

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 013**

51 Int. Cl.:

G06T 7/00

(2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2014 PCT/EP2014/054004**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2014 WO14131904**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2014 E 14707398 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 2962280**

54 Título: **Medición automática de lesiones en imágenes médicas**

30 Prioridad:

01.03.2013 EP 13157488

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

31.05.2019

73 Titular/es:

**UNIVERSITÉ D'ANGERS (50.0%)
40 rue de Rennes
49000 Angers, FR y
CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE
D'ANGERS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CALÈS, PAUL;
CHAIGNEAU, JULIEN;
HUNAUULT, GILLES;
ROUSSELET, MARIE-CHRISTINE y
AUBÉ, CHRISTOPHE**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 715 013 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

Medición automática de lesiones en imágenes médicas.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al análisis de imágenes médicas. Más específicamente, la presente invención se refiere a un método automático para evaluar la presencia y/o gravedad de las lesiones en un órgano, en base al análisis computarizado de una imagen médica de este órgano.

10

Antecedentes de la invención

Todas las enfermedades crónicas hepáticas (causas: virus, alcohol, esteatosis metabólica...) se caracterizan por el desarrollo de lesiones hepáticas y el desarrollo de fibrosis hepática. Esta fibrosis hepática induce modificaciones en la arquitectura del hígado que son la fuente de complicaciones mayores responsables del aumento de la mortalidad. La fibrosis es progresiva y usualmente reversible.

15

La cuantificación de la fibrosis hepática es importante para determinar la gravedad de la enfermedad hepática, su pronóstico y la indicación del tratamiento. La referencia de cuantificación de la fibrosis hepática es un examen microscópico realizado por un patólogo hepático experto de un espécimen de hígado que usualmente se obtiene mediante una biopsia hepática (LB). La fibrosis hepática se clasifica de acuerdo con la LB en la puntuación semicuantitativa de fibrosis.

20

La clasificación Metavir es una de las clasificaciones más usadas. Clasifica la fibrosis hepática en cinco estadios desde F0 a F4, y el estadio F4 corresponde al estadio final de la cirrosis. La fibrosis se interpreta como clínicamente significativa cuando está en el estadio $F \geq 2$.

25

Actualmente la lectura convencional de la LB tiene límites. De hecho, estos sistemas de puntuación semicuantitativa de la fibrosis están limitados por la escasa reproducibilidad inter o intraobservador entre patólogos (Rousselet y otros, *Hepatology*, 2005, 41 (2): 257-264). La cuestión más importante con respecto al sistema de clasificación de los patólogos es que es subjetivo. El límite de la reproducibilidad deficiente puede evadirse parcialmente con la lectura de la LB por un experto. Sin embargo, un estudio reciente mostró que los expertos individuales no alcanzaron una reproducibilidad excelente, mientras que un panel de expertos parece ser la mejor referencia de lectura (Boursier y otros, *BMC Gastroenterol*, 2011, 11: 132).

30

35

Por lo tanto, el problema desafiante en patología es trabajar con centros expertos, con el riesgo probable de saturación. Además, hay una rarefacción o una creciente indisponibilidad de los patólogos.

40

Por lo tanto, existe la necesidad de un método de análisis de imágenes que sea automatizado y que permita por lo tanto la evaluación efectiva de la presencia y/o gravedad de una lesión en un órgano, tal como, por ejemplo, la presencia de fibrosis hepática o el pronóstico (puntuación indicativa de un mayor riesgo de mortalidad o de mortalidad hepática o de complicaciones hepáticas).

45

Los métodos de análisis de imágenes médicas se conocen en la técnica anterior.

Por ejemplo, la solicitud de patente de los Estados Unidos US 2012/226709 describe un método automatizado para identificar muestras de tejido prostático en una base de datos que está más cerca de una muestra para pruebas de la próstata para ayudar a los patólogos a diagnosticar el cáncer de próstata.

50

Además, la solicitud de patente internacional WO 2006/020627 describe un método para el diagnóstico automatizado de una enfermedad, específicamente de cáncer, en base a datos morfométricos extraídos de imágenes de tejido por un ordenador. Los ejemplos de datos morfométricos incluyen datos de dimensiones fractales, datos de ondículas y datos de histogramas de canales de color.

55

En el campo de la hepatología, se han descrito varios métodos de mediciones morfométricas de la fibrosis para describir sus características cuantitativas: entre los diferentes patrones, el área de la fibrosis es la característica principal. También se describieron las dimensiones fractales de la fibrosis, el perímetro y el tamaño de los elementos colagenosos. Por ejemplo, la patente europea EP 2 021 933 describe un método de diagnóstico in vitro computarizado para enfermedades hepáticas, que comprende medir en una imagen de biopsia hepática, parámetros de inflamación (tales como, por ejemplo, el área de tejido inflamatorio o el porcentaje de la superficie de la muestra de biopsia ocupada por el tejido inflamatorio) o parámetros de fibrosis (tales como, por ejemplo, dimensión fractal o área corregida del tejido fibrótico).

60

Sin embargo, estas técnicas publicadas proporcionan información cuantitativa, pero no están bien correlacionadas con el sistema de referencia diagnóstica de los patólogos, es decir, por ejemplo, en el campo de la hepatología, la puntuación de fibrosis del METAVIR con 5 clases (F0: ausencia de fibrosis; F1: fibrosis portal sin septos; F2: fibrosis portal con septos

65

raros; F3: numerosos septos sin cirrosis; F4: cirrosis) y el sistema de estadificación de Ishak con 7 clases basadas en fibrosis portal y septal y el grado de integridad de la cirrosis.

5 El documento WO2010/058295 describe un método para cuantificar un área de esteatosis hepática en un sujeto que comprende medir el contenido de grasa en una señal de MRI del hígado del sujeto y al menos un marcador biológico, puntuación de fibrosis o marcador clínico y combinar las medidas resultantes en una función matemática adecuada. Sin embargo, el método del documento WO2010/058295 específicamente tiene como objetivo cuantificar un área de esteatosis hepática, y solo comprende la medida de un descriptor de una señal de MRI.

10 A diferencia de los métodos de análisis de imagen actuales de la técnica anterior, los inventores desarrollaron en la presente descripción un método de diagnóstico capaz de determinar el curso de la fibrosis que está bien correlacionado con la clasificación del experto. Por lo tanto, desarrollaron una medición automatizada de muchos nuevos patrones morfométricos que describen cuantitativamente la información que necesitan los patólogos cuando hacen la estadificación de la fibrosis (F) del METAVIR. Todas estas medidas pueden usarse por lo tanto como complemento del diagnóstico óptico clásico según lo requerido por las condiciones locales de la práctica clínica. Además, el método de la invención comprende la combinación matemática de estos datos en una puntuación, lo que permite por lo tanto determinar el estadio del Metavir con una medida y cálculo automatizados o permitir el diagnóstico de fibrosis clínicamente significativa (CSF, METAVIR F \geq 2) y cirrosis (METAVIR F4), con excelente exactitud y reproducibilidad.

20 Resumen

La presente invención se refiere, por lo tanto, a un método implementado por ordenador para evaluar la presencia de una fibrosis clínicamente significativa en un órgano o tejido hepático de un sujeto a través del análisis automatizado de al menos una imagen de dicho órgano o tejido hepático, en donde dicho método comprende las etapas de:

25 a. medir en dicha al menos una imagen los siguientes descriptores de dicha al menos una imagen: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de Arancio, perímetro medio del hígado nativo, perímetro medio total del bazo y relación de la superficie del bazo a la superficie del hígado, en donde:

- 30 - el rango intercuartílico de densidad total se define como un descriptor de la estructura del hígado; y
- el grosor del surco de Arancio se define como un descriptor de la morfología interna del hígado que representa el área localizada entre el segmento I y el segmento II/III del lóbulo hepático izquierdo;

b. combinar matemáticamente dichos descriptores en una puntuación, en donde dicha combinación matemática es una regresión logística binaria; y

35 c. evaluar la presencia de fibrosis clínicamente significativa, en base al valor de la puntuación calculada en la etapa (b).

De acuerdo con la invención, dicha combinación matemática de la etapa (b) no consiste en una división de dos descriptores.

40 Los ejemplos de descriptores que pueden observarse con microscopía óptica o electrónica incluyen, pero no se limitan a, (a) la dimensión fractal de los bordes del órgano o fragmento del mismo, (b) el porcentaje de linealidad de los bordes, (c) la nodularidad de bordes curvados o irregulares del órgano (nodularidad de los bordes), (d) angularidad, (e) longitud del órgano o fragmento del mismo, (f) duración de una biopsia, tal como, por ejemplo, (g) duración de una biopsia hepática, (h) longitud del espécimen numérico, (i) altura del órgano, (j) perímetro del órgano o fragmento del mismo, (k) perímetro medio y (l) perímetro total nativo del órgano, (m) perímetro alisado del órgano, (n) relación entre los perímetros nativos y alisados, también denominada anfractuosidad, (o) perímetro más grande del órgano, (p) indentación del órgano, (q) área del órgano o fragmento del mismo, (r) porcentaje de granularidad, (s) fragmentación, (t) intensidad media de la imagen en el componente rojo, (u) intensidad media de la imagen en el componente verde, (v) intensidad media de la imagen en el componente azul, (w) área de fibrosis, (x) dimensión fractal de la fibrosis, (y) media del porcentaje de fibrosis alrededor de las áreas (es decir, porcentaje de nodularidad), (z) número de nódulos, (aa) número de nódulos con más del 30 % de fibrosis alrededor, (ab) área de esteatosis, (ac) área relativa de esteatosis, (ad) dimensión fractal de la esteatosis, (ae) área de fibrosis porto-septal, (af) fractal dimensión de la fibrosis porto-septal, (ag) área de la fibrosis perisinusoidal, (ah) dimensión fractal de la fibrosis perisinusoidal, (ai) área de la fibrosis perisinusoidal lobular, (aj) relación de la fibrosis perisinusoidal entre fibrosis completa (es decir, relación del área de fibrosis perisinusoidal), (ak) luminosidad de la tinción de la fibrosis en los componentes rojo, (al) verde y/o (am) azul, (an) luminosidad de la tinción del parénquima en los componentes rojo, (ao) verde y/o (ap) azul, (aq) contraste de luminosidad entre la fibrosis y el parénquima, (ar) contraste de luminosidad entre la fibrosis y el órgano o fragmento del mismo, (as) área de fibrosis estelar entre la superficie total del espécimen de la LB (es decir, toda el área de la fibrosis estelar), (at) área de fibrosis estelar entre la superficie de las regiones porto-septales (es decir, área portal de la fibrosis estelar), (au) área de la fibrosis estelar entre la superficie de las regiones lobulares (es decir, el área lobular de la fibrosis estelar), (av) número de regiones porto-septales; (aw) área media de la fibrosis estelar, (ax) área media de las regiones porto-septales, (ay) número de puentes, (az) relación de puentes entre las áreas porto-septales (es decir, relación portal de puentes), (ba) área de fibrosis en los puentes, (bb) grosor de los puentes, (bc) perímetro de los puentes, (bd) superficie de los puentes (es decir, área del puente), (be) distancia portal, y (cm) número de fragmentos.

65

En una modalidad de la invención, los descriptores medidos en la etapa (a) son descriptores que pueden observarse con la radiología. Los ejemplos de descriptores que pueden observarse con radiología incluyen, pero no se limitan a, (a) la dimensión fractal de los bordes del órgano o fragmento del mismo, (b) el porcentaje de linealidad de los bordes, (c) la nodularidad de los bordes curvos e irregulares del órgano (nodularidad de los bordes), (d) angularidad, (e) longitud del órgano o fragmento del mismo, (f) duración de una biopsia, tales como, por ejemplo, (g) duración de una biopsia hepática, (h) longitud del espécimen numérico, (i) altura del órgano, (j) perímetro del órgano o fragmento del mismo, (k) perímetro medio y (l) perímetro total nativo del órgano, (m) perímetro alisado del órgano, (n) relación entre los perímetros nativos y alisados, también denominada como antifractuosidad, (o) perímetro más grande del órgano, (p) indentación del órgano, (q) área del órgano o fragmento del mismo, (r) porcentaje de granularidad, (t) intensidad media de la imagen en el componente rojo, (u) intensidad media de la imagen en el componente verde, (v) intensidad media de la imagen en el componente azul, (ak) luminosidad de la tinción de la fibrosis en los componentes rojo, (al) verde y/o (am) azul, (an) luminosidad de la tinción del parénquima en los componentes rojo, (ao) verde y/o (ap) azul, (bf) proporción de grasa en el órgano (bg) proporción de grasa abdominal, (bh) hipertrofia del segmento I del hígado, (bi) superficie del segmento I, (bj) ancho del segmento IV del hígado, (bk) relación entre las dimensiones del segmento I y del segmento IV, (bl) grosor del surco, (bm) superficie del surco I, (bn) nodularidad interna en el hígado, (bo) diámetro de la vena porta, (bp) heterogeneidad de la intensidad de densidad, (bq) organización fractal del órgano, (br) densidad total media de la imagen, (bs) desviación estándar de la densidad total de la imagen, (bt) coeficiente de variación de la densidad total de la imagen, (bu) densidad total media de la imagen, (bv) rango intercuartílico de la densidad total de la imagen, (bw) relación entre el rango intercuartílico de la densidad total y media de la densidad total de la imagen, (bx) densidad media de una región de interés (ROI) en la imagen, (by) desviación estándar de la densidad de la ROI en la imagen, (bz) coeficiente de variación de la densidad de la ROI en la imagen, (ca) densidad de la ROI en la imagen, (cb) rango intercuartílico de la ROI densidad en la imagen, (cc) relación entre el rango intercuartílico de la densidad de la ROI y media de la densidad de la ROI en la imagen, (cd) superficie media del órgano o fragmento del mismo, (ce) superficie total del órgano o fragmento del mismo, superficie total media del órgano o fragmento del mismo, (cf) relación entre el perímetro del órgano y la superficie del órgano, (cg) relación entre la superficie del bazo y la superficie del hígado, (ch) relación entre el perímetro del bazo y el perímetro del hígado, (ci) relación entre la superficie del segmento I y la superficie del hígado, (cj) grosor del surco de Arancio, (ck) superficie del surco de Arancio, y (cl) grosor del surco portal.

En una modalidad, al menos una imagen es una imagen de sección histológica, con mayor preferencia una imagen de una sección histológica a partir de una muestra de biopsia de dicho órgano o tejido hepático; o una imagen de todo el órgano o tejido hepático, con mayor preferencia dicha imagen se recupera de manera no invasiva de un organismo vivo.

En una modalidad, al menos una imagen se obtiene mediante una técnica óptica, preferentemente imágenes físicas microscópicas, tales como, por ejemplo, microscopía electrónica, segunda generación armónica (SHG), imágenes multifotónicas, dispersión Raman anti-Stokes coherente (CARS), fluorescencia de excitación de dos fotones (TPEF), imágenes ópticas difusas o señales ópticas relacionadas con eventos.

En una modalidad, al menos una imagen se obtiene mediante una técnica no óptica, preferentemente seleccionada del grupo que comprende la radiografía, tales como, por ejemplo, rayos X, ultrasonografía, escáner computarizado, imágenes de resonancia magnética (MRI), imágenes de resonancia magnética funcional, tomografía, tomografía axial computarizada, tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único; y medicina nuclear, tales como por ejemplo, escintigrafía; métodos fotoacústicos; métodos térmicos; y la magnetoencefalografía.

De acuerdo con la invención, la combinación matemática de la etapa (b) es una regresión logística binaria.

De acuerdo con la invención, la lesión evaluada con el método de la invención es una fibrosis clínicamente significativa.

De acuerdo con la invención, el órgano o tejido es el hígado.

En una modalidad, la lesión es una fibrosis portal o una fibrosis perisinusoidal.

De acuerdo con la invención, la puntuación obtenida en la etapa (c) es una puntuación de diagnóstico indicativa de la presencia y/o de la gravedad de la fibrosis clínicamente significativa (fibrosis septal).

En una modalidad, el método de la invención comprende además medir en la etapa (a) al menos un marcador de prueba no invasivo, y combinar matemáticamente en la etapa (b) dicho al menos un marcador de prueba no invasivo con los descriptores en una puntuación.

En una modalidad, al menos un marcador de prueba no invasivo es un biomarcador, un dato clínico, un dato físico, preferentemente un dato obtenido por elastometría, con mayor preferencia con un Fibroscan™ y/o una puntuación, preferentemente seleccionada de ELF, FibroSpect™, APRI, FIB-4, Hepascore, Fibrotest™, FibroMeter™, CirrhoMeter™, CombiMeter™, InflaMeter™.

Por lo tanto, en una modalidad, el método de la invención comprende medir en la etapa (a) y combinar matemáticamente en una puntuación en la etapa (b) los siguientes descriptores: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de

Arancio, perímetro medio hepático nativo, perímetro medio total del bazo y la relación entre la superficie del bazo a la superficie del hígado, y la rigidez del hígado, preferentemente, obtenida por elastometría, con mayor preferencia con un Fibroscan™. En otra modalidad, el método de la invención comprende medir en la etapa (a) y combinar matemáticamente en una puntuación en la etapa (b) los siguientes descriptores: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de Arancio, perímetro medio del hígado nativo, perímetro medio total del bazo, y relación de la superficie del bazo a la superficie del hígado, y al menos uno de los índices de protrombina, alfa-2 macroglobulina y/o aspartato aminotransferasa, y rigidez hepática, preferentemente obtenida por elastometría, con mayor preferencia con un Fibroscan™.

Otro objeto de la invención es un dispositivo para implementar el método de la invención para evaluar la presencia de una fibrosis clínicamente significativa en un órgano o tejido hepático de un sujeto como se describió anteriormente en este documento, preferentemente dicho dispositivo es un microprocesador que comprende un algoritmo informático para realizar la combinación matemática de la etapa (b).

Definiciones

En la presente invención los siguientes términos tienen los siguientes significados:

- "Descriptor" se refiere a cualquiera de los datos generados por ordenador asociados con o derivados de una imagen de un órgano o tejido, tales como, por ejemplo, una imagen obtenida por microscopía o una imagen radiológica. En una modalidad, el descriptor es un descriptor morfológico. En una modalidad, el descriptor es un descriptor anatómico o fisiológico. Los ejemplos de datos generados por ordenador incluyen, pero no se limitan a, datos relativos a las propiedades estructurales del órgano o tejido (tal como, por ejemplo, su longitud), propiedades espectrales de la imagen del órgano o del tejido (tal como, por ejemplo, contraste o luminosidad), propiedades fractales del órgano o tejido, forma del órgano o tejido, y otras transformaciones de datos de imagen.
- "Lesión" se refiere a cualquier anomalía en un tejido u órgano de un organismo. En una modalidad de la invención, una lesión está causada por una enfermedad y, por consiguiente, puede denominarse como una "lesión patológica" descrita en anatomopatología.
- "Fibrosis" se refiere a una lesión, preferentemente una lesión patológica, hecha de tejido cicatrizado que incluye, pero no se limita a, proteínas o glicoproteínas fibrilares, tales como, por ejemplo, colágenos o proteoglicanos.
- "Esteatosis" se refiere a una lesión, preferentemente una lesión patológica, que resulta de la acumulación de lípidos, usualmente triglicéridos dentro de vacuolas de células.
- "Inflamación" se refiere a una respuesta estereotipada de un organismo a estímulos dañinos, involucrados en la inmunidad innata. Los signos clásicos de inflamación que pueden visualizarse incluyen, pero no se limitan a, enrojecimiento, hinchazón e infiltrados de células (por ejemplo, por macrófagos, células polinucleares de neutrófilos, linfocitos).
- "Puntuación" se refiere a cualquier valor de dígito obtenido por una prueba para evaluar la presencia y/o gravedad de una lesión, o un pronóstico, que involucre la combinación matemática de al menos un descriptor y/o un marcador de pruebas no invasivas. En una modalidad, una puntuación es un valor de dígitos, preferentemente un valor numérico no ligado. En otra modalidad, una puntuación es un valor de dígito ligado obtenido mediante una función matemática tal como, por ejemplo, una función logit. Preferentemente, una puntuación varía de 0 a 1. En una modalidad, los descriptores y/o marcadores de prueba no invasivos combinados matemáticamente en una puntuación son independientes, es decir, dan a cada uno una información que es diferente y no está vinculada a la información proporcionada por los demás.
- "Exactitud" de un método para evaluar la presencia y/o gravedad de una lesión en un órgano, o un pronóstico, se refiere a la proporción de sujetos correctamente evaluados por el método. En una modalidad donde el método de la invención implica un diagnóstico binario, la precisión del método puede evaluarse midiendo el porcentaje de sujetos correctamente diagnosticados o clasificados, y/o midiendo el AUROC (área bajo la característica del operador receptor), basado en la sensibilidad y especificidad, del método. En otra modalidad donde el método es para predecir la clase de una clasificación a la que pertenece un sujeto, la precisión del método puede evaluarse midiendo el acuerdo con la referencia, tal como el índice kappa ponderado que descarta el acuerdo de probabilidad esperada.
- "Aproximadamente" que precede a una cifra significa más o menos el 10 % del valor de dicha cifra.

Descripción detallada

La presente invención se refiere a un método implementado por ordenador para evaluar la presencia de una fibrosis clínicamente significativa en un órgano del hígado o tejido hepático de un sujeto mediante el análisis automatizado de al menos una imagen de dicho órgano del hígado o tejido hepático, en donde dicho método comprende las etapas de:

a. medir en dicha al menos una imagen los siguientes descriptores de dicha al menos una imagen: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de Arancio, perímetro medio del hígado nativo, perímetro medio total del bazo y relación de la superficie del bazo a la superficie del hígado, en donde:

- 5 - el rango intercuartílico de densidad total se define como un descriptor de la estructura del hígado; y
 - el grosor del surco de Arancio se define como un descriptor de la morfología interna del hígado que representa el área localizada entre el segmento I y el segmento II/III del lóbulo hepático izquierdo;

10 b. combinar matemáticamente dichos descriptores en una puntuación, en donde dicha combinación matemática es una regresión logística binaria; y

c. evaluar la presencia de fibrosis clínicamente significativa, en base al valor de la puntuación calculada en la etapa (b).

15 En una modalidad, el método de la presente invención también puede definirse por lo tanto como un método de morfometría automatizado, en donde morfometría se refiere a la medición cuantitativa de formas, figuras u otras características de un órgano o tejido en una imagen de dicho órgano o tejido.

20 En una modalidad, el método de la invención incluye una lesión prevista (la variable dependiente), que se predice mediante descriptores o variables explicativas, tales como, por ejemplo, marcadores de prueba no invasivos (variables independientes).

De acuerdo con la invención, el método está computarizado, lo que significa que el análisis de la imagen que lleva a una puntuación se realiza mediante un ordenador, sin la intervención de un operador humano.

25 La presente invención por lo tanto también se refiere a un dispositivo para implementar el método de la invención, tal como, por ejemplo, un software, o un microprocesador que comprende un algoritmo informático para realizar la combinación matemática de la etapa (b).

En una modalidad de la invención, al menos una imagen es una imagen electrónica o digital.

30 En una primera modalidad, la imagen electrónica o digital se recupera directamente después del examen médico. En una segunda modalidad, la imagen electrónica o digital es una imagen escaneada del resultado del examen médico.

35 En una primera modalidad, la imagen es una imagen bidimensional, tal como, por ejemplo, una imagen de sección histológica, preferentemente una imagen de una sección histológica de una muestra de biopsia de dicho órgano o tejido.

En una segunda modalidad, la imagen es una imagen tridimensional, tal como, por ejemplo, una imagen de un organismo, órgano o tejido completo, preferentemente recuperado de manera no invasiva de un organismo vivo.

40 En una modalidad de la invención, la imagen bidimensional es una imagen de una muestra de biopsia, tal como, por ejemplo, una imagen de una sección histológica de una biopsia. Como se usa en la presente descripción, el término "sección histológica" se refiere a un corte delgado de tejido aplicado a un portaobjetos microscópico. En otra modalidad, la imagen bidimensional corresponde a un corte de una imagen tridimensional, tal como, por ejemplo, un corte de una imagen de un organismo, órgano o tejido completo recuperado de manera no invasiva de un organismo vivo.

45 En una modalidad de la invención, la muestra de biopsia se transforma antes de que se lleve a cabo el método de la invención.

50 Los ejemplos de transformaciones que pueden aplicarse a la muestra de biopsia incluyen, pero no se limitan a, corte grueso del material de la biopsia; fijación, tal como, por ejemplo, por el método de tejido fijo con parafina, fijación con formalina o por sección congelada; corte delgado, tal como, por ejemplo, corte por microtomo; montaje en un portaobjetos microscópico; y/o tinción.

Los tipos de tinción aplicados en la sección histológica pueden depender del tejido u órgano y de la lesión a detectar.

55 En una modalidad de la invención, la muestra de biopsia es una muestra de biopsia hepática, y la sección histológica de dicha muestra de biopsia hepática se tiñe con pricosirio rojo. Esta tinción resalta la fibrosis en tejidos rojos y sanos en amarillo/naranja, mientras que la esteatosis permanece en blanco (es decir, ópticamente vacío).

60 En una modalidad de la invención, la sección histológica luego se escanea para obtener la imagen electrónica o digital que se analizará en el método de la invención. Un ejemplo no limitante de los parámetros de escaneo es mediante el uso de un procesador de imágenes digital Aperio con escáner de diapositivas (Scanscope CS System, Aperio Technologies, Estados Unidos) que proporciona imágenes de alta calidad de 30 000 x 30 000 píxeles a una resolución de 0,5 µm/píxel (ampliación x20).

65 En otra modalidad de la invención, la sección histológica se observa mediante una técnica óptica.

Los ejemplos de técnicas ópticas incluyen, pero no se limitan a imágenes físicas microscópicas, tales como, por ejemplo, microscopía electrónica, segunda generación armónica (SHG), imágenes multifotónicas, dispersión Raman anti-Stokes coherente (CARS), fluorescencia de excitación de dos fotones (TPEF), imágenes ópticas difusas o señales ópticas relacionadas con eventos, y la imagen resultante se recupera para que se analice en el método de la presente invención.

5 En una modalidad de la invención, al menos una imagen es una imagen de un órgano en un organismo vivo proporcionada por un método no invasivo. En una modalidad, la imagen es una imagen tridimensional recuperada en un organismo vivo mediante un método no invasivo.

10 En una modalidad, al menos una imagen es una imagen tridimensional, preferentemente una imagen de un órgano u organismo completo, con mayor preferencia, dicha imagen se recupera de manera no invasiva en un organismo vivo. De acuerdo con una modalidad, la imagen tridimensional tiene forma de varios cortes distantes de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 10 cm, preferentemente de aproximadamente 5 μm a aproximadamente 1 cm, y con mayor preferencia de aproximadamente 10 μm a aproximadamente 5 mm. En una modalidad, el análisis de imagen de cada una de las
15 imágenes de estos cortes se realiza como se describe para una imagen de sección histológica.

Los ejemplos de métodos, preferentemente de métodos no invasivos, que pueden usarse para recuperar una imagen de un órgano en un organismo vivo incluyen, pero no se limitan a, técnicas no ópticas.

20 Los ejemplos de técnicas no ópticas incluyen, pero no se limitan a, radiografía (tal como, por ejemplo, rayos X, ultrasonografía, tomografía, tomografía axial computarizada, imágenes de resonancia magnética (MRI), imágenes de resonancia magnética funcional, tomografía, tomografía axial computarizada, tomografía por emisión de positrones (PET) o (tomografía computarizada por emisión de fotón único); medicina nuclear (tal como, por ejemplo, escintigrafía); métodos fotoacústicos; métodos térmicos; y la magnetoencefalografía.

25 En una modalidad de la invención, al menos una imagen se obtiene mediante una técnica óptica.

En otra modalidad de la invención, al menos una imagen se obtiene mediante una técnica no óptica.

30 En una modalidad de la invención, la imagen se trata previamente antes de su análisis por el método de la invención. Los ejemplos de tratamiento previo incluyen, pero no se limitan a, compresión, transformación de la imagen en una imagen binaria, tales como, por ejemplo, una imagen en blanco y negro; eliminación de artefactos y similares.

35 El experto en la técnica es un especialista en análisis de imágenes de órganos y tejidos, y sabe qué artefactos deben eliminarse antes del análisis de la imagen. Los ejemplos de artefactos que pueden eliminarse de la imagen incluyen, pero no se limitan a, pliegues, polvo y, opcionalmente, vasos sanguíneos grandes, vías biliares grandes y similares. En una modalidad, el tratamiento previo de la imagen comprende la eliminación de áreas muy pequeñas, consideradas como ruido, eliminación de los vasos que rodean la fibrosis, eliminación de regiones no redondas, tales como por ejemplo, vías biliares, o eliminación de regiones heterogéneas, tales como, por ejemplo, los vasos sanguíneos.

40 En una modalidad, el tratamiento previo de la imagen comprende detectar el fondo blanco de la imagen para que no se tenga en cuenta en el análisis.

45 En una modalidad de la invención, para facilitar el intercambio y el almacenamiento de imágenes, éstas pueden comprimirse, tal como, por ejemplo, mediante el uso de un software JPEG2000.

La descripción de estos descriptores y los ejemplos de métodos para medirlos se proporcionan a continuación.

50 El análisis de los bordes de un órgano o de un fragmento del mismo es un descriptor importante para evaluar la presencia y/o gravedad de una lesión o para diagnosticar una enfermedad para un pronóstico.

Un ejemplo no limitante de un método para medir la linealidad del borde se muestra a continuación. Primero, los bordes de los órganos o fragmentos de los mismos se detectan, lo que lleva a una máscara ($MASK_{EDGE}$). Luego, se aplica la transformada de Hough para detectar líneas rectas en $MASK_{EDGE}$ (Duda y otros, Comm ACM, 1972, 15: 11-15), lo que
55 lleva a una máscara llamada $MASK_{HOUGH}$ que contiene solo los bordes de la máscara detectados como rectos por la transformada de Hough. En paralelo, una máscara recta $MASK_{RECT}$ se crea a partir de la máscara de borde ($MASK_{EDGE}$), mediante el uso de un detector Harris (Harris y otros, Proceedings of the 4th Alvey Vision Conference, 1988:147-151). Por lo tanto, $MASK_{RECT}$ representa los bordes de $MASK_{EDGE}$ que son comunes con esta máscara teórica recta. Luego, se obtiene una tercera máscara mediante la combinación de ambas máscaras anteriores: $MASK_{RECTCOMB}$ ($MASK_{RECTCOMB} =$
60 $MASK_{HOUGH} + MASK_{RECT}$). $MASK_{RECTCOMB}$ por lo tanto, contiene todos los bordes rectos del órgano, tejido o fragmento del mismo. Los descriptores asociados con la linealidad del borde son, por lo tanto, los siguientes:

65 \circ Dimensión fractal de los bordes (DF_{EDGE}): se refiere a la dimensión fractal de los bordes del órgano, tejido o fragmento del mismo en $MASK_{EDGE}$. Los métodos para determinar las dimensiones fractales se conocen bien por los expertos en la técnica. Los ejemplos de tales métodos incluyen, pero no se limitan al, método de "conteo de cajas" (Moal y otros, Hepatology, 2002, 36: 840-849).

◦ El porcentaje de linealidad de los bordes (*PCT_RECT*): se determina de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$PCT_RECT = Pix_{MaskRectComb} / Pix_{MaskEdge} * 100$$

5 en donde $Pix_{MaskRectComb}$ es el número de píxeles de $MASK_{RECTCOMB}$ y $Pix_{MaskEdge}$ es el número de píxeles de $MASK_{EDGE}$.

Para medir la longitud del órgano, tejido o fragmento del mismo en la imagen, puede usarse una máscara obtenida después de la eliminación de los artefactos ($MASK_{ORGAN}$): se aplica una operación morfológica (esqueletización) y se obtiene un esqueleto del órgano, tejido o fragmento del mismo. Luego, pueden eliminarse las pequeñas ramificaciones para mantener el esqueleto principal ($MASK_{SKELETON}$) que representa la longitud del órgano.

$$ORGAN_LENGTH = Pix_{ORGAN_SKELETON} * IM_{Resolution} * R_{SCALE}$$

15 en donde $Pix_{ORGAN_SKELETON}$ es el número de píxeles que representa la longitud del órgano en $MASK_{ORGAN}$, $IM_{Resolution}$ es la resolución de la imagen escaneada y R_{SCALE} es el factor de escala usado para redimensionar la imagen.

Pueden realizarse las mismas operaciones para medir la longitud de una muestra de biopsia ($BIOPSY_LENGTH$), tales como, por ejemplo, la duración de una biopsia hepática (LB_LENGTH), o para medir la longitud de un espécimen numérico (N_LENGTH).

20 De acuerdo con la invención, la etapa (a) del método de la invención comprende medir el perímetro del órgano, tejido o fragmento del mismo. La medida del perímetro del órgano, tejido o fragmento del mismo ($ORGAN_PERIMETER$) puede comprender detectar, preferentemente detectar automáticamente los bordes de los fragmentos en el espécimen del órgano y, mediante el uso de la máscara $MASK_{EDGE}$ (ver más arriba), calcular el perímetro como sigue:

$$ORGAN_PERIMETER = Pix_{MaskEdge} * IM_{Resolution} * R_{SCALE}$$

25 en donde $Pix_{MaskEdge}$ es el número de píxeles de $MASK_{EDGE}$, $IM_{Resolution}$ es la resolución de la imagen escaneada (preferentemente aproximadamente 0,5 μm) y $R_{SCALE} = 4$ es el factor de escala usado para redimensionar la imagen.

30 La medida del área del órgano, tejido o fragmento del mismo ($ORGAN_AREA$) puede comprender detectar, preferentemente detectar automáticamente, los bordes de los fragmentos en el espécimen del órgano o muestra de tejido y, gracias a la máscara $MASK_{EDGE}$ (ver más arriba), calcular el área como sigue:

$$35 \quad ORGAN_AREA = Pix_{MASK_ORGAN} * IM_{Resolution}^2 * R_{SCALE}^2$$

en donde Pix_{MASK_ORGAN} es el número de píxeles del área total del espécimen del órgano o fragmento del mismo, $IM_{Resolution}$ es la resolución de la imagen escaneada (preferentemente aproximadamente 0,5 μm) y $R_{SCALE} = 4$ es el factor de escala usado para redimensionar la imagen.

40 La medida del porcentaje de granularidad ($PCT_GRANULARITY$) tiene como objetivo cuantificar el deterioro de la estructura (es decir, la desestructuración) de un órgano o tejido debido a la presencia de una lesión. $PCT_GRANULARITY$ es la relación entre el número de fragmentos sin desestructuración y el número de gránulos obtenidos en estos fragmentos después de la desestructuración por áreas porto-septales:

$$45 \quad PCT_GRANULARITY = 100 - (NB_FRAG / Nb_Granules * 100)$$

en donde NB_FRAG es el número de fragmentos en el área analizada y $Nb_Granules$ es el número de gránulos obtenidos en estos fragmentos.

50 Un espécimen de órgano o tejido a veces está fragmentado, en dependencia de la presencia de lesiones. Una máscara obtenida después de la eliminación de los artefactos ($MASK_{ORGAN}$) puede usarse para medir dicha fragmentación: la detección en esta máscara de pequeños fragmentos conduce a otra máscara: $MASK_{FRAG_SMALL}$.

55 El índice de fragmentación es la relación entre la superficie de los pequeños fragmentos detectados y la superficie total del espécimen del órgano:

$$INDEX_FRAGMENTATION = Pix_Mask_Frag_Small / Pix_Mask_Frag * 100$$

60 en donde Pix_Mask_Frag es el número de píxeles en $MASK_{ORGAN}$ y $Pix_Mask_Frag_Small$ el número de píxeles en $MASK_{FRAG_SMALL}$.

La intensidad de la luminosidad de la imagen se calcula al promediar todas las intensidades de píxeles. Los descriptores correspondientes a la intensidad media para cada componente pueden medirse: ILbR (intensidad media de la imagen en

el componente rojo), ILbG (intensidad media de la imagen en el componente verde) e IlbB (intensidad media de la imagen en el componente azul).

5 Cuando la lesión es la fibrosis, pueden evaluarse los siguientes descriptores: Área de fibrosis (AOF) es igual a la relación de píxeles de fibrosis dividida por el número de píxeles en el área estudiada:

$$AOF = Pix_{FIB} / Pix_{MASK_PBH} * 100$$

10

en donde Pix_{FIB} es el número de píxeles de fibrosis y Pix_{MASK_PBH} es el número de píxeles del área estudiada.

15

Cuando el descriptor es un dato relativo a las propiedades fractales del órgano o tejido, la dimensión fractal puede medirse mediante el uso del método de "conteo de cajas" (Moal y otros, Hepatology, 2002, 36: 840-849). El método de conteo de cajas proporciona la dimensión fractal de Kolmogorov (D). La técnica se ha presentado en detalles para estructuras biológicas. Brevemente, una cuadrícula de cajas cuadradas (con ϵ píxeles como la longitud lateral) que se asemeja a un tablero de ajedrez se superpone sobre la imagen histológica de la fibrosis umbral. Se cuentan las cajas que se intersectan con las fibras de colágeno. Luego se usa otra cuadrícula de tablero de ajedrez para cubrir toda la superficie del campo microscópico. Por lo tanto, el número total (N) de cajas de los lados (ϵ) requeridas para cubrir completamente las fibras de colágeno reflejan el perímetro examinado con la relación de escala e. Esta etapa se puede repetir con ϵ que varía hasta un tamaño de aproximadamente 14 píxeles, y los datos se trazan en un gráfico log-log (es decir, $\log [N]$ contra $\log [\epsilon]$). La relación entre los puntos se mide mediante análisis de regresión lineal mediante el uso del método de los cuadrados mínimos; la pendiente D_F de la línea de regresión corresponde a la dimensión fractal de la fibrosis D_F .

20

25

Los nódulos son el resultado de la alteración de la fibrosis que rodea las regiones del tejido (parénquima), que puede definirse como un área circular y no fibrótica (sin septos fibrosos dentro) rodeada por fibrosis. Pueden medirse dos descriptores asociados con la presencia de nódulos: el porcentaje de nodularidad, es decir, la media del porcentaje de fibrosis alrededor de las áreas (PCT-NOD) y el número de nódulos (NB_NOD). La medida de PCT-NOD se lleva a cabo de la misma manera que PCT_GRANULARITY (véase más adelante), en donde solo se conservan los gránulos circulares. Los nódulos no siempre son perfectamente redondos, por lo tanto, los gránulos que tienen una circularidad de al menos aproximadamente 0,3, preferentemente al menos aproximadamente 0,4, con mayor preferencia al menos aproximadamente 0,45 pueden considerarse nódulos. Entre los gránulos redondos o bastante redondos, aquellos que tienen al menos aproximadamente el 10 %, preferentemente al menos aproximadamente el 20 %, con mayor preferencia al menos aproximadamente el 30 % de fibrosis alrededor (es decir, al menos aproximadamente el 10, 20 o 30 % del borde externo) pueden considerarse nódulos. Finalmente, se obtiene una máscara con regiones que tienden hacia la nodularidad ($MASK_{NOD}$). Los descriptores asociados a la medida de los nódulos son los siguientes:

30

PCT_NOD = media del porcentaje de fibrosis alrededor de las áreas en $MASK_{NOD}$.

NB_NOD = número de nódulos en $MASK_{NOD}$ con más del 80 % de fibrosis alrededor.

35

De acuerdo con la invención, el órgano es el hígado y la lesión es la fibrosis.

40

45

La fibrosis puede comenzar en la región centro-lobular (enfermedad hepática alcohólica) y/o en la periferia del lóbulo hepático o alrededor del tracto portal (enfermedad hepática viral). Esta fibrosis crece gradualmente para formar bandas de fibrosis, o septos, llamada fibrosis septal. Esta fibrosis septal se extiende entre el tracto portal o entre el tracto portal y la región centro-lobular. El estadio de la cirrosis ocurre cuando estos septos diferentes rodean completamente a los hepatocitos. Cuando los patólogos evalúan el estadio del Metavir, su juicio se basa en la fibrosis porto-septal. La otra forma de fibrosis se localiza entre las hileras de hepatocitos y sinusoides, el equivalente de los capilares en el hígado, es decir, en el espacio intercelular donde hay muchos intercambios metabólicos del hígado. Esto se llama la fibrosis perisinusoidal. Aunque no se tiene en cuenta en las puntuaciones de fibrosis en el uso clínico, esta fibrosis es importante debido a que tiene un papel clave en la génesis de la insuficiencia hepática y la hipertensión portal. Los inventores desarrollaron por lo tanto una máscara ($MASK_{PORT}$) que permite distinguir la fibrosis porto-septal y perisinusoidal. Como la creación de esta máscara requiere un gran número de tratamientos morfométricos (en relación con las erosiones, las dilataciones, el tamaño de las áreas de fibrosis...), las dimensiones de la imagen pueden reducirse.

50

55

En una modalidad de la invención, la imagen se trata previamente mediante al menos uno, preferentemente ambas, de las siguientes etapas: (i) la fibrosis perisinusoidal se encuentra entre las hileras de hepatocitos; por lo tanto, en una modalidad, la fibrosis perisinusoidal se elimina mediante la detección de los hepatocitos que tienen la intensidad del tejido sano; (ii) con respecto a las venas y los vasos, si su diámetro es menos de aproximadamente 500 μm , preferentemente menos de aproximadamente 350 μm , con mayor preferencia menos de aproximadamente 200 μm y si la fibrosis es pequeña en comparación con su tamaño, no se consideran en $MASK_{PORT}$, y sus paredes se excluyen automáticamente en el área de la fibrosis perisinusoidal.

60

65

En una modalidad, como las regiones porto-septales tienen mucha fibrosis, los elementos de fibrosis con grandes áreas se consideran en la $MASK_{PORT}$. En otra modalidad, la dimensión fractal de la fibrosis en estas regiones es un criterio adicional para determinar si estas regiones están en $MASK_{PORT}$. En una modalidad, las regiones delgadas (pequeña relación entre el perímetro del área y su superficie) con nodos (puntos de interconexión en los filamentos de fibrosis), que es un signo de formas ramificadas como se observa en la fibrosis perisinusoidal, no se consideran fibrosis porto-septal.

Los ejemplos de descriptores que evalúan la fibrosis porto-septal y/o perisinusoidal son los siguientes:

- Área de fibrosis porto-septal (AO_FPORT) que pueden evaluarse mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$AO_FPORT = Pix_{PORT} / Pix_{MASK_LB} * 100$$

en donde Pix_{PORT} es el número de píxeles de fibrosis porto-septal y Pix_{MASK_LB} es el número de píxeles del área total del espécimen de la LB.

- Dimensión fractal de la fibrosis porto-septal (DF_FPORT): la dimensión fractal de la fibrosis porto-septal puede medirse de acuerdo con el método ya descrito para medir la dimensión fractal de la fibrosis (ver más arriba).
- Área de fibrosis perisinusoidal (AO_FPS) que puede evaluarse mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$AO_FPS = Pix_{FPS} / Pix_{MASK_LB} * 100$$

en donde Pix_{FPS} es el número de píxeles de fibrosis perisinusoidal y Pix_{MASK_LB} es el número de píxeles del área total del espécimen de la LB.

- Dimensión fractal de la fibrosis perisinusoidal (DF_FPS): la dimensión fractal de la fibrosis perisinusoidal puede medirse de acuerdo con el método ya descrito para medir la dimensión fractal de la fibrosis (ver más arriba).
- Área de fibrosis perisinusoidal lobular (AO_FPS_LOB) que puede evaluarse mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$AO_FPS_LOB = Pix_{FPS} / (Pix_{MASK_LB} - Pix_{Mask_Port}) * 100$$

en donde Pix_{FPS} es el número de píxeles de fibrosis perisinusoidal, Pix_{MASK_LB} es el número de píxeles del área total del espécimen de la LB y Pix_{Mask_Port} es el número de píxeles del área porto-septal.

- Relación de fibrosis perisinusoidal entre la fibrosis total ($RATIO_FPS$) correspondiente a la siguiente relación:

$$RATIO_FPS = Pix_{FPS} / Pix_{FIB_TOT} * 100$$

en donde Pix_{FPS} es el número de píxeles de fibrosis perisinusoidal y Pix_{FIB_TOT} es el número de píxeles que representan toda la fibrosis (fibrosis porto-septal y perisinusoidal).

Como la calidad de la coloración también puede considerarse insuficiente si la intensidad de la fibrosis está cerca de la intensidad del parénquima o de la LB (es decir, si solo hay un contraste leve entre la fibrosis y el parénquima o LB), se desarrollaron los descriptores que evalúan dicho contraste: contraste de luminosidad entre la fibrosis y el parénquima ($Contrast_Fib_Parenchyma$) y contraste de luminosidad entre la fibrosis y el órgano, tejido o fragmento del mismo ($Contrast_Fib_Lb$). Estos se miden como sigue:

$$Contrast_Fib_Parenchyma = \sqrt{(|parenchymaR - IfibR|^2 + |parenchymaG - IfibG|^2 + |parenchymaB - IfibB|^2)}$$

$$Contrast_Fib_Lb = \sqrt{(|LbR - IfibR|^2 + |LbG - IfibG|^2 + |LbB - IfibB|^2)}$$

La fibrosis estelar puede definirse como patrones de fibrosis con fibrillas pequeñas y finas alrededor de un área más densa. La fibrosis estelar usualmente aparece alrededor del tracto portal. Por lo tanto, la fibrosis estelar puede evaluarse mediante el uso de los siguientes descriptores: área de fibrosis estelar entre la superficie total del espécimen de la LB ($AOF_STELLAR_TOT$), área de fibrosis estelar entre la superficie de las regiones porto-septales ($AOF_STELLAR_EP$) y área de fibrosis estelar entre la superficie de las regiones lobulares ($AOF_STELLAR_LOB$); número de regiones porto-septales (NB_PORT); área media de la fibrosis estelar ($MEAN_STELLAR_PORT$) y el área media de las regiones porto-septales ($MEAN_AO_PORT$). Los descriptores que evalúan la fibrosis estelar son los siguientes:

$$AOF_STELLAR_TOT = Pix_Fib_Stellar / Pix_{MASK_LB} * 100$$

$$AOF_STELLAR_EP = Pix_Fib_Stellar / Pix_{Mask_Port} * 100$$

$$AOF_STELLAR_LOB = Pix_Fib_Stellar / (Pix_{MASK_LB} - Pix_{Mask_Port}) * 100$$

$$MEAN_STELLAR_PORT = Pix_Fib_Stellar / NB_PORT$$

$$MEAN_AO_PORT = Pix_{Mask_Port} / NB_PORT$$

en donde $Pix_Fib_Stellar$ es el número de píxeles detectados como fibrosis estelar, Pix_{MASK_LB} es el número de píxeles del área total en el espécimen de biopsia hepática, Pix_{Mask_Port} es el número de píxeles del área porto-septal en $MASK_{PORT}$ y NB_PORT es el número de regiones porto-septales en $MASK_{PORT}$.

Como se usa en la presente descripción, un puente se refiere a una situación donde dos tractos portales se interconectan. Un puente puede definirse por lo tanto como una estructura que se encuentra entre dos elementos gruesos. Para evaluar la fibrosis en puente, se pueden medir los siguientes descriptores: número de puentes (NB_BRIDGE), relación de puentes entre las áreas porto-septales ($RATIO_BRIDGE$), área de fibrosis en los puentes (AOF_BRIDGE), grosor de los puentes ($MEAN_THICK_BRIDGE$), perímetro de los puentes ($MEAN_PERIM_BRIDGE$) y superficie de los puentes ($MEAN_SURF_BRIDGE$).

NB_BRIDGE es el número de puentes en $MASK_{BRIDGE}$

$$RATIO_BRIDGE = Pix_Mask_Bridge / Pix_Mask_Port * 100$$

$$AOF_BRIDGE = Pix_Fib_Bridge / PixMASK_LB * 100$$

en donde Pix_Mask_Port es el número de píxeles en $MASK_{PORT}$, Pix_Mask_Bridge es el número de píxeles en $MASK_{BRIDGE}$, Pix_Fib_Bridge es el número de píxeles de fibrosis en los puentes, y $PixMASK_LB$ es el número de píxeles del área total en el espécimen de la LB. $MEAN_THICK_BRIDGE = MEAN_SURF_BRIDGE / MEAN_PERIM_BRIDGE * 100$ en donde $MEAN_SURF_BRIDGE$ es la media de píxeles que representa la superficie de los puentes y $MEAN_PERIM_BRIDGE$ es la media de píxeles que representa el perímetro de los puentes.

A medida que la distancia entre el tracto portal tiende a reducirse cuando la fibrosis progresa, se desarrollaron descriptores que evalúan la distancia portal: NB_FRAG es el número de fragmentos en $MASK_{LB}$ y Nb_EP_n es el número de regiones porto-septales presentes en el fragmento n (en donde n varía entre 1 y NB_FRAG). Para cada fragmento n , se mide la distancia mínima $Dmin_n$ entre todas las regiones porto-septales presentes en $MASK_{PORT}$. $Dmoy_n$ es la distancia promedio entre las regiones en el fragmento porto-septal n .

$$Dmoy_n = Dmin_n / (Nb_EP_n - 1).$$

La distancia promedio entre las regiones porto-septales para todos los fragmentos se llama $DIST_EP_MEAN$:

$$DIST_EP_MEAN = (Dmoy_{1+} + Dmoy_{2+} + \dots + Dmoy_{NB_FRAG}) / NB_FRAG.$$

Cuando la imagen es una imagen tridimensional, tal como, por ejemplo, una imagen de un órgano completo, los ejemplos de descriptores que pueden medirse incluyen:

- Descriptores de morfología externa:

◦ La característica de anfractuosidad se evalúa con los siguientes descriptores:

▪ perímetro medio ($MEAN_NAT_ORGAN_PERIMETER$) y total nativo del órgano ($TOT_NAT_ORGAN_PERIMETER$). En particular, cuando el órgano es el hígado, pueden medirse el perímetro medio del hígado nativo ($MNLP$) y el perímetro total del hígado nativo. En otra modalidad, cuando el órgano es el bazo, puede medirse el perímetro total del bazo (TSP) y el perímetro medio total del bazo ($MTSP$),

▪ perímetro alisado del órgano ($SMOOTH_ORGAN_PERIMETER$). En una modalidad donde el órgano es el hígado, puede medirse por lo tanto el perímetro total del hígado alisado,

▪ relación entre los perímetros nativos y alisados ($RATIO_ORGAN_PERIMETER$), tal como, por ejemplo, la relación entre los perímetros totales del hígado nativo y alisado (que puede abreviarse $RNSTLP$).

◦ el perímetro más grande del órgano ($LARGEST_ORGAN_PERIMETER$), tal como, por ejemplo, el perímetro más grande del hígado,

◦ superficie media del órgano, tal como, por ejemplo, superficie media del hígado,

◦ superficie (o área) total y superficie (o área) media total del órgano, tales como, por ejemplo, superficie total del hígado, superficie total del bazo o superficie media total del bazo,

◦ relación entre el perímetro del órgano y la superficie del órgano, tal como, por ejemplo, la relación entre el perímetro del hígado y la superficie del hígado ($RLPS$),

◦ indentación del órgano ($ORGAN_INDENTATION$), tal como, por ejemplo, indentación del hígado,

◦ altura ($ORGAN_HEIGHT$), tal como, por ejemplo, la altura del hígado o la altura del bazo,

◦ dimensión fractal de los bordes del órgano (DF_EDGE), tales como, por ejemplo, dimensión fractal de los bordes del hígado o dimensión fractal media de los bordes del bazo,

◦ nodularidad de los bordes curvos e irregulares del órgano ($ORGAN_NODULARITY$), tales como, por ejemplo, nodularidad hepática o nodularidad de los bordes del bazo,

◦ angularidad (que representa los ángulos presentes en los bordes); ($ORGAN_ANGULARITY$), tal como, por ejemplo, la angularidad del hígado.

◦ De acuerdo con la invención, los descriptores relacionados con el hígado y el bazo pueden combinarse matemáticamente. Por ejemplo, la relación de las superficies del bazo/hígado ($RSLs$) se mide en la etapa (a) del método de la invención.

- Descriptores de morfología interna:

- Hipertrofia del segmento I del hígado (uno) (LIVER_HYPERTROPHY) que se observa en las altas etapas de fibrosis del Metavir. Los expertos en la técnica conocen los métodos para medir la hipertrofia, y en los ejemplos se muestra un método particular para medir la hipertrofia. Brevemente, dicho método incluye, el uso de la vena cava inferior como un punto de referencia, midiendo 2 longitudes antero-posteriores ($D1$ y $D3$), 2 longitudes transversales ($D2$ y $D4$) y la superficie del segmento I ($Surf_S1$)
- ancho del segmento IV del hígado ($WIDTH_S4$),
- relación entre el segmento I y la superficie del hígado ($RS1LS$),
- relación entre las dimensiones del segmento I y del segmento IV ($RATIO_S1_S4$),
- grosor del surco (D_F1),
- superficie del surco I ($Surf_F1$),
- nodularidad interna en el hígado (LIVER_NODULARITY),
- diámetro de la vena porta ($PORT_DIAMETER$),
- grosor del surco de Arancio (PFT),
- superficie del surco de Arancio, y
- grosor del surco portal.

Como se usa en la presente descripción, un surco se refiere a un área anatómica con una longitud alta y un ancho pequeño localizado entre dos partes del hígado. Otros nombres de surcos son: cisuras y a veces ligamentos. En la cirrosis hepática, debido a la atrofia del parénquima, los surcos se amplían y se llenan de grasa. Por lo tanto, como la grasa es muy visible (negro en la tomografía), son descriptores prominentes de la cirrosis hepática en los exámenes radiológicos, especialmente la tomografía. El surco también puede separar dos lóbulos o segmentos del hígado. En la presente invención, el surco de Arancio representa el área localizada entre el segmento I y el segmento II/III del lóbulo hepático izquierdo (Figura 19). Otros nombres del surco de Arancio son: ligamento venoso o ligamento venoso de Arancio.

- Estructura del órgano:

- densidad total media, desviación estándar de la densidad total (SDTD), coeficiente de variación de la densidad total, densidad total media, rango intercuartílico de la densidad total (IQRTD), relación entre el rango intercuartílico de la densidad total y la densidad total media,
- para una región de interés (ROI) en la imagen: densidad media de la región de interés (ROI), desviación estándar de la densidad de la ROI (SDROID), coeficiente de variación de la densidad de la ROI, densidad media de la ROI, rango intercuartílico de la densidad de la ROI y relación entre el rango intercuartílico de la densidad de la ROI y la densidad media de la ROI,
- heterogeneidad de la intensidad de la densidad (HETEROGENEITY),
- Organización fractal del órgano (ORGAN_FRACT).

En los ejemplos se muestran ejemplos no limitantes de métodos que pueden usarse para medir estos descriptores de imágenes tridimensionales.

De acuerdo con la invención, el órgano o tejido es susceptible de comprender la fibrosis. Los ejemplos de órganos o tejidos susceptibles de comprender fibrosis incluyen, pero no se limitan a, hígado, piel, corazón, pulmón, riñón, tripa, intestino, páncreas, médula ósea, articulaciones y tejidos blandos, tales como, por ejemplo, tejidos blandos del mediastino o tejido blando del retroperitoneo.

De acuerdo con la invención, el órgano o tejido es el hígado, y la lesión se relaciona preferentemente con una enfermedad hepática. Los ejemplos de lesiones hepáticas incluyen, pero no se limitan a, fibrosis hepática, cirrosis, esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Los ejemplos de enfermedades hepáticas incluyen, pero no se limitan a, enfermedades hepáticas agudas y enfermedades hepáticas crónicas. Los ejemplos específicos de enfermedades hepáticas que pueden causar lesiones al hígado incluyen, pero no se limitan a, hepatitis C viral crónica, hepatitis B viral crónica, hepatitis D viral crónica, hepatitis E viral crónica, enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad del hígado graso alcohólico, hepatitis autoinmune, hemocromatosis, enfermedad de Wilson y trastorno metabólico adquirido o heredado.

En una modalidad de la invención, el sujeto es un animal, preferentemente un mamífero, tal como, por ejemplo, una rata o una mascota, tal como, por ejemplo, un gato o un perro. De acuerdo con una modalidad preferida, el sujeto es un ser humano. En una modalidad de la invención, el ser humano es un hombre, una mujer o un niño.

De acuerdo con una modalidad, el sujeto, que incluye un ser humano, está en riesgo de presentar una lesión hepática; o presenta una lesión hepática. En una modalidad, dicho riesgo puede corresponder a una predisposición familiar a las lesiones, a una predisposición genética a las lesiones, o a una exposición ambiental a compuestos o afecciones que promueven la aparición o el desarrollo de lesiones.

De acuerdo con la invención, la lesión es la fibrosis.

Las lesiones de fibrosis se pueden distinguir de acuerdo con su origen en diferentes patrones. Por lo tanto, en una modalidad, la lesión incluye fibrosis, tal como, por ejemplo, fibrillas o septos.

Además, los patrones de fibrosis también se pueden distinguir de acuerdo con su desarrollo.

Por lo tanto, en una primera modalidad, la lesión es una lesión elemental o primaria. Las lesiones elementales o primarias son las lesiones individuales más pequeñas con un patrón que corresponde a una estructura organizada visible con el aumento habitual más pequeño. Por ejemplo, las fibras o fibrillas de fibrosis son el patrón básico y la fibrosis estelar es una lesión elemental. Corresponden a distorsiones arquitectónicas de primer grado.

En una segunda modalidad, la lesión es una lesión sindrómica o secundaria. Las lesiones sindrómicas o secundarias corresponden a la agrupación de lesiones elementales. Por ejemplo, la fibrosis en puente es una lesión secundaria al agrupar la fibrosis estelar que surge de dos tractos portales. Corresponden a distorsiones arquitectónicas de segundo grado.

De acuerdo con la invención, la lesión es la fibrosis y el órgano o tejido es el hígado o tejido hepático.

En una modalidad de la invención, la severidad de la fibrosis hepática se evalúa en dos puntuaciones de diagnóstico semicuantitativas principales comúnmente usadas por los hepatólogos y patólogos: la puntuación de fibrosis METAVIR y el sistema de estadificación ISHAK. La puntuación de fibrosis METAVIR comprende 5 clases (F0: sin fibrosis; F1: fibrosis portal sin septos; F2: fibrosis portal con septos raros; F3: numerosos septos sin cirrosis; F4: cirrosis). El sistema de estadificación ISHAK comprende 7 clases basadas en fibrosis portal y septal y el grado de integridad de la cirrosis.

De acuerdo con la invención, la lesión es una fibrosis clínicamente significativa, que se define por una puntuación de fibrosis METAVIR $F \geq 2$.

Como se conoce por el experto en la técnica, la fibrosis hepática puede localizarse en diferentes zonas del hígado y puede presentar diferentes organizaciones geométricas.

En una modalidad de la invención, la fibrosis es fibrosis portal, fibrosis septal, fibrosis porto-septal o fibrosis perisinusoidal. De hecho, un primer tipo de fibrosis usualmente comienza en la región centro-lobular y/o en la periferia del lóbulo o alrededor del tracto portal. Esta fibrosis crece gradualmente para formar bandas de fibrosis, o septos, llamadas fibrosis septal, que se extienden entre los tractos portales o entre los tractos portales y la región centro-lobular. El segundo tipo de fibrosis se localiza entre las hileras de hepatocitos y sinusoides, el equivalente de los capilares en el hígado, es decir, en el espacio intercelular donde hay muchos intercambios metabólicos del hígado. Este segundo tipo se llama fibrosis perisinusoidal.

En una modalidad de la invención, la fibrosis es fibrosis estelar. La característica principal para diferenciar el estadio de fibrosis F0 del estadio F1 y los estadios superiores es la presencia de fibrosis ramificada en estrella alrededor de las regiones porto-septales. Estas son fibrillas pequeñas y finas alrededor de un área más densa.

En una modalidad de la invención, la fibrosis es fibrosis en puente. La fibrosis en puente se refiere a una situación de fibrosis en donde dos tractos portales se interconectan. Las fibras de fibrosis en puente se producen en el estadio F2 del Metavir, y los patólogos consideran que si existe una proporción de más del 50 % de los puentes, el estadio del METAVIR será mayor que el F2.

En una modalidad de la invención, el método de la invención es para diagnosticar una enfermedad caracterizada por la presencia de lesiones hepáticas. De acuerdo con esta modalidad, la puntuación obtenida en la etapa (c) del método de la invención es una puntuación de diagnóstico, lo que significa que es indicativa de la presencia y/o gravedad de una enfermedad específica, definida como el "objetivo diagnóstico". En una modalidad de la invención, la puntuación varía de 0 a 1, y cuanto mayor sea el valor de la puntuación, mayor será la probabilidad de que el sujeto sea diagnosticado con el objetivo diagnóstico.

Los ejemplos de objetivos diagnósticos incluyen, pero no se limitan a, fibrosis clínicamente significativa (es decir, estadio F del Metavir ≥ 2), fibrosis grave (es decir, estadio F del Metavir ≥ 3), cirrosis, NAFLD o NASH.

En una modalidad de la invención, el método de la invención permite una evaluación directa de la presencia y/o gravedad de una lesión, o un diagnóstico directo del objetivo diagnóstico, es decir, el método conduce a un diagnóstico binario. En otras palabras, de acuerdo con esta modalidad, el método de la invención usualmente conduce a una respuesta de tipo dual "sí o no": de acuerdo con el valor de la puntuación obtenida en la etapa (c), puede proporcionarse una conclusión directa sobre la presencia y/o gravedad de una lesión o enfermedad. Por ejemplo, de acuerdo con esta modalidad, cuando el objetivo diagnóstico es una fibrosis clínicamente significativa, el método de la invención permite determinar si el sujeto está afectado o no por una fibrosis clínicamente significativa.

En una modalidad de la invención, el método de la invención conduce por lo tanto a la clasificación del sujeto en una clase de una clasificación. Por ejemplo, cuando la lesión es la fibrosis y el órgano es el hígado, el método de la invención puede

- determinar el estadio F del Metavir o el estadio del ISHAK F del sujeto. En otra modalidad de la invención, el método de la invención indica, para el sujeto, una probabilidad de pertenencia para cada clase de una clasificación. Por ejemplo, cuando la lesión es la fibrosis y el órgano es el hígado, el método de la invención puede indicar la probabilidad de que el sujeto pertenezca a cada clase (por ejemplo, F1/2) del estadio F del Metavir o del estadio del ISHAK. En una modalidad de la invención, el método de la invención es para clasificar un sujeto en una clasificación clásica. Los ejemplos de clasificación clásica para la fibrosis hepática incluyen, pero no se limitan a, la estadificación del METAVIR y la estadificación ISHAK. En otra modalidad de la invención, el método de la invención es para clasificar un sujeto en una clasificación, cualquiera que sea dicha clasificación sea clásica o no.
- 5
- 10 En una modalidad, en la etapa (c) del método de la invención, la puntuación calculada en la etapa (b) se compara con una puntuación de referencia para evaluar la presencia y/o gravedad de la lesión o para hacer un pronóstico.
- En una modalidad, la puntuación de referencia puede ser un valor de índice o puede derivarse de uno o más algoritmos de predicción de riesgo o índices calculados para la presencia y/o gravedad de una lesión o para el pronóstico. Una puntuación de referencia puede ser relativa a un número o valor derivado de estudios poblacionales, que incluye, sin limitación, tales sujetos que tienen rangos de edades similares, sujetos del mismo grupo étnico o similar, sujetos que tienen antecedentes familiares de lesiones dentro del órgano, sujetos afectados por o no afectados por una lesión dentro del órgano o tejido, o en relación con la muestra de inicio de un sujeto que está bajo tratamiento por una lesión dentro del órgano o tejido.
- 15
- 20 En una modalidad, una puntuación obtenida en la etapa (b) inferior o igual a aproximadamente el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 % o más de la puntuación de referencia es indicativa de la presencia de una lesión, o es indicativa de la gravedad de la lesión o es indicativa del riesgo de mortalidad o de complicaciones hepáticas.
- 25 En una modalidad, una puntuación obtenida en la etapa (b) superior o igual a aproximadamente el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 % o más de la puntuación de referencia es indicativa de la presencia de una lesión, o es indicativa de la gravedad de la lesión.
- 30 En una modalidad, el valor de referencia es una referencia personalizada, es decir, el valor de referencia se determinó mediante el uso de una muestra obtenida del sujeto. De acuerdo con una modalidad, una diferencia entre la puntuación obtenida en la etapa (b) y la puntuación de referencia personalizada es indicativa de la aparición o desaparición de una lesión, o de un aumento o una disminución de la gravedad de una lesión preexistente.
- 35 En una modalidad de la presente invención, la puntuación de referencia se deriva de la puntuación obtenida de una muestra de control derivada de uno o más sujetos que están sustancialmente sanos, es decir, que no presentan una lesión dentro de su órgano o tejido.
- En otra modalidad, también se puede derivar una puntuación de referencia a partir de la puntuación en una muestra derivada de uno o más sujetos que ha sido diagnosticado o identificado previamente con una lesión en un órgano o tejido, o tienen un alto riesgo a desarrollar una lesión, o que han sufrido una lesión.
- 40
- De acuerdo con una modalidad, la puntuación obtenida en la etapa (b) puede posicionarse en una clase de clasificación que se establece en una población de referencia de pacientes con una lesión en un órgano, tal como, por ejemplo, una población de referencia con una enfermedad hepática crónica. De acuerdo con la invención, la presencia y/o gravedad de una lesión en un órgano puede evaluarse de acuerdo con la clase en donde se ha clasificado la puntuación obtenida en la etapa (b). De acuerdo con una modalidad, la población de referencia puede ser una población de pacientes afectados con un virus de la hepatitis, preferentemente con el virus de la hepatitis C. De acuerdo con una modalidad, la población de referencia contiene al menos aproximadamente 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500 pacientes, preferentemente al menos aproximadamente 700 pacientes, con mayor preferencia al menos aproximadamente 1000 pacientes.
- 45
- 50 De acuerdo con una modalidad, para establecer una clasificación que relacione una puntuación con la presencia y/o la gravedad de una lesión, se necesitan los siguientes datos para cada paciente de la población de referencia:
- una puntuación medida de acuerdo con la presente invención, y
 - una estadificación histológica, preferentemente, una estadificación histológica de acuerdo con el sistema del Metavir, obtenida mediante una biopsia del órgano o tejido, tal como, por ejemplo, una biopsia hepática.
- 55
- En una modalidad de la invención, el método de la invención comprende además clasificar al sujeto mediante el uso de un sistema de puntuación o estadificación semicuantitativa convencional.
- 60
- En una modalidad de la invención, el método de la invención comprende además medir al menos un marcador de prueba no invasivo (es decir, marcadores medidos por una prueba no invasiva) en la etapa (a). De acuerdo con una modalidad, los marcadores de prueba no invasivos se combinan matemáticamente con los descriptores de imagen bidimensionales y/o con los descriptores de imagen tridimensionales medidos en la etapa (a).
- 65

Como se usa en la presente descripción, una "prueba diagnóstica no invasiva" se refiere a una prueba para diagnosticar, o para evaluar la presencia y/o gravedad de una lesión en un órgano o tejido o de una enfermedad. En una modalidad, una prueba diagnóstica no invasiva puede proporcionar un dato, o una puntuación, que todos corresponden dentro de la presente invención a un "marcador de prueba no invasivo". Dicha prueba puede usar la medición de biomarcadores (medida en una muestra del sujeto, en donde la muestra puede ser una muestra de líquido corporal, tales como, por ejemplo, una muestra de sangre, suero u orina, preferentemente una muestra de sangre o suero), datos clínicos (es decir, datos recuperados de la observación externa del sujeto, sin el uso de pruebas de laboratorio y similares), datos físicos (tal como los obtenidos por el Fibroscan, por ejemplo), o puntuaciones. De acuerdo con la invención, un marcador de prueba no invasivo puede ser un biomarcador, o un dato físico.

Los ejemplos de pruebas no invasivas que resultan en una puntuación incluyen, pero no se limitan a, ELF, FibroSpect™, Hepascore, Fibrotest™, FibroMeter™, InflaMeter™, CirrhoMeter™, CombiMeter™, APRI y FIB-4.

Los ejemplos de biomarcadores incluyen, pero no se limitan a, glicemia, colesterol total, colesterol HDL (HDL), colesterol LDL (LDL), AST (aspartato aminotransferasa), ALT (alanina aminotransferasa), AST/ALT, AST.ALT, ferritina, plaquetas (PLT), AST/PLT, tiempo de protrombina (PT) o índice de protrombina (PI), ácido hialurónico (HA o hialuronato), hemoglobina, triglicéridos, alfa-2 macroglobulina (A2M), gamma-glutamil transpeptidasa (GGT), urea, bilirrubina, apolipoproteína A1 (ApoA1), propéptido N-terminal de procolágeno tipo III (P3NP), gammaglobulinas (GBL), sodio (Na), albúmina (ALB), ferritina (Fer), Glucosa (Glu), fosfatasas alcalinas (ALP), YKL-40 (glicoproteína de cartílago humano 39), inhibidor tisular de metaloproteinasas de matriz 1 (TIMP-1), TGF, citoqueratina 18 y metaloproteinasas de la matriz 2 (MMP-2) a 9 (MMP-9), relaciones y sus combinaciones matemáticas.

En una modalidad, el marcador de prueba no invasivo es un marcador binario, es decir, un marcador que tiene el valor 0 o 1. Los ejemplos de marcadores de prueba no invasivos binarios incluyen, pero no se limitan a, diabetes o RVS (en donde la RVS significa una respuesta virológica sostenida, y se define como aviremia 10 semanas, preferentemente 20 semanas, con mayor preferencia 24 semanas después de completar la terapia antiviral para la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC).

Los ejemplos de datos clínicos incluyen, pero no se limitan a, peso, índice de masa corporal, edad, sexo, perímetro de la cadera, perímetro abdominal o altura y sus combinaciones matemáticas, tal como por ejemplo la relación de estos, tales como por ejemplo perímetro de la cadera/perímetro abdominal.

Los ejemplos de métodos físicos tales como por ejemplo método físicos para evaluar la enfermedad hepática incluyen, pero no se limitan a, datos de imágenes médicas y mediciones clínicas, tales como, por ejemplo, medición del bazo, especialmente la longitud del bazo. De acuerdo con una modalidad, el método físico se selecciona del grupo que comprende ultrasonografía, especialmente ultrasonografía Doppler y ultrasonografía por elastometría y ultrasonografía por velocimetría (las pruebas preferidas que usan dichos datos son Fibroscan™, ARFI, VTE, imágenes supersónicas), MRI (Imágenes de Resonancia Magnética), y MNR (Resonancia Magnética Nuclear) como se usa en espectroscopía, especialmente elastometría o velocimetría por MNR. Preferentemente, los datos son datos de Evaluación de la Rigidez Hepática (LSE) o evaluación de la rigidez esplénica. De acuerdo con una modalidad preferida de la invención, los datos de los métodos físicos se emiten desde una prueba Fibroscan™.

Los ejemplos de pruebas incluyen, pero no se limitan a ELF, FibroSpect™, APRI, FIB-4, Hepascore, Fibrotest™, FibroMeter™, CirrhoMeter™, CombiMeter™, InflaMeter™.

- ELF es una prueba de sangre basada en ácido hialurónico, P3P, TIMP-1 y la edad.
- FibroSpect™ es una prueba de sangre basada en ácido hialurónico, TIMP-1 y A2M.
- APRI es una prueba de sangre basada en plaqueta y AST.
- FIB-4 es una prueba de sangre basada en plaqueta, ASAT, ALT y la edad.
- HEPASCORE es una prueba de sangre basada en ácido hialurónico, bilirrubina, alfa2-macroglobulina, GGT, la edad y el sexo.
- FIBROTEST™ es una prueba de sangre basada en alfa2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina total, GGT, la edad y el sexo.
- FIBROMETER™ y CIRRHOMETER™ juntos forman una familia de pruebas de sangre, cuyo contenido depende de la causa de la enfermedad hepática crónica y el objetivo diagnóstico, y esta familia de pruebas de sangre se llama familia FM y se detalla en la tabla a continuación.

Causa	Variables												
	Edad	Sexo	Peso	A2M	HA	PI	PLT	AST	Urea	GGT	ALT	Fer	Glu
Virus													

ES 2 715 013 T3

5	FM V 1G	x			x	x	x	x	x	x				
	FM V 2G	x	x		x	x	x	x	x	x				
	CM V 2G	x	x		x	x	x	x	x	x				
10	FM V 3G ^a	x	x		x		x	x	x	x	x			
	CM V 3G ^a	x	x		x		x	x	x	x	x			
	Alcohol													
15	FM A 1G	x			x	x	x							
	FM A 2G				x	x	x							
	NAFLD (esteatosis)													
20	FM S	x		x				x	x			x	x	x
25	FM: FibroMeter, CM: CirrhoMeter, A2M: alfa-2 macroglobulina, HA: ácido hialurónico, PI: índice de protrombina, PLT: plaquetas, Fer: ferritina, Glu: glucosa ^a HA puede reemplazarse con GGT													

30 - COMBIMETER™ o Elasto-FibroMeter™ es una familia de pruebas basadas en la combinación matemática de variables de la familia FM (como se detalla en la tabla anterior) o del resultado de una prueba de la familia FM con el resultado del FIBROSCAN™. En una modalidad, dicha combinación matemática es una regresión logística binaria.

35 En una modalidad, CombiMeter™ resulta en una puntuación basada en la combinación matemática de datos físicos de elastometría del hígado o del bazo tales como el índice de dispersión de Fibroscan™ tal como IQR o IQR/mediana o media, preferentemente de la mediana de Fibroscan™ con al menos 3, preferentemente al menos 4, 5, 6, 7 o más y con mayor preferencia de 7 o 8 o 9 biomarcadores y/o datos clínicos seleccionados de la lista que comprende glicemia, colesterol total, colesterol HDL (HDL), colesterol LDL (LDL), AST (aspartato aminotransferasa), ALT (alanina aminotransferasa), AST/ALT, AST.ALT, ferritina, plaquetas (PLT), AST/PLT, tiempo de protrombina (PT) o índice de protrombina (PI), ácido hialurónico (HA o hialuronato), hemoglobina, triglicéridos, alfa-2 macroglobulina (A2M), gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT), urea, bilirrubina, apolipoproteína A1 (ApoA1), propéptido N-terminal de procólágeno tipo III (P3NP), gammaglobulinas (GBL), sodio (Na), albúmina (ALB), ferritina (Fer), Glucosa (Glu), fosfatasa alcalina (ALP), YKL-40 (glicoproteína de cartílago humano 39), inhibidor tisular de metaloproteínasa de matriz 1 (TIMP-1), TGF, citoqueratina 18 y metaloproteínasa de matriz 2 (MMP-2) a 9 (MMP-9), diabetes, peso, índice de masa corporal, edad, sexo, perímetro de la cadera, perímetro abdominal o altura y las relaciones de estos y sus combinaciones matemáticas.

45 En una modalidad, CombiMeter™ resulta en una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con al menos 3, preferentemente al menos 4, 5, 6, 7 o más y con mayor preferencia de 7 o 8 o 9 biomarcadores y/o datos clínicos seleccionados de la lista que comprende alfa-2-macroglobulina (A2M), ácido hialurónico (HA), índice de protrombina (PI), plaquetas (PLT), AST, Urea, GGT, Bilirrubina (Bili), ALT, Ferritina, Glucosa, edad, sexo y peso.

50 En una modalidad, la prueba CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con plaquetas, PI, AST, HA, A2M, el sexo y la edad. En una modalidad, la puntuación de CombiMeter™ se llama E-FibroMeter^{2G} y es la siguiente: $1,2910 + 0,2143 \text{ Fibroscan (kPa)} - 0,0046 \text{ plaquetas (G/L)} - 0,0273 \text{ índice de protrombina (\%)} + 0,0032 \text{ AST (U/L)} + 0,0028 \text{ hialuronato (\mu g/L)} + 0,7692 \text{ A2M (g/L)} + 0,1400 \text{ sexo (F = 0, M = 1)} + 0,0119 \text{ edad (años)}$.

55 En una modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con plaquetas, PI, AST, HA, A2M, urea, ALT, el sexo y la edad.

60 En una modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con plaquetas, PI, AST, HA, A2M, urea, el sexo y la edad.

65 En una modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con plaquetas, PI, AST, HA, A2M, ALT, el sexo y la edad.

En una modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con PI, AST, A2M, diabetes y edad.

5 En una modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con PI, AST/ALT, A2M, plaquetas, y diabetes.

En una modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con PI, HA, y A2M.

10 En otra modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con una puntuación de CirrhoMeter™, preferentemente una puntuación de CirrhoMeter^{2G}.

En otra modalidad, CombiMeter™ da lugar a una puntuación basada en la combinación matemática de la mediana de Fibroscan™ con una puntuación de FibroMeter™, preferentemente una puntuación de FibroMeter^{2G}.

15 - INFLAMETER™ es una prueba acompañante que refleja la actividad necroinflamatoria que incluye ALT, A2M, PI, y plaquetas.

20 En una modalidad, el método de la invención comprende evaluar al menos un marcador de prueba no invasivo como se describió anteriormente. De acuerdo con una modalidad, los marcadores de prueba no invasivos medidos en la etapa (a) se combinan matemáticamente con los descriptores de imagen bidimensionales y/o con los descriptores de imagen tridimensionales en una puntuación en la etapa (b).

25 De acuerdo con la invención, la combinación matemática de la etapa (b) es una combinación lineal de varios descriptores (x, y,...) como $a + bx + cy$ (a, b, c... que son los coeficientes), y es una regresión logística binaria. De acuerdo con la invención, la combinación matemática de descriptores no consiste en la relación o división de dos descriptores.

30 De acuerdo con la invención, el objetivo diagnóstico es una fibrosis clínicamente significativa, y el método de la invención comprende medir en la etapa (a) y combinar matemáticamente en una puntuación en la etapa (b) los siguientes descriptores: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de Arancio, perímetro medio del hígado nativo, perímetro medio total del bazo y relación entre la superficie del bazo y la superficie del hígado.

35 En una modalidad, el objetivo diagnóstico es una fibrosis clínicamente significativa, y el método de la invención comprende medir en la etapa (a) y combinar matemáticamente en una puntuación en la etapa (b):

40 - los siguientes descriptores: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de Arancio, perímetro medio del hígado nativo, perímetro medio total del bazo y relación entre la superficie del bazo y la superficie del hígado,
 - rigidez hepática, preferentemente evaluada con un Fibroscan™, y
 - opcionalmente, al menos uno, preferentemente 1, 2 o 3 marcadores de prueba diagnóstica no invasivos, tales como, por ejemplo, PI, A2M y AST.

45 En una modalidad de la invención, la precisión del método de la invención corresponde al porcentaje de pacientes correctamente diagnosticados o clasificados. Ventajosamente, el porcentaje de pacientes correctamente diagnosticados o clasificados es de al menos aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, preferentemente al menos aproximadamente 85 %, con mayor preferencia al menos aproximadamente 90 %, e incluso con mayor preferencia al menos aproximadamente 95 %.

50 En otra modalidad de la invención, la precisión del método de la invención se evalúa mediante el AUROC del método. Ventajosamente, el AUROC es de al menos aproximadamente 0,85, preferentemente al menos aproximadamente 0,90, con mayor preferencia al menos aproximadamente 0,95 e incluso con mayor preferencia al menos aproximadamente 0,99.

55 En otra modalidad, la precisión del método de la invención se evalúa midiendo el índice kappa ponderado. Ventajosamente, el índice kappa ponderado es de al menos aproximadamente 0,8, preferentemente de al menos aproximadamente 0,83, con mayor preferencia de al menos aproximadamente 0,86.

60 El método de la presente invención presenta por lo tanto las siguientes ventajas. Primero, el método de la invención implica la medición y evaluación automáticas de la gravedad de las lesiones en un órgano. Por consiguiente, el método de la invención permite reducir o eliminar la subjetividad del diagnóstico. Segundo, el método de la invención conduce a una puntuación que permite un diagnóstico directo o pronóstico, sin una etapa adicional de comparación con una base de datos de referencia.

Breve descripción de los dibujos

65 La Figura 1 es una combinación de imágenes que muestra ejemplos de fibrosis total (A), máscara de fibrosis porto-septal (B), fibrosis porto-septal (C) y fibrosis perisinusoidal (D), según se mide por el método de la invención.

La Figura 2 es una combinación de imágenes que muestran focos con un aumento de x 20 de la fibrosis total (A), la máscara de la fibrosis porto-septal (B), la fibrosis porto-septal (C) y la fibrosis perisinusoidal (D), medida por el método de la invención.

5 La Figura 3 es una combinación de imágenes que muestran ejemplos del borde de un espécimen de hígado no recto (A) y un espécimen de hígado recto (B) medido por el método de la invención.

10 La Figura 4 es una combinación de imágenes que muestran ejemplos de una máscara de biopsia hepática (LB) (A), el esqueleto con ramificaciones (B) y el esqueleto principal (C) que representa su longitud según se mide por el método de la invención.

15 La Figura 5 es una combinación de imágenes que muestran ejemplos de fibrosis estelar alrededor de una región porto-septal (A), puentes de fibrosis (B), nódulo rodeado de fibrosis (C), la distancia medida entre las regiones porto-septal (D) medida por el método de la invención.

La Figura 6 es una combinación de imágenes que ilustran el concepto de granularidad. Ejemplos de fragmentos ($n = 4$) del espécimen de biopsia hepática al comienzo del estudio de granularidad (A), fibrosis porto-septal en los fragmentos (B), gránulos formados al romperse los fragmentos con fibrosis porto-septal (C) medidos por el método de la invención.

20 La Figura 7 es una combinación de imágenes que muestra ejemplos de pequeños fragmentos detectados durante la medición de INDEX_FRAGMENTATION. El número total de fragmentos es el mismo para los 2 paneles A y B (NB_FRAG = 8). Como el área de pequeños fragmentos es más importante en la figura A, el INDEX_FRAGMENTATION es mayor (INDEX_FRAGMENTATION = 67) que en la figura B (INDEX_FRAGMENTATION = 35).

25 La Figura 8 es un diagrama de frijol de la distribución de la predicción de la CSF (en el eje Y) como una función de la estadificación del METAVIR (eje X) en los 416 pacientes de la población MALAH 1. La curva rellena de gris es una estimación de la densidad kernel. Las pequeñas líneas grises representan valores de datos individuales. La línea gris horizontal grande muestra el umbral elegido y la línea negra punteada corresponde a la mediana general.

30 La Figura 9 es un gráfico que muestra la distribución de la función logística para la predicción F4 (eje Y) como una función de los valores de los pacientes clasificados en valor creciente (eje X) en los 416 pacientes de la población MALAH 1. Las líneas horizontales representan los diferentes umbrales. Los puntos del triángulo corresponden a los valores del estadio originales del METAVIR F4, mientras que los puntos del círculo blanco corresponden a los estadios del Metavir originales menores a F4. Los puntos negros marcan las diapositivas del paciente con discordancia significativa (una diferencia de dos estadios o más entre la evaluación original del Metavir y su predicción).

35 La Figura 10 es un gráfico que muestra la distribución de la predicción del estadio del METAVIR por el análisis discriminante lineal (LDA; eje Y) como una función de los estadios del METAVIR (en el eje X) en los 416 pacientes de la población MALAH 1. Las líneas verticales se dibujan de acuerdo con la proporción de los valores del estadio originales del METAVIR. En el eje Y, los puntos se dibujan con respecto al estadio previsto. Su orden sigue su posición en el conjunto de datos.

40 La Figura 11 es un histograma que muestra la concordancia entre la predicción del Metavir (en el eje Y) y los estadios del Metavir evaluados por un experto (en el eje X) en los 416 pacientes de la población MALAH 1. Las alturas de las cajas reflejan la proporción de los estadios de predicción para el estadio experto.

La Figura 12 es un histograma que muestra la distribución del diagnóstico de NASH como una función de los intervalos de valores predictivos del 95 % por puntuación de NASH.

50 La Figura 13 es una combinación de gráficos relacionados con la puntuación de NASH. (A) decilos de puntuación de NASH (eje X) trazados contra la proporción de diagnóstico NASH (eje Y). (B) diagramas de caja de la puntuación de NASH como una función de los valores predictivos del 95 % y el diagnóstico de NASH.

55 La Figura 14 es una combinación de 4 imágenes TDM del hígado, correspondientes a 4 cortes consecutivos (A, B, C y D) separados 10 mm.

La Figura 15 es una combinación de ilustraciones que muestra un corte de imagen TDM (A), la máscara del hígado y el bazo (B) y los bordes del hígado y el bazo (C).

60 La Figura 16 es una combinación de ilustraciones que muestra un corte de imagen TDM (A) y un acercamiento en los bordes irregulares con nódulos (B) (vea las flechas).

La Figura 17 es una combinación de ilustraciones que muestra un corte umbral de imagen TDM con una caja que rodea al hígado (A), la máscara de la caja (B) y los píxeles negros correspondientes a la grasa en la caja (C).

65

La Figura 18 es una combinación de ilustraciones que muestran ejemplos de ángulos detectados para la medida de la angularidad de los bordes en el hígado de un paciente sano (F0) o en un hígado cirrótico (F4).

5 La Figura 19 es una combinación de imágenes que ilustran la medición de los descriptores de morfología interna. (A): Ejemplo de diferentes longitudes medidas en un segmento I ampliado del hígado en cirrosis. D1 es la longitud anterior-posterior entre el límite/borde más anterior del segmento I y el límite/borde más posterior del segmento I tangencial al borde izquierdo de la vena cava inferior. D2 es la longitud transversal entre D1 (perpendicular a D1) y el límite/borde izquierdo más distante del segmento I. D3 es la longitud anterior-posterior entre el límite más anterior del segmento I y el límite más anterior de la vena cava inferior. D4 es la longitud transversal entre D3 (perpendicular a D3) y el límite/borde izquierdo más distante del segmento I. (B): Ejemplo de la superficie medida en un segmento I ampliado del hígado en cirrosis. (C) Ejemplo del grosor del surco (D_F1) y la superficie (Surf-F1) medidos en cirrosis. La superficie del surco puede obtenerse contorneando los límites ya sea manualmente o mediante un proceso automatizado o ambos métodos (proceso semiautomatizado). El grosor del surco puede ser el grosor máximo o el grosor medio.

10 La Figura 20 es una ilustración que muestra el borde que suaviza el hígado usado para medir la relación entre los 2 perímetros y para evaluar la indentación del hígado.

15 La Figura 21 es una combinación de dos gráficos relacionados con la puntuación APV3. (A) Correlación de la puntuación APV3 con la puntuación E-FibroMeter2G (EFM2G) como una función de los estadios F del Metavir. (B) Los diagramas de caja (mediana de cuatriles, extremos) de la puntuación APV3 se distribuyen mejor como una función de los estadios F del Metavir que las de la puntuación E-FibroMeter2G (EFM2G).

EJEMPLOS

20 La presente invención se ilustra además por los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Medición automática de lesiones en una imagen histológica.

Métodos

30 Diseño del Estudio

El diagnóstico morfométrico por morfometría automatizada se diseñó para diagnosticar la fibrosis clínicamente significativa (CSF), cirrosis y estadios F del Metavir. Los modelos diagnósticos fueron desarrollados en la población de derivación. Estos resultados fueron validados mediante el uso de dos tipos de población:

- Poblaciones con estadificación del Metavir de referencia por expertos para validar la precisión diagnóstica de los modelos diagnósticos basados en la morfometría automatizada.
- Población con estadificación del Metavir realizada por un patólogo de primera línea para comparar el diagnóstico realizado por morfometría automatizada con el realizado en condiciones de la vida real.

Las condiciones de los especímenes de biopsia hepática fueron las mismas en todas las poblaciones. Especialmente, las longitudes de los especímenes fueron las mismas y la tinción y la morfometría realizadas por el mismo ingeniero se realizaron centralmente en el laboratorio HIFIH.

Poblaciones

Población de derivación

50 Se incluyeron 416 pacientes con hepatitis C viral crónica y una longitud de biopsia digitalizada ≥ 20 mm para los estadios F0 a F3 y $\geq 12,1$ mm para F4 (18 para F0, 169 para F1, 116 para F2, 59 para F3, 54 para F4).

Poblaciones de validación

55 La población de fibrosis incluyó 54 pacientes con hepatitis C viral crónica. La biopsia hepática se realizó en la semana 0 y se repitió en la semana 96. Estos dos subconjuntos se consideraron como poblaciones diferentes para evitar redundancias de datos. La interpretación del hígado se realizó por un solo experto.

60 La población de Vindiag 10 incluyó a 83 pacientes con hepatitis C viral crónica que tenían una biopsia hepática de referencia. La interpretación del hígado se realizó por un solo experto.

La población de Fibrostar incluyó a 285 pacientes con hepatitis C viral crónica que tenían una biopsia hepática basal. La interpretación del hígado fue realizada por diferentes patólogos con diversas experiencias correspondientes al diagnóstico inicial realizado en la práctica clínica.

65 Espécimen del hígado

Todos los LB se tomaron con aguja a través de la ruta transcostal, se fijaron con formalina, se incluyeron en bloques de parafina y se tiñeron con rojo picrosirio. Esta tinción resalta la fibrosis en rojo, el tejido sano en amarillo/naranja y la esteatosis aparece en blanco (es decir, ópticamente vacío). Nuestro objetivo fue medir tanto la fibrosis como la esteatosis.

Las diapositivas del espécimen se escanearon completamente con un procesador de imágenes digital Aperio con escáner de diapositivas (Scanscope CS System, Aperio Technologies, Vista CA 92081, Estados Unidos) que proporcionó imágenes de alta calidad de 30,000 x 30,000 píxeles a una resolución de 0,5 μm/píxel (ampliación x 20). Para facilitar el intercambio y almacenamiento de estas imágenes, se comprimieron mediante el uso del software JPEG2000 con una calidad Q = 70. Por lo tanto, una diapositiva con 16,000 x 22,000 píxeles se redujo de 1 GB (antes de la compresión) a 30 MB.

Cada diapositiva virtual se analizó para obtener una variedad de parámetros que describen lesiones tales como el área de fibrosis, la dimensión fractal... La combinación de todos estos datos morfométricos nos permitió diagnosticar automáticamente el estadio de la CSF, F4 y METAVIR. Luego, se compararon con los evaluados por el patólogo.

Morfometría clásica

Se crea automáticamente una máscara de la biopsia ($MASK_{LB}$) después de detectar el fondo blanco de la imagen para que no se tenga en cuenta en el análisis. Un operador limpia manualmente la diapositiva para eliminar los diversos artefactos presentes tales como pliegues, polvo, vasos sanguíneos, vías biliares... Todos estos artefactos se eliminan de $MASK_{LB}$.

Área y dimensión fractal de la fibrosis y esteatosis.

En primer lugar, un proceso de clasificación generalizada difusa (Ménard y otros, Pattern recognition, 2002) permite la fusión de intensidades de píxeles en tres clases (fibrosis, tejido sano, áreas blancas) mediante el uso de la minimización de una función de energía original. S_{FIB} es el umbral de la clase de fibrosis y S_W El umbral de la clase blanca. Entonces, un sistema experto desarrollado específicamente (Roullier y otros, Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2007: 5575-5578) se aplicó en las áreas marcadas con blanco obtenidas previamente para extraer las vacuolas de esteatosis y para eliminar los vasos sanguíneos y vías biliares (que tenían características cercanas a las de las macrovesículas de esteatosis).

Las reglas del sistema experto se basan en el tamaño de las regiones (se eliminan las áreas muy pequeñas, consideradas como ruido), las regiones vecinas (se eliminan los vasos rodeados de fibrosis), la circularidad de la región ($4\pi \cdot \text{área} / \text{perímetro}^2$) (se eliminaron las regiones no redondas, por ejemplo, vías biliares), la transformada de Hough de la región (que permite la detección y retención de agregados de vesículas) y un parámetro de textura estadística (se eliminaron las regiones heterogéneas, por ejemplo vasos sanguíneos). La medida del área de fibrosis (AOF) o esteatosis (AOS) es igual a la proporción de píxeles de fibrosis o esteatosis dividida por el número de píxeles en el área estudiada:

$$AOF = P_{iX_{FIB}} / P_{iX_{MASK_{LB}}} * 100$$

$$AOS = P_{iX_{STEA}} / P_{iX_{MASK_{LB}}} * 100$$

donde $P_{iX_{FIB}}$ es el número de píxeles de fibrosis; $P_{iX_{STEA}}$ es el número de píxeles de esteatosis; y $P_{iX_{MASK_{LB}}}$ es el número de píxeles del área de estudio.

El método de "conteo de cajas" (Moal y otros, Hepatology, 2002, 36: 840-849) se ha usado ampliamente para medir la dimensión fractal de muchos objetos histológicos como un índice de complejidad. El método de conteo de cajas proporciona la dimensión fractal de Kolmogorov (D). La técnica se ha presentado en detalles para estructuras biológicas.

Brevemente, una cuadrícula de cajas cuadradas (con ϵ píxeles como la longitud lateral) que se asemejaba a un tablero de ajedrez se superpuso sobre la imagen histológica de la fibrosis umbral. Se contaron las cajas que se intersecaban con fibras de colágeno. Luego se usó otra cuadrícula de tablero de ajedrez para cubrir toda la superficie del campo microscópico. Por lo tanto, el número total (N) de cajas de los lados (ϵ) requeridas para cubrir completamente las fibras de colágeno reflejan el perímetro examinado con la relación de escala e . Esta etapa se repitió con ϵ que varía hasta un tamaño de 14 píxeles, y los datos se representaron en un gráfico log-log (es decir, $\log [N]$ contra $\log [\epsilon]$). La relación entre los puntos se midió mediante un análisis de regresión lineal mediante el uso del método de los cuadrados mínimos; la pendiente D de la línea de regresión corresponde a la dimensión fractal D . Se hizo la misma medida para la dimensión fractal de la esteatosis mediante el uso de las imágenes que muestran la esteatosis. Llamamos D_F y D_S a la dimensión fractal de la fibrosis y la esteatosis, respectivamente.

Área y dimensión fractal de la fibrosis porta-septal y perisinusoidal.

El AOF medido en todo el espécimen de la LB no distingue los dos tipos de fibrosis que se observan en el portaobjetos (Figuras 1 y 2). La fibrosis puede comenzar en la región centro-lobular (enfermedad hepática alcohólica) y/o en la periferia del lóbulo o alrededor del tracto portal (enfermedad hepática viral). Esta fibrosis crece gradualmente para formar bandas

de fibrosis, o septos, llamada fibrosis septal. Esta fibrosis septal se extiende entre el tracto portal o entre el tracto portal y la región centro-lobular. El estadio de la cirrosis ocurre cuando estos septos diferentes rodean completamente a los hepatocitos. Cuando los patólogos evalúan el estadio del Metavir, su juicio se basa en la fibrosis porto-septal. La otra forma de fibrosis se encuentra entre las hileras de hepatocitos y sinusoides, el equivalente del capilar en el hígado, es decir, en el espacio intercelular donde hay muchos intercambios metabólicos del hígado. Esto se llama la fibrosis perisinusoidal. Aunque no se tiene en cuenta en las puntuaciones de fibrosis en el uso clínico, esta fibrosis es importante debido a que tiene un papel clave en la génesis de la insuficiencia hepática y la hipertensión portal.

Por consiguiente, desarrollamos una detección de máscara de regiones porto-septales. ($MASK_{PORT}$, Figuras 1B y 2B) que nos permite distinguir estos dos tipos de fibrosis (fibrosis porto-septal y perisinusoidal). La creación de esta máscara requiere una gran cantidad de tratamientos morfométricos (relacionados con erosiones, dilataciones, el tamaño de las áreas de fibrosis...), lo que implica un tiempo de computación prolongado y requiere una gran cantidad de memoria para procesar los datos. Esta es la razón por la que se redujeron las dimensiones de la imagen. IM_{COL} es la imagen en color del espécimen de la LB redimensionado con un factor de escala $R_{SCALE} = 4$. IM_{GREEN} (el componente verde de IM_{COL}) se evalúa por S_{FIB} para obtener una imagen binaria de fibrosis (IM_{FIB}). La fibrosis perisinusoidal se encuentra entre las hileras de hepatocitos; por lo tanto, es suficiente eliminarla mediante la detección de los hepatocitos que tienen la intensidad del tejido sano. Con respecto a las venas y los vasos, determinamos que si su diámetro era inferior a $200 \mu m$ y si la fibrosis alrededor era pequeña en comparación con su tamaño, no se consideran en el $MASK_{PORT}$. se aplicaron dilataciones y erosiones sobre IM_{FIB} para obtener regiones compactadas para estudiar. Las regiones porto-septal tienen mucha fibrosis y, por lo tanto, los elementos de fibrosis con grandes áreas se consideran en la $MASK_{PORT}$. La dimensión fractal de la fibrosis en estas regiones también es un criterio para determinar si está en $MASK_{PORT}$. Las regiones delgadas (pequeña relación entre el perímetro del área y su superficie) con nodos (puntos de interconexión en los filamentos de fibrosis) son un signo de formas ramificadas como se observa en la fibrosis perisinusoidal y, por lo tanto, no se consideran como fibrosis porto-septal.

Finalmente, obtuvimos $MASK_{PORT}$ que separa la fibrosis perisinusoidal de la fibrosis porto-septal. La región lobular es la región de la LB sin fibrosis porto-septal. Medimos el área y la dimensión fractal de la fibrosis porto-septal (AO_{FPORT} y DF_{FPORT}), el área y la dimensión fractal de la fibrosis perisinusoidal (AO_{FPS} y DF_{FPS}), el área de fibrosis perisinusoidal lobular (AO_{FPS_LOB}) y la relación de fibrosis perisinusoidal entre la fibrosis total ($RATIO_{FPS}$) como sigue:

$$AO_{FPORT} = Pix_{PORT} / Pix_{MASK_LB} * 100$$

$$AO_{FPS} = Pix_{FPS} / Pix_{MASK_LB} * 100$$

$$AO_{FPS_LOB} = Pix_{FPS} / (Pix_{MASK_LB} - Pix_{Mask_Port}) * 100$$

$$RATIO_{FPS} = Pix_{FPS} / Pix_{FIB_TOT} * 100$$

donde Pix_{PORT} es el número de píxeles de la fibrosis porto-septal; Pix_{FPS} es el número de píxeles de fibrosis perisinusoidal; Pix_{MASK_LB} es el número de píxeles del área total del espécimen de la LB; Pix_{Mask_Port} es el número de píxeles del área porto-septal; y Pix_{FIB_TOT} es el número de píxeles que representan toda la fibrosis (fibrosis porto-septal y perisinusoidal).

La tabla 1 resume todas estas medidas morfométricas clásicas.

Tabla 1. Lesiones clásicas medidas por morfometría personal automatizada (n = 10).

Lesiones	Mediciones de lesiones	Descriptor (abreviatura)
	Área de fibrosis y dimensión fractal de la fibrosis completa.	AOF/DF
Fibrosis	Área de fibrosis y dimensión fractal de la fibrosis portal.	AO_FPORT/DF_FPORT
	Área de fibrosis y dimensión fractal de la fibrosis sinusoidal.	AO_FPS/DF_FPS
	Área de fibrosis sinusoidal lobular	AO_FPS_LOB
	Relación de fibrosis portal y sinusoidal.	RATIO_FPS
Esteatosis	Área de esteatosis y dimensión fractal de la esteatosis.	AOS/Ds

Nueva morfometría

Medida de linealidad de borde (DF_EDGE, PCT_RECT)

5 El análisis de los bordes del espécimen de la LB (Figura 3) es un importante descriptor a considerar para la estadificación del Metavir. De hecho, la forma del espécimen de la LB cambia de acuerdo con los estadios del Metavir, los bordes son muy rectos en los estadios bajos (F0, F1, F2) mientras que tienden a ser cada vez más curvos e irregulares en los altos estadios (F3, F4). Es por eso que medimos automáticamente la dimensión fractal (*DF_EDGE*) y el porcentaje de linealidad (*PCT_RECT*) de los bordes en el espécimen de la LB. Al principio, detectamos los bordes de los fragmentos en el
 10 espécimen de la LB y, gracias a esta máscara (*MASK_EDGE*), combinamos dos métodos para optimizar la detección de bordes rectos. El método 1 consiste en aplicar la transformada de Hough para detectar líneas rectas en *MASK_EDGE*. La medición de la transformada de Hough es bien conocida en el dominio del procesamiento de imágenes para detectar formas (Duda y otros, Comm ACM, 1972, 15: 11-15). Esto proporciona una máscara llamada *MASK_HOUGH* que contiene solo los bordes de la máscara detectados como rectos por la transformada de Hough. El método 2 consiste en crear una
 15 máscara recta. *MASK_RECT* desde la máscara de borde (*MASK_EDGE*). Para esto, primero detectamos las esquinas con un detector Harris (Harris y otros, Proceedings of the 4th Alvey Vision Conference, 1988: 147-151) y luego mantenemos los puntos de borde separados por una etapa de muestreo = 2.4 mm. Las líneas entre todos estos puntos se dibujaron y finalmente obtuvimos una máscara teórica recta. *MASK_RECT* representa los bordes de *MASK_EDGE* que son comunes con esta máscara teórica recta.

20 Gracias a una combinación de las 2 máscaras, obtuvimos una *MASK_RECTCOMB* ($MASK_{RECTCOMB} = MASK_{HOUGH} + MASK_{RECT}$). *MASK_RECTCOMB* por lo tanto, contiene todos los bordes más rectos del espécimen de la LB. Ellos determinan la siguiente fórmula:

$$25 \quad PCT_RECT = Pix_{MaskRectComb} / Pix_{MaskEdge} * 100$$

donde $Pix_{MaskRectComb}$ es el número de píxeles de *MASK_RECTCOMB*; y $Pix_{MaskEdge}$ es el número de píxeles de *MASK_EDGE*.
DF_EDGE = Dimensión fractal del borde de la LB en *MASK_EDGE*.

30 Medida de la longitud del espécimen de la LB (LB_LENGTH)

Los patólogos consideran que la longitud del espécimen de la LB debe ser superior a 15 o 20 mm para ser representativa. Usualmente, se mide manualmente de manera directa en la diapositiva, pero esto no es muy preciso debido a que el espécimen de la LB no siempre es recto. Entonces, decidimos medirlo automáticamente (*LB_LENGTH*) en la diapositiva
 35 virtual. Usamos la máscara obtenida después de la eliminación de los artefactos (*MASK_LB*) y aplicamos una operación morfométrica (esqueletización) que nos da un esqueleto de la LB. Luego se eliminan las pequeñas ramificaciones para mantener el esqueleto principal (*MASK_SKELETON*) que representa la longitud de la LB (Figura 4).

$$40 \quad LB_LENGTH = Pix_{LB_SKELETON} * IM_{Resolution} * R_{SCALE}$$

en donde $Pix_{LB_SKELETON}$ es el número de píxeles que representan la longitud del espécimen de la LB en *MASK_LB*, $IM_{Resolution}$ es la resolución de la imagen escaneada (0,5 µm) y $R_{SCALE} = 4$ es el factor de escala usado para redimensionar la imagen.

45 Medida de la LB_PERIMETER y LB_AREA

Medimos automáticamente el perímetro y el área de la LB (*LB_PERIMETER*, *LB_AREA*). Detectamos los bordes de los fragmentos en el espécimen de la LB y, gracias a esta máscara (*MASK_EDGE*), el perímetro se calcula como sigue:

$$50 \quad LB_PERIMETER = Pix_{MaskEdge} * IM_{Resolution} * R_{SCALE}$$

$$LB_AREA = Pix_{MASK_LB} * IM_{Resolution}^2 * R_{SCALE}^2$$

55 en donde $Pix_{MaskEdge}$ es el número de píxeles de *MASK_EDGE*, Pix_{MASK_LB} es el número de píxeles del área total del espécimen de la LB, $IM_{Resolution}$ es la resolución de la imagen escaneada (0,5 µm) y $R_{SCALE} = 4$ es el factor de escala usado para redimensionar la imagen.

60 Medida de la fibrosis estelar (AOF_STELLAR_TOT, AOF_STELLAR_EP, AOF_STELLAR_LOB, MEAN_STELLAR_PORT y MEAN_AO_PORT)

La principal característica para diferenciar el estadio de fibrosis F0 del estadio F1 y los estadios superiores es la presencia de fibrosis ramificada en estrella alrededor de las regiones porto-septales (Figura 5A). De hecho, la fibrosis que llamamos fibrosis estelar comienza a aparecer en el estadio F1 alrededor del tracto portal. Estas son fibrillas pequeñas y finas alrededor de un área más densa. Por lo tanto, es interesante cuantificar automáticamente esta fibrosis estelar entre la
 65 superficie total del espécimen de la LB (*AOF_STELLAR_TOT*), entre la superficie de las regiones porto-septales

(*AOF_STELLAR_EP*) y entre la superficie de las regiones lobulares (*AOF_STELLAR_LOB*). También usamos el número de regiones porto-septales (*NB_PORT*) para medir el área media de la fibrosis estelar (*MEAN_STELLAR_PORT*) y el área media de las regiones porto-septales (*MEAN_AO_PORT*).

5 Para realizar esta medición, detectamos fibrosis a una distancia de 100 µm alrededor de las regiones porto-septales de *MASK_PORT*. Con el fin de diferenciar la fibrosis estelar de la fibrosis perisinusoidal y la fibrosis concentrada en los tractos portales, combinamos varias operaciones morfométricas (sucesivas y dilataciones erosiones) que permiten mantener solo las fibrillas delgadas de la fibrosis conectadas a las regiones porto-septales. La fibrosis estelar se mide con las siguientes fórmulas:

$$10 \quad AOF_STELLAR_TOT = Pix_Fib_Stellar / PixMASK_LB * 100$$

$$AOF_STELLAR_EP = Pix_Fib_Stellar / Pix_Mask_Port * 100$$

$$15 \quad AOF_STELLAR_LOB = Pix_Fib_Stellar / (PixMASK_LB - Pix_Mask_Port) * 100$$

$$MEAN_STELLAR_PORT = Pix_Fib_Stellar / NB_PORT$$

$$20 \quad MEAN_AO_PORT = Pix_Mask_Port / NB_PORT$$

donde *Pix_Fib_Stellar* es el número de píxeles detectados como fibrosis estelar; *PixMASK_LB* es el número de píxeles del área total en el espécimen de la LB; *Pix_Mask_Port* es el número de píxeles del área porto-septal en *MASK_PORT*; y *NB_PORT* es el número de regiones porto-septales en *MASK_PORT*.

25 Medida de fibrosis en puente (*NB_BRIDGE*, *RATIO-BRIDGE*, *AOF_BRIDGE*, *MEAN_SURF_BRIDGE*, *MEAN_PERIM_BRIDGE*, *MEAN_THICK_BRIDGE*)

Las fibras de fibrosis en puente se producen en el estadio F2 del Metavir. Usamos el término puentes cuando dos tractos portales se interconectan (Figura 5B). Un puente se define como una estructura que está entre dos elementos gruesos. En general, los patólogos consideran que si existe una proporción de más del 50 % de los puentes, el estadio del Metavir será más alto que F2. Por tanto, es importante medir el número de puentes (*NB_BRIDGE*), su relación entre las áreas porto-septales (*RATIO_BRIDGE*), el área de fibrosis en los puentes (*AOF_BRIDGE*) y el grosor de los puentes (*MEAN_THICK_BRIDGE*) que se obtiene gracias a su perímetro (*MEAN_PERIM_BRIDGE*) y su superficie (*MEAN_SURF_BRIDGE*). Para cada región porto-septal en *MASK_PORT*, aplicamos operaciones morfométricas tal como alta erosión seguida de una pequeña dilatación. El objetivo es observar una separación de las estructuras que determina la presencia de puentes. Al final de las operaciones morfométricas, un área estudiada con al menos dos elementos se considera como un puente y se agrega en la *MASK_BRIDGE*. Obtuvimos los siguientes parámetros:

30 *NB_BRIDGE* es el número de puentes en *MASK_BRIDGE*

$$35 \quad RATIO_BRIDGE = Pix_Mask_Bridge / Pix_Mask_Port * 100$$

$$AOF_BRIDGE = Pix_Fib_Bridge / PixMASK_LB * 100$$

40 donde *Pix_Mask_Port* es el número de píxeles en *MASK_PORT*; *Pix_Mask_Bridge* es el número de píxeles en *MASK_BRIDGE*; *Pix_Fib_Bridge* es el número de píxeles de fibrosis en los puentes; y *PixMASK_LB* es el número de píxeles del área total en el espécimen de la LB.

$$45 \quad MEAN_THICK_BRIDGE = MEAN_SURF_BRIDGE / MEAN_PERIM_BRIDGE * 100$$

50 donde *MEAN_SURF_BRIDGE* es la media de píxeles que representa la superficie de los puentes y *MEAN_PERIM_BRIDGE* es la media de píxeles que representa el perímetro de los puentes.

55 Medida de granularidad (*PCT_GRANULARITY*)

La arquitectura de la fibrosis hepática se modifica en altos estadios del METAVIR. De hecho, los puentes fibrosos pueden desorganizar el espécimen de la LB (Figura 6). La medida del porcentaje de granularidad (*PCT_GRANULARITY*) tiene como objetivo cuantificar esta desestructuración del espécimen de la LB mediante tractos porto-septales.

60 Primero, contamos el número de fragmentos (*NB_FRAG*) en la máscara obtenida después de la eliminación de los artefactos (*MASK_LB*). Luego, usamos la máscara porto-septal (*MASK_PORT*) en la que aplicamos varias dilataciones para extender las áreas porto-septales. Restamos *MASK_PORT* de *MASK_LB* para observar únicamente los gránulos formados por la rotura de los fragmentos. *Nb_Granules* es el número de gránulos. *PCT_GRANULARITY* es la relación entre el número de fragmentos sin desestructuración y el número de gránulos obtenidos en estos fragmentos después de la desestructuración por áreas porto-septales:

$$PCT_GRANULARITY = 100 - (NB_FRAG / Nb_Granules * 100).$$

Medida de fragmentación (INDEX_FRAGMENTATION)

5 Un espécimen de la LB a veces se fragmenta. Depende del estadio del METAVIR, especialmente para el estadio F4 donde el espécimen de la LB podría contener varios fragmentos pequeños. Por lo tanto, la medida del índice de fragmentación puede ser útil para los estadios de fibrosis alta con un poco de *PCT_GRANULARITY* debido a una fragmentación numerosa.

10 En cuanto a medir *PCT_GRANULARITY*, usamos *MASK_{LB}*. Detectamos en esta máscara los pequeños fragmentos (**Figura 7**) para obtener *MASK_{FRAG_SMALL}*. Consideramos como pequeño un fragmento con una superficie inferior a 2 mm² o un fragmento más grande con una superficie inferior a 3 mm² pero con una circularidad de hasta 0,7. El índice de fragmentación es la relación entre la superficie de los pequeños fragmentos detectados y la superficie total del espécimen de la LB:

$$15 \quad INDEX_FRAGMENTATION = Pix_Mask_Frag_Small / Pix_Mask_Frag * 100$$

donde *Pix_Mask_Frag* es el número de píxeles en *MASK_{LB}* y *Pix_Mask_Frag_Small* es el número de píxeles en *MASK_{FRAG_SMALL}*.

20 Medida de nódulos (PCT_NOD y NB_NOD)

El estadio F4, también denominado como cirrosis, se caracteriza principalmente por la formación de nódulos (**Figura 5C**). Estos nódulos son el resultado de la interrupción de la fibrosis que rodea las regiones del tejido del hepatocito (parénquima). Por lo tanto, un nódulo es un área circular y no fibrótica (sin septos fibrosos dentro) rodeada de fibrosis.

El proceso es el mismo que la medida de la *PCT_GRANULARITY* aplicando *MASK_{PORT}* en *MASK_{LB}* para estudiar los gránulos obtenidos. Solo conservamos los gránulos si son circulares. Los nódulos no siempre son perfectamente redondos, por eso elegimos un umbral de circularidad de 0,45. Entre estos gránulos redondos, mantenemos aquellos que tienen al menos un 30 % de fibrosis alrededor (30 % del borde externo). Finalmente obtuvimos una máscara con regiones que tienden a la nodularidad (*MASK_{NOD}*). Los nódulos fueron considerados como definitivos cuando *PCT_GRANULARITY* fue ≥ 80 %. Usamos las siguientes fórmulas:

$$35 \quad \begin{aligned} PCT_NOD &= \text{media del porcentaje de fibrosis alrededor de las áreas en } MASK_{NOD}. \\ NB_NOD &= \text{número de nódulos en } MASK_{NOD} \text{ con más del } 80 \% \text{ de fibrosis alrededor.} \end{aligned}$$

También medimos el número de nódulos en *MASK_{NOD}* con más del 30 % de fibrosis alrededor (*NB_NOD_30*). El proceso es el mismo que el de *NB_NOD*, pero esta vez mantenemos los nódulos en *MASK_{NOD}* con más del 30 % de fibrosis alrededor.

$$40 \quad NB_NOD_30 = \text{número de nódulos en la } MASK_{NOD} \text{ con más del } 30 \% \text{ de fibrosis alrededor.}$$

Medida de la distancia portal (DIST_EP_MEAN)

45 Como se mencionó anteriormente, la localización del tracto portal tiende a ser heterogénea en los estadios de fibrosis más alta. Por lo tanto ya no se distribuyen regularmente y están más cerca entre sí. Por lo tanto, parece interesante medir la distancia promedio entre estas regiones porto-septales (Figura 5D). *NB_FRAG* es el número de fragmentos en *MASK_{LB}*. *Nb_EP_n* es el número de regiones porto-septales presentes en el fragmento *n* (*n* se encuentra entre 1 y *NB_FRAG*). Para cada fragmento *n*, medimos la distancia mínima *Dmin_n* entre todas las regiones porto-septales presentes en *MASK_{PORT}*. *Dmoy_n* es la distancia promedio entre las regiones en el fragmento porto-septal *n*.

$$Dmoy_n = Dmin_n / (Nb_EP_n - 1).$$

La distancia promedio entre las regiones porto-septales para todos los fragmentos se llama *DIST_EP_MEAN*:

$$55 \quad DIST_EP_MEAN = (Dmoy_1 + Dmoy_2 + \dots + Dmoy_{NB_FRAG}) / NB_FRAG.$$

La tabla 2 resume todas estas nuevas medidas morfométricas.

60 Tabla 2. Nuevas lesiones relacionadas con la fibrosis hepática medidas por el método de la invención para el diagnóstico de estadios de la CSF, F4 y Metavir (n = 21).

65

Lesiones	Descriptor (abreviatura)
5	<i>Directamente relacionado con la fibrosis:</i>
	Fibrosis estelar
	AOF_STELLAR_TOT
	AOF_STELLAR_EP
10	AOF_STELLAR_LOB
	MEAN_STELLAR_PORT
	MEAN_AO_PORT NB_PORT
15	Puentes
	NB_BRIDGE RATIO_BRIDGE AOF_BRIDGE MEAN_THICK_BRIDGE MEAN_SURF_BRIDGE MEAN_PERIM_BRIDGE
	Granularidad
	PCT_GRANULARITY
20	Nódulos
	PCT_NOD NB_NOD NB_NOD_30
	Distancia portal
	DIST_EP_MEAN
25	<i>Indirectamente relacionado con la fibrosis:</i>
	Fragmentación
	INDEX_FRAGMENTATION NB_FRAG
	Linealidad del borde
	PCT_RECT DF_EDGE
30	Longitud de la LB
	LB_LENGTH
	Perímetro LB
	LB_PERIMETER
	Área de la LB
	LB_AREA

35 Calidad de la tinción.

El rendimiento de nuestras medidas depende de la calidad de la tinción (coloración) de la LB. De hecho, con un color pálido de la fibrosis, la detección podría pasar por alto algunas regiones porto-septales y, por consiguiente, podríamos subestimar la clasificación (CSF, F4 y Metavir). Usualmente, el patólogo excluye los casos con mala coloración. Es por eso que decidimos detectar automáticamente la LB a excluir debido a la mala coloración. Todas las medidas de intensidad de luminosidad se aplican a los tres componentes de la imagen (RVA: Rojo, Verde y Azul). La intensidad de luminosidad de la LB se calcula al promediar toda esta intensidad de píxel y obtuvimos una intensidad media para cada componente: ILbR (la intensidad media de la LB en el componente rojo), ILbG y ILbB. Hacemos lo mismo para la intensidad de la fibrosis (IfibR, IfibG, y IfibB) y para el parénquima (IparenchymaR, IparenchymaG, y IparenchymaB).

La calidad de la coloración también es mala si la intensidad de la fibrosis está cerca de la intensidad del parénquima o la LB. Por lo tanto, hay un contraste leve entre la fibrosis y el parénquima o LB. Desarrollamos una medida de estos contrastes como sigue:

$$50 \text{ Contrast_Fib_Parenchyma} = \sqrt{(IparenchymaR - IfibR)^2 + (IparenchymaG - IfibG)^2 + (IparenchymaB - IfibB)^2}$$

$$\text{Contrast_Fib_Lb} = \sqrt{(ILbR - IfibR)^2 + (ILbG - IfibG)^2 + (ILbB - IfibB)^2}$$

55 La Tabla 3 resume todas estas medidas de intensidad de luminosidad.

Tabla 3. Nuevas mediciones de la intensidad de la luminosidad que describen la calidad de la coloración del espécimen de la LB (n = 11).

60

Característica de luminosidad	Descriptor (abreviatura)
Luminosidad de la fibrosis	lfibR lfibG lfibB
Luminosidad del parénquima	lparenchymaR lparenchymaG lparenchymaB
Luminosidad general (del espécimen)	lLbR lLbG lLbB
Contraste de luminosidad entre fibrosis y parénquima.	Contrast_Fib_Parenchyma
Contraste de luminosidad entre la fibrosis y el espécimen (luminosidad general)	Contrast_Fib_Lb

Modelos estadísticos

Usamos una estrategia de modelado clásica de dos etapas: una etapa de construcción de todos los datos y una etapa de validación externa mediante el uso de otros dos conjuntos de datos.

Después de un primer estudio univariado rápido de todas las variables en el conjunto completo de datos originales (416 diapositivas) y un segundo análisis para cada uno de los cinco estadios del METAVIR, decidimos realizar un análisis bivariado en las variables cuantitativas mediante el uso del coeficiente de correlación de rango de Spearman (r_s) debido a que (i) el supuesto de normalidad no se cumplió con frecuencia y (ii) alguna submuestra tuvo un pequeño número de diapositivas. Dado que las técnicas de regresión funcionan mejor cuando las variables no se correlacionaron fuertemente, dividimos todas las variables originales en grupos que estaban compuestos por variables que estaban altamente correlacionadas ($r_s > 0,8$) y luego seleccionamos las variables más relevantes para cada grupo, reduciendo por lo tanto las 31 variables originales a un conjunto de 25 variables que no estaban demasiado correlacionadas. Para los dos resultados binarios (CSF y cirrosis) se buscó el mejor modelo de regresión logística binaria (BLR), mientras que para la estadificación del METAVIR del resultado ordinal de 5 valores se buscó el mejor modelo discriminante mediante el uso de técnicas de mezcla lineal, cuadrática, flexible y otros métodos de análisis logit para categorías ordenadas. Todos los análisis se realizaron mediante el uso del software R (Team RDC, disponible en <http://www.R-project.org>).

Después de una comparación exhaustiva de los resultados de los numerosos programas para seleccionar las mejores variables (mediante el uso de los procedimientos de selección de eliminación hacia atrás y selección del mejor subconjunto), pudimos terminar para cada uno de los tres objetivos diagnósticos con un modelo estadístico que puede considerarse el mejor de todos los modelos, teniendo en cuenta el rendimiento del modelo y la minimalidad del número de variables. Debe tenerse en cuenta que para la variable ordinal de estadificación del METAVIR, se encontró el mejor modelo mediante el uso de un método de análisis discriminante lineal (LDA).

Luego se procedió con la descripción del modelo y el estudio de los valores previstos. Para las regresiones de BLR, los umbrales se determinaron con respecto a la prevalencia del objetivo (mediante el uso de un *valor a priori* para CSF y una *valor a posteriori* para la cirrosis). Después del estudio de los coeficientes de regresión y sus criterios de entropía/información (BIC, Akaike...), calculamos el área bajo la curva característica del operador receptor (AUROC) y su intervalo de confianza, la matriz de confusión y realizamos el análisis estadístico y trazado de los cuatro grupos (verdadero/falso positivo/negativo). Los índices de concordancia y las tasas de clasificación también se calcularon y se informaron.

Para el modelo LDA, probamos varios métodos de imputación para tratar con las probabilidades de cada valor ordinal, que incluye la imputación del valor de probabilidad máxima, la imputación ponderada por clase, valores de dos estadios tales como $F_i \pm 1$, F_x/a o F_x/y (el valor más grande que indica una mayor preferencia para el estadio)... antes de calcular también las tasas de concordancia y clasificación al usar aquí las distancias ponderadas entre los estadios. Finalmente, decidimos mantener la imputación del valor de probabilidad máxima del método estándar, ya que da buenos resultados sin la introducción de umbrales arbitrarios.

Para cada uno de los modelos calculados, el error de clasificación errónea se introdujo como un nuevo valor binario y se realizaron dos nuevas regresiones de LBR mediante el uso de este valor como objetivo (i) con todas las 25 variables originales retenidas, (ii) mediante el uso de solo los descriptores seleccionados del modelo, para analizar la influencia de las variables en la clasificación errónea. Como conocíamos el valor original del estadio del METAVIR para las diapositivas, fue posible analizar los errores graves de clasificación errónea (discordancia de más de un estadio).

Se sabe que el rendimiento de un modelo se sobrestima cuando se evalúa en los datos que llevaron al modelo (sesgo optimista). Por lo tanto verificamos los tres modelos contra otras dos poblaciones. El primero, llamado aquí FIBROSYS, usó diapositivas de 54 pacientes en dos períodos distintos, la semana 0 (W0) y la semana 96 (W96). El segundo archivo de datos para la validación externa, VINDIAG10, estuvo compuesto por diapositivas de 83 pacientes seleccionadas de una cohorte que respetaba las mismas condiciones que los datos originales (estadio F4 del METAVIR o una longitud de biopsia digitalizada ≥ 20 mm). La Tabla 4 muestra la distribución de los estadios del METAVIR para todos los conjuntos de datos.

Tabla 4. Distribución de los estadios del METAVIR para los cuatro conjuntos de datos (poblaciones).

Población	Estadios del METAVIR					
	F0	F1	F2	F3	F4	Total
MALAH 1	18	169	116	59	54	416
FIBROSIS W0	0	5	21	20	8	54
FIBROSIS W96	0	4	21	20	9	54
VINDIAG 10	2	25	18	9	29	83

Resultados

Población de derivación

Predicción de la CSF

El mejor modelo de BLR incluye 5 descriptores entre los descritos anteriormente: *AOF_STELLAR_TOT*, *MEAN_THICK_BRIDGE*, *NB_BRIDGE*, *PCT_NOD*, y *PCT_RECT*. El valor umbral, "a priori" establecido a 0,5, se mantuvo debido a la prevalencia de la CSF (55 %) y la buena especificidad y sensibilidad del modelo asociado. Con este umbral, clasificamos correctamente casi el 87,3 % de los pacientes y obtuvimos un AUROC de 0,96. En la matriz de discordancia, tuvimos los siguientes resultados: 165 verdaderos negativos (TN), 198 verdaderos positivos (TP), 22 falsos positivos (FP) y 31 falsos negativos (FN). Los resultados obtenidos (Figura 8) confirman que este es un muy buen modelo para predecir el CSF. La Tabla 5 proporciona los resultados generales de rendimiento para el conjunto de datos original (MALAH 1) y la Tabla 5b proporciona los coeficientes del modelo.

Tabla 5. Resultados generales para el modelo de predicción de la CSF. Corregir la tasa de clasificación mediante el uso de un *valor umbral a priori* de 0,5. LWR y UPR: límites inferior y superior del intervalo de confianza del 5 % del valor AUROC.

Población	Pacientes (n)	AUROC			Correctamente clasificado (%)	Discordancia
		Valor	LWR	UPR		
MALAH 1	416	0,957	0,940	0,973	87,3	0,127
FIBROSIS W0	54	0,857	0,724	0,990	81,5	0,185
FIBROSIS W96	54	0,895	0,787	1,003	81,5	0,185
VINDIAG 10	83	0,880	0,804	0,955	80,7	0,193

Tabla 5b. Coeficientes de la regresión logística binaria para la predicción de la CSF.

#	Variable	Inferior	Coefficiente t	Superior	Std, Error	valor z	Prob,
	constante	-1,0116	1,3268	3,7255	1,202 8	1,1031	0,2700
1	AOF_STELLAR_TOT	15,1400	22,0255	29,786 6	3,723 5	5,9153	0,0000
2	PCT_RECT	-0,1398	-0,0996	- 0,0630	0,019 5	- 5,1098	0,0000
3	MEAN_THICK_BRIDGE	0,0075	0,0189	0,0312	0,006 0	3,1294	0,0018
4	NB_BRIDGE	0,1234	0,3480	0,5887	0,118 2	2,9439	0,0032
5	PCT_NOD	0,0015	0,0159	0,0302	0,007 3	2,1798	0,0293

Std, error: error estándar; desviación estándar, Prob :: probabilidad
 Inferior: límite inferior del intervalo de confianza del 95 %,
 Superior: límite superior del intervalo de confianza del 95 %,

Predicción de cirrosis

El mejor modelo de BLR incluye 6 descriptores para predecir la cirrosis (F4): *PCT_RECT*, *PCT_NOD*, *AOF_STELLAR_EP*, *PCT_GRANULARITY*, *DIST_EP_MEAN*, y *INDEX_FRAGMENTATION*. Como la función logística (Figura 9) no es simétrica, no hay razón para usar el *umbral a priori* de 0,5. Nuestra regla era maximizar la sensibilidad a la cirrosis, ya que este es un diagnóstico clínico importante. En este modelo, se selecciona el umbral predictivo "a posteriori" en 0,1567 proporcionando una especificidad de 0,964 y una sensibilidad de 1. Con este umbral, clasificamos correctamente el 96,6 % de los pacientes y obtuvimos un AUROC de 0,994, lo que muestra por lo tanto un excelente modelo. La Tabla 6 proporciona los resultados generales de rendimiento para el conjunto de datos original (MALAH 1) y la Tabla 6b proporciona los coeficientes del modelo.

Tabla 6. Resultados generales para el modelo de predicción de cirrosis. Corregir la tasa de clasificación mediante el uso de una *valor umbral a posteriori* 0,1567. LWR y UPR: límites inferior y superior del intervalo de confianza del 5 % del valor AUROC.

Población	Pacientes (n)	AUROC			Correctamente clasificado (%)	Discordancia
		Valor	LWR	UPR		
MALAH 1	416	0,994	0,989	0,999	96,9	0,034
FIBROSIS W0	54	0,978	0,943	1,01	87,0	0,130
FIBROSIS W96	54	0,946	0,885	1,006	85,2	0,148
VINDIAG 10	83	0,968	0,928	1,01	91,6	0,084

Tabla 6b. Coeficientes de la regresión logística binaria para la predicción de cirrosis.

#	Variable	Inferior	Coeficiente	Superior	Std. Error	valor z	Prob,
	constante	-0,1613	5,7840	12,2506	3,1138	1,8576	0,0632
1	PCT_RECT	-0,2318	-0,1304	-0,0438	0,0472	-2,7617	0,0058
2	PCT_NOD	0,0345	0,0808	0,1409	0,0271	2,9744	0,0029
3	AOF_STELLAR_EP	-4,9658	-3,2450	-1,9505	0,7590	-4,2751	0,0000
4	DIST_EP_MEAN	- 11,5238	-6,0570	-1,6248	2,4783	-2,4440	0,0145
5	PCT_GRANULARITY	0,0461	0,0880	0,1432	0,0243	3,6275	0,0003
6	INDEX_FRAGMENTATION	0,0326	0,0732	0,1227	0,0226	3,2329	0,0012

Std, error: error estándar: desviación estándar, Prob,: probabilidad
 Inferior: límite inferior del intervalo de confianza del 95 %,
 Superior: límite superior del intervalo de confianza del 95 %,

Predicción del estadio del METAVIR

A la diferencia de las predicciones anteriores (CSF y F4), aplicamos aquí un análisis discriminante lineal (LDA) para predecir los estadios del METAVIR. El modelo final incluye 8 descriptores: *PCT_GRANULARITY*, *PCT_RECT*, *PCT_NOD*, *RATIO_FPS*, *DF_FPS*, *DF_FPORT*, *RATIO_BRIDGE* y *INDEX_FRAGMENTATION*. El LDA no proporciona una puntuación del METAVIR única, pero indica una probabilidad de pertenencia para cada estadio. Usamos el método clásico para afectar a una clase al seleccionar la probabilidad más alta ya que las otras imputaciones o bien (i) usan valores de probabilidad arbitrarios o (ii) no muestran un rendimiento estadísticamente mejor. La discordancia promedio es de 0,315 y no hay pacientes con discordancia significativa (con una diferencia de 2 estadios o más entre el estadio del METAVIR y la predicción de acuerdo con la definición clásica usada con pruebas no invasivas de fibrosis hepática). Los resultados obtenidos (Figuras 10 y 11) confirman que también es un buen modelo. La Tabla 7 proporciona los resultados generales de rendimiento para el conjunto de datos original (MALAH 1). El acuerdo entre los estadios del Metavir originales y los estadios previstos fue muy bueno de acuerdo con el índice kappa ponderado = 0,868 (Tabla 7b). Las Tablas 7c y 7d proporcionan las características del modelo. La Tabla 7e no muestra discordancia significativa (≥ 2 F) entre los estadios original y previsto.

Tabla 7. Resultados generales para el modelo de predicción de estadios del METAVIR. Valor de discordancia mediante el uso de distancias iguales o proporcionales entre los estadios del METAVIR. Tasa de clasificación correcta para todos los estadios del METAVIR o F4.

Población	Pacientes (n)	Discordancia		Correctamente clasificado (%)	
		Igual	Proporcional	Todos	F4
MALAH 1	416	0,315	0,315	68,5	75,9
FIBROSIS W0	54	0,407	0,407	59,3	75,0
FIBROSIS W96	54	0,463	0,500	53,7	66,7
VINDIAG 10	83	0,289	0,337	71,1	82,8

Tabla 7b. Acuerdo general entre el estadio del METAVIR y su modelo de predicción.

Coeficiente kappa	inferior	estimado	superior
No ponderado	0,493	0,555	0,618
Ponderado	0,844	0,868	0,891

Tabla 7c. Probabilidades previas usadas en el modelo LDA para la predicción de estadios del Metavir.

F0	F1	F2	F3	F4
0,0433	0,4062	0,2788	0,1418	0,1298

Tabla 7d. Coeficientes del modelo LDA para la predicción de estadios del Metavir.

#	Variable	LD1	LD2	LD3	LD4
1	PCT_GRANULARITY	-0,0147	-0,0459	-0,0217	0,0406
2	PCT_RECT	0,0424	0,0039	0,0264	-0,0378
3	PCT_NOD	-0,0115	0,0019	-0,0063	-0,0055
4	RATIO_FPS	0,0479	-0,0340	-0,0219	0,0150
5	DF_FPS	-5,2464	8,9728	3,6717	1,7888
6	DF_FPORT	4,3518	-6,5818	-10,3962	-6,7348
7	RATIO_BRIDGE	-0,0181	-0,0005	0,0047	-0,0344
8	INDEX_FRAGMENTATION	-0,0107	-0,0244	0,0442	-0,0105

LDi es el coeficiente de la función discriminante ^{jenésima},

Tabla 7e. Distribución del estadio del METAVIR original y estadios previstos.

Metavir		Predicción				
		F0	F1	F2	F3	F4
	F0	4	14	0	0	0
	F1	6	136	27	0	0
Original	F2	0	32	71	13	0
	F3	0	0	17	32	9
	F4	0	0	0	13	41

Poblaciones de validación

Rendimiento del modelo

5 La precisión diagnóstica de los modelos diagnósticos basados en morfometría automatizada se validó en poblaciones de fibrosis y Vindiag 10. La Tabla 5 proporciona los resultados generales para el diagnóstico de la CSF en los tres conjuntos de datos de validación externos. La Tabla 6 proporciona los resultados generales para el diagnóstico de cirrosis en los tres conjuntos de datos de validación externa. La Tabla 7 proporciona los resultados generales de los estadios del Metavir en los tres conjuntos de datos de validación externos. A nivel mundial, se esperaba una disminución en la precisión debido a la falta de sesgo optimista. Sin embargo, las precisiones seguían siendo muy buenas.

Aplicación a la práctica clínica.

15 En la población de Fibrostar, la referencia fue la estadificación del Metavir realizada por el patólogo experto central de Angers. El acuerdo entre la estadificación del Metavir de referencia y la segunda medición fue mejor con el diagnóstico mediante morfometría automatizada que con el diagnóstico inicial del patólogo local de primera línea (Tabla 8).

20 Tabla 8. Acuerdo entre el diagnóstico de referencia por el experto central y el diagnóstico mediante el método de morfometría automatizada de la invención o el patólogo local en los 285 pacientes de la población de Fibrostar. Para los estadios F del Metavir usamos tres tipos de índice de acuerdo. Como la estadificación de la fibrosis es una variable ordinal, se debe preferir kappa ponderado o coeficiente de correlación intraclase. Los mejores valores están en caracteres en negrita.

	Acuerdo de diagnóstico de referencia con:	
	Morfometría	Patólogo local
estadios F:		
- kappa	0,515	0,611
- kappa ponderado	0,881	0,865
- coeficiente de correlación intraclase	0,934	0,929
CSF (kappa)	0,733	0,733
F4 (kappa)	0,900	0,827

Ejemplo 2: Fiabilidad.

40 La exactitud de la predicción es imperfecta. Estos resultados inexactos no se deben al azar y pueden predecirse mediante un análisis estadístico que proporciona importantes predictores independientes de precisión. Esto define el análisis de fiabilidad. Por lo tanto, uno puede calcular *las clases de fiabilidad* donde la precisión varía y los predictores pueden ser diferentes.

45 Por ejemplo, un resultado perfecto tiene el 100 % de precisión. Un análisis de fiabilidad puede determinar las clases de fiabilidad desde 0 a 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 % de precisión con predictores específicos para cada clase de fiabilidad.

50 Los predictores se emiten de la lista de descriptores de la invención.

Por ejemplo, proporcionamos aquí diferentes modelos predictivos obtenidos en diferentes poblaciones mediante regresión logística binaria.

55 Tablas de los coeficientes de la regresión logística binaria para la predicción de la precisión de la fibrosis clínicamente significativa

60

65

ES 2 715 013 T3

Modelo # 1, AUROC = 0,656

Variable	Inferior	Coefficiente	Superior	Std, error	valor z	Prob
(Intersección)	1,9388	4,2135	6,6344	1,1949	3,5263	0,0004
MEAN_THICK_BRIDGE	-0,0181	-0,0097	-0,0014	0,0042	-2,3029	0,0213
PCT_RECT	-0,0687	-0,0358	-0,0044	0,0164	-2,1903	0,0285

Std, error: error estándar: desviación estándar, Prob,: probabilidad
 Inferior: límite inferior del intervalo de confianza del 95 %,
 Superior: límite superior del intervalo de confianza del 95 %,

Modelo # 2, AUROC = 0,893

Variable	Inferior	Coefficiente	Superior	Std, error	valor z	Prob
MEAN_AO_PORT	12,9522	47,5080	86,5260	18,6618	2,5457	0,0109
MEAN_PERIM_BRIDGE	-0,0012	-0,0006	-0,0001	0,0003	-2,4062	0,0161
RATIO_BRIDGE	-0,1333	-0,0714	-0,0106	0,0310	-2,3080	0,0210
PCT_NOD	-0,0558	-0,0296	-0,0051	0,0128	-2,3041	0,0212
AOF_BRIDGE	1,1042	4,8274	9,3013	2,0965	2,3026	0,0213
DF_FPS	-65,6751	-33,6352	-5,0076	15,2713	-2,2025	0,0276

Modelo # 3, AUROC = 0,820

Variable	Inferior	Coefficiente	Superior	Std, error	valor z	Prob
LB_PERIMETER	0,0210	0,0775	0,1366	0,0293	2,6474	0,0081
AOF_BRIDGE	0,5897	1,9735	3,5409	0,7519	2,6246	0,0087
DF_FPORT	1,3641	7,0186	12,7720	2,8979	2,4219	0,0154
RATIO_FPS	0,0200	0,1092	0,2009	0,0460	2,3749	0,0176
LENGTH	-0,1538	-0,0813	-0,0093	0,0368	-2,2093	0,0272
DF_FPS	-32,0752	-16,2661	-1,1053	7,8551	-2,0708	0,0384
Anfractuosidad	-2,3940	-1,1928	0,0008	0,5997	-1,9888	0,0467

Anfractuosidad = relación entre el perímetro nativo y el perímetro alisado del hígado

Tablas de los coeficientes de la regresión logística binaria para la predicción de la precisión de la cirrosis

Modelo # 1, AUROC = 0,916

Variable	Inferior	Coefficiente	Superior	Std, error	valor z	Prob
PCT_NOD	-0,0719	-0,0369	-0,0061	0,0165	-2,2366	0,0253

Modelo # 2, AUROC = 0,959

Variable	Inferior	Coeficiente	Superior	Std, error	valor z	Prob
PCT_NOD	-0,0924	-0,0550	-0,0232	0,0174	-3,1520	0,0016
PCT_RECT	0,0522	0,1474	0,2587	0,0518	2,8445	0,0044
N_LENGTH	-0,2933	-0,1619	-0,0454	0,0618	-2,6220	0,0087
LB_LENGTH	0,2795	0,8925	1,6303	0,3404	2,6217	0,0087
DF_FPORT	4,2902	17,9175	33,1817	7,2281	2,4789	0,0132
AOF_STELLAR_EP	0,7316	2,1216	4,1031	0,8765	2,4206	0,0155
NB_BRIDGE	-1,2683	-0,6658	-0,1301	0,2851	-2,3352	0,0195
DF_FPS	-74,6557	-37,7834	-7,1016	16,8191	-2,2465	0,0247
LB_PERIMETER	-0,3474	-0,1687	-0,0105	0,0844	-1,9988	0,0456

N_LENGTH: longitud del espécimen numérico; LB_LENGTH: longitud inicial del espécimen fijo

Modelo # 3, AUROC = 0,984

Variable	Inferior	Coeficiente	Superior	Std, error	valor z	Prob
PCT_NOD	-0,6229	-0,2149	-0,0796	0,1087	-1,9776	0,0480

Ejemplo 3: Diagnóstico de NASH.

La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) es una patología frecuente. Abarca las lesiones hepáticas vinculadas al síndrome metabólico. Evoluciona desde la esteatosis pura hasta la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y la fibrosis hepática. La NASH incluye varias lesiones: esteatosis, hinchamiento de hepatocitos e inflamación lobular (Sanyal Hepatology 2011). Un equipo de expertos internacionales ha descrito una puntuación de actividad NAFLD (NAS) (Kleiner Hepatology 2005).

Hemos medido varias lesiones en una cohorte de 235 pacientes con NAFLD. La microscopía óptica incluyó lesiones clásicas (grado de esteatosis, NAS, NASH y fibrosis). La morfometría con análisis de imagen incluyó la medición automática del área de esteatosis (AOS) y la dimensión fractal de la esteatosis (DS), así como también el área de fibrosis (AOF) y la dimensión fractal de la fibrosis (D_F). También definimos el área relativa de esteatosis (rAOS) como el área de esteatosis en el área no fibrótica.

Cualquiera que sea el estadio de fibrosis, la NAS se correlacionó globalmente bien ($p < 0,001$) con el área de esteatosis (AOS) ($r_s = 0,746$), área relativa de esteatosis (rAOS) ($r_s = 0,761$), y dimensión fractal de la esteatosis (DS) ($r_s = 0,794$).

La dimensión fractal media de la esteatosis (DS) fue mucho mayor cuando estaba presente NASH: $1,652 \pm 0,100$ vs $1,395 \pm 0,126$ en ausencia de NASH ($p = 0,001$).

Por consiguiente, la NASH se previó bien por el área relativa de esteatosis (rAOS) con AUROC = 0,919 con precisión diagnóstica al 85,6 % o por la dimensión fractal de la esteatosis (DS): AUROC = 0,936, exactitud diagnóstica: 87,6 %

El mejor punto de corte para diagnosticar NASH fue el área relativa de esteatosis (rAOS) = 8,2 % o la dimensión fractal de la esteatosis (DS) = 1,595.

Mediante la regresión logística binaria por etapas, se diagnosticó NASH mediante la combinación, denominada puntuación de NASH, de la dimensión fractal de la esteatosis (DS), el área de fibrosis (AOF) y el área relativa de esteatosis (rAOS) con AUROC = 0,953 y precisión diagnóstica = 87,6 %. La proporción de pacientes con valores predictivos del 95 % para NASH fue: rAOS: 44,6 %, DS: 63,7 %, puntuación de NASH: 75,5 % ($p < 0,001$ entre cada proporción por la prueba de McNemar).

La Figura 12 muestra la distribución del diagnóstico de NASH como una función de los intervalos de valores predictivos del 95 % por puntuación de NASH. Las puntuaciones medias de NASH de los pacientes fueron las siguientes:

	NASH	Determinación de la presencia de NASH con la puntuación de NASH,	Puntuación media de NASH
5	Negativo	No	0,04
		Dudoso	0,11
		Sí	N/A
10	Indeterminado	No	0,43
		Dudoso	0,47
		Sí	0,55
15	Positivo	No	0,88
		Dudoso	0,93
		Sí	0,97

20 La Figura 13A muestra los decilos de puntuación de NASH (eje X) trazados contra la proporción de diagnóstico NASH (eje Y). La Figura 13B muestra los diagramas de caja de la puntuación de NASH como una función de los valores predictivos del 95 % y el diagnóstico de NASH. Como se muestra en las Figuras 13A y B, con el corte de valor predictivo negativo del 95 %, no se pierde la NASH definitiva, mientras que con el corte de valor predictivo positivo del 95 %, solo hay un 3 % de pacientes sin NASH.

25 Además, probamos nuestros descriptores en una nueva población de 137 pacientes con NAFLD. La definición histológica de NASH fue la más reciente como se describe en un documento de consenso (Sanyal Hepatology 2011). La NASH se define como diagnóstico límite o definitivo.

30 Los resultados fueron los siguientes de acuerdo con las dos posibles definiciones de NASH:

Objetivo diagnóstico de NASH	Número de paciente (duración de la biopsia)	AUROC	Correctamente clasificado (%)
Límite + definitivo	107 (≥ 20 mm)	0,921	84,1
	137 (todos)	0,891	80,3
Definitivo	107 (≥ 20 mm)	0,868	78,5
	137 (todos)	0,845	75,2

Modelo para NASH definitivo

Variable	Coficiente	Desviación estándar	Valor Z	Probabilidad
Constante	-13,32199153	3,463405925	-3,846500	1,198170e-04
Contrast_Fib_Parenchyma	-0,05635018	0,022324528	-2,524137	1,159826e-02
Dimensión fractal de la esteatosis,	8,23338304	2,039900986	4,036168	5,433132e-05
Duración de la biopsia	0,01743691	0,008354337	2,087169	3,687290e-02
AOF_STELLAR_TOT	14,95754878	3,578657393	4,179654	2,919533e-05

Modelo para límite + definitivo NASH

Variable	Coefficiente	Desviación estándar	Valor Z	Probabilidad
Constante	-17,43729686	4,05374381	-4,301529	1,696235e-05
Contrast_Fib_Parenchyma	-0,09204421	0,03120528	-2,949636	3,181486e-03
Dimensión fractal de la esteatosis,	14,51277356	3,09510099	4,688950	2,746106e-06
AOF_STELLAR_EP	-0,40530236	0,20406950	-1,986100	4,702226e-02
AOF_STELLAR_TOT	15,77945921	4,22038919	3,738864	1,848540e-04

15 Ejemplo 4: Medición automática de lesiones en una imagen radiológica.

Desarrollamos el análisis de imágenes de tomografía computarizada (TDM) para permitir un diagnóstico automático de cirrosis y otras etapas de fibrosis. La ventaja de las imágenes de TDM es que, al contrario de una biopsia hepática, podemos evaluar todo el hígado. Por consiguiente, disponemos de información más representativa. La manera de proceder es la misma que el método de biopsia hepática, excepto que no analizamos un corte sino varios cortes a intervalos de 10 mm. Por lo tanto, para un paciente obtuvimos aproximadamente 15-20 imágenes de 512 x 512 píxeles con niveles de gris (Figura 14).

25 Semiología

Podemos separar las medidas de los descriptores en diferentes categorías (ver Tabla 9):

Tabla 9

Categoría	Mediciones
Morfología externa	
<i>Hígado</i>	Anfractuosidad:
	Perímetro nativo del hígado (perímetro medio y total)
	Perímetro alisado
	Relación entre los 2 perímetros
	El perímetro más grande entre todos los cortes.
	Indentación
	Altura del hígado
	Nodularidad de los bordes
	Angularidad
	Proporción de grasa en la caja que incluye el hígado
	Proporción de grasa en el hígado abdominal
<i>Bazo</i>	Relación entre el área del bazo y el área del hígado.
	Perímetro total del bazo
	Altura del bazo
	Nodularidad de los bordes
Morfología interna	
	Hipertrofia del segmento I del hígado (2 longitudes antero-posteriores D1, D3 y 2 longitudes transversales D2, D4: ver la figura). La hipertrofia/superficie/volumen del segmento I del hígado también puede expresarse como cualquier producto de 2 a 4 longitudes D1 a D4

	El volumen puede calcularse con la superficie y la altura del segmento I del hígado
5	Longitudes del segmento IV del hígado: longitud mínima y máxima anterior-posterior o transversal
	La superficie del segmento IV del hígado también puede expresarse como cualquier producto de 2 longitudes
10	El volumen puede calcularse con la superficie y la altura del segmento IV del hígado
	Longitudes superficie/volumen de otro segmento del hígado: como se describe para el segmento IV del hígado
15	Hígado entero o volumen del segmento del hígado obtenido mediante reconstrucción.
20	El hígado entero o la superficie del segmento del hígado también puede obtenerse contorneando los límites del hígado o del segmento del hígado ya sea manualmente o mediante un proceso automatizado o ambos métodos (proceso semiautomatizado)
	Relación entre las dimensiones del segmento I y del segmento IV
25	Grosor del surco (D_F1) y superficie (Surf_F1) (por ejemplo, ligamento de Arancio)
	Diámetro de la vena porta
	Nodularidad interna en el hígado.
30	Estructura
	Heterogeneidad de la intensidad de la densidad en la imagen entre varias regiones de interés (ROI) en el hígado
	Organización fractal del parénquima hepático.

35

En cuanto al espécimen de la LB, el análisis de los bordes del hígado en TDM es un importante descriptor a considerar para el diagnóstico de cirrosis. Los bordes tienden a volverse cada vez más curvos e irregulares en los estadios de fibrosis alta (F3, F4 del Metavir). Los bordes del bazo y el hígado pueden evaluarse con una máscara del bazo y el hígado (Figura 15). Por lo tanto, medimos la característica de anfractuosidad con el *perímetro nativo del hígado* (perímetro medio y total), el *perímetro alisado* del hígado (Figura 20) y la *relación entre los perímetros nativo y alisados*. Nosotros también medimos el *perímetro más grande* entre todos los cortes. La *indentación* del hígado puede ser interesante para evaluar la variación de los bordes alrededor de los bordes alisados. Completamos la descripción de la morfología externa del hígado con su *altura*, la *dimensión fractal de sus bordes* (Figura 18), la *modularidad* de sus bordes curvos e irregulares (Figura 16), y la *angularidad* que representa los ángulos presentes en los bordes. Por lo tanto obtuvimos un gran número de variables que describen el hígado. Finalmente, diseñamos una caja que contenía el hígado donde medimos la *proporción de grasa en el hígado* (píxeles negros contra otros píxeles, Figura 17). También calculamos de la misma manera la *proporción de grasa abdominal* (píxeles negros contra otros píxeles contenidos en el abdomen). Hicimos la misma evaluación para el bazo y evaluamos la *altura del bazo*, el *perímetro total del bazo*, la *relación entre el área del bazo y el área del hígado* y la *nodularidad de los bordes del bazo*.

Morfología interna (Figura 20)

Otros parámetros interesantes son la *hipertrofia del segmento I del hígado (uno)* que se observa en los estadios de fibrosis del Metavir alta, el *ancho del segmento IV del hígado*, y la *relación entre las dimensiones del segmento I y el segmento IV*. La hipertrofia se mide con diferentes longitudes (ver Figura 19) y su combinación matemática (relación y productos). Usamos la vena cava inferior como un punto de referencia para estas medidas: obtuvimos 2 longitudes antero-posteriores (D1 y D3, Figura 19A), 2 longitudes transversales (D2 y D4, Figura 19A) y la *superficie del segmento I (Surf_S1, Figura 19B)*. También se evaluaron el *grosor del surco (D_F1)* y la *superficie (Surf_F1)*, especialmente el ligamento de Arancio o surco que tiende a aumentar en cirrosis, (Figura 19C), como la *nodularidad interna* en el hígado El *diámetro de la vena porta* también se midió.

Estructura

Medimos la heterogeneidad de la intensidad de densidad en la imagen entre varias regiones de interés (ROI) en el hígado. También se estudió la organización fractal del parénquima hepático.

Cálculos

El valor diagnóstico de los descriptores radiológicos se calculó como sigue.

5 La *variable dependiente* es el objetivo diagnóstico entre las lesiones hepáticas patológicas:

- Fibrosis como objetivo binario como la fibrosis significativa o cirrosis o estadificación como la estadificación del Metavir,
- Esteatosis.

10 Las variables independientes se seleccionaron entre la lista de descriptores radiológicos disponibles entre los conocidos en la literatura más los nuevos signos descritos en la presente solicitud.

15 La variable dependiente se previó por el *variables independientes* gracias al adecuado análisis multivariado estadístico como la regresión logística binaria o el análisis discriminante. El análisis multivariado proporciona una puntuación que incluye una o varias variables independientes.

Ejemplo:

20 Población: 30 pacientes con hepatitis C crónica, biopsia hepática (estadificación del Metavir) y TDM.

La variable independiente fue la superficie del surco:

Objetivo diagnóstico	Fibrosis significativa	Cirrosis
AUROC	0,882	0,893
Correctamente clasificado (%)	79,3	75,9
Coeficientes de puntuación:		
Constante	-1,148	-2,645
Superficie del surco	2,793	2,026
Valor p para superficie del surco	0,031	0,005

35 Ejemplo 5: Medición automática de lesiones en una imagen radiológica.

Listado de descriptores radiológicos.

40 Los 48 descriptores hepáticos siguientes (Tabla 10) se midieron mediante morfometría digitalizada semiautomatizada en imágenes proporcionadas por la tomografía computarizada:

Tabla 10

Sitio	Descriptor
<i>Morfología externa</i>	
Hígado	1. Perímetro medio del hígado nativo (MNLP)
	2. Perímetro total del hígado nativo
	3. Perímetro total del hígado alisado
	4. Relación de perímetros hepáticos totales nativos/alisados (RNSTLP)
	5. Perímetro del hígado más grande (LLP)
	6. Superficie media del hígado
	7. Superficie total del hígado
	8. Relación del perímetro del hígado/superficie del hígado (RLPS)
	9. Indentación del hígado
	10. Altura del hígado
	11. Dimensión fractal de los bordes del hígado

ES 2 715 013 T3

	12. Nodularidad hepática
	13. Angularidad del hígado
5	14. Proporción de grasa en el hígado
Abdomen	15. Proporción de grasa abdominal
Bazo	16. Altura del bazo (SH)
10	17. Perímetro total del bazo (TSP)
	18. Perímetro medio total del bazo (MTSP)
	19. Superficie total del bazo
15	20. Superficie media del bazo total
	21. Relación de las superficies del bazo/hígado (RSLs)
	22. Relación del perímetro bazo/hígado
20	23. Nodularidad de los bordes del bazo.
	24. Dimensión fractal media de los bordes del bazo
<i>Morfología interna</i>	
25	25. Ancho del segmento IV del hígado
	26. Relación entre las dimensiones del segmento I y del segmento IV
	27. Relación del segmento I/superficies del hígado (RS1LS)
30	28. Primera longitud antero-posterior del segmento I (D1)
	29. Primera longitud transversal del segmento I (D2)
	30. Segunda longitud antero-posterior del segmento I (D3)
	31. Segunda longitud transversal del segmento I (D4)
35	32. Superficie del segmento I
	33. Grosor del surco de Arancio (AFT)
	34. Superficie del surco de Arancio
40	35. Nodularidad interna
	36. Diámetro de la vena porta
<i>Estructura del hígado</i>	
45	37. Densidad total media
	38. Desviación estándar de la densidad total (SDTD)
	39. Coeficiente de variación de la densidad total
50	40. Densidad total media
	41. Rango intercuartílico de densidad total (IQRTD)
	42. Relación de rango intercuartil/mediana de densidad total
55	43. Densidad media de la ROI
	44. Desviación estándar de la densidad de la ROI (SDROID)
	45. Coeficiente de variación de la densidad de la ROI.
	46. Densidad mediana de la ROI
60	47. Rango intercuartílico de densidad ROI
	48. Relación de rango intercuartil/mediana de la densidad de la ROI
65	* Los descriptores en negrita son descriptores independientes en las siguientes puntuaciones de diagnóstico.

Los descriptores de la Tabla anterior pueden combinarse por la división o multiplicación, por ejemplo, la hipertrofia del segmento I del hígado se puede describir mediante D1 x D2 x D3 x D4. Algunos descriptores pueden aplicarse a otras estructuras, por ejemplo, dimensiones de todos los surcos, densidad del bazo...

5

Puntuaciones de diagnóstico

10

El desarrollo y la evaluación de las puntuaciones de diagnóstico se realizaron en una población de 107 pacientes con enfermedad hepática crónica de causas diversas. Todos los pacientes tenían tomografía computarizada hepática. La referencia diagnóstica fue una biopsia hepática en 91 pacientes o un diagnóstico de fibrosis no invasiva mediante Elasto-FibroMeter V2G (E-FibroMeter^{2G}) combinando Fibroscan y FibroMeter V2G en 107 pacientes. Ambas referencias se basaron en la estadificación de la fibrosis del Metavir (F0 a F4). Las puntuaciones se obtuvieron mediante regresión logística binaria con los resultados de estadificación del Metavir (objetivos) como referencia diagnóstica. Los objetivos diagnósticos fueron fibrosis significativa (Metavir F≥2), fibrosis severa (Metavir F≥3) y cirrosis (Metavir F = 4).

15

Biopsia hepática como referencia.

20

Las puntuaciones se obtuvieron mediante regresión logística binaria con estadificación del Metavir como referencia diagnóstica.

La siguiente Tabla 11 describe la composición y precisión de la prueba.

Tabla 11

25

Objetivos diagnósticos	Variables					AUROC	
	Listado*	Tipo		N			
<i>Puntuación para:</i>		TDM	FS	BT			
Cirrosis							
Pre 1	SDTD, D3, AFT, RSLS	x			4	0,872	
Pre 4	Pre 1 + TSP	x			5	0,883	
Fibroscan			x		1	0,853	
CirrhoMeter				x	8	0,797	
FibroMeter				x	8	0,726	
E-FibroMeter			x	x	8	0,866	
Pre 5	Pre 4 + FS	x	x		6	0,922	
Pre 6	Pre 4 + FS, GGT	x	x	x	7	0,940	
Pre 8	Pre 4 + FS, GGT, edad, HA	x	x	x	9	0,953	
Fibrosis significativa							
Pre 2	IQRD, AFT, MNLP, MTSP, RSLS	x			5	0,910	
Fibroscan			x		1	0,920	
CirrhoMeter				x	8	0,840	
FibroMeter				x	8	0,803	
E-FibroMeter			x	x	8	0,937	
Pre 9	Pre 2 + FS, PI, A2M	x	x	x	7	0,982	
Pre 10	Pre 2 + FS, A2M, AST, PI	x	x	x	8	0,985	

65

Fibrosis severa							
5	Pre 3	RS1LS, D4, RNSTLP	x			3	0,821
	Pre 1		x			4	0,822
	Pre 4		x			5	0,823
10	Fibroscan			x		1	0,898
	CirrhoMeter				x	8	0,795
	FibroMeter				x		0,705
15	E-FibroMeter			x	x		0,894
	Pre 11	Pre 3 + FS	x	x		4	0,905
	Pre 12	Pre 2 + FS, AST	x	x	x	6	0,929
20	HA: ácido hialurónico, IP: índice de protrombina, A2M: alfa2-macroglobulina, FS: Fibroscan, BT: pruebas de sangre, TDM: tomodensitometría, Pre: puntuación predictiva, * Las puntuaciones y los descriptores en negrita incluyen solo los descriptores proporcionados por la tomodensitometría,						

25 Como se muestra en la Tabla 11, para el diagnóstico de cirrosis, la tomodensitometría supera todas las demás pruebas no invasivas. Además, para un diagnóstico de fibrosis significativo, la tomodensitometría mejora la mejor prueba no invasiva (E-FibroMeter).

30 E-FibroMeter como referencia

Las puntuaciones se obtuvieron mediante la regresión lineal múltiple con E-FibroMeter V2G como referencia diagnóstica.

La puntuación del E-FibroMeter se dividió en objetivos diagnósticos binarios: fibrosis significativa y cirrosis de acuerdo con el corte máximo de Youden respectivo.

35 Composición (Tabla 12)

Tabla 12

Puntuaciones	Descriptores	N	Tipo		
			Descriptor	TDM	FS
	Listado (abreviaturas) *				
45	APV 1	5	x		
	APV 2	6+	x	x	x
	APV 3	4+	x	x	x
50	APV: valor predictivo ajustado * Las puntuaciones y los descriptores en negrita incluyen solo los descriptores proporcionados por la tomodensitometría,				

Correlaciones (Rs, Tabla 13)

Tabla 13

	E-FibroMeter	F del Metavir
N pacientes	99	82
APV 1	0,552	0,498
APV 2	0,883	0,723
APV 3	0,918	0,779
E-FibroMeter	-	0,755
Fibroscan	0,926	0,718

Precisión (AUROC, Tabla 14)

Tabla 14

Puntuación *	AUROC		E-FibroMeter	
	Metavir			
Referencia	<i>Fibrosis significativa</i>	<i>Cirrosis</i>	<i>Fibrosis significativa</i>	<i>Cirrosis</i>
<i>Objetivo diagnóstico</i>	<i>Fibrosis significativa</i>	<i>Cirrosis</i>	<i>Fibrosis significativa</i>	<i>Cirrosis</i>
<i>N pacientes</i>	82	82	99	99
<i>APV 1</i>	0,794	0,777	0,714	0,788
<i>APV 2</i>	0,958	0,832	0,975	0,967
<i>APV 3</i>	0,973	0,877	0,947	0,977
<i>E-FibroMeter</i>	0,937	0,866	-	-
<i>Fibroscan</i>	0,920	0,853	0,918	0,973
<i>Pre 2</i>	0,910	0,805	0,746	0,795
<i>Pre 4</i>	0,796	0,883	0,740	0,810
<i>Pre 10</i>	0,985	0,900	0,957	0,991

* Las puntuaciones en caracteres en negrita incluyen solo los descriptores proporcionados por la tomografía, *tomodensitometría*,

Como se muestra en la Tabla 14 y en la Figura 21, para un diagnóstico significativo de fibrosis, la tomografía (puntuación APV 3) mejora la precisión de otras pruebas no invasivas. Además, la puntuación APV 3 definida con E-FibroMeter supera la puntuación Pre 2 definida con la estadificación del Metavir.

Para el diagnóstico de cirrosis, la tomografía (puntuación APV 3) mejora la precisión de otras pruebas no invasivas.

En conclusión, varias puntuaciones multivariables que incluyen algunos descriptores radiológicos independientes, medidos por morfometría digitalizada semiautomatizada, ya sea solo (tomografía) o combinados con elastometría y/o marcadores sanguíneos tienen una alta precisión diagnóstica para la fibrosis hepática significativa y cirrosis.

Ejemplo 6: Puntuación pronóstico.

Métodos

La población de Vindiag 10 incluyó 204 pacientes con CHC (Hepatitis C crónica) y una LB de referencia (biopsia hepática). En esta población, el seguimiento fue de $10,2 \pm 3,7$ años para la mortalidad y de $8,5 \pm 4,5$ años para las complicaciones hepáticas. Durante el seguimiento, se observó una respuesta virológica sostenida (RVS) al tratamiento antiviral en el 40,2 % de los pacientes, la mortalidad general fue del 15,2 %, la mortalidad relacionada con el hígado fue del 5,4 % y las complicaciones hepáticas ocurrieron en el 16,7 % de los pacientes. La mortalidad se registró de acuerdo con un registro nacional. La supervivencia se analizó con el modelo de Cox.

Resultados

Datos histológicos

En este análisis, los predictores independientes incluyeron todos los análisis ópticos clásicos (estadio F del METAVIR), los descriptores clásicos (tal como, por ejemplo, el área de fibrosis) y los nuevos descriptores (tal como, por ejemplo, el área media del puente), que incluyeron las nuevas puntuaciones morfométricas (medidas por la combinación matemática de acuerdo con el método de la invención, tal como, por ejemplo, la puntuación de cirrosis mostrada anteriormente en la Tabla 6b). La mayor parte de la información del pronóstico independiente se proporcionó por los nuevos descriptores de la invención, independientemente del resultado del pronóstico (Tabla 15). La estadificación clásica del Metavir (F_M) no tuvo un papel significativo o un papel límite.

Tabla 15. Predictores independientes entre los datos histológicos según el modelo de Cox de eventos clínicos en la población de Vindiag 10. Las primeras cifras predictivas indican la etapa en el análisis paso a paso hacia adelante.

	Mortalidad general		Mortalidad relacionada con el hígado		Complicaciones hepáticas	
Pacientes	Variables ^a	χ ²	Variables ^a	χ ²	Variables ^a	χ ²
Todos	Área media de la fibrosis porto-septal Metavir F _M	24,3	Área media del área lobular de fibrosis porto-septal del número de fibrosis estelar del número de nódulos de puentes	148,6	Dimensión fractal del área media del puente de la puntuación de esteatosis y cirrosis	70,8

^a La figura indica la etapa en la regresión logística binaria paso a paso hacia adelante
 χ²: significado general del modelo, Los descriptores morfométricos de la invención se indican en cursiva

Datos combinados

El análisis de supervivencia del modelo de Cox en la cohorte de Vindiag 10 incluyó datos demográficos, RVS, 6 pruebas de fibrosis sanguínea, estadificación del Metavir (F_M) y las 44 variables morfométricas. Los resultados se presentan en la Tabla 16.

Tabla 16. Predictores independientes según el modelo de Cox de eventos clínicos en la población de Vindiag 10. Las primeras cifras predictivas indican la etapa en el análisis paso a paso hacia adelante.

	Mortalidad general		Mortalidad relacionada con el hígado		Complicaciones hepáticas	
Pacientes	Variables ^a	χ ²	Variables ^a	χ ²	Variables ^a	χ ²
Todos	CirrhoMeter ^{2G} p = 0,015 SVR p = 0,033 Fibrotest p = 0,010 <i>Distancia portal</i>	46,5	CirrhoMeter ^{2G} p<0,001 <i>Área de esteatosis p=0,003</i>	30,9	CirrhoMeter ^{2G} p<0,001 <i>Área de esteatosis p<0,001</i> RVS p = 0,028	76,6
	<i>p=0,013 Dimensión del borde fractal p=0,047</i>				Fibrotest p = 0,001 Hepascore p = 0,039 Número de nódulos p = 0,039	
Espécimen de hígado ≥20mm o F _M 4	CirrhoMeter ^{2G} p<0,001 <i>F_M4 puntuación p=0,003</i>	24,7	CirrhoMeter ^{2G} p=0,007 <i>Área de esteatosis p=0,017</i> <i>F_M4 puntuación p=0,010</i> <i>Intensidad del espécimen azul p=0,028</i>	32,3	CirrhoMeter ^{2G} p<0,001 <i>Área de esteatosis p=0,001</i> <i>Intensidad del espécimen azul p = 0,005</i> <i>Dimensión del borde fractal p=0,016</i> <i>Número de fragmentos p=0,008</i> <i>Intensidad del parénquima verde p=0,052</i>	59,7

^a La figura indica la etapa en la regresión logística binaria paso a paso hacia adelante
 χ²: Significado general del modelo, RVR: respuesta virológica sostenida, Los descriptores morfométricos de la invención se indican en cursiva

5 En resumen, sea cual sea el pronóstico (mortalidad general, mortalidad hepática, complicaciones hepáticas) o población (todos los 204 pacientes o 110 pacientes con una longitud de espécimen del hígado ≥ 20 mm o F_{M4}), CirrhoMeter^{2G} siempre fue el primer predictor independiente. Siempre hubo al menos un nuevo descriptor morfométrico de la invención entre otros predictores. Particularmente, *el área de esteatosis* fue el segundo predictor de eventos hepáticos (mortalidad o complicaciones). Curiosamente, la puntuación morfométrica F_{M4} fue un predictor independiente para la mortalidad general y relacionada con el hígado en pacientes con especímenes adecuados (longitud ≥ 20 mm o F_{M4}). Debe señalarse que F_M del Metavir no tuvo un papel independiente.

10

Reivindicaciones

- 5 1. Un método implementado por ordenador para evaluar la presencia de una fibrosis clínicamente significativa en un órgano del hígado o tejido hepático de un sujeto a través del análisis automatizado de al menos una imagen de dicho órgano del hígado o tejido hepático, en donde dicho método comprende las etapas de:
- 10 a. medir en dicha al menos una imagen los siguientes descriptores de dicha al menos una imagen: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de Arancio, perímetro medio del hígado nativo, perímetro medio total del bazo y relación de la superficie del bazo a la superficie del hígado, en donde:
- 15 - el rango intercuartílico de densidad total se define como un descriptor de la estructura del hígado y,
 - el grosor del surco de Arancio se define como un descriptor de la morfología interna del hígado que representa el área localizada entre el segmento I y el segmento II/III del lóbulo hepático izquierdo.
- 20 b. combinar matemáticamente dichos descriptores en una puntuación, en donde dicha combinación matemática es una regresión logística binaria, y
 c. evaluar la presencia de fibrosis clínicamente significativa, en base al valor de la puntuación calculada en la etapa (b).
- 25 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la rigidez del hígado se mide y se combina matemáticamente en una regresión logística binaria con los descriptores medidos.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en donde al menos uno de los índices de protrombina, alfa-2 macroglobulina y/o aspartato aminotransferasa se mide y se combina matemáticamente en una regresión logística binaria con los descriptores medidos y la rigidez del hígado.
- 30 4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde al menos una imagen es una imagen de todo el órgano del hígado o tejido hepático.
- 35 5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde al menos una imagen se obtiene mediante una técnica no óptica, preferentemente seleccionada del grupo que comprende radiografía, tal como, por ejemplo, rayos X, ultrasonografía, escáner computarizado, imágenes de resonancia magnética (IRM), imágenes de resonancia magnética funcional, tomografía, tomografía axial computarizada, tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único; y medicina nuclear, tal como por ejemplo, escintigrafía; métodos fotoacústicos; y métodos térmicos.
- 40 6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la fibrosis clínicamente significativa se relaciona con una enfermedad hepática seleccionada de las enfermedades hepáticas agudas y enfermedades hepáticas crónicas, preferentemente a la hepatitis C viral crónica, hepatitis B viral crónica, hepatitis D viral crónica, hepatitis E viral, enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad del hígado graso alcohólico, hepatitis autoinmune, hemocromatosis, enfermedad de Wilson y trastorno metabólico adquirido o heredado.
- 45 7. Un dispositivo para implementar el método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para evaluar la presencia de una fibrosis clínicamente significativa en un órgano del hígado o tejido hepático de un sujeto a través del análisis automatizado de al menos una imagen de dicho órgano del hígado o tejido hepático, dicho dispositivo que se adaptado para realizar dicho método que comprende:
- 50 a. medir en dicha al menos una imagen los siguientes descriptores: rango intercuartílico de densidad total, grosor del surco de Arancio, perímetro medio del hígado nativo, perímetro medio total del bazo y relación entre la superficie del bazo y la superficie del hígado, en donde:
- 55 - el rango intercuartílico de densidad total se define como un descriptor de la estructura del hígado,
 - el grosor del surco de Arancio se define como un descriptor de la morfología interna del hígado que representa el área localizada entre el segmento I y el segmento II/III del lóbulo hepático izquierdo.
- 60 b. combinar matemáticamente dichos descriptores en una puntuación, en donde dicha combinación matemática es una regresión logística binaria, y
 c. evaluar la presencia de fibrosis clínicamente significativa, en base al valor de la puntuación calculada en la etapa (b),
 preferentemente, dicho dispositivo es un microprocesador que comprende un algoritmo informático para realizar la regresión logística binaria de la etapa (b).

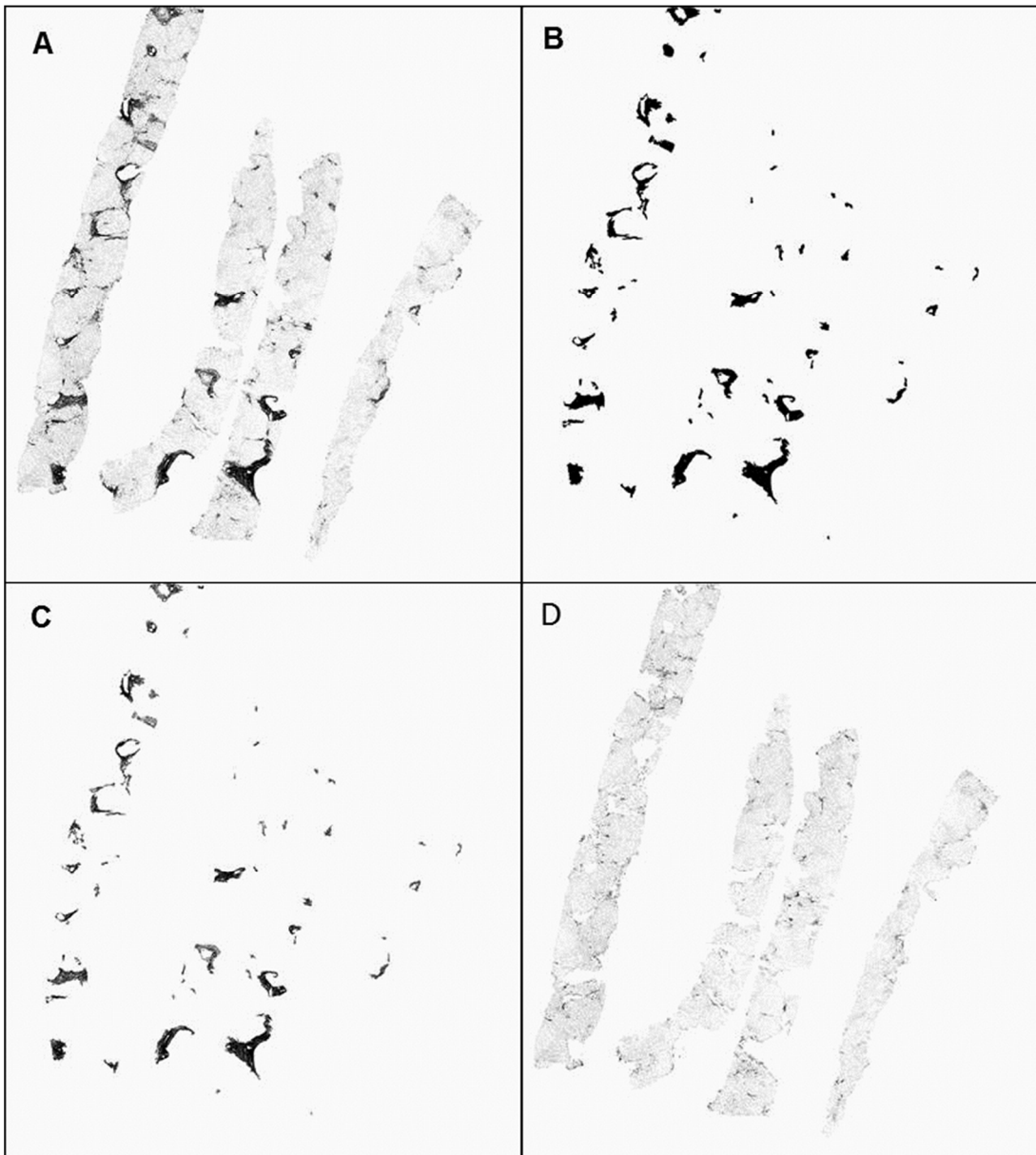


FIG. 1

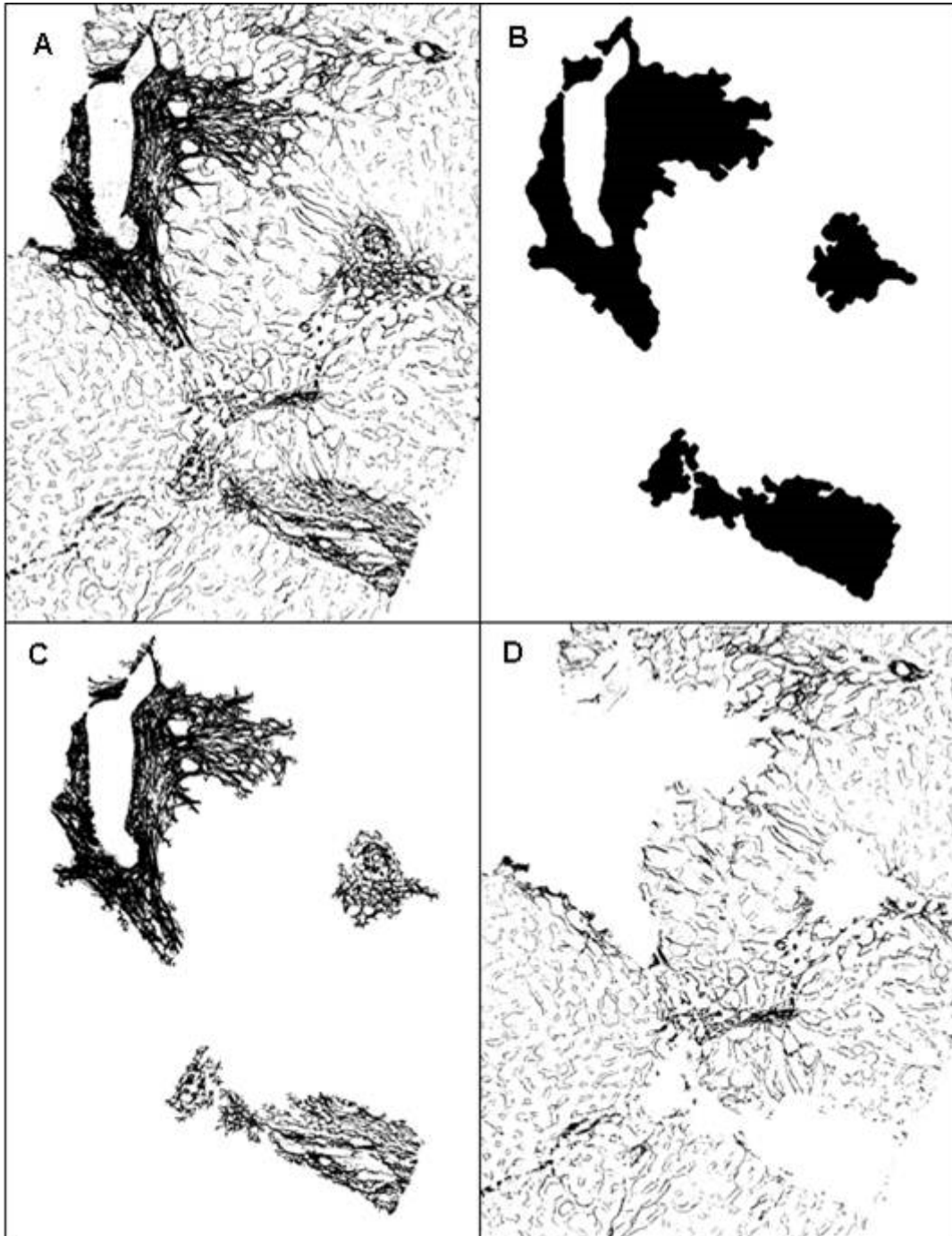


FIG. 2

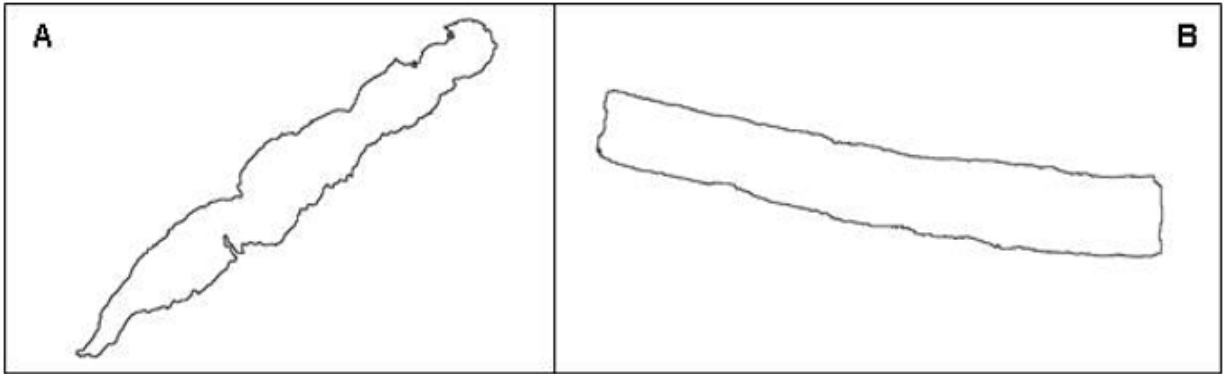


FIG. 3

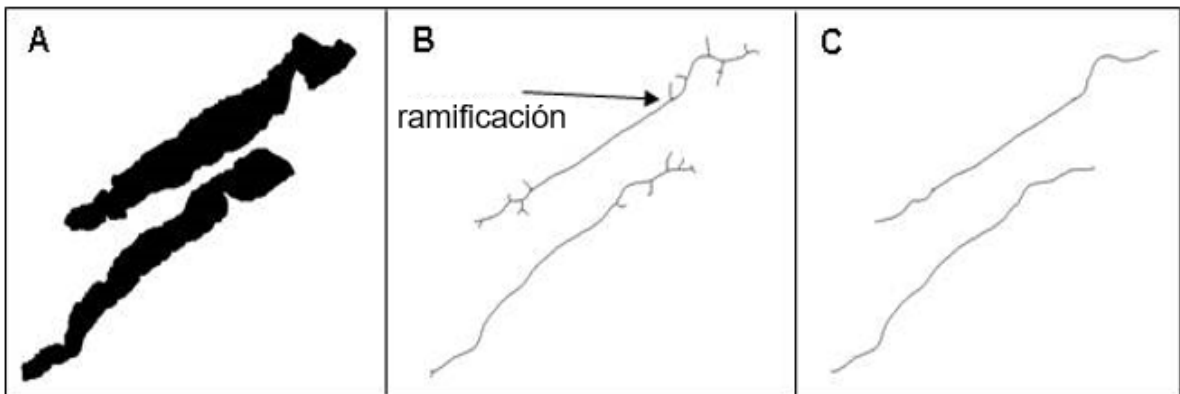


FIG. 4

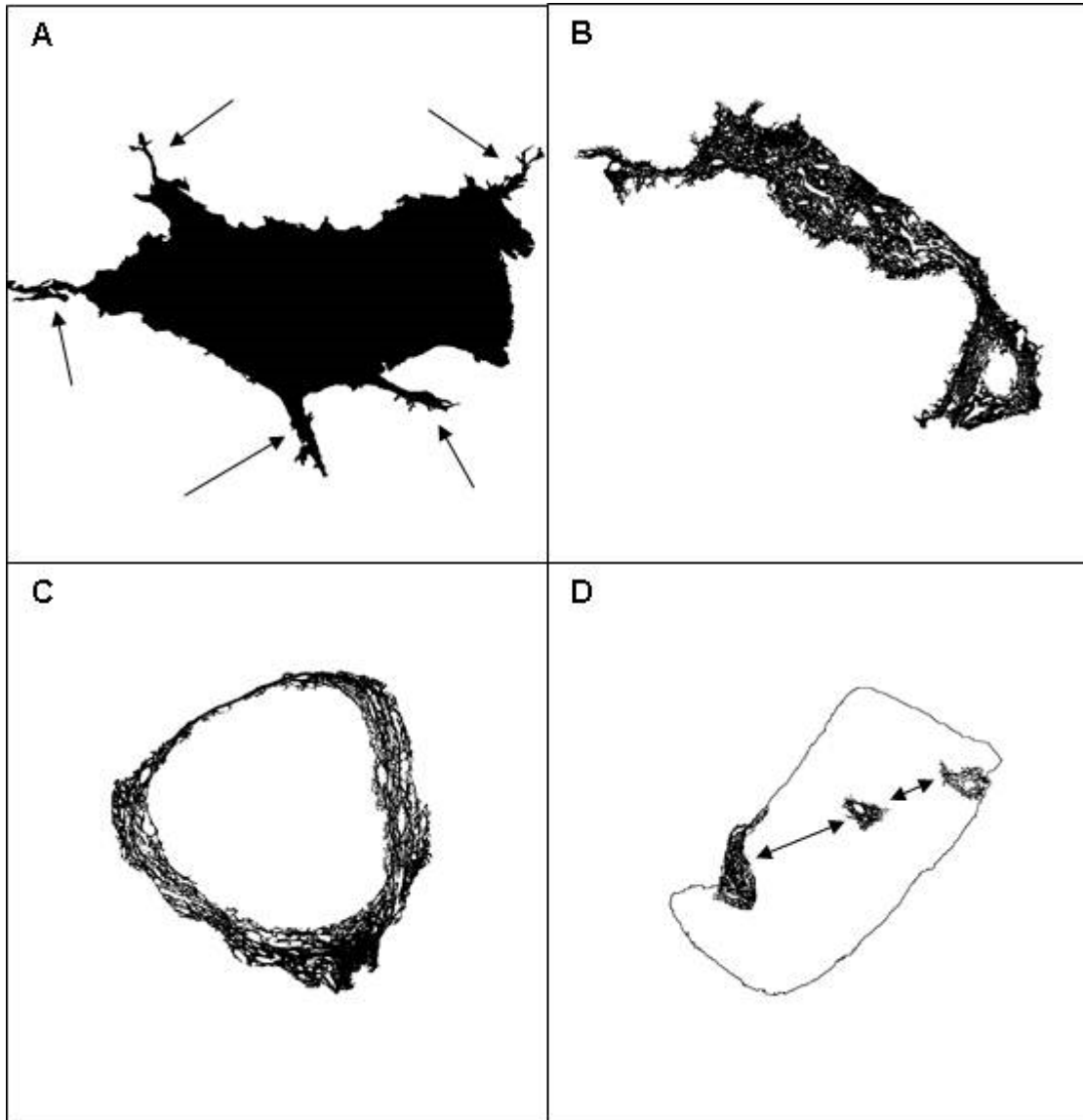


FIG. 5

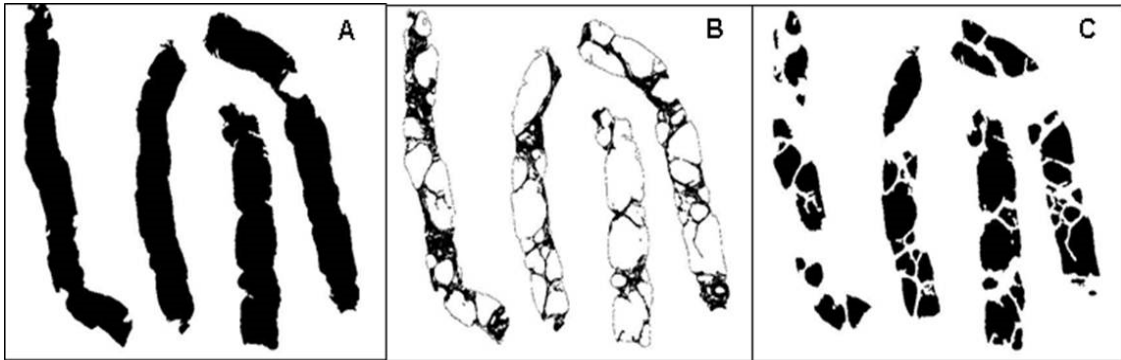


FIG. 6



FIG. 7

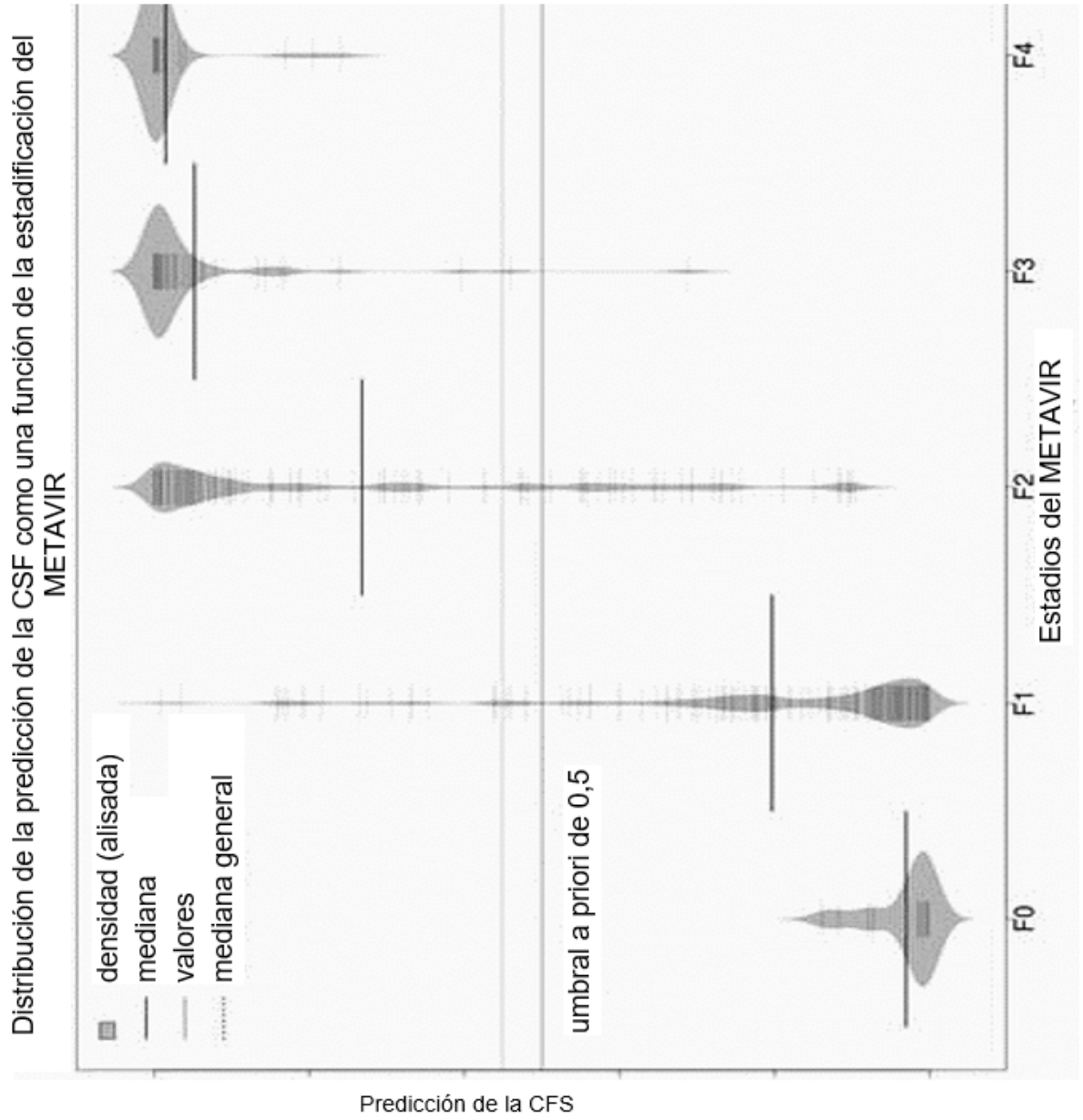


FIG. 8

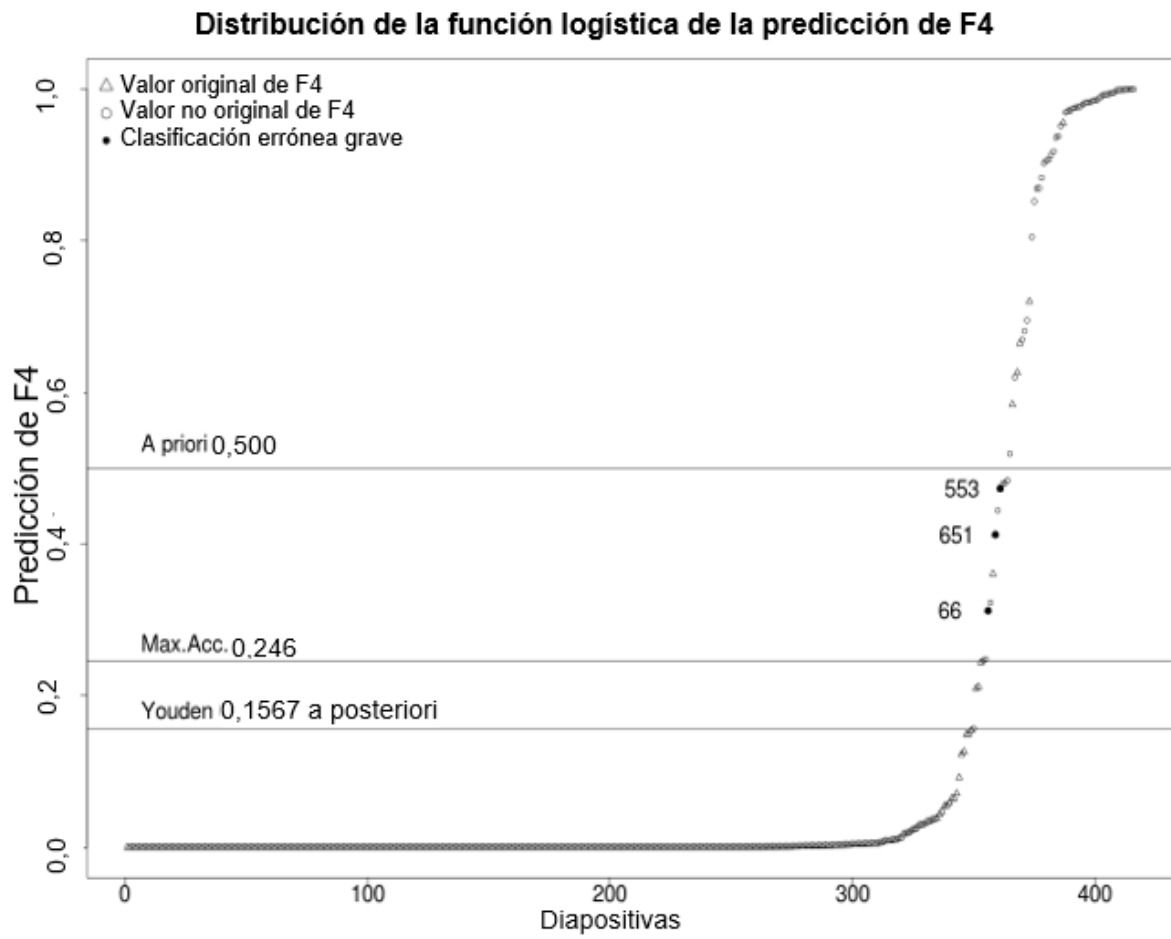


FIG. 9

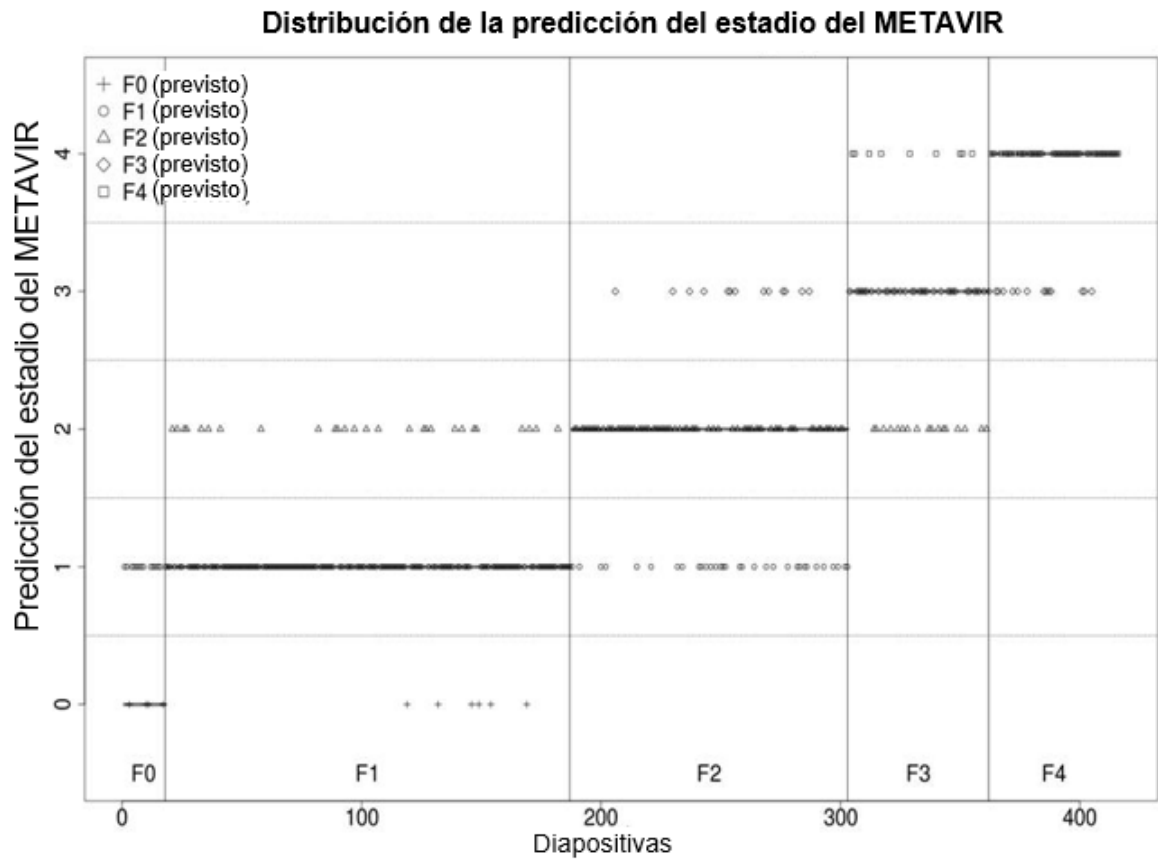


FIG. 10

Acuerdo entre la predicción de los estadios del METAVIR y evaluación por un experto

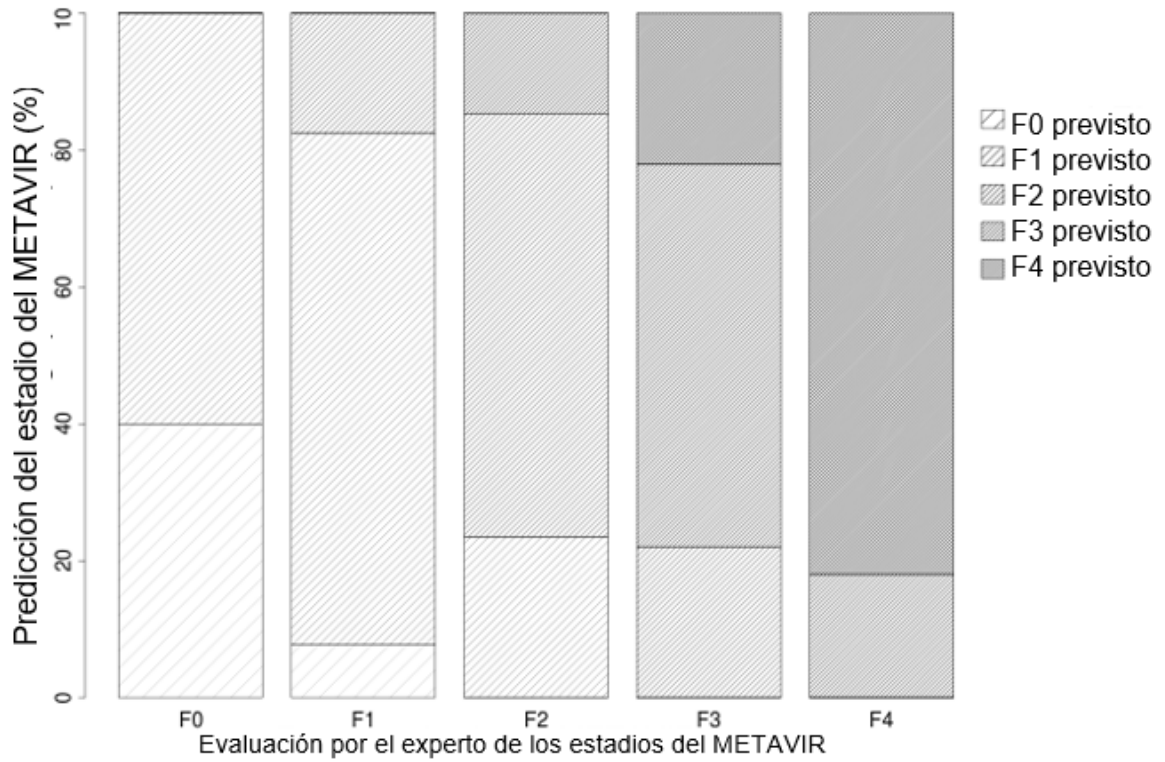
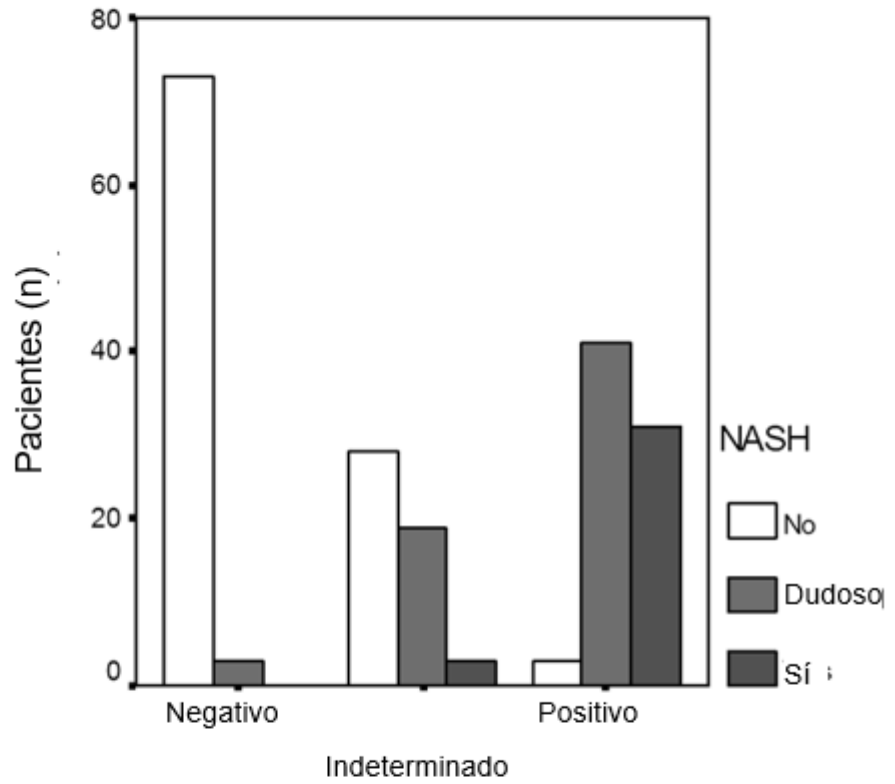


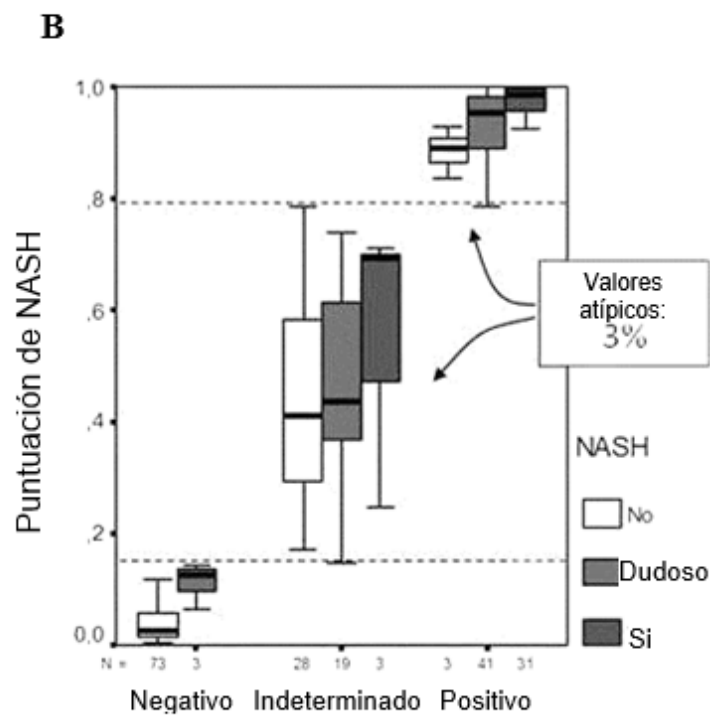
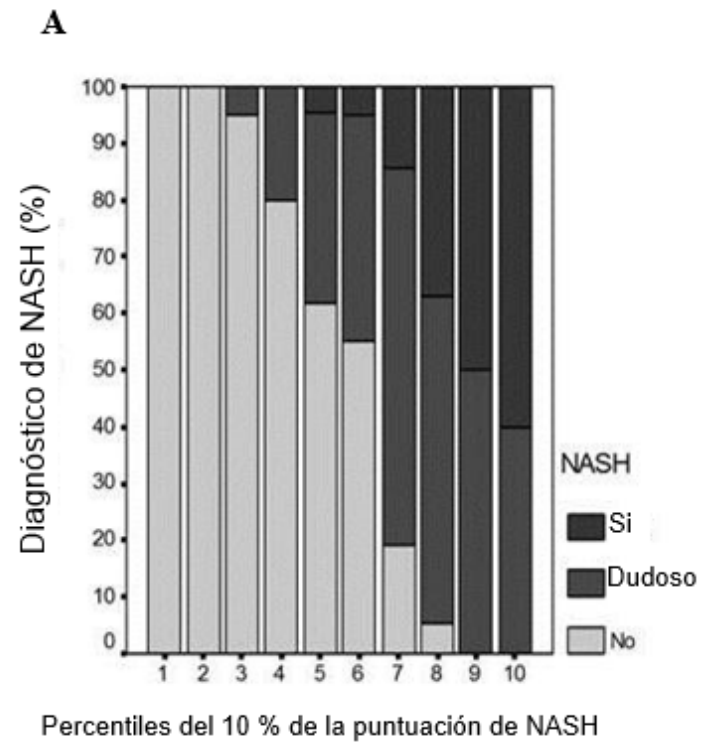
FIG. 11

Puntuación media de NASH: .04 .11 .43 .47 .55 .88 .93 .97



Valores predictivos del 95 % por puntuación de NASH para NASH

FIG. 12



Valores predictivos del 95 % por puntuación de NASH

FIG. 13

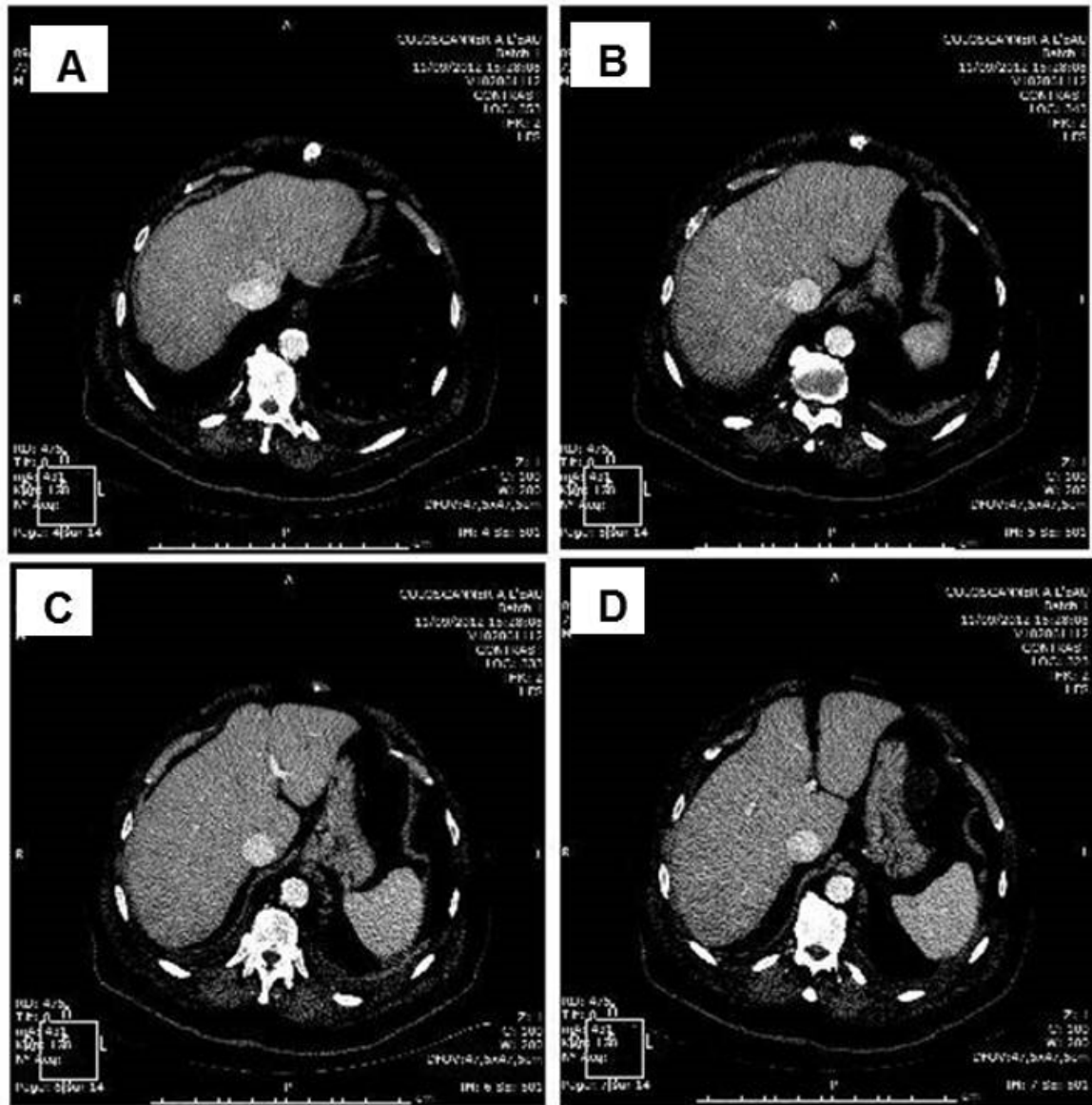


FIG. 14

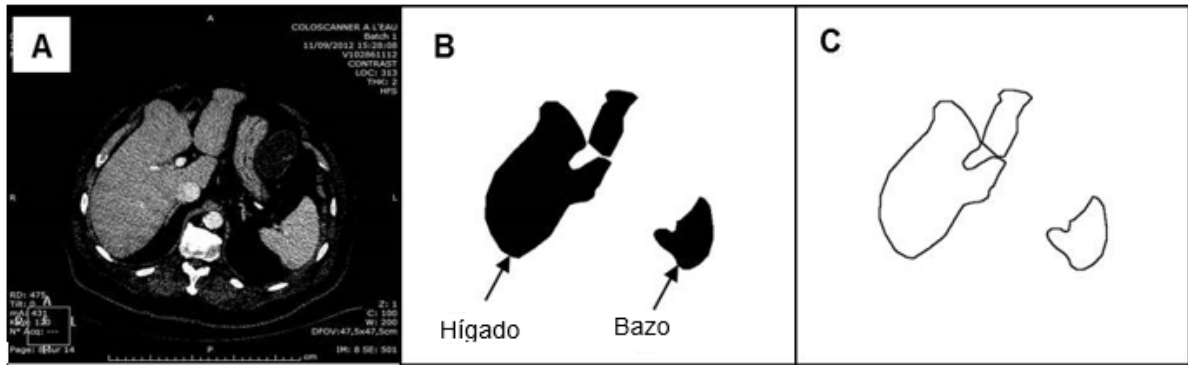


FIG. 15

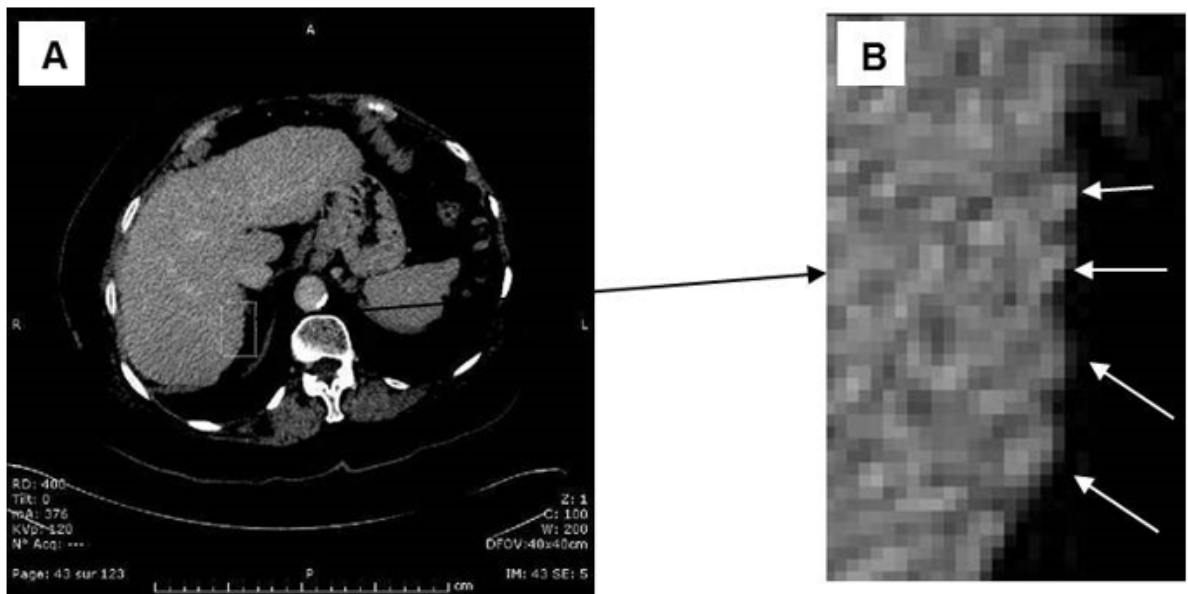


FIG. 16

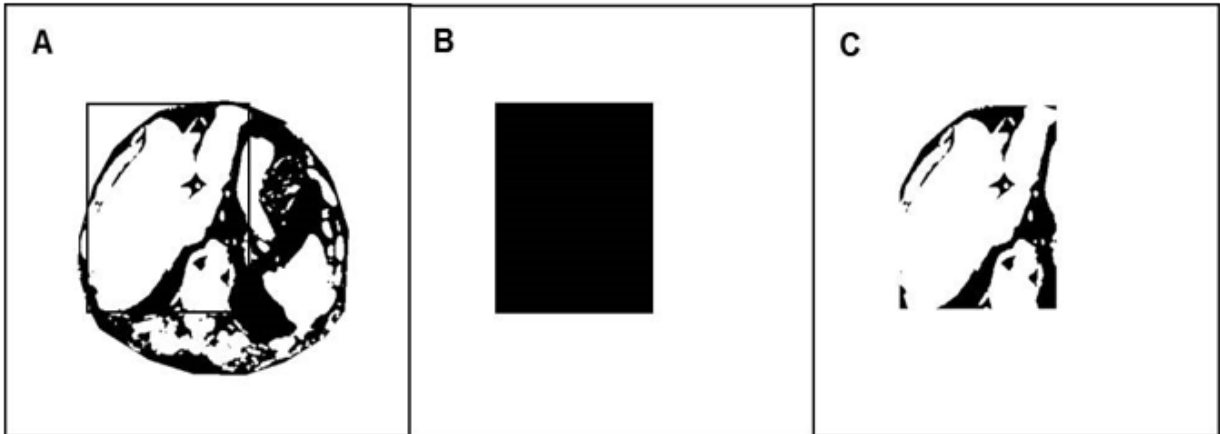


FIG. 17

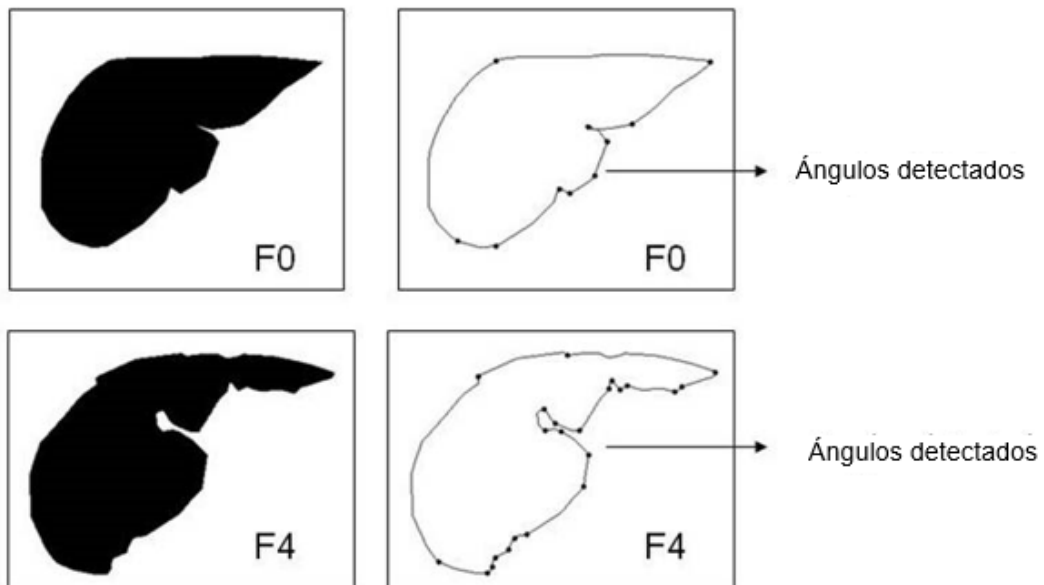
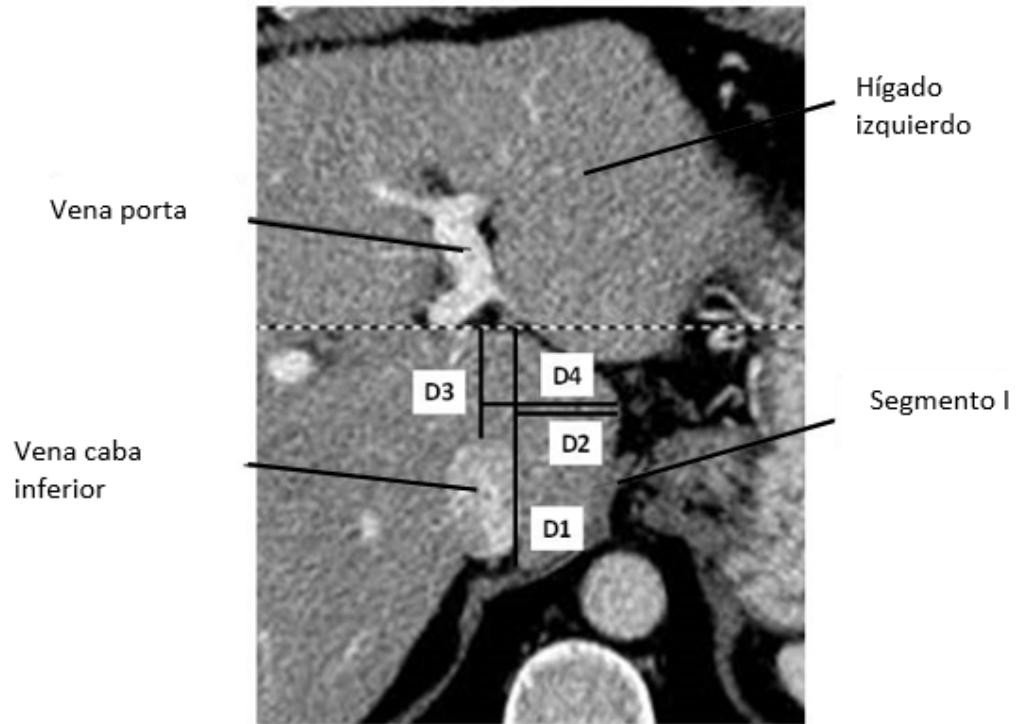


FIG. 18

A



B

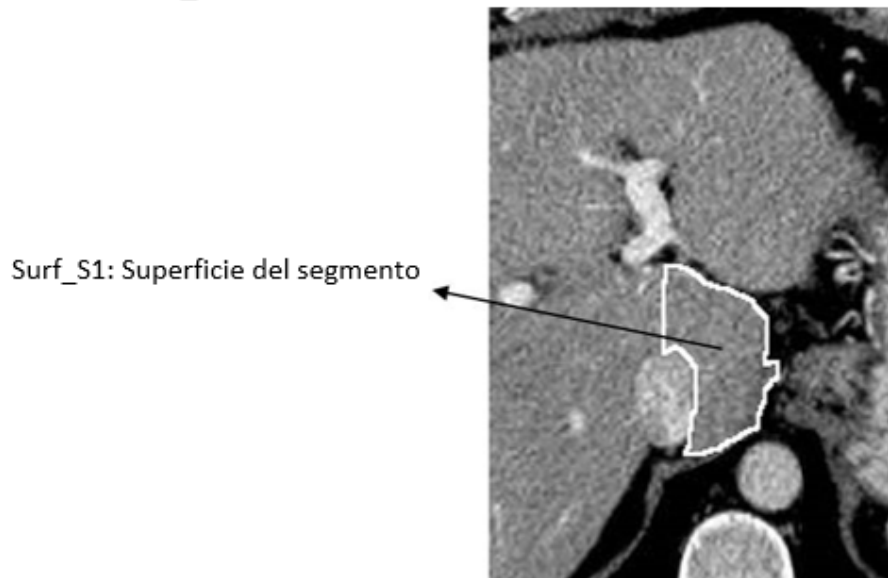


FIG. 19 A-B

C



FIG. 19C

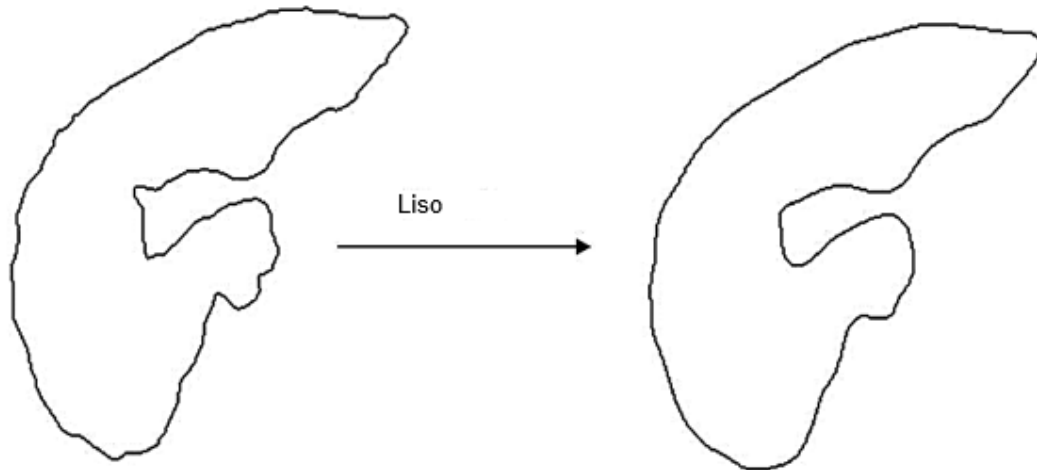
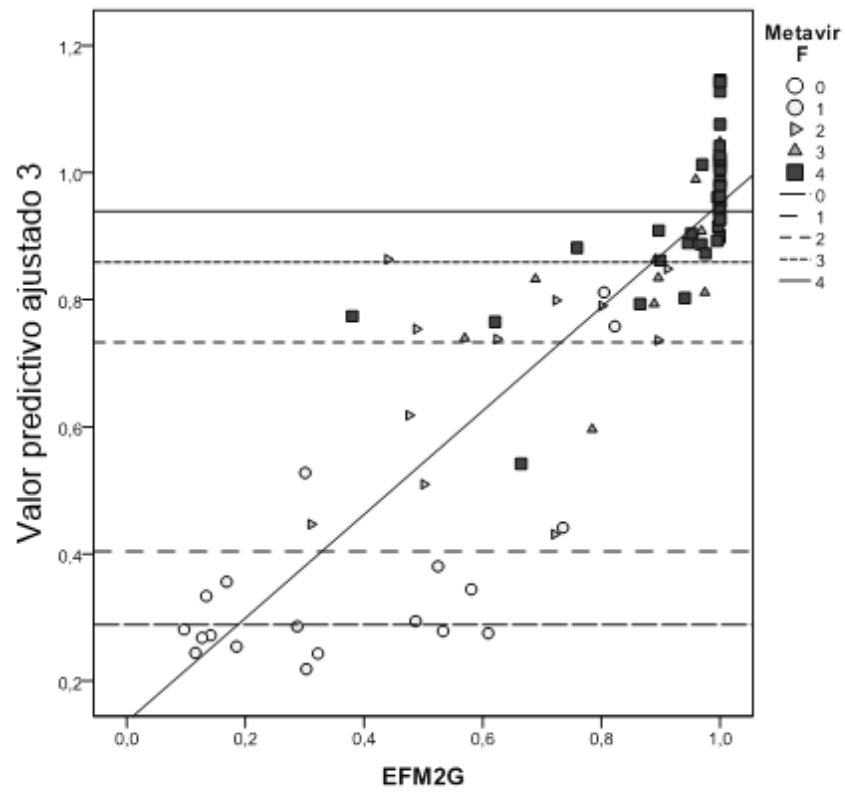


FIG. 20

A



B

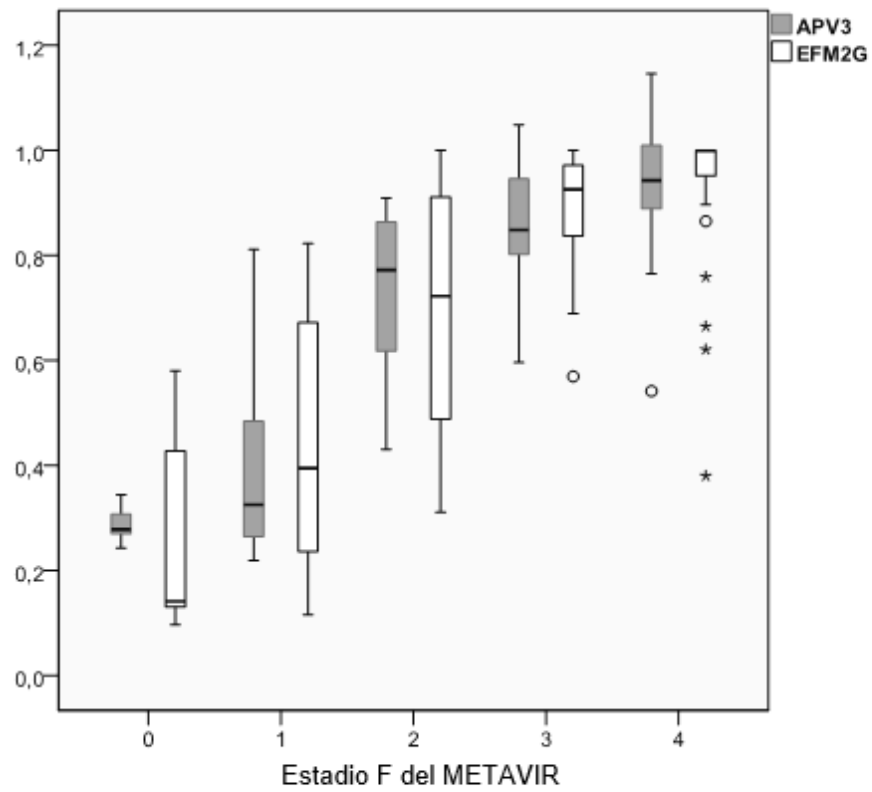


FIG. 21