

Angiogénesis in vitro · HUVEC

Reporte científico · MAPSNY · Biología Celular

Formación de tubos: uniones, segmentos y mallas

Experimento	Prueba Angiogénesis HUVEC (Control vs Inhibidor)
Fecha	2026-10-08
Células	HUVEC (ensayo de formación de tubos)
Condición control	Control
Unidades	µm y µm² (escala de las imágenes)
2 condiciones · 6 pocillos · 12 imágenes	

Condición	Pocillos	Imágenes	Mallas	Piezas de red
Control	3	6	192	1588
Inhibidor	3	6	65	1162

Índice

1. Resumen de hallazgos	3
2. Métodos	4
Análisis de la red tubular	4
Ajustes del análisis	4
Adquisición y escala	4
Análisis estadístico	4
3. Imágenes representativas	5
Control	5
Inhibidor	5
4. Resultados por condición	6
5. Análisis estadístico	7
Comparación entre condiciones	7
Figuras por métrica	8
Figuras del motor estadístico	13
6. Morfometría de la red	19
7. Control de calidad por imagen	20
8. Glosario de métricas	21
9. Referencias	22

1. Resumen de hallazgos

Se compararon 26 métricas por imagen entre 2 condiciones (6 pocillos, 12 imágenes; réplica = pocillo). Tras la corrección por FDR (Benjamini-Hochberg), ninguna métrica alcanza $p \text{ FDR} < 0,05$.

Con 3 réplicas por condición la prueba exacta de Mann-Whitney no puede bajar de $p = 0,10$: aunque las diferencias sean consistentes (δ de Cliff = ± 1 indica que todas las réplicas de una condición superan a todas las de la otra), no pueden alcanzar significación. Para inferencia formal se recomiendan al menos 4–5 pocillos por condición.

Métricas principales del ensayo (y cualquier otra significativa). Media $\pm$ EEM entre réplicas; entre paréntesis, el cambio porcentual de la media respecto del control.

Métrica	Control	Inhibidor	p	p FDR	Efecto (δ de Cliff)
Largo total de tubos (μm)	27 835 $\pm$ 81	19 659 $\pm$ 1 013 (-29 %)	0,100	0,118	-1,00
Uniones	137,0 $\pm$ 1,3	80,50 $\pm$ 8,84 (-41 %)	0,100	0,118	-1,00
Segmentos maestros	108,3 $\pm$ 4,2	36,83 $\pm$ 8,82 (-66 %)	0,100	0,118	-1,00
Índice de malla (μm)	253,4 $\pm$ 4,9	309,5 $\pm$ 23,7 (+22 %)	0,100	0,118	1,00
Mallas	32,00 $\pm$ 0,50	10,83 $\pm$ 2,05 (-66 %)	0,077	0,118	-1,00
Área total de mallas (μm^2)	956 465 $\pm$ 5 202	184 967 $\pm$ 19 082 (-81 %)	0,100	0,118	-1,00

Tabla 1. Hallazgos principales: media $\pm$ EEM por condición, prueba, p, p FDR y tamaño de efecto.

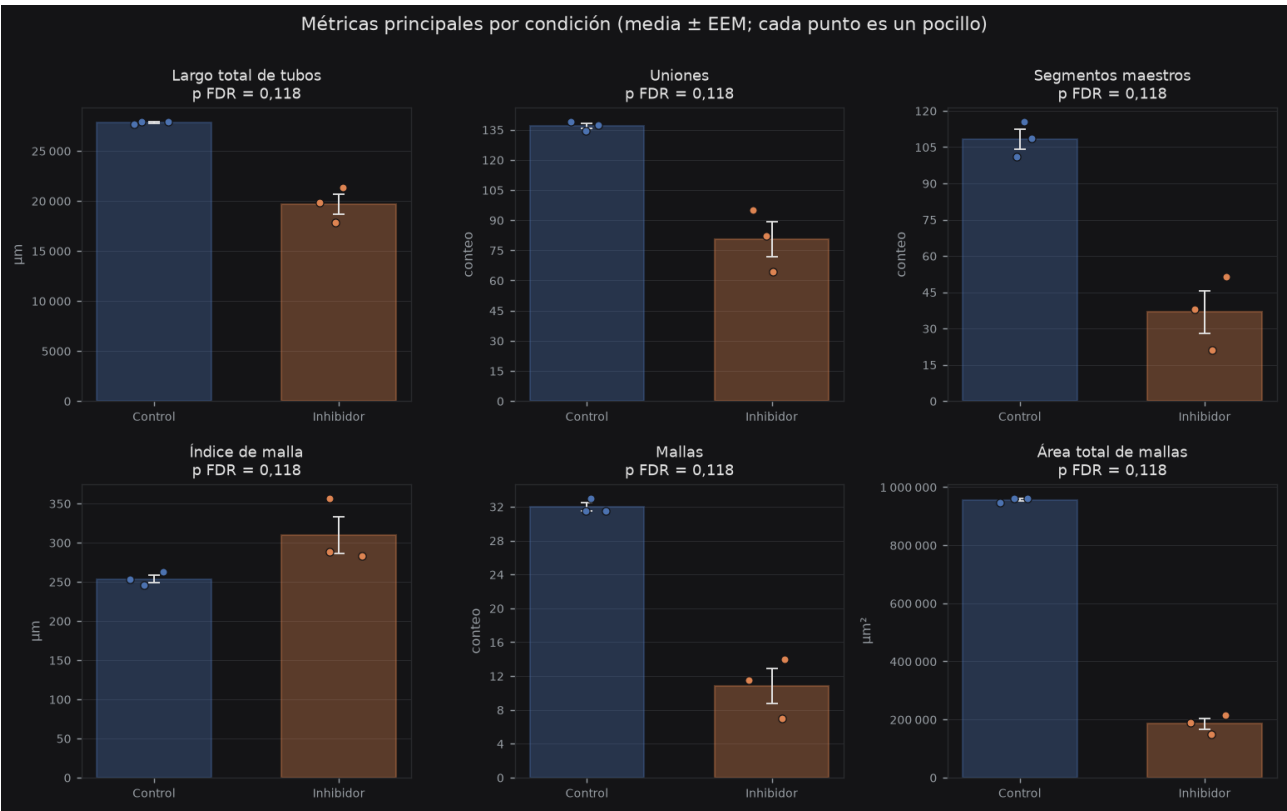


Figura 1. Métricas principales por condición: media $\pm$ EEM entre réplicas, cada punto es una réplica; sobre cada panel, el p corregido por FDR.

2. Métodos

Análisis de la red tubular

Las redes tubulares se analizaron con el módulo de Angiogénesis in vitro de MAPSNY. En cada imagen el sistema reconstruye automáticamente la red formada por las células endoteliales, completa las interrupciones cortas de los tubos siguiendo a las células y descarta los fragmentos sin estructura. Sobre la red se miden los parámetros estándar del ensayo de formación de tubos, con las definiciones del Angiogenesis Analyzer (uniones, segmentos, ramas, red maestra, mallas, índice de malla e intervalo de ramificación). Los parámetros de detección se ajustaron una vez sobre una imagen representativa del experimento y se aplicaron por igual a todas las imágenes.

Ajustes del análisis

Ajustes elegidos en el paso de vista previa del portal y aplicados por igual a todas las imágenes del experimento (valores en la escala de los controles del portal).

Ajuste	Valor
Grosor de los tubos	6
Sensibilidad (menor = detecta tubos más tenues)	0,9
Cierre de huecos	1 · conservador
Rama mínima	25
Malla mínima	600
Tipo de imagen	Automático (se detecta en cada imagen)

Tabla 2. Ajustes del análisis usados en este experimento.

Adquisición y escala

Se analizaron 12 imágenes de 6 pocillos. La escala lateral fue 1,6 $\mu\text{m}/\text{px}$ en todas las imágenes; el campo analizado mide 2,83 mm^2 por imagen. Los largos se expresan en μm , las áreas en μm^2 y las densidades por mm^2 de campo.

Condición	Pocillo	Imagen	Tamaño (px)	$\mu\text{m}/\text{px}$	Tipo de imagen
Control	1	pocillo_campo_1	904 × 1224	1,6	Campo claro
Control	1	pocillo_campo_2	1224 × 904	1,6	Campo claro
Control	2	pocillo_campo_1	1224 × 904	1,6	Campo claro
Control	2	pocillo_campo_2	904 × 1224	1,6	Campo claro
Control	3	pocillo_campo_1	904 × 1224	1,6	Campo claro
Control	3	pocillo_campo_2	1224 × 904	1,6	Campo claro
Inhibidor	1	pocillo_campo_1	904 × 1224	1,6	Campo claro
Inhibidor	1	pocillo_campo_2	904 × 1224	1,6	Campo claro
Inhibidor	2	pocillo_campo_1	1224 × 904	1,6	Campo claro
Inhibidor	2	pocillo_campo_2	1224 × 904	1,6	Campo claro
Inhibidor	3	pocillo_campo_1	904 × 1224	1,6	Campo claro
Inhibidor	3	pocillo_campo_2	904 × 1224	1,6	Campo claro

Tabla 3. Tamaño, escala y tipo de imagen detectado por imagen.

Análisis estadístico

Unidad de réplica. Cada pocillo (carpeta {rango}_{Condición}_{n}) es una réplica: para cada métrica se usa la mediana de sus imágenes. Las imágenes individuales se muestran como distribución, pero no entran como réplicas independientes (se evita la pseudorreplicación). Si una condición tiene un solo pocillo, la réplica pasa a ser la imagen y así se declara.

Pruebas. Dos condiciones: Mann-Whitney U con δ de Cliff. Tres o más: Kruskal-Wallis con ϵ^2_H y comparaciones post hoc de Dunn contra el control. Corrección de Benjamini-Hochberg (FDR) a través de las métricas.

Unidades. Largos y áreas en μm y μm^2 cuando la imagen trae escala o se declaró la resolución; si no, en píxeles, igual que el Angiogenesis Analyzer. Las densidades por mm^2 solo existen con escala.

3. Imágenes representativas

Para cada condición se muestra la imagen cuyo largo total de tubos es el más cercano a la mediana de la condición. A: imagen original. B: red reconstruida con los colores del Angiogenesis Analyzer.

Leyenda de colores de la red

 Segmento	 Rama	 Aislado	 Segmento maestro
 Malla	 Unión	 Unión maestra	 Extremo

Control

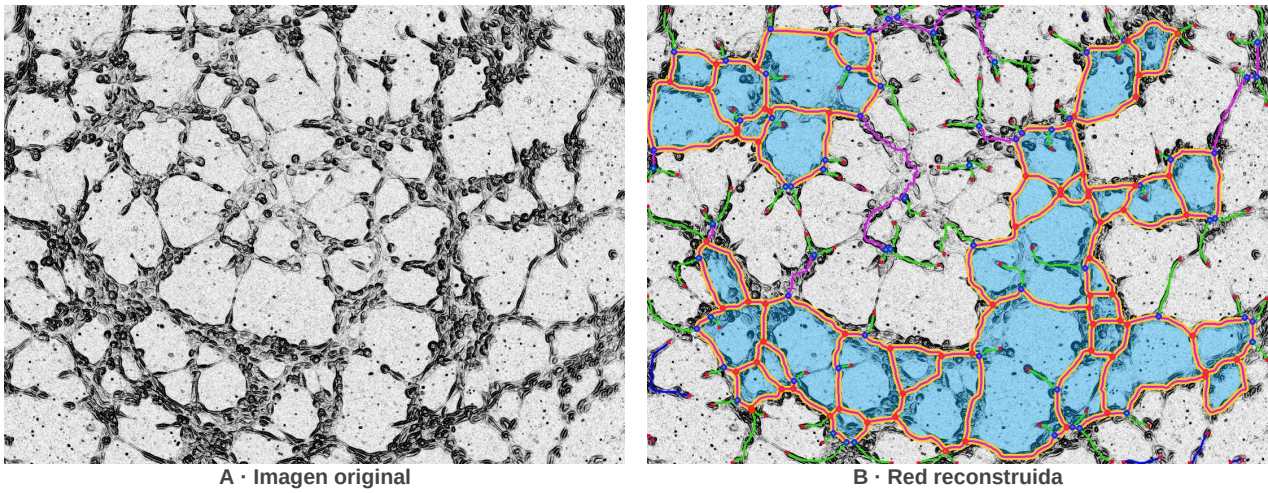


Figura 2. Control — pocillo 2, pocillo_campo_1: 135 uniones, 33 mallas, largo total 27 783 μm (mediana de la condición 27 831 μm).

Inhibidor

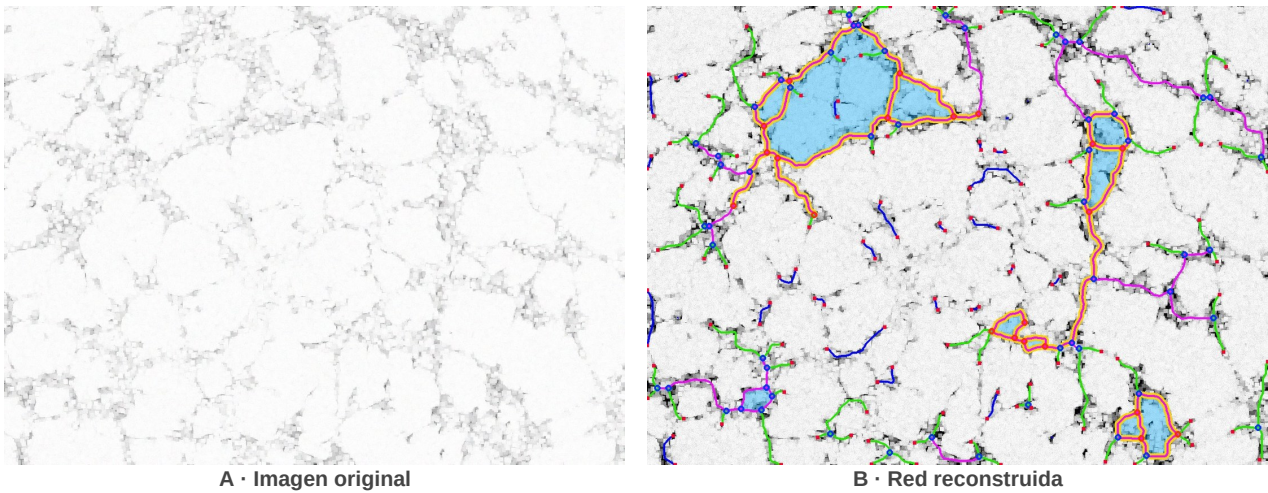


Figura 3. Inhibidor — pocillo 2, pocillo_campo_2: 77 uniones, 10 mallas, largo total 19 083 μm (mediana de la condición 19 592 μm).

4. Resultados por condición

Media $\pm$ error estándar de la media (EEM) entre réplicas (pocillos; cada réplica aporta la mediana de sus imágenes). La última columna es el p de la comparación entre condiciones corregido por FDR a través de todas las métricas; en negrita, p FDR < 0,05.

Métrica	Unidad	Control	Inhibidor	p FDR
Pocillos		3	3	
Imágenes		6	6	
Extensión de la red				
Largo total de tubos	μm	27 835 $\pm$ 81	19 659 $\pm$ 1 013	0,118
Largo total ramificado	μm	27 387 $\pm$ 97	17 662 $\pm$ 1 011	0,118
Largo total de segmentos	μm	19 349 $\pm$ 116	9 568 $\pm$ 1 020	0,118
Largo total de ramas	μm	8 038 $\pm$ 21	8 094 $\pm$ 148	0,728
Cobertura de la red	fracción 0–1	0,406 $\pm$ 0,000	0,279 $\pm$ 0,011	0,118
Topología				
Uniones	conteo	137,0 $\pm$ 1,3	80,50 $\pm$ 8,84	0,118
Extremos	conteo	93,17 $\pm$ 0,44	121,2 $\pm$ 2,3	0,118
Segmentos	conteo	177,2 $\pm$ 3,1	90,83 $\pm$ 12,32	0,118
Ramas	conteo	80,50 $\pm$ 0,29	77,17 $\pm$ 3,68	0,728
Elementos aislados	conteo	7,00 $\pm$ 0,29	25,67 $\pm$ 2,32	0,118
Largo medio de segmento	μm	109,3 $\pm$ 1,3	106,3 $\pm$ 3,6	1,000
Intervalo de ramificación	μm	240,4 $\pm$ 2,2	123,7 $\pm$ 9,8	0,118
Red maestra				
Segmentos maestros	conteo	108,3 $\pm$ 4,2	36,83 $\pm$ 8,82	0,118
Largo de segmentos maestros	μm	17 079 $\pm$ 249	6 340 $\pm$ 1 370	0,118
Uniones maestras	conteo	67,50 $\pm$ 2,31	21,33 $\pm$ 5,55	0,118
Índice de malla	μm	253,4 $\pm$ 4,9	309,5 $\pm$ 23,7	0,118
Mallas (polígonos cerrados)				
Mallas	conteo	32,00 $\pm$ 0,50	10,83 $\pm$ 2,05	0,118
Área total de mallas	μm^2	956 465 $\pm$ 5 202	184 967 $\pm$ 19 082	0,118
Tamaño medio de malla	μm^2	29 908 $\pm$ 620	18 276 $\pm$ 2 257	0,118
Cobertura de mallas	fracción 0–1	0,338 $\pm$ 0,002	0,065 $\pm$ 0,007	0,118
Circularidad de mallas	fracción 0–1	0,639 $\pm$ 0,004	0,667 $\pm$ 0,008	0,118
Densidad por mm ²				
Densidad de uniones	/mm ²	48,36 $\pm$ 0,47	28,42 $\pm$ 3,12	0,118
Densidad de mallas	/mm ²	11,30 $\pm$ 0,18	3,82 $\pm$ 0,72	0,118
Densidad de segmentos	/mm ²	62,54 $\pm$ 1,08	32,07 $\pm$ 4,35	0,118
Densidad de ramas	/mm ²	28,42 $\pm$ 0,10	27,24 $\pm$ 1,30	0,728
Densidad de largo de tubos	mm/mm ²	9,83 $\pm$ 0,03	6,94 $\pm$ 0,36	0,118

Tabla 4. Todas las métricas por condición (media $\pm$ EEM; réplica = pocillo).

5. Análisis estadístico

Comparación entre condiciones

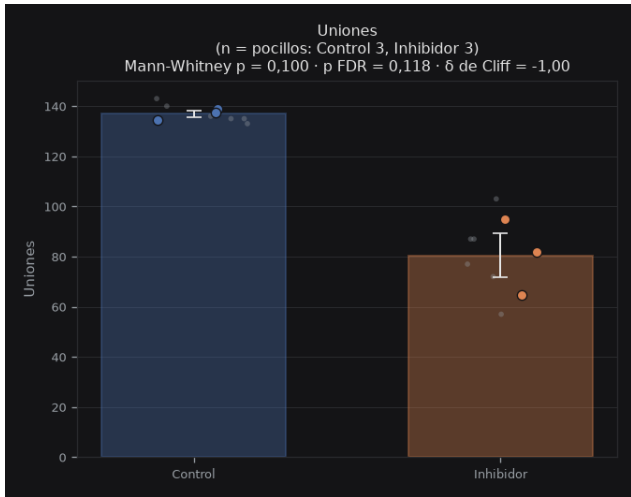
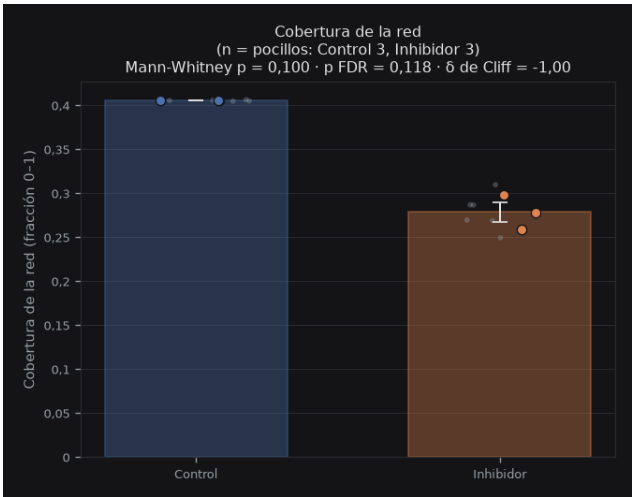
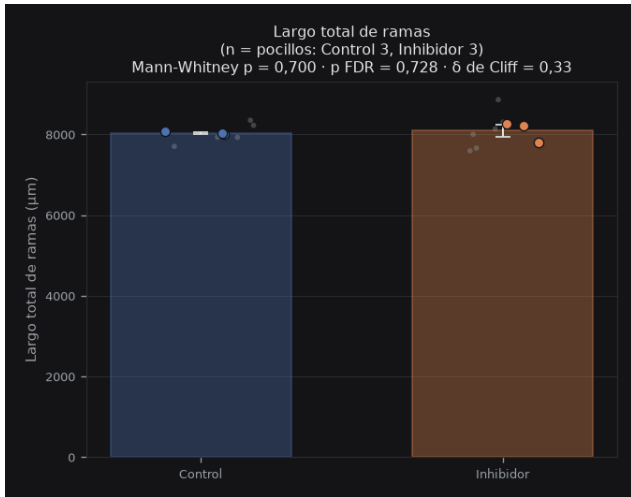
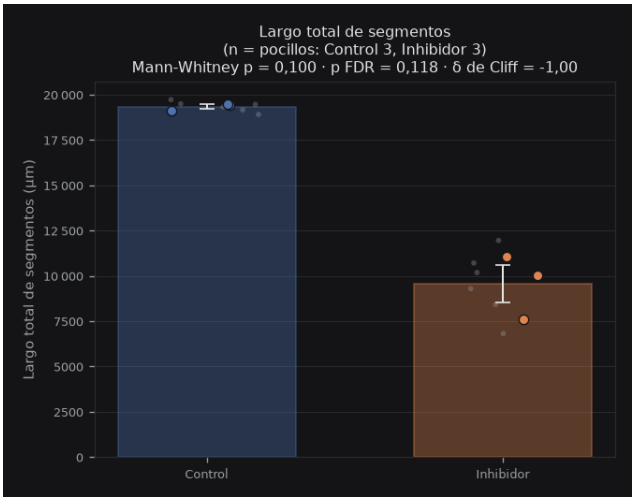
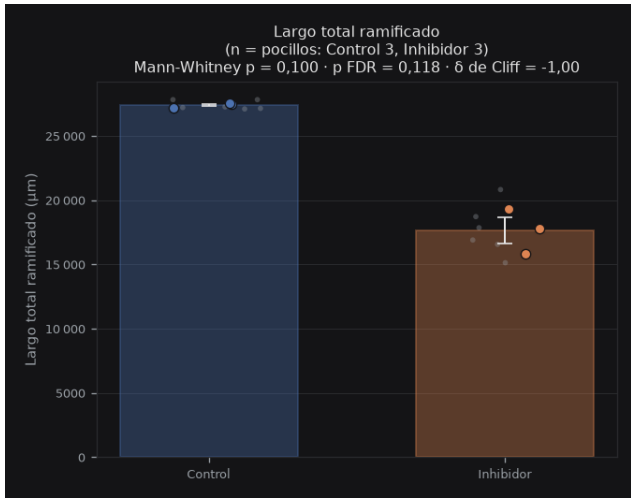
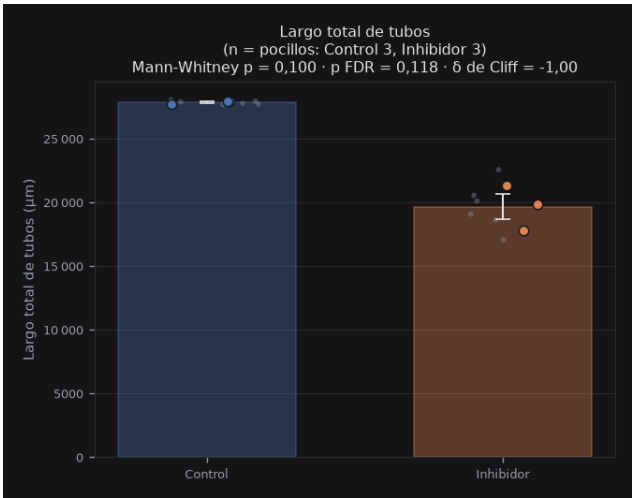
Una fila por métrica: prueba aplicada, p sin corregir, p corregido por FDR, tamaño de efecto (δ de Cliff) y cambio porcentual de la media respecto del control.

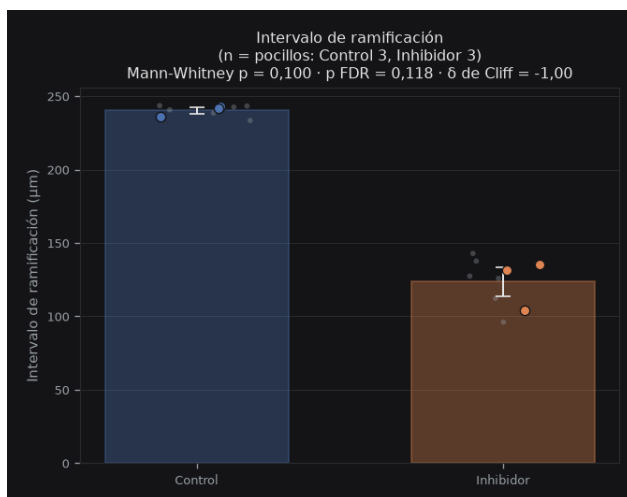
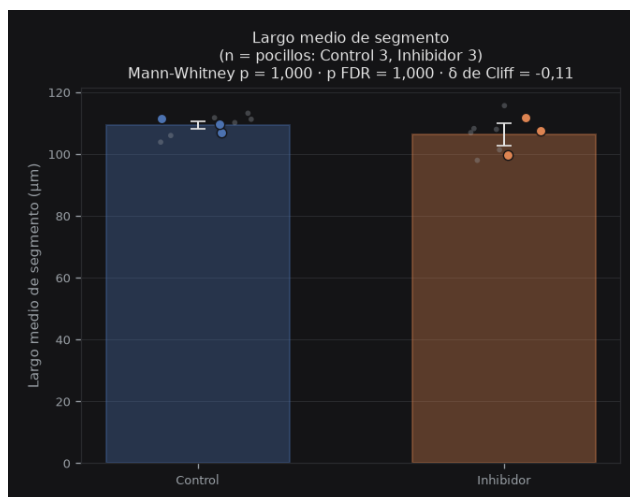
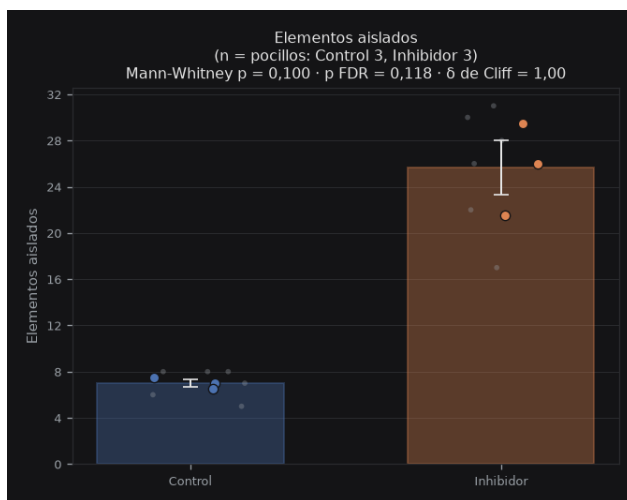
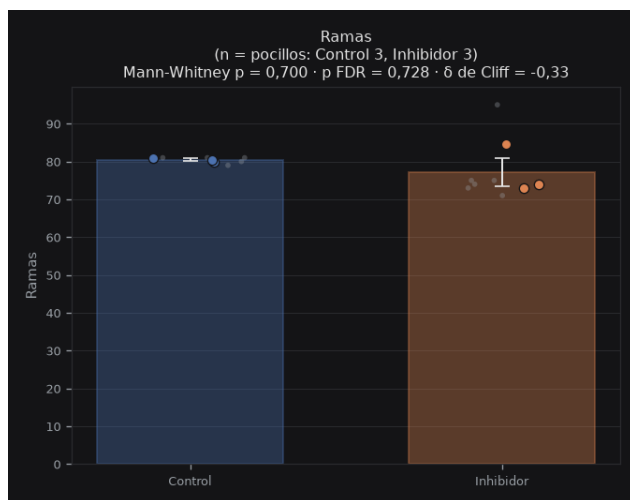
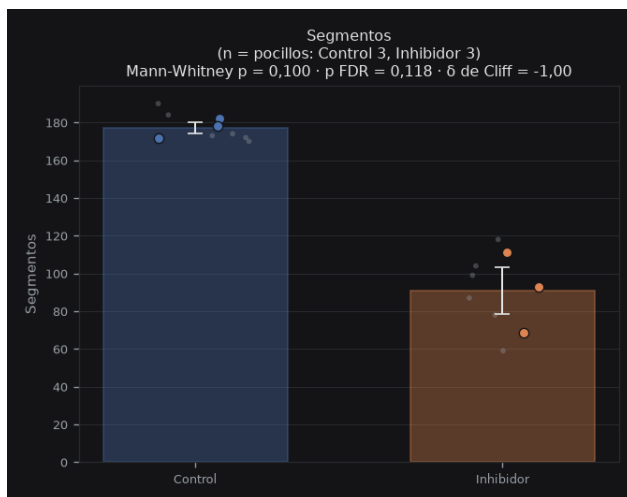
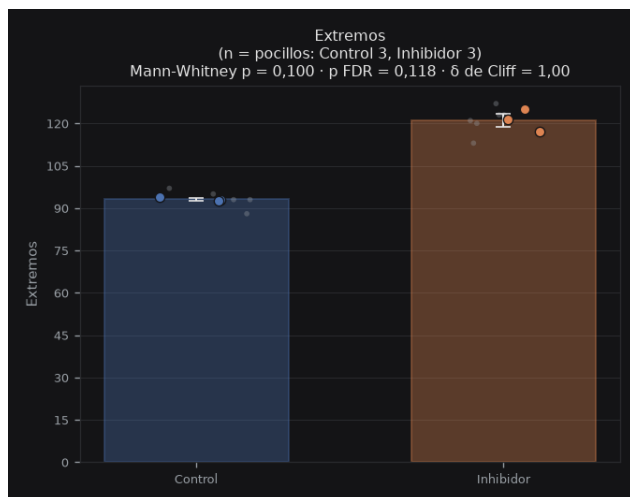
Métrica	Prueba	p	p FDR	Efecto (δ de Cliff)	Δ Inhibidor
Extensión de la red					
Largo total de tubos (μm)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-29 %
Largo total ramificado (μm)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-36 %
Largo total de segmentos (μm)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-51 %
Largo total de ramas (μm)	Mann-Whitney	0,700	0,728	0,33	+1 %
Cobertura de la red (fracción 0–1)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-31 %
Topología					
Uniones	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-41 %
Extremos	Mann-Whitney	0,100	0,118	1,00	+30 %
Segmentos	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-49 %
Ramas	Mann-Whitney	0,700	0,728	-0,33	-4 %
Elementos aislados	Mann-Whitney	0,100	0,118	1,00	+267 %
Largo medio de segmento (μm)	Mann-Whitney	1,000	1,000	-0,11	-3 %
Intervalo de ramificación (μm)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-49 %
Red maestra					
Segmentos maestros	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-66 %
Largo de segmentos maestros (μm)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-63 %
Uniones maestras	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-68 %
Índice de malla (μm)	Mann-Whitney	0,100	0,118	1,00	+22 %
Mallas (polígonos cerrados)					
Mallas	Mann-Whitney	0,077	0,118	-1,00	-66 %
Área total de mallas (μm^2)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-81 %
Tamaño medio de malla (μm^2)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-39 %
Cobertura de mallas (fracción 0–1)	Mann-Whitney	0,077	0,118	-1,00	-81 %
Circularidad de mallas (fracción 0–1)	Mann-Whitney	0,100	0,118	1,00	+4 %
Densidad por mm^2					
Densidad de uniones ($/\text{mm}^2$)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-41 %
Densidad de mallas ($/\text{mm}^2$)	Mann-Whitney	0,077	0,118	-1,00	-66 %
Densidad de segmentos ($/\text{mm}^2$)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-49 %
Densidad de ramas ($/\text{mm}^2$)	Mann-Whitney	0,700	0,728	-0,33	-4 %
Densidad de largo de tubos (mm/mm^2)	Mann-Whitney	0,100	0,118	-1,00	-29 %

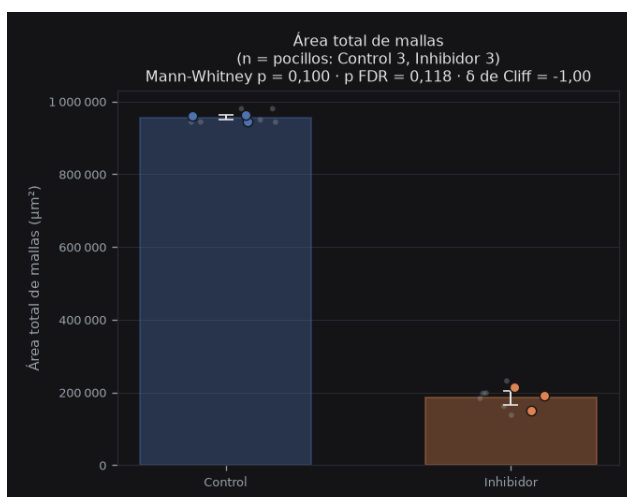
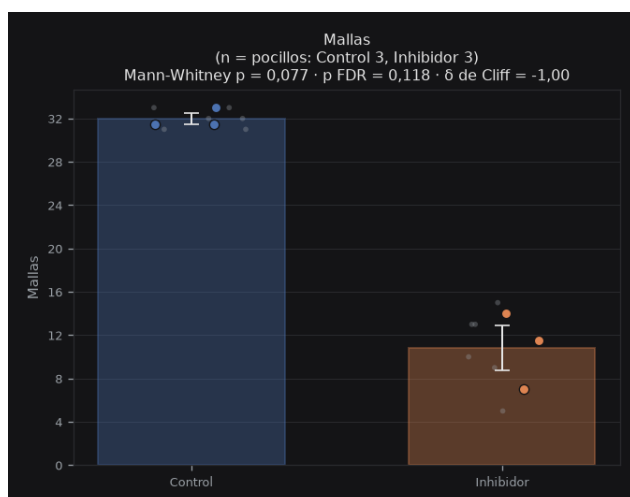
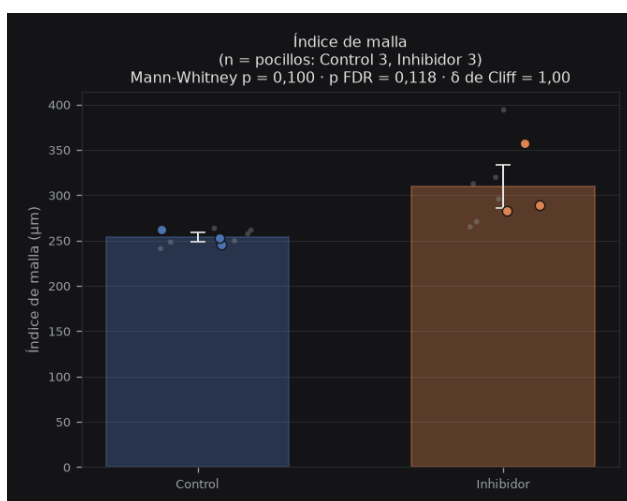
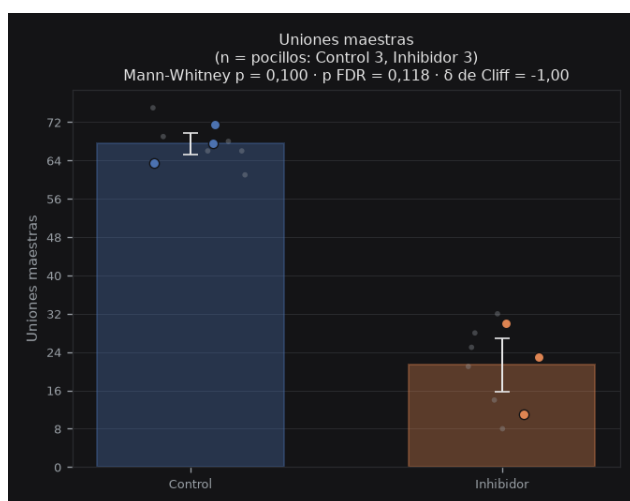
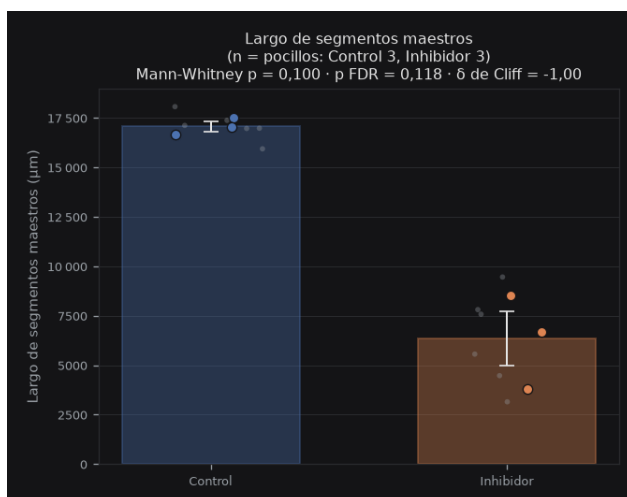
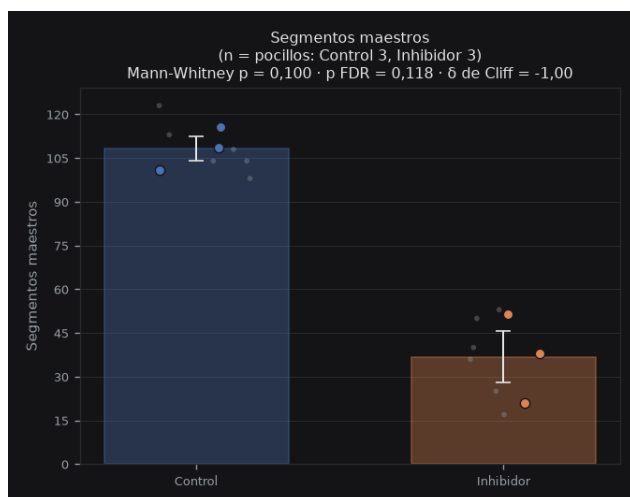
Tabla 5. Comparación entre condiciones (todas las métricas).

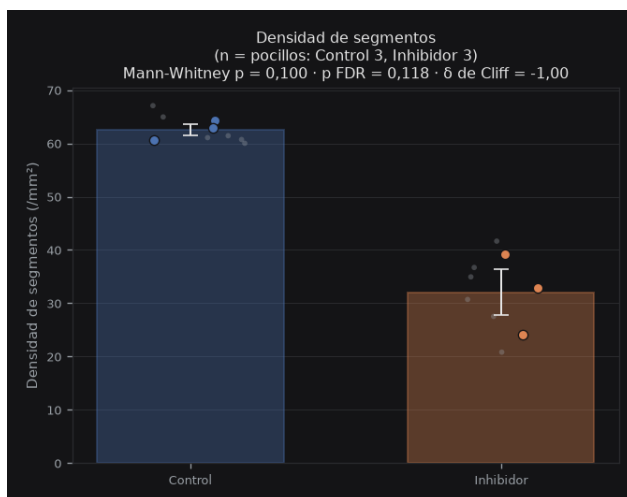
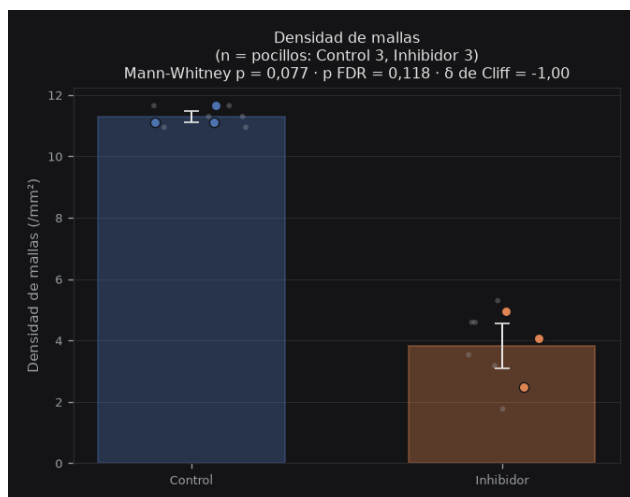
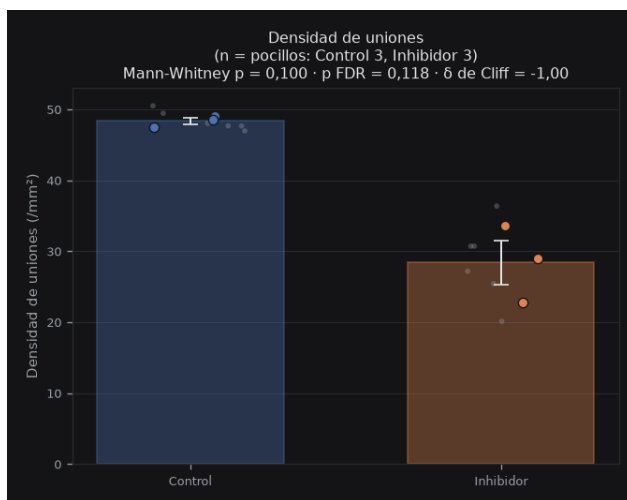
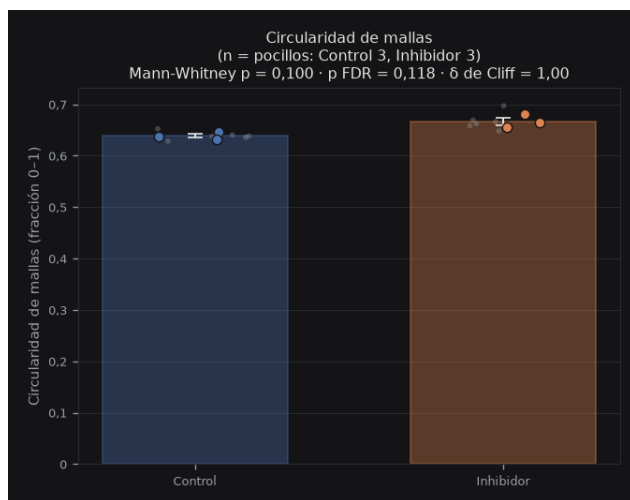
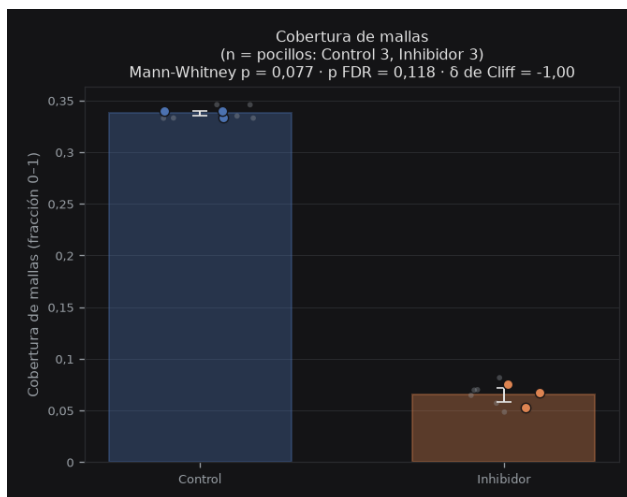
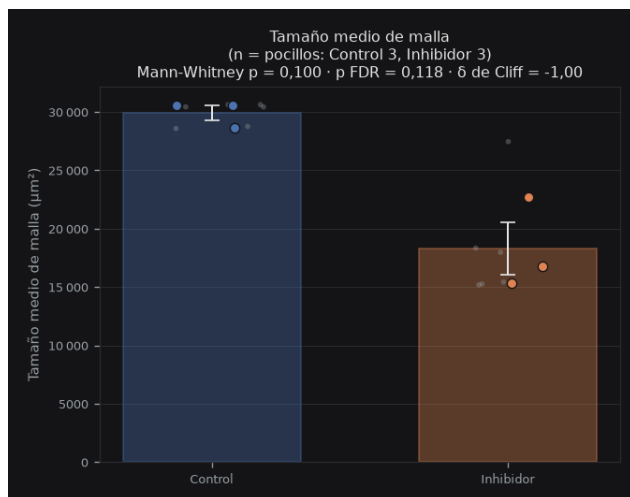
Figuras por métrica

Barras: media $\pm$ EEM entre réplicas; puntos de color: réplicas; puntos grises: imágenes individuales (solo como distribución, no entran en la prueba).









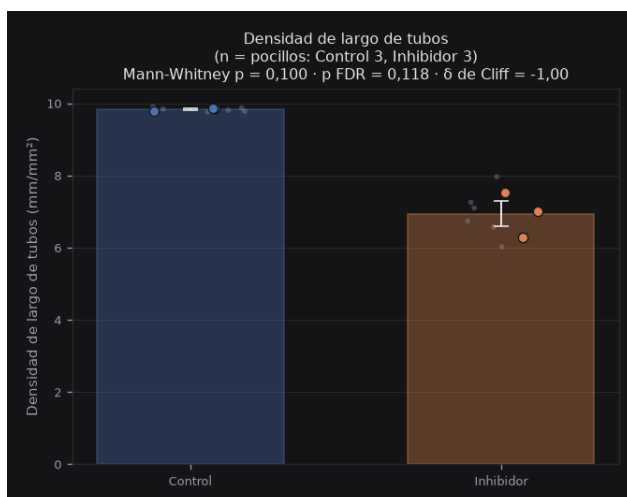
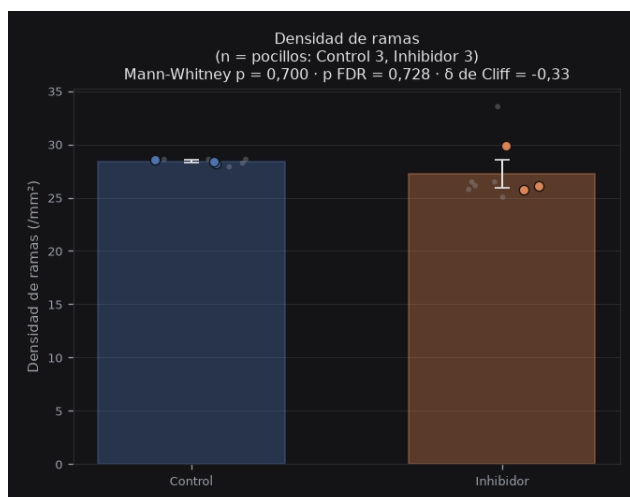


Figura 4. Comparación por métrica entre condiciones (26 figuras; en cada título, la prueba, p , $p \text{ FDR}$ y el efecto).

Figuras del motor estadístico

Violines por condición con los puntos de cada réplica. En estas figuras la prueba se elige según normalidad y homogeneidad de varianzas (paramétrica de Welch o no paramétrica) con post hoc automático, por lo que su p puede diferir del de la tabla de comparación.

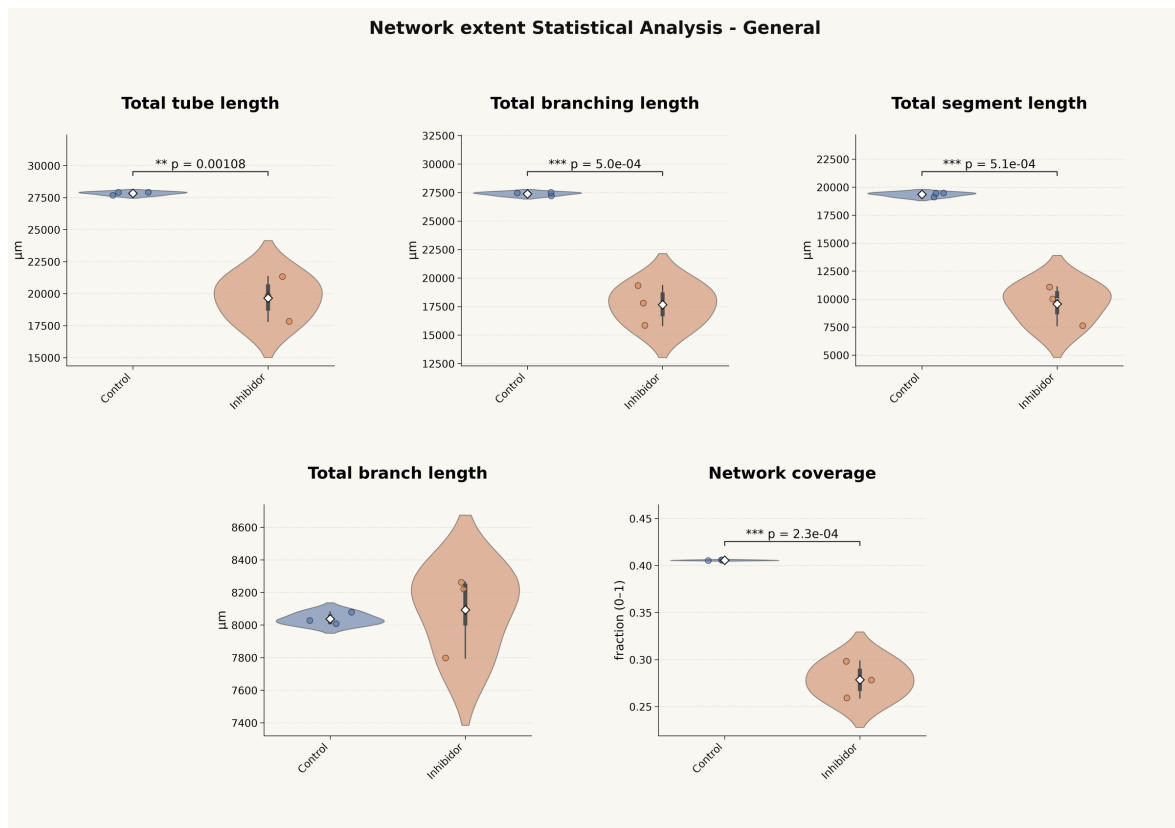


Figura 5. Violines por condición con prueba ómnibus, p y tamaño de efecto — grupo Extensión de la red. Métricas: Largo total de tubos (μm); Largo total ramificado (μm); Largo total de segmentos (μm); Largo total de ramas (μm); Cobertura de la red (fracción 0–1).

Topology Statistical Analysis - General

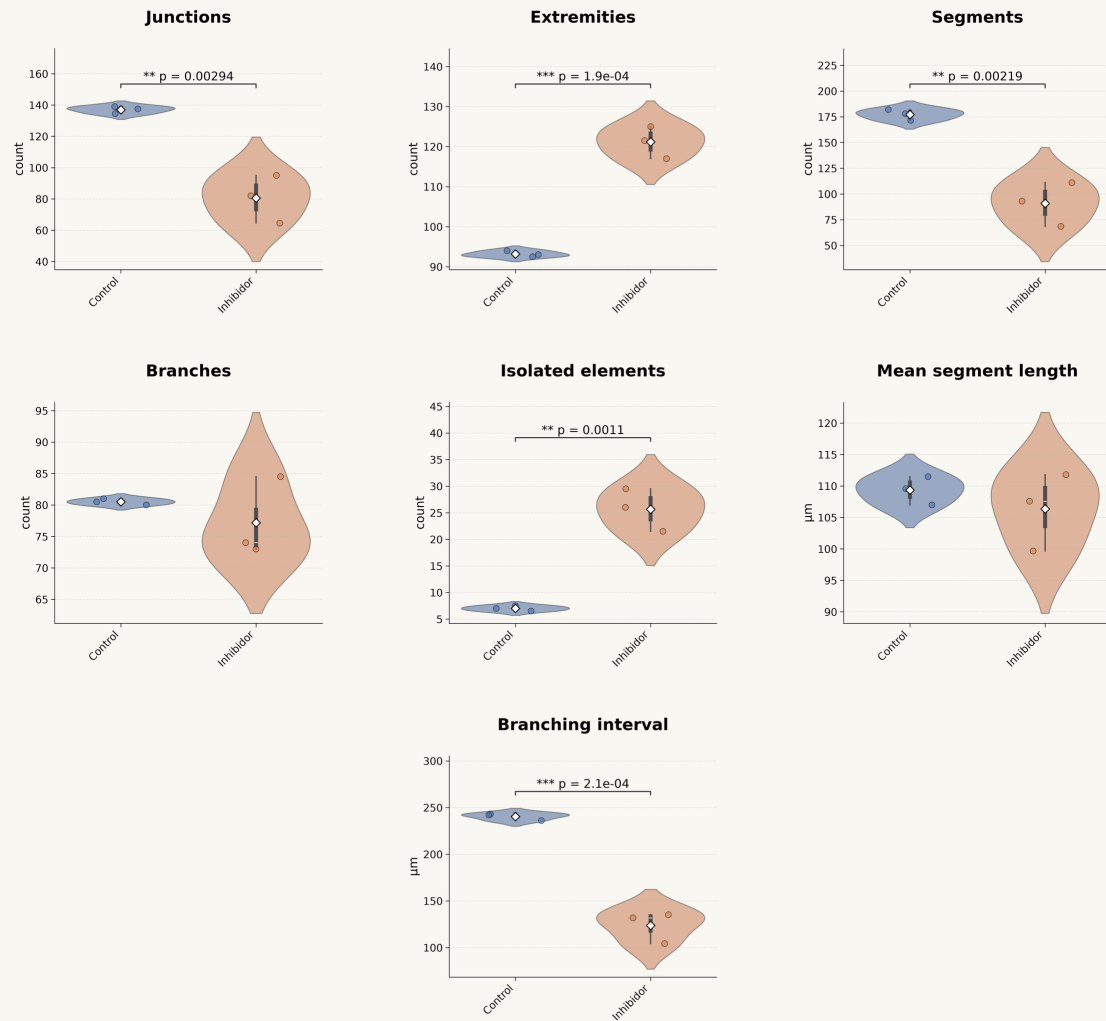


Figura 6. Violines por condición con prueba ómnibus, p y tamaño de efecto — grupo Topología. Métricas: Uniones; Extremos; Segmentos; Ramas; Elementos aislados; Largo medio de segmento (μm); Intervalo de ramificación (μm).

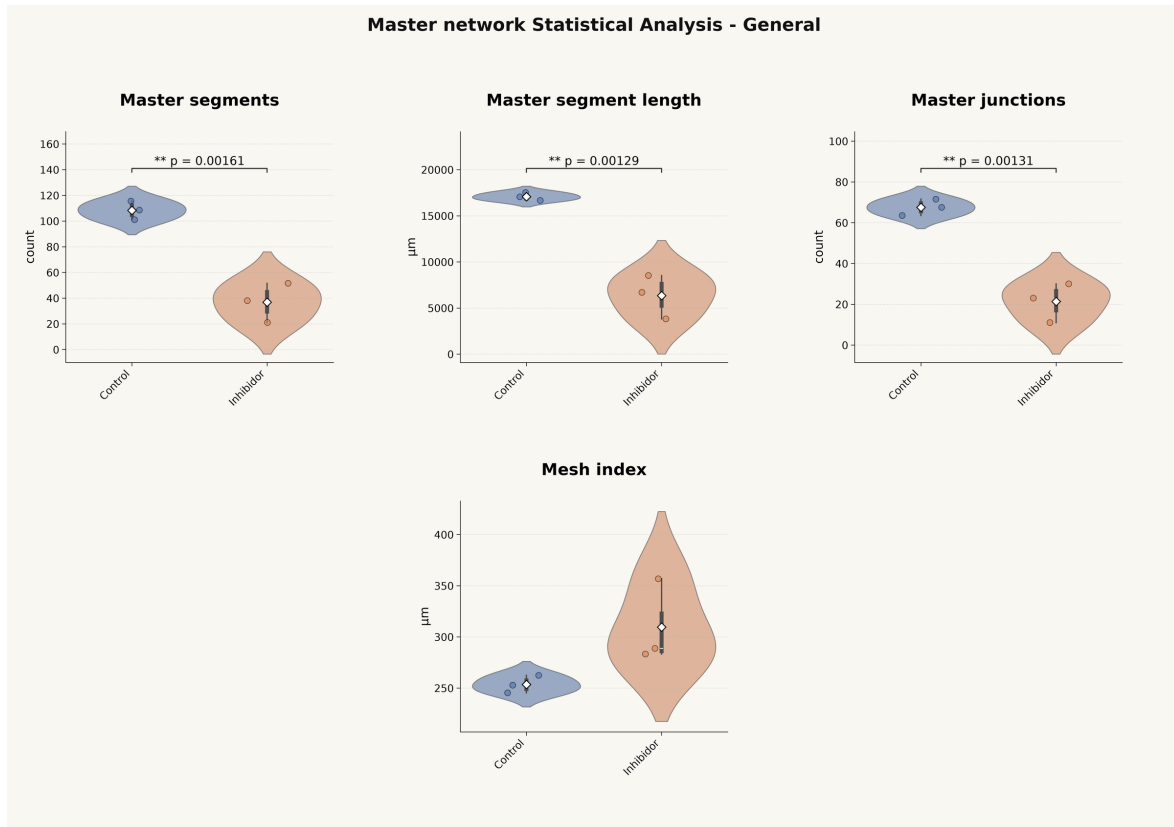


Figura 7. Violines por condición con prueba ómnibus, p y tamaño de efecto — grupo Red maestra. Métricas: Segmentos maestros; Largo de segmentos maestros (μm); Uniones maestras; Índice de malla (μm).

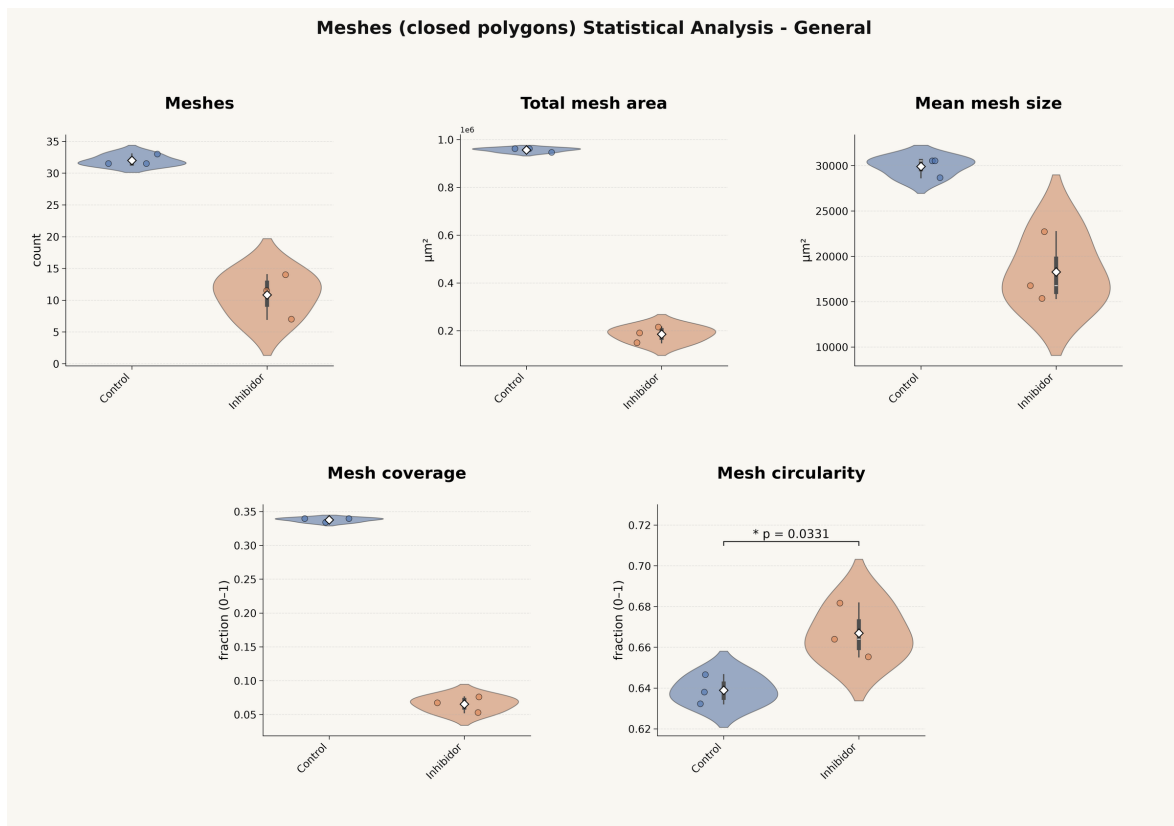


Figura 8. Violines por condición con prueba ómnibus, p y tamaño de efecto — grupo Mallas (polígonos cerrados). Métricas: Mallas; Área total de mallas (μm^2); Tamaño medio de malla (μm^2); Cobertura de mallas (fracción 0–1); Circularidad de mallas (fracción 0–1).

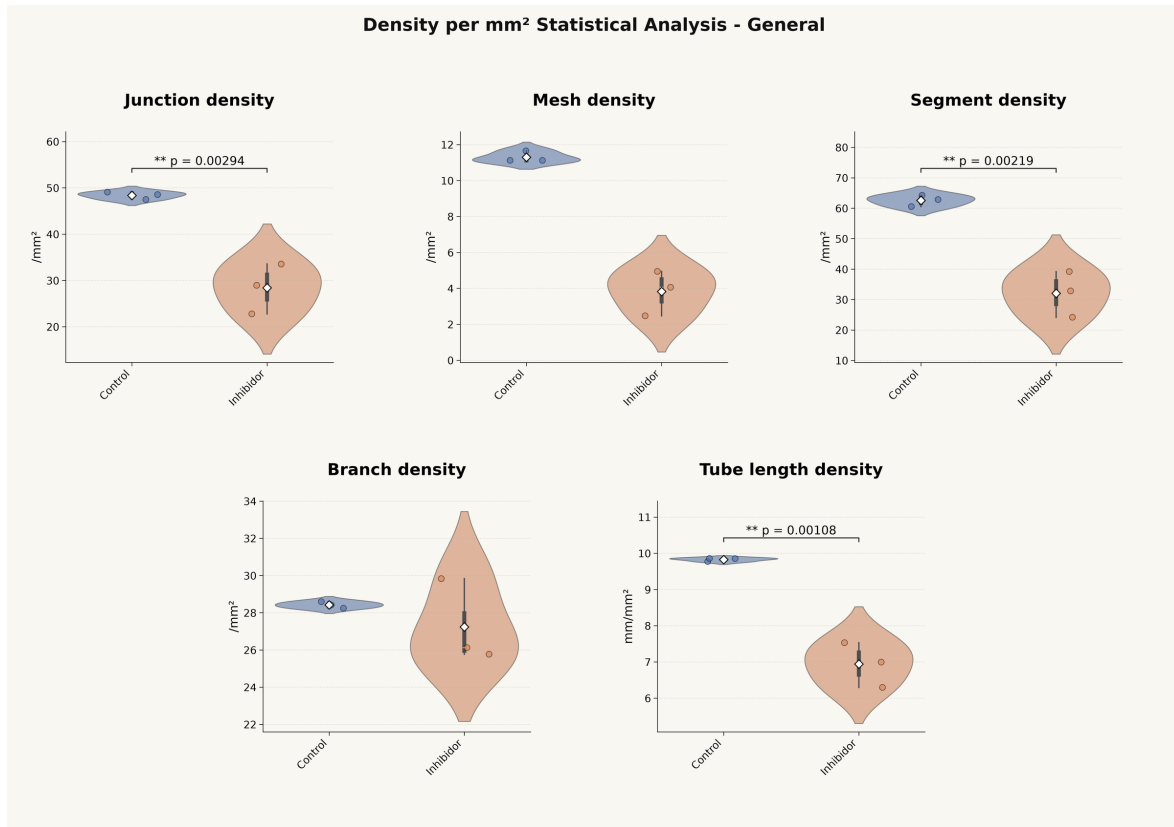


Figura 9. Violines por condición con prueba ómnibus, p y tamaño de efecto — grupo Densidad por mm². Métricas: Densidad de uniones (/mm²); Densidad de mallas (/mm²); Densidad de segmentos (/mm²); Densidad de ramas (/mm²); Densidad de largo de tubos (mm/mm²).

Significant Statistical Analysis - General

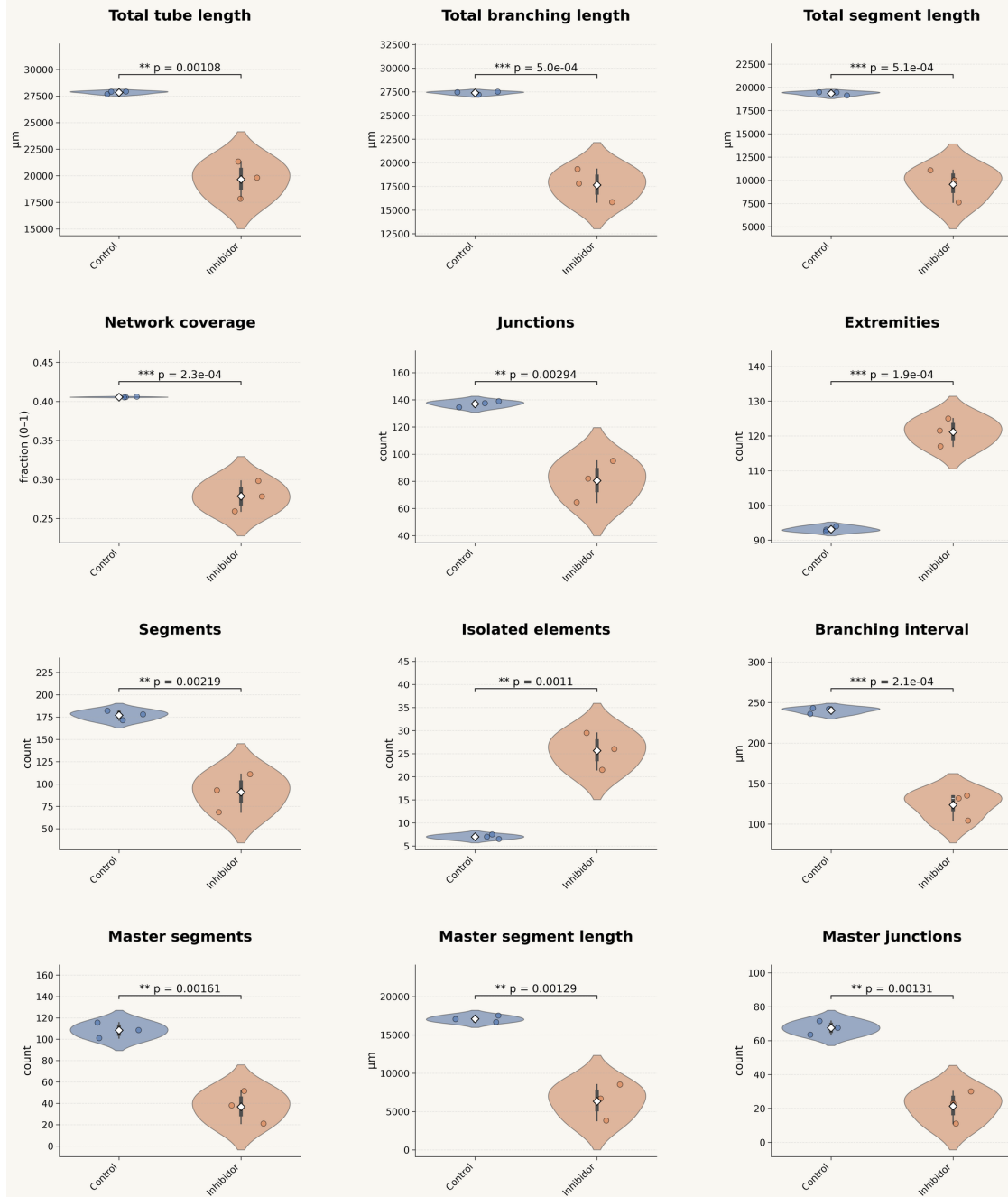


Figura 10. Síntesis de las métricas significativas en el motor estadístico (parte 1 de 2).

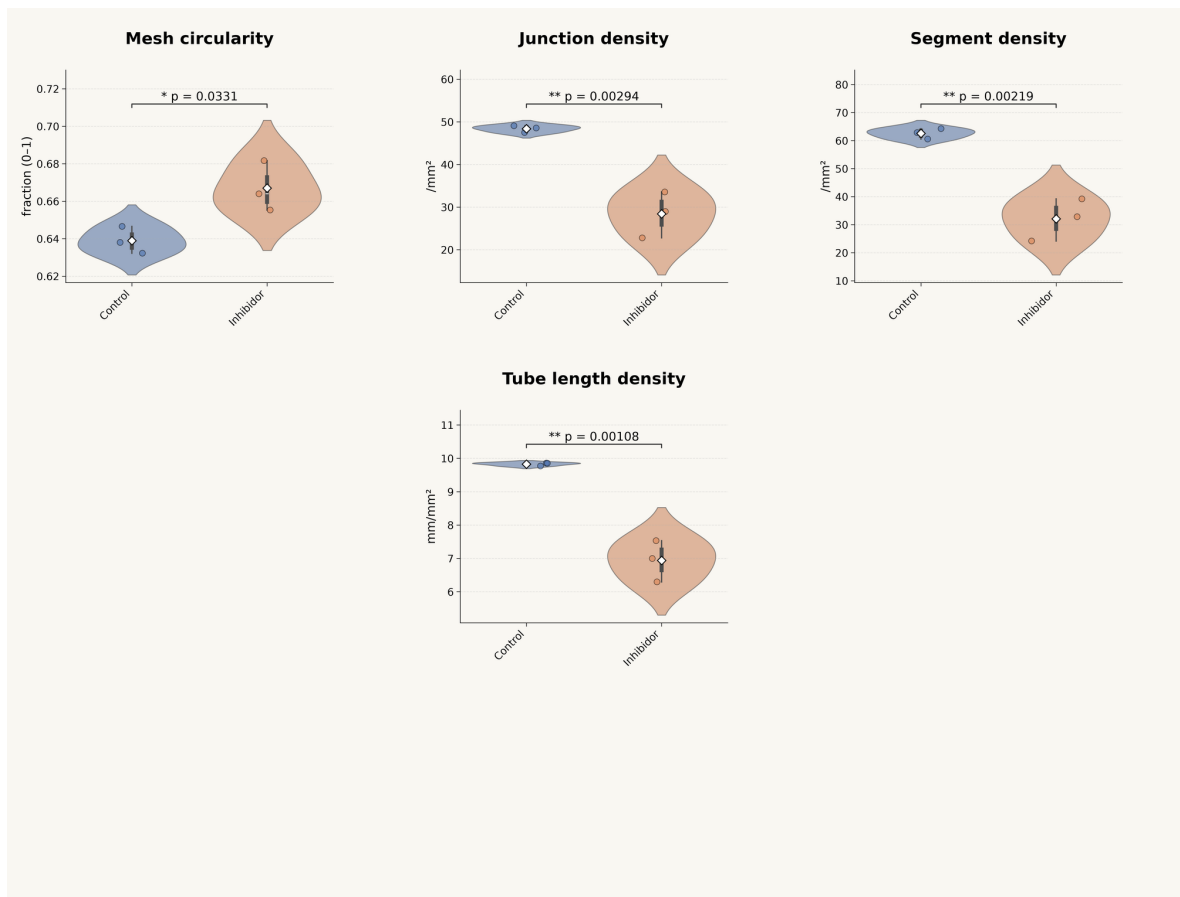


Figura 11. Síntesis de las métricas significativas en el motor estadístico (parte 2 de 2).

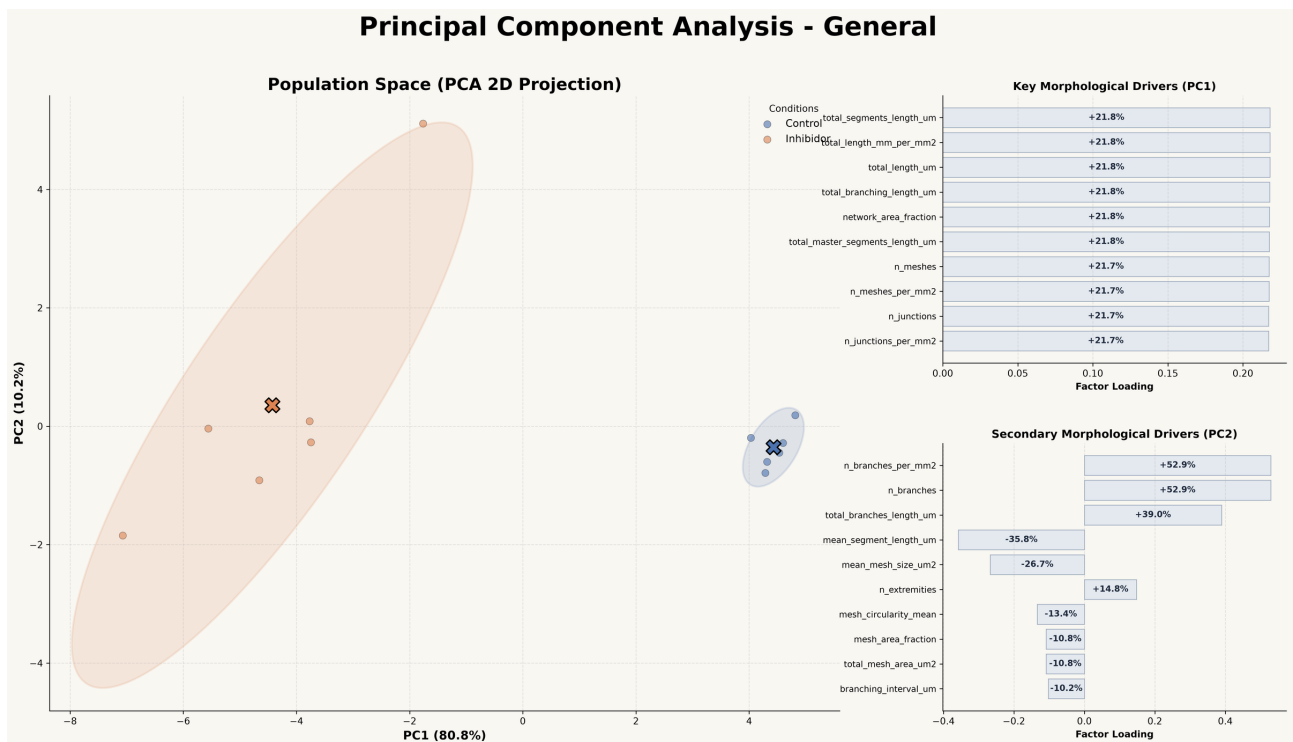


Figura 12. Análisis de componentes principales sobre las métricas por imagen estandarizadas; cada punto es una imagen coloreada por condición.

6. Morfometría de la red

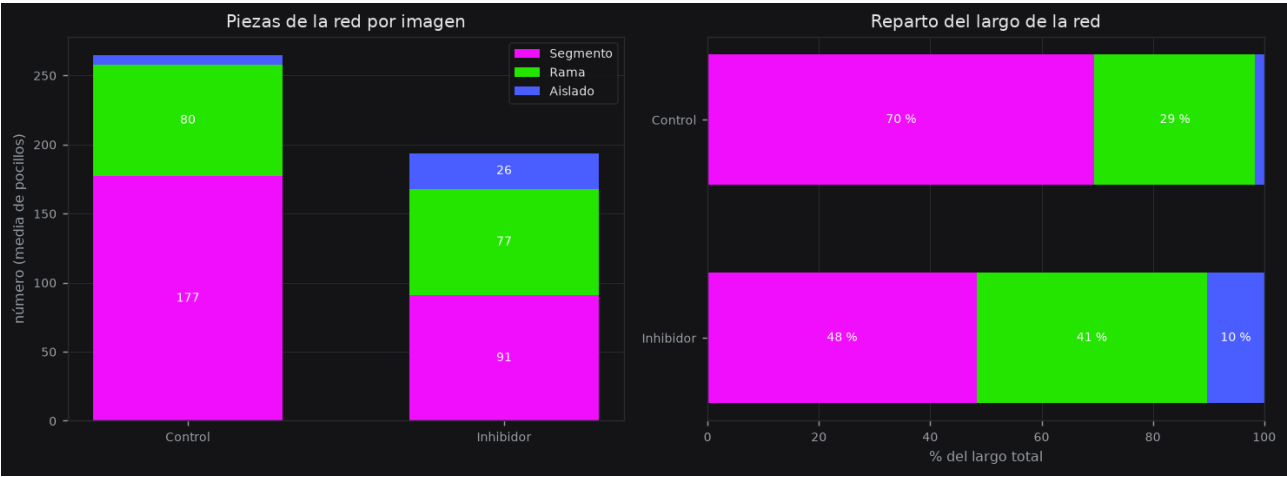


Figura 13. Composición de la red. Izquierda: número de segmentos (magenta), ramas (verde) y elementos aislados (azul) por imagen, media de las réplicas. Derecha: reparto del largo total de la red entre los tres tipos de pieza. Una red madura concentra su largo en segmentos; la red que se desarma gana ramas y aislados.

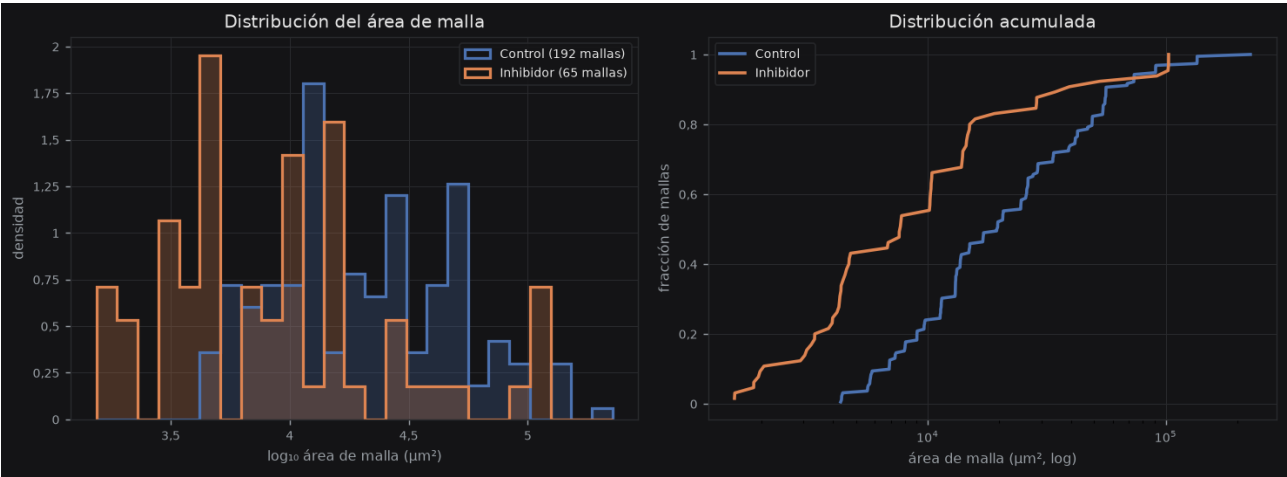


Figura 14. Distribución del área de las mallas (polígonos cerrados) de todas las imágenes de cada condición. Izquierda: histograma del logaritmo del área. Derecha: distribución acumulada.

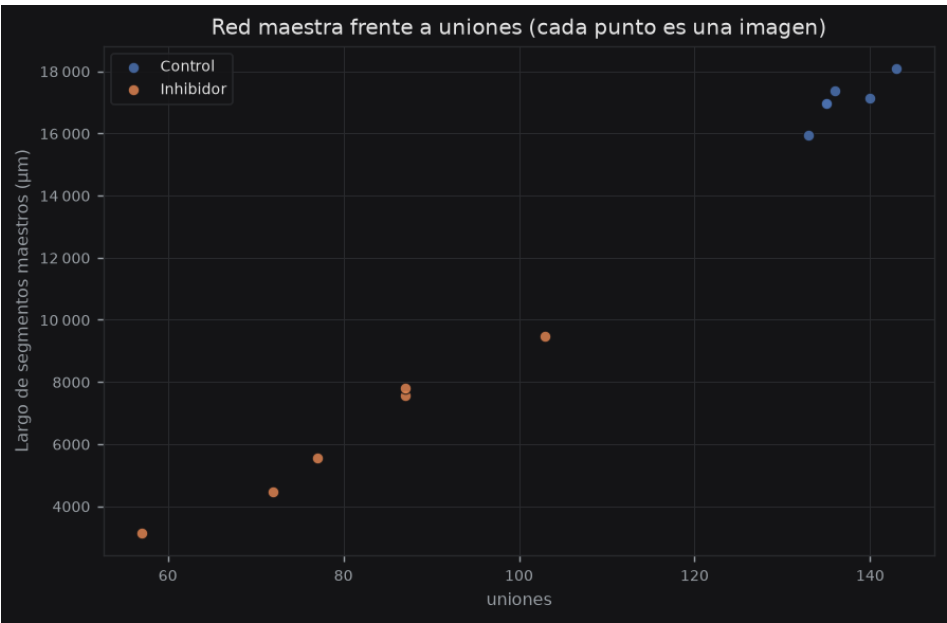


Figura 15. Largo de la red maestra frente al número de uniones; cada punto es una imagen.

7. Control de calidad por imagen

Contraste: dispersión de la intensidad normalizada (valores muy bajos indican una imagen lavada). Cobertura de señal: fracción del campo ocupada por señal antes de la limpieza. Huecos cerrados: interrupciones cortas de un tubo que el sistema completó siguiendo a las células. En rojo, imágenes con contraste menor que la mitad de la mediana del experimento o sin uniones detectadas: conviene revisarlas en el dashboard.

Condición	Pocillo	Imagen	Tipo	Contraste	Cobertura	Huecos cerrados	Uniones	Mallas
Control	1	pocillo_campo_1	Campo claro	0,290	37 %	32	136	32
Control	1	pocillo_campo_2	Campo claro	0,290	37 %	31	133	31
Control	2	pocillo_campo_1	Campo claro	0,290	37 %	30	135	33
Control	2	pocillo_campo_2	Campo claro	0,290	37 %	35	143	33
Control	3	pocillo_campo_1	Campo claro	0,290	37 %	31	140	31
Control	3	pocillo_campo_2	Campo claro	0,290	37 %	35	135	32
Inhibidor	1	pocillo_campo_1	Campo claro	0,165	29 %	28	103	15
Inhibidor	1	pocillo_campo_2	Campo claro	0,164	26 %	16	87	13
Inhibidor	2	pocillo_campo_1	Campo claro	0,164	26 %	21	87	13
Inhibidor	2	pocillo_campo_2	Campo claro	0,164	25 %	21	77	10
Inhibidor	3	pocillo_campo_1	Campo claro	0,164	25 %	16	72	9
Inhibidor	3	pocillo_campo_2	Campo claro	0,162	23 %	17	57	5

Tabla 6. Indicadores de calidad por imagen.

Todas las imágenes tienen un contraste comparable y una red con uniones detectadas.

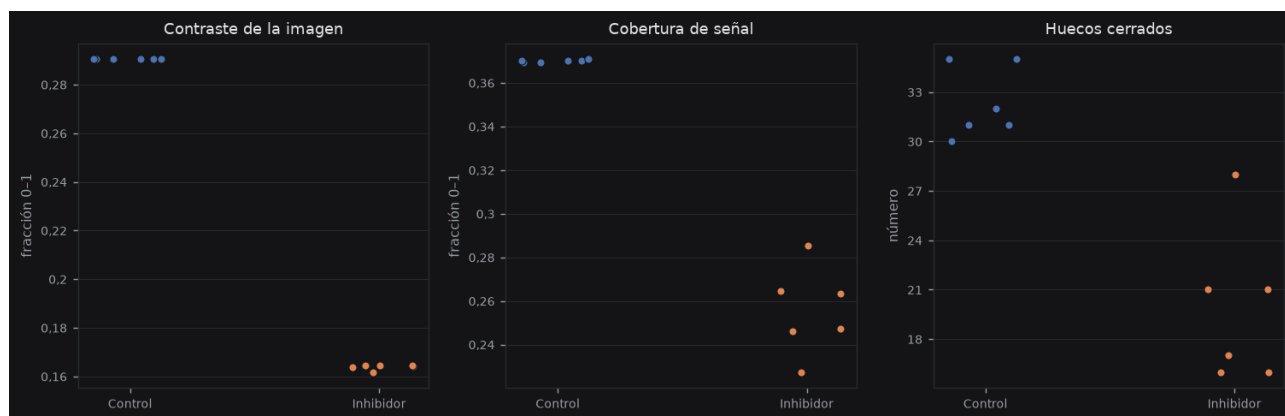


Figura 16. Contraste, cobertura de señal y huecos cerrados por imagen y condición.

8. Glosario de métricas

Métrica	Definición	Unidad
Extensión de la red		
Largo total de tubos	Suma del largo de toda la red tubular (segmentos, ramas y elementos aislados).	μm
Largo total ramificado	Largo de las estructuras ramificadas (segmentos + ramas), sin los elementos aislados.	μm
Largo total de segmentos	Suma del largo de los segmentos (tubos delimitados por dos uniones).	μm
Largo total de ramas	Suma del largo de las ramas (tubos entre una unión y un extremo libre).	μm
Cobertura de la red	Fracción del campo ocupada por la red celular.	fracción 0–1
Topología		
Uniones	Puntos de ramificación de la red (nodos donde se encuentran tres o más tubos; los muy cercanos se funden en uno).	conteo
Extremos	Extremos libres de la red.	conteo
Segmentos	Tubos delimitados por dos uniones.	conteo
Ramas	Tubos delimitados por una unión y un extremo libre.	conteo
Elementos aislados	Tubos con dos extremos libres, sin conexión con la red.	conteo
Largo medio de segmento	Largo total de segmentos dividido por su número.	μm
Intervalo de ramificación	Distancia media que separa dos ramas a lo largo de la red. <i>$\text{largo de segmentos} / \text{ramas}$</i>	μm
Red maestra		
Segmentos maestros	Segmentos de la red maestra: lo que queda al retirar iterativamente las ramas, es decir, la parte cerrada que sostiene la red.	conteo
Largo de segmentos maestros	Suma del largo de los segmentos maestros.	μm
Uniones maestras	Uniones que conectan al menos tres segmentos maestros.	conteo
Índice de malla	Distancia media entre dos uniones maestras de la red mallada. <i>$\text{largo maestro} / \text{uniones maestras}$</i>	μm
Mallas (polígonos cerrados)		
Mallas	Áreas completamente cerradas por la red (polígonos cerrados).	conteo
Área total de mallas	Suma del área de todas las mallas.	μm ²
Tamaño medio de malla	Área total de mallas dividida por su número.	μm ²
Cobertura de mallas	Fracción del campo encerrada por mallas.	fracción 0–1
Circularidad de mallas	Redondez media de las mallas (1 = círculo); las redes inmaduras forman polígonos irregulares. <i>$C = 4\pi A/P^2$</i>	fracción 0–1
Densidad por mm²		
Densidad de uniones	Cantidad por mm ² de campo.	/mm ²
Densidad de mallas	Cantidad por mm ² de campo.	/mm ²
Densidad de segmentos	Cantidad por mm ² de campo.	/mm ²
Densidad de ramas	Cantidad por mm ² de campo.	/mm ²
Densidad de largo de tubos	Largo total de tubos (mm) por mm ² de campo.	mm/mm ²
Control de calidad de la imagen		
Contraste de la imagen	Dispersión de la intensidad normalizada; valores muy bajos indican una imagen lavada.	fracción 0–1
Cobertura de señal	Fracción del campo ocupada por señal antes de la limpieza.	fracción 0–1
Huecos cerrados	Interrupciones cortas de un tubo que el sistema completó siguiendo a las células.	conteo

9. Referencias

1. Carpentier G, Berndt S, Ferratge S, et al. (2020). Angiogenesis Analyzer for ImageJ — A comparative morphometric analysis of “Endothelial Tube Formation Assay” and “Fibrin Bead Assay”. *Sci Rep* 10:11568.
2. Arnaoutova I, Kleinman HK (2010). In vitro angiogenesis: endothelial cell tube formation on gelled basement membrane extract. *Nat Protoc* 5:628–635.
3. DeCicco-Skinner KL, Henry GH, Cataisson C, et al. (2014). Endothelial cell tube formation assay for the in vitro study of angiogenesis. *J Vis Exp* (91):e51312.
4. Staton CA, Reed MWR, Brown NJ (2009). A critical analysis of current in vitro and in vivo angiogenesis assays. *Int J Exp Pathol* 90:195–221.
5. Lazic SE (2010). The problem of pseudoreplication in neuroscientific studies. *BMC Neurosci* 11:5.

El método de reconstrucción de la red es propiedad de MAPSNY y se describe solo en términos generales. Se recomienda revisar visualmente las redes reconstruidas (dashboard, pestaña de imágenes) antes de publicar. Documento confidencial generado automáticamente por MAPSNY (mapsny.com).