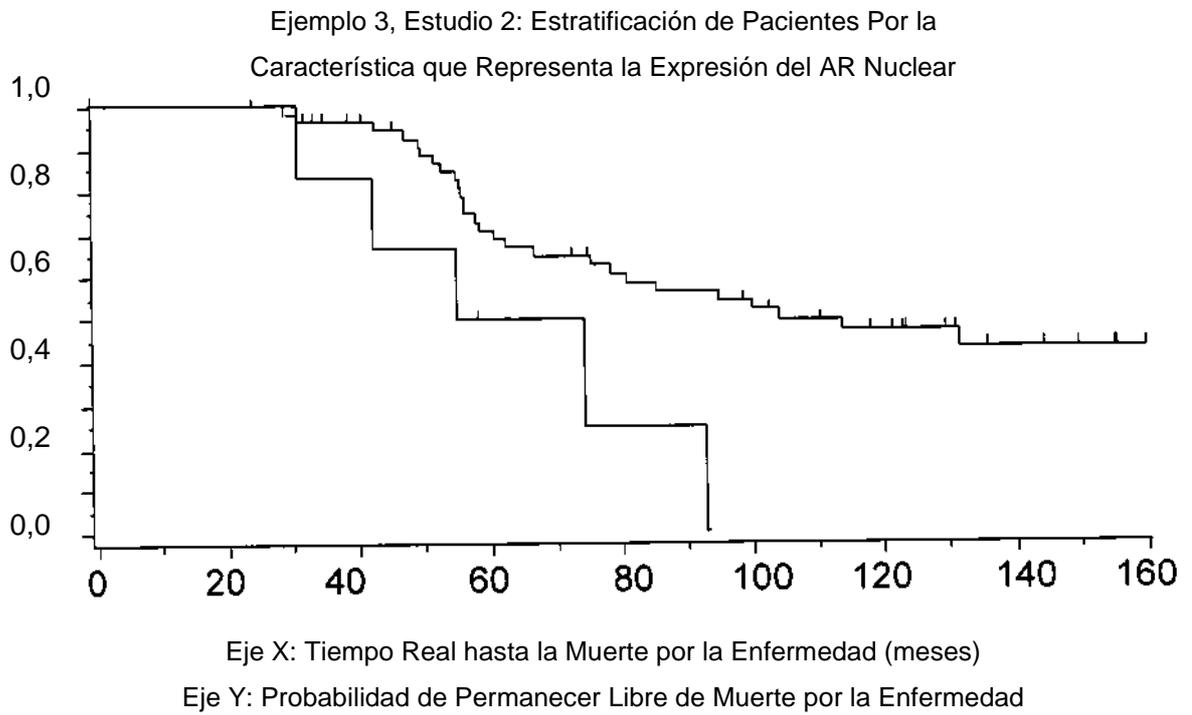


Figura 21