



Universidad de Valparaíso
Facultad de Medicina
Carrera de Tecnología Médica



**“Aporte de los Micronúcleos como biomarcadores de progresión de daño genético en frotis citológicos diagnosticados con lesiones precursoras de Cáncer Cervicouterino, mediante el examen de Papanicolaou:
Una revisión narrativa”**

**Seminario de Grado
presentado en conformidad a los requisitos para obtener
el Grado Académico de “Licenciado en Tecnología Médica con mención en
Morfofisiopatología y Citodiagnóstico”**

Mei Ling Chang Poblete

Profesor Guía:
T.M. Andrea Giakoni Viveros

AÑO 2021

RESUMEN

El cáncer cervicouterino es una de las neoplasias con mayor mortalidad entre las mujeres y su principal agente etiológico es el Virus Papiloma Humano, el cual induce una serie de lesiones premalignas que son pesquisadas a través del examen de Papanicolaou. Estas lesiones están caracterizadas por la adquisición de modificaciones en el genoma de las células a una alta frecuencia, un proceso conocido como inestabilidad genómica, que se traduce en la formación de alteraciones específicas que pueden ser empleadas como biomarcadores, algunos de ellos visibles, dentro de los que destacan los Micronúcleos.

Estos son cuerpos intracitoplasmáticos, que contienen cromosomas enteros o fragmentos de ellos, que fallan en ser incorporados a los núcleos de las células hijas durante la división celular, producto de la acción de agentes genotóxicos. Además, pueden ser observados en células exfoliadas, donde un elevado número indica progresión de daño genético y, por tanto, un alto riesgo de desarrollo de un proceso maligno. Respecto a ello, múltiples investigadores han reportado que en las lesiones precursoras del cáncer cervicouterino existe un aumento en la frecuencia de células micronucleadas de tal forma que, a mayor grado de lesión, mayor es la frecuencia de éstas. Por esto, proponen su conteo durante la evaluación del examen de Papanicolaou, con el fin de optimizar esta técnica, tanto en el diagnóstico de las Lesiones Intraepiteliales Escamosas como en la identificación de pacientes que tienen un elevado riesgo de desarrollar un proceso maligno, debido al aumento en la inestabilidad genómica de las células del epitelio cervical.

En esta revisión narrativa se sintetizó la información disponible en la literatura científica sobre el eventual aporte de los Micronúcleos como biomarcadores de progresión de daño genético, en frotis celulares diagnosticados con lesiones precursoras del cáncer cervicouterino, mediante el examen de Papanicolaou, con el propósito de adicionar información que permita aumentar la sensibilidad de este examen en el diagnóstico de las Lesiones Intraepiteliales y en la identificación de aquellas pacientes de mayor riesgo.

Palabras clave: Cáncer Cervicouterino; Lesiones Intraepiteliales Escamosas; Papanicolaou; Micronúcleos; Biomarcador.

Lista de Acrónimos

ACO: Anticonceptivos Orales

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ASC: Atypical squamous cells / Células escamosas atípicas

ASCUS: Atypical squamous cells of undetermined significance / Células escamosas atípicas de significado indeterminado o incierto.

ASCH: Atypical squamous cells cannot exclude HSIL/ Células escamosas atípicas- no puede excluirse HSIL

CIS: Carcinoma in Situ

cMN: Células micronucleadas

DSB: Double Strand Breaks /Roturas de doble cadena

EN: Envoltura Nuclear

CI/IC: Carcinoma Invasor/ Invasive Carcinoma

LBC: Liquid Base Cytology / Citología de base líquida

LIE /SIL: Lesión Intraepitelial Escamosa/ Squamous Intraepithelial Lesion

LIEBG/ LSIL: Lesión intraepitelial de Bajo Grado/ Low grade Squamous Intraepithelial Lesion

LIEAG/ HSIL: Lesión Intraepitelial de Alto Grado/ High grade Squamous Intraepithelial Lesion

MN: Micronúcleos

NBUD: Nuclear Budding

NIC: Neoplasia Intraepitelial Cervical

NIC I: Neoplasia Intraepitelial Cervical I

NIC II: Neoplasia Intraepitelial Cervical II

NIC III: Neoplasia Intraepitelial Cervical III

NP: Núcleo Principal

NPC: Nuclear Pore Complex / Complejo del poro nuclear

PAP: Examen de Papanicolaou.

VPH: Virus Papiloma Humano

VPH-BR/ LR-HPV: Virus Papilloma Humano de Bajo Riesgo/ Low Risk Human Papilloma Virus

VPH-AR/ HR- HPV: Virus Papiloma Humano de Alto Riesgo/ High Risk Human Papilloma Virus

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	- 1 -
2. MARCO TEÓRICO.....	- 3 -
2.1. CÁNCER CERVICOUTERINO Y LESIONES INTRAEPITELIALES	- 3 -
2.1.1. Cáncer.....	- 3 -
2.1.1.1. Generalidades del Cáncer	- 3 -
2.1.1.2. Epidemiología.....	- 4 -
2.1.2. Cáncer cervicouterino.....	- 4 -
2.1.2.1. Generalidades del cérvix.....	- 4 -
2.1.2.2. Generalidades del cáncer cervicouterino	- 7 -
2.1.2.3. Epidemiología.....	- 7 -
2.1.2.4. Etiología.....	- 8 -
2.1.2.5. Progresión del cáncer cervicouterino.....	- 11 -
2.1.2.5.1. Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (LIEBG o LSIL).....	- 12 -
2.1.2.5.2. Lesión Intraepitelial de Alto Grado (LIEAG o HSIL)	- 13 -
2.1.2.5.3. Células escamosas atípicas (ASC).....	- 14 -
2.1.2.5.4. Carcinoma in Situ (CIS)	- 15 -
2.1.2.5.5. Carcinoma Cervicouterino Invasor.....	- 16 -
2.1.2.6. Examen de Papanicolaou	- 17 -
2.2. MICRONÚCLEOS	- 20 -
2.2.1. Generalidades de los Micronúcleos	- 20 -
2.2.1.1. Agentes clastogénicos.....	- 20 -
2.2.1.2. Agentes aneugénicos.....	- 21 -
2.2.2. Actividad al interior de los Micronúcleos	- 22 -
2.2.2.1. Replicación	- 22 -
2.2.2.2. Transcripción	- 22 -
2.2.2.3. Reparación de daño del ADN	- 23 -
2.2.3. Destino de los Micronúcleos al interior de las células	- 23 -
2.2.3.1. Reincorporación.....	- 24 -

2.2.3.2.	Degradación	- 24 -
2.2.3.3.	Extrusión	- 25 -
2.2.3.4.	Persistencia	- 25 -
2.2.4.	Ensayos para el análisis de micronúcleos.....	- 25 -
2.3.	MICRONÚCLEOS EN LESIONES PRECURSORAS DE CÁNCER CERVICOUTERINO	- 27 -
2.3.1.	Micronúcleos como biomarcadores.....	- 27 -
2.3.2.	Micronúcleos y Cáncer.....	- 28 -
2.3.3.	Micronucleos en Lesiones Intraepiteliales Escamosas y en ASC	- 28 -
3.	PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	- 30 -
3.1.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	- 30 -
3.2.	RELEVANCIA	- 30 -
4.	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	- 32 -
4.1.	OBJETIVO GENERAL.....	- 32 -
4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	- 32 -
5.	MATERIALES Y METODOS	- 33 -
5.1.	TIPO DE ESTUDIO	- 33 -
5.2.	PROTOCOLO O ESTRATEGIA DE REVISIÓN	- 33 -
5.2.1.	Criterios de inclusión.....	- 33 -
5.2.2.	Variables de los resultados	- 34 -
5.2.2.1.	Lesiones intraepiteliales escamosas del cérvix.....	- 34 -
5.2.2.2.	Frecuencia relativa de células micronucleadas	- 37 -
5.3.	ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.....	- 38 -
5.3.1.	Bases de datos.....	- 38 -
5.3.2.	Palabras clave	- 38 -
5.3.3.	Período de búsqueda.....	- 39 -
5.3.4.	Restricciones idiomáticas	- 39 -
5.4.	EXTRACCIÓN DE DATOS	- 39 -

5.4.1.	Selección de los estudios	- 39 -
5.4.2.	Extracción de datos.....	- 40 -
5.5.	PLAN DE ANÁLISIS	- 41 -
5.5.1.	Análisis descriptivo	- 41 -
5.5.2.	Análisis estadístico	- 41 -
6.	RESULTADOS.....	- 42 -
6.1.	DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS INCLUIDOS EN LA REVISIÓN	- 42 -
6.2.	DESCRIPCIÓN, POR CATEGORÍAS, DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS UTILIZADOS Y ASOCIACIONES REALIZADAS EN LOS ESTUDIOS INCLUIDOS EN LA REVISIÓN	- 49 -
6.2.1.	Primera categoría: Características de los micronúcleos	- 50 -
6.2.2.	Segunda categoría: Antecedentes de las pacientes que pueden ser asociados a las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino.	- 51 -
6.2.3.	Tercera categoría: Frecuencia de cMN y factores de riesgo de cáncer cervicouterino.....	- 53 -
6.2.4.	Cuarta categoría: Frecuencia de cMN en el diagnóstico ASC	- 55 -
6.2.5.	Quinta categoría: Frecuencia de cMN en el diagnóstico LIEBG/LSIL.	- 57 -
6.2.6.	Sexta categoría: Frecuencia de cMN en el diagnóstico LIEAG/HSIL.....	- 59 -
7.	DISCUSIÓN.....	- 65 -
8.	CONCLUSIÓN	- 76 -
9.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	- 79 -
10.	ANEXOS	- 90 -
10.1.	ANEXO A: Resumen de búsqueda y selección de estudios	- 90 -

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Características principales de los estudios incluidos en la revisión	- 42 -
Tabla 2.	Distribución geográfica de los estudios incluidos en la revisión, según año de publicación.	- 45 -
Tabla 3.	Grupos diagnósticos evaluados en los estudios incluidos en la revisión	- 46 -
Tabla 4.	Criterios de identificación de MN, cantidad de células evaluadas, número de observadores y tipo de citología empleada según los estudios seleccionados.	- 47 -
Tabla 5.	Promedios de frecuencia de cMN reportados por 12 estudios en los diagnósticos citológicos Normal, ASCUS, ASCH, LIEBG y LIEAG.	- 62 -
Tabla 6.	Valores medios y error estándar de los promedios de frecuencias de cMN reportados por los estudios incluidos en la revisión.	- 63 -
Tabla A.1	Detalle de los resultados de búsqueda de artículos en seis bases de datos....	- 90 -
Tabla A.2	Detalle de la selección de artículos, según contenido de título y resumen, repeticiones y criterios de inclusión.	- 90 -

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografía de un MN	- 21 -
Figura 2. Promedio de frecuencia de cMN reportadas en la literatura para los distintos grupos diagnósticos evaluados.	- 71 -
Figura 3. Conteo de cMN en frotis ASCUS con resultado histopatológico inflamatorio y con resultado de LIE.....	- 73 -

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las enfermedades no transmisibles más comunes y mortales entre la población mundial. En la actualidad se conocen más de 200 neoplasias malignas diferentes, entre las que se encuentra el cáncer cervicouterino (1-2).

El cáncer cervicouterino corresponde a una neoplasia maligna que afecta al tercio inferior del útero, conocido como cérvix o cuello uterino (3). Es la cuarta neoplasia más mortal entre las mujeres a nivel mundial (2) y tiene como principal agente etiológico a los genotipos de alto riesgo del Virus Papiloma Humano (HR- HPV), reconocido como la causa necesaria para el desarrollo de esta neoplasia, pues es capaz de inducir la transformación maligna de las células que conforman el epitelio cervical (4-5).

A partir de lo anterior, es que se originan alteraciones precursoras del Carcinoma Cervicouterino que son pesquisadas mediante citología exfoliativa cervical o examen de Papanicolaou. Dichas alteraciones son conocidas como Lesiones Intraepiteliales Escamosas, las que pueden ser de Bajo y Alto Grado (LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL respectivamente). Asimismo, existen otro tipo de alteraciones conocidas, como presencia Células Escamosas Atípicas (ASC), las cuales podrían ser atribuibles a una infección por VPH y, por tanto, asociarse a la presencia de una LIEBG o LIEAG enmascarada (6-7).

Por otra parte, una de las características esenciales de las células que componen una lesión premaligna o maligna es la inestabilidad genómica, la cual corresponde a la adquisición de alteraciones en el genoma de las células en una alta frecuencia (8). Estas alteraciones son causadas por la acción de agentes genotóxicos de tipo químico, físico o biológico (9), capaces de inducir fracturas en el ADN (clastógenos) o de actuar sobre alguno de los elementos que regulan o participan en el proceso de mitosis (anéugeno) (10).

Como resultado de estas alteraciones, las células expresan diversos elementos conocidos como biomarcadores de inestabilidad genómica, dentro de los que se encuentran los Micronúcleos (MN) (11), que corresponden a fragmentos de cromosomas o cromosomas enteros que fallan en ser incorporados a los núcleos de las células hijas posterior al proceso de mitosis, por lo cual quedan excluidos del Núcleo Principal (NP) y forman su propia envoltura (12), pudiendo ser identificados mediante microscopía óptica en células exfoliadas,

donde son visualizados como cuerpos pequeños, intracitoplasmáticos, independientes del NP, con similar intensidad de coloración y textura que éste (13).

Ha sido reportado en la literatura científica que la frecuencia de células micronucleadas (cMN) aumenta en condiciones pre-malignas y malignas de diversos órganos, entre los que destaca el cérvix (14-15), donde se ha encontrado que, en frotis celulares cervicales obtenidos mediante el examen de Papanicolaou, la frecuencia de cMN aumenta en pacientes con diagnósticos citopatológicos de ASC, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL (16-18).

Es por ello, que el objetivo de la presente revisión es evaluar la evidencia científica sobre el eventual aporte de los Micronúcleos como biomarcadores de progresión de daño genético en frotis celulares diagnosticados con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino, mediante el examen de Papanicolaou, con el fin de optimizar y aumentar la sensibilidad de este examen, tanto en la detección de lesiones intraepiteliales cervicales como en la identificación de pacientes que tienen un alto riesgo de desarrollar un proceso maligno, colaborando a la mejora en su calidad de vida a través de un tratamiento oportuno y el correspondiente monitoreo de su salud.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. CÁNCER CERVICOUTERINO Y LESIONES INTRAEPITELIALES

2.1.1. Cáncer

2.1.1.1. *Generalidades del Cáncer*

El cáncer es un trastorno que agrupa a unas 200 entidades diferentes, y corresponde al crecimiento descontrolado de células debido a un desequilibrio entre los mecanismos que regulan la proliferación y muerte celular (1). Bajo estas condiciones, las células tienen el potencial de experimentar una transformación maligna a través de la adquisición de características aberrantes (19), como lo son:

- Autosuficiencia en la producción de señales de crecimiento
- Insensibilidad a las señales inhibitoras del crecimiento
- Evasión de la apoptosis
- Potencial replicativo ilimitado
- Angiogénesis sostenida
- Reprogramación del metabolismo energético
- Evasión del sistema inmune
- Invasión de tejidos y metástasis

Dichas características celulares son el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales, que posteriormente llevan a las células a infiltrar, degradar y

transformar el estroma que las rodea, invadiendo tejidos circundantes o distantes a través de los sistemas linfáticos y/o circulatorios (20-22).

2.1.1.2. *Epidemiología*

El cáncer corresponde actualmente a la segunda causa de muerte más frecuente a nivel mundial (23). De acuerdo con las estadísticas de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y el Observatorio Global del Cáncer (GLOBOCAN), durante el año 2020 se produjeron más de 9 millones de muertes por cáncer y aproximadamente 19.2 millones de nuevos casos fueron detectados a nivel mundial (2).

En el caso de los hombres las neoplasias malignas más frecuentes corresponden a cáncer de pulmón, próstata, colon y estómago, mientras que en las mujeres lo son el cáncer de mama, colon, pulmón y cérvix (2).

2.1.2. *Cáncer cervicouterino*

2.1.2.1. *Generalidades del cérvix*

El cérvix o cuello uterino corresponde al tercio inferior del útero y consiste en un cilindro estrecho que mide aproximadamente 2,5 [cm] de longitud (3, 24). A nivel macroscópico, posee dos porciones: una superior, que se abre hacia el útero, denominada endocérvix y una inferior, que protruye hacia la vagina, denominada exocérvix (25).

A nivel histológico, el endocérvix está recubierto por un epitelio columnar simple, en el que se pueden identificar tres tipos principales de células (26):

- a) *Secretoras*: Son células cilíndricas, de núcleo oval, citoplasma basófilo y vacuolado.
- b) *Ciliadas*: Son células cilíndricas, mono o binucleadas, con un borde apical ciliado.
- c) *Reserva*: Son células ubicadas bajo el epitelio cilíndrico que se activan bajo condiciones inflamatorias o reparativas. Su núcleo tiende a ser vesicular y oval, mientras que su citoplasma es espumoso.

Con respecto al exocérvix, éste se caracteriza por presentar un epitelio plano estratificado no queratinizado, en el que se pueden identificar cuatro tipos celulares (26):

- a) *Superficiales*: Son células de gran tamaño que se ubican en la capa más superficial del epitelio. Se caracterizan por ser eosinófilas, así como por tener un núcleo pequeño y picnótico.
- b) *Intermedias*: Son células que se sitúan bajo las células superficiales. Son grandes, basófilas, de citoplasma claro rico en glicógeno, con un núcleo redondo y de mayor tamaño que el de las anteriores.
- c) *Parabasales*: Son células situadas bajo las células intermedias, más pequeñas que éstas, con citoplasma basófilo, núcleo oval y central.
- d) *Basales*: Son células cúbicas, basófilas, con capacidad de división y están situadas en la capa más profunda del epitelio.

A nivel citológico, en los extendidos realizados mediante citología exfoliativa y utilizando la coloración de Papanicolaou, se pueden identificar por separado los diferentes tipos celulares (ya sean escamosos o glandulares) y sus características específicas (26-27), tal como se describen a continuación:

a) *Células del epitelio endocervical:*

- *Células Endocervicales*: Son células cilíndricas, que pueden o no tener cilios, de citoplasma cianófilo con microvacuolas o una única vacuola grande. El núcleo celular es redondo u oval y se encuentra polarizado a un extremo de la célula, pudiendo ser único o múltiple (27).

b) *Células del epitelio exocervical:*

- *Células Superficiales:* Son células grandes que pueden alcanzar los 60 [um], poligonales, de bordes bien definidos, con citoplasma translúcido y eosinófilo. Su núcleo es central, redondo, pequeño (7 [um]) y picnótico (27).
- *Células Intermedias:* Son células numerosas, de menor tamaño que las anteriores (50 [um]), poligonales, de bordes bien definidos y/o veces plegados, citoplasma translúcido, cianófilo (verde azulado) y rico en glicógeno, el cual dependiendo del estado hormonal de la paciente puede experimentar citólisis. Su núcleo es redondo u oval, de mayor tamaño que el de las células superficiales (11 [um]), de apariencia vesicular con un patrón de cromatina fino y regular (27).
- *Células Parabasales:* Son células que normalmente se presentan en los extendidos con atrofia fisiológica del epitelio cervical, producto de la disminución del estímulo hormonal. Las células son pequeñas (alcanzan los 30 [um]), redondas u ovals, de bordes netos, con citoplasma denso y cianófilo. Su núcleo es central, redondo, con un tamaño de hasta 12 [um], de apariencia vesicular y patrón de cromatina uniforme (27)
- *Células Basales:* Son células que no se observan en condiciones normales en los frotis cervicales de mujeres en edad fértil, pero sí pueden ser observadas en estados de atrofia fisiológica. Se caracterizan por ser pequeñas (menores a 20 [um]), redondas u ovals, de bordes netos y citoplasma cianófilo. El núcleo es grande, de hasta 12 [um] e hiper cromático (27).

Cabe destacar que, entre los epitelios endocervical y exocervical, existe un área de transición denominada zona de transformación, la cual se define como el área donde el epitelio columnar glandular del endocérvix se transforma en un epitelio metaplásico escamoso inmaduro y luego, en un epitelio escamoso maduro. Es en este sitio donde se cree que tienen origen las lesiones precursoras del cáncer cervicouterino (3, 28).

A nivel citológico, las células que conforman la zona de transformación son células endocervicales que experimentan metaplasia escamosa, por tanto, pasan de ser células cilíndricas a ser células de tipo parabasal, con forma poligonal, cuyo citoplasma es denso y puede ser basófilo o eosinófilo. El núcleo es generalmente esférico, de aproximadamente 8

[um] de diámetro, con cromatina regularmente distribuida, en la que a veces puede visualizarse un cromocentro o un nucleólo (29).

2.1.2.2. *Generalidades del cáncer cervicouterino*

El cáncer cervicouterino corresponde a una neoplasia situada en el cuello uterino y es la consecuencia de una infección persistente del tracto genital inferior con un genotipo de alto riesgo del Virus Papiloma Humano (VPH) (4), conocido como causa necesaria, pero insuficiente, para el desarrollo de casi el 100% de los cánceres cervicouterinos (5).

Debido a la presencia de dos tipos de epitelio en la zona de transformación cervical (epitelios escamoso y glandular), se pueden desarrollar dos formas más frecuentes de cáncer cervicouterino: carcinoma de células escamosas, originado en el epitelio escamoso (90% de los casos) y adenocarcinoma, originado en el epitelio glandular (10% de los casos) (30).

2.1.2.3. *Epidemiología*

A nivel mundial, durante el año 2020, el cáncer cervicouterino fue la cuarta neoplasia más común, con 604. 127 nuevos casos y la cuarta neoplasia con mayor mortalidad entre las mujeres, con 341. 831 defunciones (2). En Chile, en el mismo período, se reportaron 1.503 nuevos casos y 799 decesos (31) .

Usualmente, la edad promedio en que las mujeres presentan cáncer cervicouterino oscila entre los 40-60 años, sin embargo, las Lesiones Intraepiteliales Cervicales son diagnosticadas en pacientes entre los 25-30 años, donde un 70% de los casos de Lesiones Intraepiteliales de Bajo Grado (LIEBG o LSIL) experimentan un proceso de

regresión, mientras que un 6 % progresa a Lesión Intraepitelial de Alto Grado (LIEAG o HSIL). De estos últimos casos y de no ser tratadas, una quinta parte puede progresar a carcinoma cervicouterino invasor (30).

2.1.2.4. Etiología

El principal agente etiológico del cáncer cervicouterino y sus lesiones precursoras es el VPH. Los VPH son virus portadores de ADN bicatenario, pertenecientes a la familia Papillomaviridae, caracterizados principalmente por su estabilidad y resistencia frente a condiciones adversas y cuyo único hospedero conocido es el humano, donde es el causante de aproximadamente el 5% de todos los cánceres que lo afectan, entre los cuales se encuentran las neoplasias malignas de cérvix. (32-34).

En base a su tropismo, se puede dividir en aquellos genotipos que afectan a la superficie cutánea y aquellos que infectan las mucosas. Dentro de los últimos, existen aproximadamente 200 genotipos que pueden ser clasificados en dos grupos de acuerdo con la progresión maligna que sobrelleven las lesiones causadas por el virus (32), siendo :

a) VPH de bajo riesgo (VPH-BR/ LR-HPV), asociados a verrugas genitales, hiperplasia y condilomas, lesiones que presentan en un 90% de los casos positividad para los genotipos 6 y 11 (32)

b) VPH de alto riesgo (VPH-AR/ HR-HPV), asociados a LIEAG/HSIL y Carcinoma cervicouterino invasor, lesiones que presentan en un 80% de los casos positividad para los genotipos 16 y 18 (32)

En general, las infecciones anogenitales por VPH son transmitidas de persona a persona sin necesidad de coito y la mayor parte de éstas podrían incluir cambios citológicos. Son controladas por la inmunidad celular dentro de los primeros 1-2 años posterior a la exposición y, aquellas infecciones que prevalecen en el tiempo son las que tienen mayor riesgo de progresar a LIEAG/HSIL y posteriormente, a carcinoma invasor (5, 35).

Si bien la infección por VPH es una condición necesaria para el desarrollo de carcinoma cervicouterino invasor y sus lesiones precursoras, no es suficiente por sí solo, dado que existen otros elementos que pueden tener una relación causal o de modulación en los procesos pre-neoplásicos y neoplásicos o que aumentan el riesgo de infección por el virus (36-37), tales como:

a) Consumo de tabaco:

Se ha demostrado que el consumo de tabaco sea de forma activa o pasiva aumenta el riesgo de desarrollar LIEAG/HSIL y carcinoma invasor, puesto que las mujeres fumadoras secretan la nicotina y cotinina presentes en el tabaco a través de la mucosidad cervical, las que actúan localmente mermando las defensas del epitelio cervical, lo que resulta en la exposición de éste a los compuestos carcinogénicos presentes en el tabaco y, por tanto, aumentado el riesgo de desarrollar lesiones precursoras o cáncer cervicouterino (38-42).

b) Consumo de alcohol

De acuerdo con la IARC, el etanol presente en las bebidas alcohólicas es un carcinógeno de categoría 1 y ha sido asociado con la persistencia de las infecciones por VPH y con el desarrollo de Neoplasia Intraepitelial Cervical I (NIC I), asociado a la disminución de la actividad de células Natural Killer y a la liberación de citoquinas proinflamatorias (43-45).

c) Uso prolongado de anticonceptivos orales (ACO)

Se ha estimado que en aquellas pacientes que han consumido ACO por más de cinco años consecutivos, el riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino aumenta dos veces

respecto a aquellas pacientes no consumidoras; dicho riesgo disminuye al abandonar el consumo de ACO (46-47).

d) Primer coito y embarazo antes de los 17 años

Respecto al inicio de la vida sexual y embarazo, se ha encontrado que el riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino aumenta aproximadamente 2,5 veces más en aquellas pacientes cuyo primer coito fue antes de los 16 años y 3 veces más en las que presentan un primer embarazo antes de los 17 años, a diferencia de las que lo iniciaron en años posteriores (46,48).

e) Múltiples parejas sexuales

Se ha estimado que aquellas pacientes con más de una pareja sexual a lo largo de la vida tienen cerca de dos veces más riesgo de desarrollar una neoplasia maligna cervical, sin embargo, el riesgo también depende del historial sexual de las parejas de las pacientes evaluadas (48-49).

f) Bajo nivel socioeconómico

Ha sido observado que pacientes con bajo nivel socioeconómico tienen una menor participación en procedimientos de detección de lesiones precursoras del carcinoma cervicouterino, así como un menor acceso a información y una mayor probabilidad de incurrir en prácticas sexuales donde se ven expuestas a adquirir una infección por VPH (46,50).

g) Presencia de otras infecciones de transmisión sexual

Las infecciones del tracto genital inferior podrían actuar como cofactores en el proceso de infección y persistencia del VPH en las células del epitelio cervical, ya que algunas se diagnostican con mayor frecuencia en pacientes con cáncer cervicouterino (51, 52), mientras que otras pueden actuar conjuntamente al VPH como factor de riesgo, aunque su aporte en el proceso de carcinogénesis cervical es mínimo (53).

h) Estados de inmunodeficiencia

Se ha encontrado que las mujeres VIH +, así como las pacientes sometidas a trasplantes de órganos y a la terapia inmunosupresora tienen un elevado riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino (54-55).

Por otro lado, se ha observado que aquellas pacientes diagnosticadas con Lupus Eritematoso sistémico y Artritis Reumatoide presentan, con mayor frecuencia, resultados anormales en el examen de Papanicolaou (55).

2.1.2.5. Progresión del cáncer cervicouterino

Actualmente, se sabe que la mayoría de los cánceres, más frecuentes de origen epitelial, pasan por una fase pre invasora, que puede ser identificada de forma histológica y citológica debido a los cambios morfológicos que ocurren y que tienden a progresar en severidad y extensión con el paso del tiempo (56).

En el caso del cáncer cervicouterino, la infección persistente por VPH lleva al desarrollo de lesiones precursoras conocidas como Lesiones Intraepiteliales Escamosas de Cérvix (LIE), un término desarrollado por profesionales del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos en el año 2001 e incorporado a un sistema de nomenclatura para informar

citología ginecológica, conocido como Sistema Bethesda. Dicho término, hace referencia a aquellas lesiones precursoras del cáncer cervicouterino invasor que están confinadas al epitelio, sin sobrepasar la membrana basal y que pueden ser pesquisadas a través de citología exfoliativa de cérvix, también conocido como examen de Papanicolaou. Las LIE están clasificadas a nivel citológico en dos grados, de acuerdo con las características morfológicas que presentan: Lesiones Intraepiteliales de Bajo Grado (LIEBG o LSIL) y Lesiones Intraepiteliales de Alto Grado (LIEAG o HSIL) (6-7).

2.1.2.5.1. Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (LIEBG o LSIL)

Corresponde a una de las categorías creada por el Sistema Bethesda para agrupar los diagnósticos de displasia leve o Neoplasia Intraepitelial Cervical de grado I (NIC I); es una lesión cuyo comportamiento y pronóstico es impredecible, es decir, puede desaparecer dado que es una lesión frágil y tiene buen manejo terapéutico, o puede prevalecer y progresar a una lesión de alto grado, por tanto, este diagnóstico amerita un seguimiento prolongado en el tiempo (29).

A nivel histológico, estas lesiones tienen su origen principalmente en la zona de transformación cervical. El epitelio se puede observar normal o engrosado, en el que las células exhiben diversas alteraciones nucleares tanto en el tercio inferior, donde se observa actividad mitótica, como en el tercio superior, donde destaca la presencia de coilocitos, los cuales son células caracterizadas por presentar una cavitación o halo que rodea al núcleo celular y constituyen un signo patognomónico de la infección por VPH (29, 37, 57).

A nivel citológico se observan células intermedias y superficiales cuya relación Núcleo:Citoplasma se inclina a favor del núcleo, el cual se encuentra aumentado de tamaño (3 a 5 veces), hipercromático, con distribución irregular de cromatina y en algunos casos, membrana nuclear irregular (58).

Además de lo antes mencionado, pueden ser observados algunos cambios celulares asociados a la infección por VPH, entre los que se encuentran la presencia de coilocitos y disqueratocitos (27, 58).

Los coilocitos son células escamosas maduras que poseen una cavitación perinuclear de bordes netos rodeada por citoplasma y que, si bien no se observan en todos los casos de infección por VPH, son un signo patognomónico de ésta. Por otra parte, los disqueratocitos son células derivadas del epitelio superficial, pequeñas o medianas, fusadas, de aspecto vitreo que, con el método de coloración de Papanicolaou, se tiñen de color naranja intenso u orangeofílico (27).

Tanto los coilocitos como disqueratocitos pueden presentar alteraciones nucleares similares: tamaño nuclear variable, bordes angulosos, patrón de cromatina indistinguible, hipercromasia, presencia de binucleaciones o multinucleaciones (27, 29, 57).

2.1.2.5.2. Lesión Intraepitelial de Alto Grado (LIEAG o HSIL)

Corresponde a la categoría creada por el Sistema Bethesda para agrupar los diagnósticos de displasia moderada o Neoplasia Intraepitelial Cervical de grado II (NIC II) y displasia severa o Neoplasia Intraepitelial Cervical de grado III (NIC III) /Carcinoma in situ. Son lesiones intraepiteliales que están en su mayoría (97%) asociadas a una infección persistente con un genotipo de VPH de alto riesgo (29, 59).

A nivel histológico, los dos tercios inferiores o incluso todo el grosor del epitelio, muestran una marcada atipia celular con pérdida de maduración. A nivel nuclear se pueden observar diferentes formas y tamaños, hipercromasia y cromatina granular. Los núcleos se alargan y se posicionan de forma perpendicular a la membrana basal. Los límites celulares se vuelven indistinguibles y los núcleos se superponen los unos sobre los otros. Se pueden observar figuras mitóticas en todas las capas del epitelio (37).

A nivel citológico, las células que componen estas lesiones son de tipo parabasal, basal o metaplásicas y poseen muchas de las características del carcinoma invasor, sin

embargo, no sobrepasan la membrana basal (3). Las células se caracterizan por ser de menor tamaño que las encontradas en las LIEBG/LSIL y por encontrarse de forma individual o en agregados sincitiales. Poseen un citoplasma que puede ser delicado, denso de tipo metaplásico o incluso queratinizado. El núcleo de las células se encuentra aumentado de tamaño (ocupa más del 50% del volumen de la célula), hipercromático, pleomórfico y con contornos marcadamente irregulares, debido a la presencia de escotaduras en la membrana nuclear. El patrón de cromatina es irregular, con formación de gránulos finos y/o gruesos (27, 37, 56).

2.1.2.5.3. *Células escamosas atípicas (ASC)*

Corresponde a un diagnóstico otorgado a aquellos frotis que presenten cambios citológicos sugestivos de una lesión intraepitelial escamosa, sin embargo, dichos cambios son insuficientes para interpretarlos como una lesión, dado que puede incluir cambios asociados a inflamación, atrofia, alteraciones hormonales y artefactos atribuibles a la toma de muestra y procesamiento, así como también puede atribuirse a cambios asociados al potencial oncogénico del VPH y una neoplasia (58). Los cambios atípicos de células escamosas se pueden dividir en dos (29):

a) *Células escamosas atípicas de significado incierto (ASCUS)*

Corresponde a aquellos frotis que contienen células cuyos cambios atípicos sugieren una LIEBG/LSIL, dentro de los que se encuentran:

- Tamaño del núcleo 2.5- 3 veces el tamaño del núcleo normal de una célula intermedia o 2 veces el tamaño de una célula metaplásica, aumentando así la relación Núcleo:Citoplasma.
- Mínima hipercromasia e irregularidad de la cromatina.

- Coilocitosis incompleta, es decir un halo perinuclear o vacuola pobremente definida, con poca o ninguna anormalidad nuclear.
- Citoplasma denso orangeofílico.

b) *Células escamosas atípicas donde no se puede descartar una lesión de alto grado (ASCH)*

Corresponde al diagnóstico citológico dado a una minoría de los ASC, donde los cambios citopatológicos hacen sospechar de un HSIL, dentro de los cuales se encuentran:

- Células metaplásicas inmaduras atípicas, solas o en grupos de menos de 10 células, cuyos núcleos son 1.5-2.5 veces el tamaño de un núcleo metaplásico normal, por tanto, la relación Núcleo:Citoplasma se aproxima al de una HSIL.
- Sábanas de células con núcleos irregulares, hipercromáticos, con pérdida de polaridad o que son difíciles de visualizar.
- Reparación atípica
- Atrofia severa
- Cambios post radiación

2.1.2.5.4. *Carcinoma in Situ (CIS)*

El Carcinoma in Situ (CIS) corresponde a una alteración que, a nivel histológico, posee casi la totalidad de las características de una neoplasia maligna, donde todo el grosor del epitelio está reemplazado por células neoplásicas con bajo grado de maduración o inmaduras, sin embargo, aún no muestra signos de invasión al estroma, convirtiéndola en un precursor del Carcinoma Cervicouterino Invasor (60).

A nivel citológico se observa un gran número de células anormales que usualmente son pequeñas, redondas u ovals, de citoplasma basófilo, delicado y que se

encuentran esparcidas en el frotis o formando agregados sincitiales con límites poco definidos. En dichos agregados los núcleos se superponen y los límites celulares se pierden, sin embargo, en las células individuales se pueden observar núcleos redondos u ovals de pequeño tamaño, que poseen un patrón de cromatina que puede ser granular, fino e irregular, o grumoso e hipercromático, rodeado de una membrana nuclear irregular o discontinua con aspecto cerebriforme. Cabe destacar que, al ser el citoplasma inmaduro y delicado, tiende a perderse o degenerarse, dando como resultado la presencia de núcleos desnudos solitarios o en agregados (58, 60).

Es de notar que el CIS guarda muchas similitudes a nivel citopatológico con la NIC III, haciendo difícil el poder diferenciarlos, es por tanto que, de acuerdo con la clasificación del Sistema Bethesda, el CIS se engloba dentro de las LIEAG/HSIL para su diagnóstico (27, 60).

2.1.2.5.5. Carcinoma Cervicouterino Invasor

Corresponde a una lesión donde las células malignas de origen epitelial provenientes de una Lesión Intraepitelial de Alto Grado invaden el estroma. A nivel clínico el síntoma más habitual es la descarga vaginal y/o sangrado, usualmente posterior al coito, al que puede sumarse otros síntomas generales como pérdida de peso y dolor en pelvis o abdomen. Al examen visual puede existir una masa exofítica visible o puede presentarse de forma endofítica, o incluso al interior del canal endocervical permaneciendo invisible y haciendo necesaria la evaluación de la zona sospechosa mediante colposcopia (56).

A nivel histológico, la masa de células neoplásica sobrepasa por más de 3 [mm] la membrana basal y se extiende de forma lateral más de 7 [mm]. Posee dos variantes más importantes. En primer lugar, el carcinoma cervicouterino invasor no queratinizante es el más común y se caracteriza por la queratinización individual de células que se organizan en nidos de bordes indistinguibles. En segundo lugar, se encuentra el carcinoma cervicouterino

invasor queratinizante, caracterizado por presentar perlas córneas o nidos de células neoplásicas con bordes distinguibles y pleomórficas (37).

A nivel citológico, los carcinomas cervicouterinos invasores, independiente de su grado de maduración, presentan características comunes, tales como la presencia en los extendidos celulares de un fondo “sucio” compuesto por fragmentos celulares, sangre y componentes de la membrana celular, elementos que en su conjunto son conocidos como diátesis tumoral (27).

En el caso de los carcinomas cervicouterinos no queratinizantes, las células pueden presentarse en agregados sincitiales o solitarias. Son en general más pequeñas que las observadas en las LIEAG/HSIL, cianófilas, con bordes celulares menos definidos, núcleos con cromatina hipercromática, grumosa, distribuida de forma irregular, donde se puede observar la presencia de nucleolos prominentes (58, 60).

Respecto a los carcinomas queratinizantes, las células se presentan con mayor frecuencia de forma solitaria, aunque también pueden formar agregados sincitiales. Los tamaños y formas celulares son variados, con presencia de células fusadas (células en fibra) y células elongadas (células renacuajo) cuyos citoplasmas son densos y orangeofílicos. En el citoplasma también se pueden observar elementos como anillos concéntricos o perlas córneas y cúmulos eosinófilos de queratina. Los núcleos celulares suelen ser pleomórficos, muchas veces densos e hipercromáticos, con membranas irregulares y patrón de cromatina indistinguible, grumosa e irregular. Los nucléolos son comunes en células que forman agregados sincitiales (27, 58, 60).

2.1.2.6. Examen de Papanicolaou

El examen de Papanicolaou, conocido también como citología exfoliativa cervicouterina, corresponde al estudio de células cervicales normales o alteradas, exfoliadas de forma natural o mecánica, cuyo objetivo principal es detectar las lesiones precursoras del cáncer cervicouterino. Fue desarrollado por el médico griego George Papanicolaou a partir

de sus estudios sobre citología cervicovaginal y descrito por primera vez en el año 1928. El examen ha sido aplicado en la clínica desde 1941 y es el método primario de tamizaje de las lesiones intraepiteliales cervicales, dado que los cambios morfológicos tempranos en el tejido cervical pueden ser identificados mediante el estudio de los frotis celulares (61-63).

En la actualidad, existen dos métodos de citología que pueden aplicarse al tamizaje de las lesiones cervicales. El primero de ellos es la citología convencional, que consiste en la obtención de células del epitelio endocervical y exocervical, a través del ligero raspado del epitelio, mediante el uso de espátulas de madera y/o cytobrush. El objetivo principal es obtener células de ambos epitelios, así como también de la zona de transformación, las cuales son extendidas sobre un portaobjetos y fijadas para detener el proceso de autólisis (56). Posteriormente, los frotis son lavados y teñidos utilizando el método de Papanicolaou para su observación y análisis al microscopio óptico, donde se estudiarán las características de cada uno de los componentes celulares presentes en la muestra (26, 62).

El segundo método citológico consiste en la Citología de Base Líquida (LBC), donde las células recolectadas desde la superficie cervical son depositadas en un líquido preservante para su posterior centrifugación y resuspensión en un fijador. La suspensión celular obtenida es goteada sobre un portaobjetos, secada al aire y teñida con el método de Papanicolaou para su observación. Este tipo de citología presenta diversas ventajas, tales como la preparación de más de un frotis a partir de una misma suspensión celular, la aplicación de análisis moleculares y la disminución de artefactos como la disecación o los cúmulos celulares (56).

Aunque se ha intentado utilizar diferentes tinciones en citología exfoliativa cervical, la tinción de Papanicolaou sigue siendo la más utilizada, tanto para citología convencional como para citología de base líquida, dado que permite la identificación de los diferentes tipos celulares que componen el epitelio endo y exocervical, en base a su grado de maduración y la afinidad por determinados colorantes. El método de coloración consiste en la aplicación de Hematoxilina de Harris para la identificación de cromatina, Orange G para la identificación de queratina y una solución polícroma llamada EA-50, compuesta por los colorantes Eosina, Verde Luz y Pardo Bismarck para la identificación de proteínas citoplasmáticas y mucina (26, 64).

Durante décadas la citología exfoliativa de cérvix ha ayudado a disminuir la incidencia de cáncer cervicouterino y su consecuente mortalidad, constituyendo así el método más exitoso de screening, sobre todo en aquellos países en vías de desarrollo (60).

Respecto a lo anterior, desde el año 1994, Chile cuenta con un programa nacional organizado de detección precoz de cáncer cervicouterino, el cual está focalizado en la pesquisa de lesiones precursoras de esta neoplasia mediante citología exfoliativa cada 3 años, en pacientes de entre 25-64 años y, desde el año 2005, este programa pasó a formar parte de las Garantías Específicas en Salud, con el objetivo de ampliar su cobertura (65).

Desde la implementación del programa en la década de 1990 hasta 2015, la tasa de mortalidad por este cáncer cervicouterino en Chile disminuyó desde 14.3 muertes a 6.8 muertes por cada 100.000 habitantes. Sin embargo, el programa no ha logrado alcanzar el objetivo inicial de cobertura de un 80% de la población, ni tampoco una alta sensibilidad en la detección de pacientes de riesgo mediante el examen de Papanicolaou, cuya sensibilidad se ha estimado en menos de un 30%. Sumado a lo anterior, el sistema público de salud en Chile aún no cuenta con la posibilidad de realizar la detección y genotipificación de VPH de alto riesgo, una herramienta que posee una alta sensibilidad en la identificación de pacientes que poseen un elevado riesgo de desarrollar LIEAG/HSIL y cáncer cervicouterino, por lo que es relevante la búsqueda de nuevas herramientas, asequibles al actual Sistema de Salud Público, que permitan no sólo la pesquisa de las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino, sino también la identificación eficaz de aquellas pacientes que tienen una mayor probabilidad de desarrollar una lesión precursora o cáncer cervicouterino (66-67).

Una potencial opción es el uso de biomarcadores de inestabilidad genómica, donde destacan los Micronúcleos (16). Éstos son cuerpos intracitoplasmáticos que pueden ser visualizados mediante microscopía óptica en células exfoliadas del epitelio cervical (13) y son reconocidos por ser una herramienta que podría complementar y optimizar el diagnóstico citológico obtenido a través del examen de Papanicolaou (17-18).

2.2.MICRONÚCLEOS

2.2.1. Generalidades de los Micronúcleos

Los Micronúcleos (MN) o pequeños núcleos, también llamados cuerpos de Howell- Jolly, corresponden a estructuras intracitoplasmáticas que almacenan cromatina de forma extranuclear al interior de las células (68).

A nivel morfológico los MN se encuentran separados del núcleo principal (NP) en el citoplasma celular, poseen una forma ovalada o redonda y un tamaño que puede ir desde 1/6 a 1/3 del diámetro del NP. Suelen presentar una coloración similar a la del NP y no son refráctiles (*véase* Figura 1) (69-71).

Los MN se originan en diversas etapas del ciclo celular, ya sea en la etapa previa a la mitosis, durante la mitosis, posterior a la mitosis o en la interfase, sin embargo, la mayoría se forma al final de la mitosis (11, 72) a partir de fragmentos de cromosomas /cromátidas, cromosomas completos que se rezagan durante el anafase o a partir de regiones amplificadas del genoma que son excluidas del núcleo en un proceso denominado florecimiento nuclear (NBUD) (12). Los procesos antes mencionados pueden ser causados por agentes exógenos o endógenos de tipo biológico, químico y físico, donde cada uno puede tener un efecto clastogénico o aneugénico sobre el ADN (9,73).

2.2.1.1. *Agentes clastogénicos*

Corresponden a agentes que inducen anomalías estructurales en los cromosomas a través de roturas de doble cadena (DSB) en el ADN, las cuales llevan a la reorganización de los cromosomas, con su posterior fragmentación durante la división del

material genético (10). Dichos fragmentos quedan libres en el citoplasma de una u otra célula hija, para posteriormente formar su propia envoltura nuclear (EN), la cual, con el paso del tiempo, tiende a colapsar por falta de componentes estructurales (74).

2.2.1.2. *Agentes aneugénicos*

Corresponden a agentes que afectan el proceso de división celular mediante el fallo en la polimerización/despolimerización de los microtúbulos del huso mitótico y la inhibición de enzimas cinasas y proteínas motoras (38). Bajo el efecto de estos agentes, el o los cromosomas afectados no pueden anclarse a los microtúbulos del huso mitótico, quedando rezagados en el proceso de división del material genético, por lo que, posterior a la citocinesis, quedarán en una u otra célula hija generando cambios en el número de cromosomas (aneuploidía), para en última instancia formar su EN y conformar un MN (74-75).

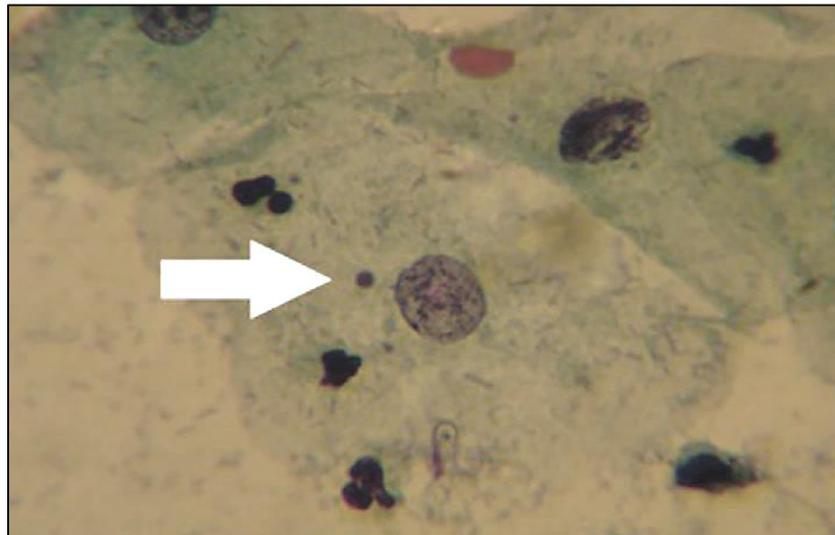


Figura 1. *Fotografía de un MN.* Tinción de Papanicolaou. 40x. Se observa MN en citoplasma de célula intermedia exfoliada del epitelio cervical. Corresponde a una estructura caracterizada por ser pequeña, independiente del NP, con afinidad tintorial similar a éste y ubicado en el mismo plano focal. *Adaptada de Bueno et al. (71)*

2.2.2. Actividad al interior de los Micronúcleos

Se ha encontrado que, al interior de los MN, se pueden desarrollar varias de las actividades metabólicas de un núcleo normal, tales como el proceso de replicación, transcripción y reparación del material genético (76).

2.2.2.1. *Replicación*

Ha sido descrito que, sólo aquellos MN con una lámina nuclear intacta, experimentan el proceso de división celular y que, incluso dicho proceso es asincrónico respecto del NP debido a estrés replicativo, evento donde diversos factores o condiciones interfieren con la replicación del material genético, enlenteciendo y dañando el proceso, lo que lleva a la formación de mutaciones que terminan en rearrreglos y malsegregación de cromosomas (8, 14, 77).

2.2.2.2. *Transcripción*

El proceso de transcripción de material genético ha sido observado sólo en aquellos MN que contienen cromosomas completos y, en ciertos casos, en aquellos que contienen Double Minutes (DM), los que corresponden a fragmentos circulares de material genético amplificado que contiene información necesaria para la síntesis de proteínas asociadas a procesos de carcinogénesis (77), mientras que aquellos MN que contienen fragmentos de cromosomas sin centrómero no se transcriben. Además, se ha encontrado que al igual que en el proceso de replicación, debe existir tanto una lámina nuclear funcional, así

como también complejos del poro nuclear (NPC), para que el proceso de transcripción se lleve a cabo (76).

2.2.2.3. *Reparación de daño del ADN*

Se ha demostrado que los procesos de reparación de material genético al interior de los MN están severamente disminuidos producto de alteraciones en la estructura de la envoltura nuclear (EN), la cual, a diferencia de la envoltura nuclear del NP, posee una cantidad inferior de proteínas estructurales tales como lamininas y NPC, lo que impide el correcto transporte de moléculas de reparación hacia el interior del MN. Adicionalmente, el ADN al interior de los MN se encuentra altamente compactado, impidiendo la acción de moléculas de reparación (79, 80).

2.2.3. Destino de los Micronúcleos al interior de las células

Los MN suelen permanecer al interior de las células por una serie de ciclos celulares completos, sin embargo, cada uno puede tener un destino diferente, entre los que se encuentran la reincorporación al NP, degradación, extrusión y persistencia (76).

2.2.3.1. *Reincorporación*

El proceso de reincorporación al NP del material genético contenido en un micronúcleo se inicia durante la interfase, pero se observa mayormente durante la mitosis. Este evento aportaría una mayor inestabilidad genómica dentro de las células, dado que los fragmentos de cromosomas o cromosomas enteros al interior de los MN están expuestos a roturas y rearrreglos y, al reincorporarse al NP, integran las alteraciones adquiridas (mutaciones) al genoma de la célula. Es así como, en su próxima división, las células afectadas volverán a presentar defectos durante la segregación de cromosomas, resultando en dos células hijas que pueden estar micronucleadas o presentar otro tipo de alteración (76, 81-82).

2.2.3.2. *Degradación*

Se ha reportado que la degradación de los MN al interior de las células es un evento que ocurre en una minoría de los casos, el cual suele desarrollarse cuando la envoltura de un MN colapsa por falta de elementos estructurales y el material genético en su interior entra en contacto con el citosol. Una vez allí, receptores de reconocimiento de ADN foráneo o propio, desencadenan una serie de eventos que culminan con la degradación de dicho material genético, mediante autofagia o enzimas nucleasas, resultando ser un mecanismo protector frente a la inestabilidad genómica (76, 83-84).

2.2.3.3. *Extrusión*

Corresponde a un proceso donde la célula traslada algún elemento al medio extracelular. Se ha observado que este proceso ocurre con aquellos MN que contienen Double Minutes (DM), los cuales son secuencias de ADN circular que contienen genes amplificados y que se observan en condiciones neoplásicas. Los mecanismos mediante el cual ocurre este proceso aún se desconocen (85).

2.2.3.4. *Persistencia*

La persistencia de los MN es lo que ocurre con mayor frecuencia al interior de las células micronucleadas (cMN). Se ha encontrado que los MN tienen la capacidad de permanecer al interior de las células por lo menos hasta la siguiente mitosis, e incluso durante más de una mitosis. Lo anterior, es indicador de que los fragmentos o cromosomas enteros micronucleados han fracasado en su reincorporación al NP, comúnmente debido a fallos en uno o más elementos que participan en su anclaje al huso mitótico, teniendo como resultado la persistencia no sólo de uno o varios MN, sino también de un NP aneuploide, una característica común entre las células malignas (72, 86).

2.2.4. *Ensayos para el análisis de micronúcleos*

Desde hace décadas, tres ensayos principales para el estudio de los MN han sido desarrollados y aplicados en la investigación de inestabilidad genómica y patologías (87).

El primero de ellos corresponde al ensayo de Micronúcleos con Bloqueo de Citocinesis mediante Citocalisina B. Éste se realiza sobre células en cultivo que, posterior a sobrellevar el proceso de mitosis, son tratadas con un agente inhibidor del anillo contráctil de actina que permite la división de ambas células, en este caso Citocalisina B. Con lo anterior, se originan células binucleadas en las que se pueden realizar con mayor facilidad estudios de daño citogenético, biomonitoreo y evaluación de genotoxicidad in vivo e in vitro, entre otros (88).

En segundo lugar, se encuentra el ensayo de Micronúcleos en Eritrocitos de Mamíferos. Tal como su nombre indica, se lleva a cabo en eritrocitos inmaduros de sangre periférica de mamíferos, dentro de los cuales se encuentran los roedores y el humano, en los que se observa una retención de MN originados en células precursoras de eritrocitos en la médula ósea. Dicha retención se prolonga incluso después de perder el NP. Cabe destacar que, en condiciones normales, el bazo se encarga de eliminar los eritrocitos micronucleados, por tanto, este ensayo sólo se puede llevar a cabo en individuos que carecen de bazo, en los que se utilizará para la evaluación de la genotoxicidad de diversas sustancias in vivo y para el biomonitoreo de poblaciones (89).

En último lugar, se encuentra el ensayo de Micronúcleos en Células Exfoliadas de la Mucosa Oral. Éste consiste en la extracción de células de la cavidad oral mediante citología exfoliativa para su posterior procesamiento, tinción y análisis, lo cual lo convierte en una prueba poco invasiva que ha sido utilizada en el biomonitoreo de grandes poblaciones, evaluación de genotoxicidad y citotoxicidad, así como para realizar evaluación de riesgo de desarrollo de neoplasias malignas. Además, esta prueba ha sido adaptada y llevada a cabo sobre otros tejidos como urotelio, cavidad nasal y epitelio cervical (87-88).

2.3.MICRONÚCLEOS EN LESIONES PRECURSORAS DE CÁNCER CERVICOUTERINO

2.3.1. Micronúcleos como biomarcadores

Los biomarcadores corresponden a cualquier sustancia, estructura o proceso, que puede ser considerado como una característica medible a nivel molecular, histológico, radiográfico o fisiológico y que puede ser evaluada en tejidos o fluidos de un individuo o una población. Suele proveer información sobre el estado fisiológico o patológico, así como también puede ser utilizado en el diagnóstico de una condición, como herramienta de monitoreo, indicadora de respuestas a intervenciones terapéuticas y como herramienta en la predicción y pronóstico de una enfermedad (90-92).

Un biomarcador debe ser seguro, específico para la variable que se quiere estudiar, aplicable en todos los individuos de una población y aceptado éticamente. Por lo anterior, los MN han sido ampliamente usados como biomarcadores de procesos fisiológicos o frente a patologías, ya que se pueden utilizar previo a un diagnóstico (como herramienta de screening y evaluación de riesgo), durante procesos diagnósticos (determinan estadio, graduación, y selección de terapias) y posterior al diagnóstico (monitoreo), debido a que pueden observarse en células de tejidos obtenidas en la mayoría de los casos de forma mínimamente invasiva a través de citología exfoliativa, una técnica rápida, simple y de bajo costo, con la cual se puede evaluar la incidencia y comportamiento de enfermedades presentes en cualquier tejido que sobrelleve el proceso de división celular (91,93).

2.3.2. Micronúcleos y Cáncer

Una de las principales características de las células cancerígenas es la presencia de inestabilidad genómica, un estado donde las células adquieren con mayor frecuencia alteraciones en su genoma (8). Estas alteraciones se deben a la acumulación de daño en el ADN, a la desregulación de la señalización celular y a sistemas ineficaces de reparación celular que han experimentado adaptación frente al daño, permitiendo que las células inicien el proceso de mitosis con su material genético dañado, contribuyendo a la inestabilidad cromosómica y provocando la formación de aberraciones, entre las cuales se encuentran los MN (11).

Los MN pueden encontrarse en casi todos los tipos de células del organismo que hayan sufrido daño en el genoma, producto de la exposición a un estímulo nocivo (14). Es debido a ello que los MN se consideran como una característica de las células cancerígenas, ya que se ha observado que éstas últimas presentan diversos grados de inestabilidad genómica, la cual se traduce en la formación espontánea de MN (94-95).

Por lo anterior, es que los MN pueden ser observados en procesos malignos tales como cáncer de colon, recto, riñón, mama, vejiga, hígado, retinoblastomas, leucemias, cérvix y sus lesiones precursoras (15).

2.3.3. Micronúcleos en Lesiones Intraepiteliales Escamosas y en ASC

Existe evidencia de una fuerte relación entre la infección por VPH y la presencia de células cervicales micronucleadas, observando un aumento en la frecuencia de mujeres con signos citopatológicos de infección por VPH. Dicha frecuencia aumenta en paralelo a la severidad de los cambios fenotípicos de las células, en la transición desde LIEBG/LSIL a LIEAG/HSIL, incluyendo a los diagnósticos atípicos ASCUS y ASCH (16-18).

Los MN se pueden identificar en frotis cervicales realizados tanto con citología convencional, como con citología de base líquida, teñidos con la coloración de Papanicolaou

y mediante microscopía óptica, utilizando idealmente el objetivo de inmersión. Para su identificación, se deben seguir los criterios establecidos por Tolbert et al. (13), los que indican que un MN es una estructura redonda u oval, con borde sugestivo de una envoltura o membrana, cuyo tamaño es menor o igual a $1/3$ del diámetro del NP del cual se encuentra separado, pero ubicado en el mismo plano focal. Además, tanto la coloración como la textura del MN deben ser similares a las del NP (13).

Es importante señalar que, para realizar el conteo de MN, deben ser evaluadas un mínimo de 1000 células, idealmente por dos o tres observadores de forma separada e independiente. Una vez realizado el conteo, el resultado se expresa en frecuencia de cMN por cada 1000 células evaluadas o en porcentaje (13, 96).

Debido a lo antes mencionado, la detección de cMN se considera una técnica sencilla de realizar, poco invasiva y de bajo costo, por lo que se sugiere su uso como una herramienta auxiliar en el proceso diagnóstico de lesiones precursoras del cáncer cervicouterino mediante el examen de Papanicolaou, donde el conteo puede realizarse sin problemas, así como también puede utilizarse como indicador de riesgo en programas de tamizaje, monitoreo y prevención del cáncer en grandes poblaciones (12, 18, 97).

3. PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

3.1.PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la información disponible en la literatura científica, sobre el eventual aporte de los MN como biomarcador de progresión de daño genético en frotis celulares diagnosticados con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino mediante el examen de Papanicolaou?

3.2.RELEVANCIA

En estudios sobre la variación en la frecuencia de cMN observadas en frotis cervicouterinos, se ha encontrado que existe una asociación positiva entre el grado de lesión precursora de cáncer cervicouterino y el aumento en la frecuencia de cMN, sugiriéndose que el conteo de cMN debiese ser incorporado al momento de realizar la evaluación y diagnóstico de la citología ginecológica, pues representa la evidencia de inestabilidad cromosómica asociada al VPH, teniendo utilidad como biomarcador.

En el caso de las Lesiones Intraepiteliales Cervicales se ha encontrado que la frecuencia de cMN aumenta en paralelo a la severidad de las lesiones, es decir, aquellos frotis diagnosticados como LIEBG/LSIL presentarán mayor número de cMN que los frotis normales y, a su vez, aquellos frotis diagnosticados como LIEAG/HSIL presentarán una frecuencia de cMN mayor a aquellos diagnosticados como LIEBG. Por lo antes dicho, es que se sugiere su uso como una herramienta auxiliar en el proceso diagnóstico del examen PAP.

Por otro lado, los frotis cervicales diagnosticados como ASC o frotis con presencia de células escamosas atípicas (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance), contienen células cuyas características morfológicas no corresponden a las de las células normales, sin embargo, tampoco cuentan con los criterios morfológicos suficientes para categorizar la lesión según las clasificaciones existentes como LIEBG/LSIL o LIEAG/HSIL, o para descartar alguna de las anteriores, suponiendo así una dificultad diagnóstica. En los epitelios cervicales normales, estas células atípicas corresponden al 1.5 – 5% del total y su importancia radica en que, por lo menos un 25-50% de éstas, pueden evolucionar a células displásicas de variables grados.

Para aquellos casos diagnosticados como ASC, donde se sugiere repetir el examen PAP a los seis meses (65), sería importante contar con un criterio adicional de evaluación, como es la frecuencia de cMN, ya que se desconoce si la causa de esta condición se encuentra asociada a procesos inflamatorios y/o infecciosos o a procesos neoplásicos, donde estos últimos estarán caracterizados por manifestaciones morfológicas de inestabilidad genética, justificando la detección de MN como biomarcador.

Dado lo anterior, es importante contar con documentos que recopilen, expliquen y argumenten la información científica existente, con el fin de sustentar el eventual uso de biomarcadores de daño genético en citología cervicouterina, como lo es el conteo de células micronucleadas, especialmente en aquellos casos que representan un desafío diagnóstico, todo esto, orientado a alcanzar un diagnóstico certero con su consiguiente y oportuno tratamiento, mejorando así la calidad de vida de las pacientes.

4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la evidencia científica sobre el eventual aporte de los MN como biomarcador de progresión de daño genético en frotis celulares diagnosticados con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino, mediante el examen de Papanicolaou.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i. Describir las principales características de los MN, biogénesis y su relación con los procesos de inestabilidad genética y carcinogénesis reportadas en la literatura científica.
- ii. Describir las principales características de los diagnósticos ASC y Lesiones Intraepiteliales Cervicales de Bajo y Alto Grado en frotis celulares cervicouterinos reportadas en la literatura científica.
- iii. Describir el nivel de asociación reportado en la literatura científica, entre la frecuencia relativa de MN en células cervicouterinas con el grado de lesiones precursoras del cáncer cervicouterino (ASC, LIE).
- iv. Comparar la frecuencia de cMN entre los principales diagnósticos citológicos considerados en la literatura científica (Normal, ASC y LIE).

5. MATERIALES Y METODOS

5.1.TIPO DE ESTUDIO

El diseño de este estudio corresponde a una Revisión Narrativa, la cual es un tipo de investigación secundaria.

Las revisiones corresponden a una metodología de estudio cuyo objetivo no es aportar información nueva, sino más bien evaluar aquello que ya ha sido publicado y presentado. En este caso, la revisión narrativa constituye una forma tradicional de resumir, presentar y analizar la información disponible en diferentes bases de datos sobre un tema, del cual puede existir escasa información. Se caracteriza porque el tema que presenta es concreto y está dirigido a un público determinado, así como por ser crítica y tener una estructura ordenada y lógica.

De acuerdo con el origen de la información a utilizar, corresponde al tipo de investigación secundaria, donde se reseña e interpreta la información publicada en fuentes primarias (aquellas publicaciones donde la información ha sido recogida por el investigador a través de resultados de experimentos, investigaciones u observaciones).

5.2.PROTOCOLO O ESTRATEGIA DE REVISIÓN

5.2.1. Criterios de inclusión

En esta revisión fueron incluidos aquellos artículos que, relacionados al tema abordado:

- a) Fueron publicados entre los años 2010 y 2020.
- b) Fueron publicados en los idiomas español e inglés.
- c) Estudiaron la frecuencia de células micronucleadas presentes en células del epitelio cervical, extraídas mediante citología exfoliativa de cérvix, convencional o de base líquida.
- d) Estudiaron la frecuencia de células micronucleadas en frotis PAP diagnosticados con lesiones precursoras del cáncer cervicouterino.

5.2.2. Variables de los resultados

5.2.2.1. *Lesiones intraepiteliales escamosas del cérvix*

Las LIE corresponden a una variable cualitativa ordinal y son las lesiones precursoras del carcinoma cervicouterino invasor. Casi todos los carcinomas invasores son precedidos por una etapa donde las células anormales están confinadas al epitelio, sin traspasar la membrana basal, de ahí la denominación Intraepitelial. Éstas se dividen en dos grados:

a) ***LIEBG/LSIL***: Corresponde a un diagnóstico que abarca aquellos frotis con cambios citopatológicos atribuibles a:

- ***NIC I (Displasia leve)***: Caracterizada por la presencia de células intermedias y superficiales que presentan núcleos hipercromáticos o normocromáticos, aumentados de tamaño más de 3 veces respecto al tamaño de las células

normales, con cromatina distribuida de forma irregular. Puede existir binucleación o multinucleación.

-Infección por VPH: Caracterizada por la presencia de coilocitos, un signo patognomónico de infección por VPH, los cuales son células que presentan una cavitación o halo perinuclear, además de algunas de las características atípicas de la NIC I antes mencionadas.

b) **LIEAG/HSIL:** Corresponde a aquellos frotis que presentan cambios citopatológicos atribuibles a un proceso de NIC II (Displasia Moderada) y NIC III (Displasia Severa):

- *NIC II (Displasia moderada):* Está caracterizada por la presencia de células de tipo parabasal y/o metaplásicas, solitarias o en grupo, con forma oval, redonda, fusada, elongada o con formas bizarras. El núcleo de las células es redondo, oval o alargado y se encuentra aumentado de tamaño, con cromatina irregularmente distribuida e hipercromática, sin nucléolo aparente, rodeado de una membrana irregular y con escotaduras. Además, es posible observar la presencia de células cuyo citoplasma suele ser denso y queratinizado.

- *NIC III (Displasia severa):* Está caracterizada por la presencia de células de tipo basal, solitarias o en agregados sincitiales de bordes indistinguibles, ovales y monomorfas. Las células presentan núcleos rodeados por escasa cantidad de citoplasma, aumentados de tamaño, con cromatina irregularmente distribuida, granular, gruesa e hipercromática, cuya membrana nuclear presenta escotaduras pronunciadas.

c) **Presencia de células escamosas atípicas:** Corresponde a una variable cualitativa ordinal y es un diagnóstico que, si bien no es una LIE, sí agrupa a aquellos frotis

cuyas células presentan cambios citológicos sugestivos de una LIE, sin embargo, esos cambios son insuficientes para realizar dicho diagnóstico. Se dividen en dos categorías:

- *ASCUS*: Corresponde al diagnóstico citopatológico bajo el cual se agrupan aquellos frotis que presentan cambios sugestivos de una LIEBG/LSIL, así como también aquellos que presentan cambios atribuibles a procesos como inflamación, atrofia y reparación pero con características atípicas, como aumento del tamaño nuclear de 2.5 a 3 veces respecto al núcleo de una célula intermedia, distribución irregular de la cromatina e hipercromasia, presencia de halos o vacuolas perinucleares similares a los de un coilocito y presencia de células cuyo citoplasma es denso y orangeofílico, asociado a los cambios nucleares antes mencionados.
- *ASCH*: Corresponde al diagnóstico citopatológico bajo el cual se agrupan aquellos frotis que presentan cambios sugestivos de una LIEAG/HSIL, como la presencia de células en grupo o solitarias, cuyo tamaño se asemeja al de las células metaplásicas, pero con núcleos aumentados de tamaño en 1.5 a 2.5 veces y con cromatina irregular e hipercromática.

Cabe destacar que, tanto los casos LIE como los ASC, son diagnosticados mediante citología exfoliativa ginecológica (examen de Papanicolaou), a través de la evaluación mediante microscopía óptica de los frotis celulares teñidos con tinción de Papanicolaou, utilizando diversos criterios como tamaño y aspecto de las células, tamaño y aspecto del núcleo, aspecto de la envoltura nuclear, aspecto y disposición del contenido nuclear y disposición celular en la cual descaman.

Siguiendo los anteriores criterios en Chile, un Tecnólogo Médico con mención en Morfofisiopatología y Citodiagnóstico se encarga de asignar a cada frotis un código diagnóstico entregado por el Ministerio de Salud, el cual es homologable a la nomenclatura otorgada por el Sistema Bethesda:

-LIEBG/LSIL:

-Diagnóstico A: Probable Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (NIC I)

-Diagnóstico A1: Cambios celulares asociados a infección por VPH

-LIEAG/HSIL:

-Diagnóstico B: Probable Lesión Intraepitelial de Alto Grado (NIC II)

- Diagnóstico C: Probable Lesión Intraepitelial de Alto Grado (NIC III)

-ASC:

- Diagnóstico H1: Células escamosas atípicas de significado indeterminado

-Diagnóstico H2: Células escamosas atípicas. No se puede descartar una lesión intraepitelial de alto grado.

5.2.2.2. *Frecuencia relativa de células micronucleadas*

La frecuencia relativa de células micronucleadas corresponde a una variable cuantitativa continua, y se refiere a la cantidad de células que poseen en su citoplasma uno o varios MN por cada 1000 células evaluadas mediante microscopía.

Los MN son cuerpos intracitoplasmáticos, redondos u ovals, cuyo tamaño puede alcanzar 1/16 a 1/3 del diámetro del NP, del cual se encuentran separados, pero en el mismo plano focal. Además, poseen una intensidad de coloración y textura similar a las del NP.

El conteo de células micronucleadas se realiza mediante microscopía óptica, idealmente con objetivo de inmersión (100 x) y por dos o tres observadores de forma separada

e independiente. El resultado final del conteo de cMN debe ser discutido y decidido consensuadamente e informado como frecuencia de cMN = n° de cMN / 1000 células.

5.3. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

5.3.1. Bases de datos

La búsqueda de los artículos se realizó en las bases de datos de Medline (a través del buscador PubMed), Scielo, ScienceDirect, Scopus, Springer Link y Web of Science.

5.3.2. Palabras clave

Los términos empleados para realizar la búsqueda correspondieron a:

- a) Micronucleus / Micronuclei / Biogenesis (*Title/ Abstract*)
- b) Micronucleus/ Micronuclei/ Assay/ Cervical/ Lesions (*Title/ Abstract*)
- c) Micronucleus/Micronuclei/ Genomic Instability/ Cervical/ Lesions (*Title/ Abstract*)
- d) Micronucleus/ Micronuclei /Biomarker/Cervical/ Lesions (*Title/Abstract*)
- e) Micronucleus/ Micronuclei/ HPV/Cervical/Lesions (*Title/Abstract*)
- f) Micronucleus/Micronuclei/ Cervical/ Pap/ Smear (*Title/abstract*)
- g) Micronucleus/ Micronuclei/ Cervical/Papanicolaou (*Title/abstract*)
- h) Micronucleus/ Micronuclei/ Cervical/ Atypical (*Title/abstract*)
- i) Micronucleus/ Micronuclei/ Cervical/ ASC (*Title/abstract*)
- j) Micronucleus/ Micronuclei/ Cervical/ ASC-US (*Title/abstract*)
- k) Micronucleus/Micronuclei/ Cervical/ ASC-H (*Title/abstract*)
- l) Micronucleus/ Micronuclei/ Cervical/ Intraepithelial Lesion (*Title/abstract*)

- m) Micronucleus/ Micronuclei/ Cervix/ SIL (*Title/abstract*)
- n) Micronucleus/ Micronuclei/ Cervix / LSIL (*Title/abstract*)
- o) Micronucleus/ Micronuclei/Cervix/ HSIL (*Title/abstract*)
- p) Micronucleus / Micronuclei/ Cervical cancer (*Title/abstract*)

5.3.3. Período de búsqueda

La búsqueda de los artículos se focalizó en aquellos que fueron publicados entre los años 2010 y 2020.

5.3.4. Restricciones idiomáticas

La búsqueda de los artículos estuvo restringida a los idiomas español e inglés.

5.4. EXTRACCIÓN DE DATOS

5.4.1. Selección de los estudios

La selección de los estudios se realizó a partir de una revisión de la bibliografía científica, donde los estudios relevantes y sus principales datos (título, resumen y fecha de publicación) fueron registrados en tablas Excel para su posterior selección, de acuerdo con:

-Título/ Resumen: Los resultados de la búsqueda en las diferentes bases datos, incluyeron en los apartados de título y/o resumen (Title/Abstract) los términos mencionados en la sección 5.3.2.

-Repetición: Aquellos estudios repetidos en las búsquedas sucesivas, utilizando los términos mencionados en la sección 5.3.2. y en las diferentes bases de datos, fueron excluidos.

-Criterios de inclusión: Posterior a la revisión preliminar en título y/o resumen y a la exclusión de aquellos que resultaron repetidos, se seleccionaron los estudios que cumplieron con los criterios de inclusión indicados en la sección 5.2.1.

5.4.2. Extracción de datos

Para la extracción de los datos mencionados en la siguiente lista, se realizó la lectura de los estudios previamente seleccionados con el objetivo de identificar la información de interés, la cual se registró en tablas Excel:

- Título
- Fecha y lugar de publicación
- Tipo de estudio
- Objetivo general
- Tamaño de muestra
- Rango etario
- Grupos diagnósticos
- Criterios de identificación de micronúcleos
- Cantidad de células contadas
- Número de observadores
- Resultados
- Asociación de los resultados con factores de riesgo de cáncer cervicouterino
- Conclusiones

5.5.PLAN DE ANÁLISIS

5.5.1. Análisis descriptivo

Se realizó un análisis descriptivo de los estudios seleccionados, en base a los datos de interés nombrados en la sección 5.4.2. También, se describió el contenido de los estudios de acuerdo con las siguientes categorías:

- a) Características de los Micronúcleos.
- b) Antecedentes de las pacientes que pueden ser asociados a las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino.
- c) Frecuencia de células micronucleadas y factores de riesgo de cáncer cervicouterino.
- d) Frecuencia de células micronucleadas en frotis normales.
- e) Frecuencia de células micronucleadas en el diagnóstico Células Escamosas Atípicas (ASC).
- f) Frecuencia de células micronucleadas en el diagnóstico Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (LIEBG/LSIL).
- g) Frecuencia de células micronucleadas en el diagnóstico Lesión Intraepitelial de Alto Grado (LIEAG/HSIL).

5.5.2. Análisis estadístico

Utilizando el programa Microsoft Excel® 2016 y a partir de los promedios de frecuencia y desviación estándar de cMN reportados por los diferentes estudios en los diagnósticos citológicos Normal, ASC, LIEBG/LSIL, LIEAG/HSIL (véase Tabla 5), se obtuvieron los valores de las medias y error estándar para cada uno de ellos (véase Tabla 6). Dichos datos fueron utilizados para elaborar un gráfico de barras, con el objetivo de presentar visualmente el nivel de asociación existente entre los promedios de frecuencias de cMN y los diferentes diagnósticos citológicos estipulados (véase Figura 2).

6. RESULTADOS

6.1.DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS INCLUIDOS EN LA REVISIÓN

Como resultado inicial de la búsqueda de estudios en las bases de datos antes mencionadas, se encontraron un total de 517 artículos asociados a las palabras clave, de los cuales 62 fueron escogidos por cumplir con los requisitos al realizar la evaluación preliminar basada en título y resumen (*véase Anexo A*). Posterior a la eliminación de los duplicados y a la aplicación de los criterios de inclusión, se seleccionaron 12 artículos (71, 98-108), cuyas principales características se pueden observar en la Tabla 1:

Tabla 1. Características principales de los estudios incluidos en la revisión

Autor	Título	Año	País	Tipo de Estudio	Muestra	Grupos Diagnóstico
Ambroise et al. (98)	Valor predictivo del conteo de Micronúcleos en las neoplasias intraepiteliales cervicales y carcinoma	2013	India	Retrospectivo Transversal	132 Frotis PAP	Normal- Atróficos- Inflamatorios -Infecciosos- ASCUS- LSIL-HSIL- CI
Bhat et al. (99)	Apoptosis y Micronúcleos en frotis cervicales PAP: Un ensayo prometedor para aumentar el valor diagnóstico de la prueba	2016	India	Retrospectivo Transversal	230 Frotis PAP	Normal- Inflamatorios - ASCUS- LSIL-HSIL- CI

Bueno et al. (71)	Asociación entre el grado de lesión cervical y la frecuencia de Micronúcleos en la prueba de Papanicolaou	2014	Brasil	Retrospectivo Transversal	397 Frotis PAP	Normal-ASCUS-NIC I- NIC II- NIC III- CI
Gayathri et al. (100)	Significado de los Micronúcleos en las Lesiones Intraepiteliales Cervicales y Carcinoma	2012	India	Retrospectivo Transversal	221 Frotis PAP	Normal-Inflamatorios - ASCUS-ASCH-LSIL-HSIL- CI
Kumbhar et al. (101)	Estudio de Micronúcleos en frotis Papanicolaou cervicales	2020	India	Retrospectivo Transversal	406 Frotis PAP	Normal-Inflamatorios - ASCUS-ASCH-LSIL-HSIL- CI
Mahanta et al. (102)	¿Se correlaciona significativamente el conteo de Micronúcleos con la displasia en frotis PAP cervicales?	2020	India	Retrospectivo Transversal	106 Frotis PAP	Normal-Inflamatorios - ASCUS-LSIL-HSIL- CI
Navya et al. (103)	La prueba de Micronúcleos como un marcador pronóstico en lesiones cervicales en frotis PAP	2016	India	Retrospectivo Transversal	106 Frotis PAP	Normal-Inflamatorios - ASCUS-ASCH-LSIL-HSIL- CI
Rathod et al. (104)	Significado de los micronúcleos en el espectro completo de lesiones cervicales uterinas	2016	India	Retrospectivo Transversal	132 Frotis PAP	Normal-Inflamatorios - ASCUS-ASCH-LSIL-HSIL- CI
Samanta et al. (105)	Micronúcleos en lesiones intraepiteliales cervicales y carcinoma	2011	India	Retrospectivo Transversal	224 Frotis PAP	Normal-Inflamatorios - ASCUS-LSIL-HSIL- CI

Samanta et al. (106)	Micronúcleos en células escamosas atípicas de significado incierto.	2010	India	Retrospectivo Transversal	53 Frotis PAP	ASCUS con resultado histopatológico de reactividad. ASCUS con resultado histológico de SIL
Shi et al. (107)	Asociación entre la frecuencia de Micronúcleos y neoplasia cervical intraepitelial en la prueba citológica Thinprep y su significado	2015	China	Retrospectivo Transversal	250 Frotis PAP	Normal-Atróficos-LSIL-HSIL-CI
Srivastava (108)	Evaluación del conteo de Micronúcleos como marcador tumoral en la carcinogénesis cervical: un estudio de seguimiento	2020	India	Longitudinal	100 Frotis PAP	LSIL con alta frecuencia de MN LSIL con baja frecuencia de MN

ASCUS: Células Escamosas de Significado Indeterminado; ASCH: Células Escamosas Atípicas- No se puede descartar lesión de Alto grado; NIC: Neoplasia Intraepitelial Cervical; SIL: Lesión Intraepitelial Escamosa. LSIL: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado; HSIL: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado; CI: Carcinoma Invasor

Sobre algunas características de los estudios incluidos en la revisión, 11 de ellos corresponden a estudios transversales (71, 98-107) y sólo 1 corresponde a un estudio longitudinal (108). Respecto al tamaño de la muestra, 1 estudio utilizó un tamaño menor a 100 frotis cervicales (8.33% del total de los estudios) (106), 5 estudios utilizaron una muestra de entre 100-199 frotis cervicales (41.67%) (98, 102-104, 108), 4 estudios utilizaron una muestra de entre 200- 299 frotis cervicales (33.33%) (99- 100, 105,107), 1 estudio utilizó un tamaño de entre 300-399 frotis (8.33%) (71) y 1 estudio utilizó un tamaño mayor a 400 frotis cervicales (8.33%) (101).

Por otro lado, sobre la distribución geográfica de los artículos y año de publicación (véase Tabla 2), de un total de 12 estudios incluidos en la revisión, 10 fueron realizados en India (83.33%) (98-106, 107), 1 en Brasil (8.33%) (71) y 1 en China (8.33%) (107); 6 de los artículos (50%) fueron publicados entre los años 2010 y 2015 (71, 98, 100, 105-107), mientras que los 6 restantes (50%) se publicaron entre los años 2016 y 2020 (99, 101-104, 108).

Tabla 2. Distribución geográfica de los estudios incluidos en la revisión, según año de publicación.

País\ Periodo	2010 - 2015	2016 – 2020	Total
India	4 (33.33 %)	6 (50 %)	10 (83.33 %)
Brasil	1 (8.33 %)	0	1 (8.33 %)
China	1 (8.33 %)	0	1 (8.33 %)
Total	6 (50 %)	6 (50 %)	12 (100 %)

Respecto a los grupos diagnósticos incluidos en los estudios (véase Tabla 3), cabe resaltar que, de los 12 estudios seleccionados, sólo 1 abordó la frecuencia de cMN en un espectro más amplio de diagnósticos citológicos cervicales (98); 10 de los estudios (83.33%) incluyeron el diagnóstico “*Normal*” como grupo control (71, 98- 105, 107); 8 estudios (66,67%) estimaron la frecuencia de cMN en frotis diagnosticados como inflamatorios (98, 99, 100-105); 2 estudios (16,67%) estimaron la frecuencia de cMN en frotis atróficos (98, 107). Sólo 1 estudio (8.33%) abordó la frecuencia de cMN en el diagnóstico de infección por microorganismos (98). Asimismo, en el análisis de lesiones precursoras de cáncer cervicouterino, 10 de los 12 estudios seleccionados (83.33%) estimaron la frecuencia de cMN en el grupo diagnóstico ASCUS (71, 98-106), mientras que en el caso del grupo diagnóstico ASCH, sólo 4 de los 12 estudios (33.33%) lo incluyeron (100-101, 103-102). De los 12 estudios, 11 (91.67%) incluyeron el grupo diagnóstico LIEBG/LSIL (71, 98-105, 107-108),

mientras que 10 (83.33%) incluyeron el grupo diagnóstico LIEAG/HSIL y CI (71, 98-105, 107).

Tabla 3. Grupos diagnósticos evaluados en los estudios incluidos en la revisión

Diagnóstico	NML (%)	INF (%)	ATR (%)	INFC (%)	ASCUS (%)	ASCH (%)	LSIL (%)	HSIL (%)	CI (%)
Estudio									
<i>Ambroise et al. (98)</i>	X	X	X	X	X		X	X	X
<i>Bhat et al. (99)</i>	X	X			X		X	X	X
<i>Bueno et al. (71)</i>	X				X		X	X	X
<i>Gayathri et al. (100)</i>	X	X			X	X	X	X	X
<i>Kumbhar et al. (101)</i>	X	X			X	X	X	X	X
<i>Mahanta et al. (102)</i>	X	X			X		X	X	X
<i>Navya et al. (103)</i>	X	X			X	X	X	X	X
<i>Rathod et al. (104)</i>	X	X			X	X	X	X	X
<i>Samanta et al. (105)</i>	X	X			X		X	X	X
<i>Samanta et al. (106)</i>					X				
<i>Shi et al (107)</i>	X		X				X	X	X
<i>Srivastava et al. (108)</i>							X		
TOTAL	10 (83.33)	8 (66.67)	2 (16.67)	1 (8.33)	10 (83.33)	4 (33.33)	11 (91.67)	10 (83.33)	10 (83.33)

NML: Normal; INF: Inflamatorio; ATR: Atrófico; INFC: Infección; ASCUS: Células Escamosas de Significado Indeterminado; ASCH: Células Escamosas Atípicas- No se puede descartar lesión de Alto grado; LSIL: Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado; HSIL: Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado; CI: Carcinoma Invasor.

Sobre los criterios de identificación de MN (véase Tabla 4), la mayoría de los estudios consideran las mismas características como: forma, intensidad de coloración, plano focal, localización. Sin embargo, estos difieren en cuanto al tamaño del MN: 6 de los estudios (50%) indican que el tamaño de un MN va desde 1/16 a 1/3 del diámetro del NP (99, 100,

102, 105-106, 108), 4 estudios (33.33%) indican que debe ser menor a 1/3 del diámetro del NP (98, 103-104, 107) y 2 estudios (16.67 %) indican que debe ser menor al 20% del diámetro del NP (71, 101).

Respecto a la cantidad de células contadas para el análisis de MN, en 1 estudio (8.33%) los investigadores contaron menos de 1000 células (103) y en los restantes (91.67%) los investigadores contaron más de 1000 células (71, 98-102, 104-108). Dicho conteo fue realizado en 1 estudio (8.33%) por una cantidad no especificada de observadores (71), en 7 estudios (58.33%) fue realizado por dos observadores (99, 101, 103-104, 106-108) y en 4 estudios (33.33%) fue realizado por tres observadores (98, 100, 102, 105). En cuanto a la citología empleada, en 11 estudios (91.67%) se utilizó citología convencional (71, 98-106, 108) y en 1 estudio (8.33%) LBC (107) (véase Tabla 4).

Tabla 4. Criterios de identificación de MN, cantidad de células evaluadas, número de observadores y tipo de citología empleada según los estudios seleccionados.

Estudio	Criterios de Identificación de Micronúcleos	Cantidad de células evaluadas por observador	Número de observadores	Tipo de citología
<i>Ambroise et al. (98)</i>	Diámetro de MN: Tamaño menor a 1/3 del NP. Intensidad de coloración: Similar a la del NP. Otros: Incluido claramente en el citoplasma, en el mismo plano óptico que el NP.	1000 células	3 observadores	Citología convencional
<i>Bhat et al. (99)</i>	Diámetro de MN: 1/16 a 1/3 del NP. Forma: Redonda, con borde sugestivo de una membrana. Intensidad de coloración: Similar a la del NP. Otros: Localizado en citoplasma, en el mismo plano óptico que el NP.	1000 células	2 observadores	Citología convencional
<i>Bueno et al. (71)</i>	Diámetro de MN: Menor al 20% del NP. Forma: Redondeada, con borde evidente, sugestivo de una membrana. Intensidad de coloración: Similar o más débil que la del NP. Otros: Localizado en citoplasma,	1000 células	No especificado	Citología convencional

	en el mismo plano óptico que el NP.			
<i>Gayathri et al. (100)</i>	Diámetro de MN: 1/16 a 1/3 del NP. Forma: Redonda u oval. Intensidad de coloración: Similar a la del NP o más débil. Otros: Localizado en citoplasma, en el mismo plano óptico que el NP e independiente de éste.	1000 células	3 observadores	Citología convencional
<i>Kumbhar et al. (101)</i>	Diámetro de MN: Menor al 20% del NP. Forma: Redondeada, con borde evidente, sugestivo de una membrana. Intensidad de coloración: Similar o más débil que la del NP. Otros: Localizado en citoplasma, en el mismo plano óptico que el NP.	1000 células	2 observadores	Citología convencional
<i>Mahanta et al. (102)</i>	Diámetro de MN: 1/16 a 1/3 del NP. Forma: Redonda u oval Intensidad de coloración: Similar a la del NP o más débil. Otros: Localizado en citoplasma, en el mismo plano óptico que el NP e independiente de éste.	2000-3000 células	3 observadores	Citología convencional
<i>Navya et al. (103)</i>	Diámetro de MN: Menor a 1/3 del diámetro del NP. Intensidad de coloración: Similar al NP. Otros: Incluido claramente en el citoplasma, en el mismo plano focal del NP y separado de éste.	500 células	2 observadores	Citología convencional
<i>Rathod et al. (104)</i>	Diámetro de MN: Menor 1/3 del diámetro del NP. Intensidad de coloración: Similar al NP. Otros: Incluido claramente en el citoplasma, en el mismo plano focal del NP y separado de éste.	1000 células	2 observadores	Citología convencional
<i>Samanta et al. (105)</i>	Diámetro del MN: 1/16 a 1/3 del diámetro del NP. Forma: Redondos u ovales. Intensidad de coloración: Similar a la del NP. Otros: No refráctiles, incluidos claramente en el citoplasma, en el mismo plano focal del NP y separado de éste.	1000 células	3 observadores	Citología convencional

<i>Samanta et al. (106)</i>	Diámetro del MN: 1/16 a 1/3 del diámetro del NP. Forma: Redondos u ovals. Intensidad de coloración: Similar a la del NP. Otros: No refráctiles, incluidos claramente en el citoplasma, en el mismo plano focal del NP y separado de éste.	1000 células	2 observadores	Citología convencional
<i>Shi et al. (107)</i>	Diámetro del MN: Menor a 1/3 del diámetro del NP. Intensidad de coloración: Similar a la del NP. Otros: Incluido claramente en el citoplasma, en el mismo plano focal del NP y separado de éste.	1000 células	2 observadores	Citología de base líquida (LBC)
<i>Srivastava et al. (108)</i>	Diámetro de MN :1/16 a 1/3 del NP Intensidad de coloración: Similar o más débil que la del NP con tinción PAP. Forma: Redondos u ovals. Otros: Cercanos al NP, sin entrar en contacto con éste.	Todas las disponibles en el frotis	2 observadores	Citología convencional

6.2.DESCRIPCIÓN, POR CATEGORÍAS, DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS UTILIZADOS Y ASOCIACIONES REALIZADAS EN LOS ESTUDIOS INCLUIDOS EN LA REVISIÓN

Los estudios seleccionados abordan diversos parámetros asociados con los MN, así como también la asociación entre la frecuencia de éstos últimos con los diferentes diagnósticos citológicos evaluados mediante el examen de Papanicolaou. Debido a ello, la descripción de lo antes mencionado ha sido dividida en seis categorías principales, tal como se expone a continuación:

6.2.1. Primera categoría: Características de los micronúcleos

En las investigaciones se identificaron diferentes parámetros empleados por sus respectivos autores para caracterizar los MN, los que se dividen en: origen, forma, localización, tamaño y color.

a) Origen

La totalidad de los estudios coincide en definir a los MN como cuerpos intracitoplasmáticos originados a partir de cromosomas enteros o fragmentos de cromosomas que fallan en ser incorporados al NP de las células durante el proceso de división celular, siendo reflejo de aberraciones cromosomales (71, 98-108).

Bhat et al. (99), Gayathri et al. (100), Kumbhar et al. (101), Mahanta et al. (102), Navya et al. (103), Shi et al. (107) y Srivastava et al. (108) agregan que los MN pueden ser vistos en una gran cantidad de tejidos expuestos a diversos agentes carcinógenos, mucho antes que estos exhiban síntomas de una transformación maligna.

b) Forma y Localización

La totalidad de los estudios coincide en establecer la forma de los MN como cuerpos redondos u ovals, con un contorno claro que aparenta ser una envoltura nuclear. Su localización es intracitoplasmática, separados del NP y en el mismo plano óptico (71, 98-108).

c) Tamaño

Los estudios incluidos en la revisión indican que el tamaño de los MN es variable. Ambroise et al. (98), Bhat et al. (99), Gayathri et al. (100), Mahanta et al. (102), Navya et al. (103), Rathod et al. (104), Samanta et al. (105), Samanta et al. (106), Shi et al. (107) y Srivastava et al. (108) concuerdan en que el tamaño de los MN se encuentra por debajo de 1/3 del diámetro del NP, mientras que Bueno et al. (71) y Kumbhar et al. (101) indican que el tamaño debe ser menor al 20% del tamaño del NP.

d) Color

La totalidad de los estudios coincide en que la coloración de los MN es similar, tanto en color como en intensidad a la del NP, aunque puede ser más débil o intensa (71, 98-108).

6.2.2. Segunda categoría: Antecedentes de las pacientes que pueden ser asociados a las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino.

En los estudios incluidos, se describe en detalle sólo un antecedente que puede ser asociado a las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino y corresponde a la edad de las pacientes al momento del diagnóstico citológico, tal como se expone a continuación:

- Ambroise et al. (98) incluyó en su muestra a mujeres con lesiones intraepiteliales con rango etario desde los 31 hasta los 58 años. La edad promedio de las pacientes para los grupos diagnósticos LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 41.6 y 45.1 años respectivamente, mientras que el Carcinoma Invasor (CI) se presentó en un rango de edad de

40 a 70 años, resultando en una edad promedio de 57,8 años para este grupo. A partir de lo anterior y mediante análisis estadístico, los autores indican que la edad promedio de las pacientes con SIL y CI es significativamente mayor que la edad promedio de las pacientes de los grupos no neoplásicos.

- Gayathri et al. (100) incluyó en su estudio a pacientes con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con rango etario desde los 28 hasta los 65 años. La edad promedio de las pacientes para los grupos diagnósticos ASCUS, ASCH, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 44, 46.5, 43.5 y 48.5 años respectivamente, mientras que el CI se presentó en pacientes con rango etario desde los 37 hasta los 76 años, con un promedio de edad de 56.5 años.

- Khumbar et al. (101) incluyó en su estudio a pacientes con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con rango etario desde los 25 hasta los 65 años. La edad promedio de las pacientes para los grupos diagnóstico ASCUS, ASCH, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 36.6, 45, 41.9 y 51.22 años respectivamente, mientras que en el CI se presentó en un rango etario de 45 a 80 años, con una edad promedio de 61.8 años para este grupo.

- Mahanta et al. (102) incluyó en su estudio a pacientes con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con rango etario desde los 23 hasta los 70 años. La edad promedio de las pacientes para los grupos diagnóstico ASCUS, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 45, 43.2 y 48.4 respectivamente, mientras que el CI se presentó en un rango etario de 35 a 70 años, con una edad promedio de 52 años.

- Navya et al. (103) incluyó en su estudio a pacientes con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con rango etario desde los 28 hasta los 53 años. La edad promedio de las pacientes para los grupos diagnóstico ASCUS, ASCH, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 44, 45.5, 44.4 y 46.5 respectivamente, mientras que el CI se presentó en un rango etario de 34 a 56 años, con una edad promedio de 45 años.

- Rathod et al. (104) incluyó en su estudio a pacientes con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con rango etario desde los 21 hasta los 65 años. El rango etario de las pacientes de los grupos diagnóstico ASCUS, ASCH, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 25-53, 21-65, 30-59 y 34-62 años respectivamente. Las edades de los grupos LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL resultaron ser mayores que las de los grupos ASC y ASCH. Por otra parte, el CI se presentó en pacientes con rango etario de 35 a 70 años, edades que resultaron ser mayores a las de los demás grupos.

- Samanta et al. (105) incluyó en su estudio a pacientes con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con rango etario desde los 22 hasta los 76 años. La edad promedio de las pacientes para los grupos diagnóstico ASCUS, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 51, 46 y 46 años respectivamente, mientras que el CI se presentó en un rango etario de 25 a 70 años, con una edad promedio de 47.5 años.

- Samanta et al. (106) incluyó en su estudio a dos grupos de pacientes con diagnósticos citopatológico de ASCUS; el primer grupo eran pacientes con diagnóstico citopatológico de ASCUS, pero con resultado histopatológico de cambios reactivos del epitelio cervical, cuyas edades iban desde los 29 a los 76 años. El segundo grupo estaba compuesto por pacientes con diagnóstico citopatológico de ASCUS, pero resultado histopatológico de Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC/CIN), cuyas edades iban desde los 27 a los 66 años.

- Shi et al. (107) incluyó en su estudio a pacientes con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con rango etario desde los 21 hasta los 70 años. La edad promedio de las pacientes para los grupos diagnóstico LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue de 41 y 40.9 respectivamente, mientras que el CI se presentó en un rango etario de 35 a 82 años, con una edad promedio de 52.74 años.

- Srivastava et al. (108) incluyó en su estudio a dos grupos de pacientes con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, donde la edad promedio fue de 34.3 y 37.3 años para cada uno.

6.2.3. Tercera categoría: Frecuencia de cMN y factores de riesgo de cáncer cervicouterino

De los 12 estudios incluidos en la revisión, solo 3 (25%) analizaron algunos factores de riesgo y los asociaron a la frecuencia de cMN, tal como se indica a continuación:

- Ambroise et al. (98) incluyó en su estudio el análisis de factores de riesgo edad, duración de vida marital, número de embarazos y de abortos, encontrando que ninguna de

estas variables se asociaba significativamente con el conteo de cMN y que sólo la positividad para una lesión intraepitelial escamosa cervical lo hacía de forma estadísticamente significativa (valor $p < 0.1$). También, incluyó en su estudio a 30 pacientes con frotis citológicos diagnosticados con infecciones del tracto genital inferior, determinando que existe un leve aumento en la frecuencia de cMN (promedio de frecuencia de cMN de 3.4 ± 1.4), con respecto a los frotis normales (promedio de frecuencia de cMN de 1.2 ± 1.1).

- Shi et al. (107) incluyó en su estudio el análisis de los factores de riesgo edad, duración de vida marital, número de embarazos y positividad para VPH de alto riesgo. Encontró que las primeras tres variables mencionadas no se asociaban significativamente al conteo de cMN. Respecto a la positividad del VPH entre los diferentes grupos diagnósticos, encontró que el rango de positividad para VPH de alto riesgo en los grupos LIEBG/LSIL, LIEAG/HSIL y CI fue significativamente más alto que los niveles de positividad encontrados entre los grupos normal, atrófico e inflamatorio, donde los primeros tres grupos tuvieron las frecuencias más altas de cMN y los tres últimos las más bajas.

- Srivastava et al. (108) incluyó en su estudio el análisis del factor de riesgo positividad para diversos genotipos de VPH de alto riesgo (14 genotipos diferentes), encontrando que, de los 100 frotis estudiados (los cuales fueron todos diagnosticados con LIEBG/LSIL y a todos se les realizó un conteo de cMN al inicio del estudio), sólo 12 (12%) dieron positivo para alguno de los genotipos de VPH de alto riesgo, mientras los 88 restantes (88%) dieron negativo. De los 12 casos positivos para VPH de alto riesgo, 2 eran casos que habían presentado un conteo inicial de cMN bajo (menor a 5 cMN), mientras que 10 eran casos que habían presentado una frecuencia inicial de cMN alta (mayor a 5 cMN). De acuerdo con los análisis estadísticos realizados a estos datos, los autores indican que la positividad para VPH de alto riesgo fue significativamente más alta en los casos LIEBG/LSIL con una elevada frecuencia inicial de cMN, comparado con la positividad para VPH de alto riesgo en los casos LIEBG/LSIL con una baja frecuencia inicial de cMN.

6.2.4. Cuarta categoría: Frecuencia de cMN en el diagnóstico ASC

Del total de estudios incluidos, 10 (83.33%) incorporaron el análisis de cMN en el grupo diagnóstico ASCUS y 4 (33.33%) lo hicieron en el diagnóstico ASCH, cuyos resultados se exponen a continuación:

- Ambroise et al. (98) analizó la frecuencia de cMN en 27 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS. De los 27 frotis, 17 tuvieron un diagnóstico histopatológico de inflamación, y los 10 restantes tuvieron como resultado SIL: 6 casos con LIEBG/LSIL y 4 con LIEAG/HSIL. El promedio de frecuencia de cMN para los frotis ASCUS con resultado histopatológico de inflamación fue de 2.5 ± 1.4 cMN, con un conteo mínimo de 1 cMN y un conteo máximo de 5 cMN, mientras que para los frotis ASCUS con resultado histopatológico de SIL, el promedio de frecuencia de cMN fue de 8.1 ± 4.7 , con un conteo mínimo de 3 cMN y un conteo máximo de 16. Respecto a los valores antes mencionados, se hallaron diferencias significativas al análisis estadístico ($p < 0.001$).

- Bhat et al. (99) analizó la frecuencia de cMN en 15 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS. De los 15 frotis, 6 obtuvieron un promedio de frecuencia de cMN menor a 1,8 frotis obtuvieron un promedio de frecuencia de cMN entre 1-2 y 1 frotis obtuvo un promedio de frecuencia de cMN entre 2-3, con lo que el promedio de frecuencia de cMN en el grupo diagnóstico ASCUS fue de 0.76 ± 0.59 cMN, el cual fue significativamente mayor respecto al promedio de cMN encontrado en el grupo control, compuesto por frotis normales (0.17 ± 0.38).

- Bueno et al. (71) analizó la frecuencia de cMN en 50 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS. El promedio de frecuencia de cMN fue de 2.98 ± 1.20 cMN, el cual fue significativamente mayor ($p < 0.001$) que el promedio de frecuencia de cMN encontrado en el grupo control, compuesto por frotis normales (0.95 ± 1.12).

- Gayathri et al. (100) analizó la frecuencia de cMN en 31 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS y 31 frotis con diagnóstico de ASCH. El promedio de frecuencia de cMN en el grupo diagnóstico ASCUS fue de 3 ± 0.730 cMN, mientras que para el grupo diagnóstico ASCH el promedio de frecuencia fue de 4.774 ± 1.430 cMN. Las frecuencias antes mencionadas resultaron ser significativamente mayores ($p < 0.05$) respecto al promedio

de cMN encontradas en el grupo control, compuesto por frotis normales (0.843 ± 0.677). También, se encontró que el promedio de frecuencia de cMN del grupo diagnóstico ASCH era significativamente mayor que la del grupo inflamatorio (1.062 ± 0.840) y ASCUS, significativamente menor que LIEAG/HSIL (8.032 ± 1.642) y CI (10.5 ± 2.016), pero no difería de la frecuencia del grupo LIEBG/LSIL (4.062 ± 1.134).

- Kumbhar et al. (101) analizó la frecuencia de cMN en 36 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS y 18 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCH. El promedio de frecuencia de cMN en el grupo diagnóstico ASCUS fue de 2.620 ± 0.496 , mientras que para el grupo diagnóstico ASCH el promedio de frecuencia fue de 4.967 ± 0.970 . Sobre los valores antes mencionados tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto al promedio de cMN encontradas en el grupo control, compuesto por frotis normales (0.601 ± 0.246). También, se encontró que los promedios de frecuencia de ASCUS y ASCH eran significativamente mayores que el promedio de los grupos inflamatorio (0.826 ± 0.224) y LIEBG/LSIL (3.709 ± 0.674), significativamente menores que LIEAG/HSIL (7.057 ± 1.293) y CI (9.855 ± 1.348).

- Mahanta et al. (102) analizó la frecuencia de cMN en 16 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS. El promedio de frecuencia de cMN en dicho grupo fue de 1.9607 ± 0.9689 . El valor antes mencionado resultó ser significativamente mayor ($p < 0.05$) que el promedio de frecuencia encontrado en los grupos normal (0.5069 ± 0.3501) e inflamatorio (0.5186 ± 0.4324), significativamente menores que LIEAG/HSIL (9.3931 ± 4.550) y CI (10.7008 ± 4.1946), pero sin diferencias significativas respecto al diagnóstico LIEBG/LSIL (3.6585 ± 1.3708).

- Navya et al. (103) analizó la frecuencia de cMN en 2 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS y 2 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCH. El promedio de frecuencia de cMN en el grupo ASCUS fue de 10 ± 2.83 , mientras que para el grupo ASCH fue de 13 ± 2.83 . Entre ambos grupos no existieron diferencias significativas en el promedio de frecuencia de cMN, sin embargo, sí tuvieron promedios de cMN significativamente mayores ($p < 0.0001$) que el grupo control compuesto por frotis normales (2.57 ± 1.38) y al grupo inflamatorio (8.21 ± 1.26).

- Rathod et al. (104) analizó la frecuencia de cMN en 20 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS y 13 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCH. El promedio

de frecuencia de cMN para el grupo ASCUS fue de 1.3 ± 1.1 , mientras que para el grupo ASCH fue de 4.4 ± 1.6 . Se detectaron diferencias significativas entre el grupo ASCUS y el grupo normal (1.2 ± 1.1) e inflamatorio (3.4 ± 1.4).

- Samanta et al. (105) analizó la frecuencia de cMN en 53 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS. 23 de ellos tuvieron un resultado histopatológico de NIC y 30 un resultado de inflamación. El grupo con resultado de NIC tuvo un promedio de frecuencia de cMN de 8.3478 ± 6.44987 , mientras que el grupo con resultado de inflamación tuvo una frecuencia de cMN de 2.8667 ± 2.20866 . La diferencia en el promedio de cMN entre ambos grupos resultó ser significativa ($p < 0.0001$).

- Samanta et al. (106) analizó la frecuencia de cMN en 30 frotis con diagnóstico citopatológico de ASCUS. El promedio de frecuencia de cMN para el grupo ASCUS fue de 2.8667 ± 2.20866 . Dicho valor mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) con los grupos LIEAG/HSIL (19.73 ± 17.1849) y CI (18.50 ± 9.54463), pero no con los grupos normal (1.0250 ± 1.59305), inflamatorios (0.4250 ± 0.71208) y LIEBG/LSIL (4.7368 ± 5.62179).

6.2.5. Quinta categoría: Frecuencia de cMN en el diagnóstico LIEBG/LSIL.

Del total de estudios incluidos en la revisión, 11 (91.67%) incorporaron el análisis de cMN en el grupo diagnóstico LIEBG/LSIL, cuyos resultados se exponen a continuación:

- Ambroise et al. (98) analizó la frecuencia de cMN en frotis con diagnóstico citopatológico de LSIL, donde encontró que el promedio de frecuencia de cMN fue de 4.4 ± 1.6 , con un conteo mínimo de 3 cMN y un máximo de 8 cMN. Dicho valor resultó ser significativamente más alto ($p < 0.001$) que el valor de los frotis con diagnóstico normal, inflamatorio, atrófico e infeccioso.

- Bhat et al. (99) incluyó en su estudio 12 frotis con diagnóstico citopatológico de LSIL. Encontró que la frecuencia de cMN en dicho grupo fue de 2.02 ± 0.73 , la cual fue

significativamente mayor que los promedios de frecuencia de cMN de los grupos no neoplásicos.

- Bueno et al. (71) incluyó en su estudio a 52 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL (CIN I), donde encontró que el promedio de frecuencia de cMN fue de 5.97 ± 1.83 . Este valor fue significativamente mayor que el presentado en los grupos no neoplásicos ($p < 0.001$).

- Gayathri et al. (100) incluyó en su estudio 32 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo en el que encontró un promedio de frecuencia de cMN de 4.062 ± 1.134 , valor que fue significativamente mayor que el encontrado en los grupos no neoplásicos (normal e inflamatorio) y significativamente menor que el encontrado en el grupo LIEAG/HSIL y CI. No hubo diferencia significativa con los grupos ASCUS y ASCH.

- Kumbhar et al. (101) incluyó en su estudio 42 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo en el que encontró un promedio de frecuencia de cMN de 3.709 ± 0.674 , valor que fue significativamente mayor que el encontrado en los grupos normal, inflamatorio, ASCUS, ASCH, pero significativamente menor que el hallado en los grupos LIEAG/HSIL y CI ($p < 0.05$).

- Mahanta et al. (102) incluyó en su estudio 15 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 3.6585 ± 1.3708 , valor que fue significativamente mayor que el encontrado en los grupos normal e inflamatorio, pero significativamente menor que el hallado en los grupos LIEAG/HSIL (9.3931 ± 4.550) y CI (10.7008 ± 4.1946). No se encontraron diferencias significativas respecto al grupo diagnosticado con ASCUS (1.9607 ± 0.9689) ($p < 0.05$).

- Navya et al. (103) incluyó en su estudio 20 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 15.8 ± 1.44 , valor que fue significativamente mayor que el encontrado en los grupos normal, inflamatorio, ASCUS, ASCH, y significativamente menor que el hallado en los grupos LIEAG/HSIL (20.33 ± 1.63) y CI (23.00 ± 2.83) ($p < 0.0001$).

- Rathod et al. (104) incluyó en su estudio 20 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 2.5 ± 1.4 , con un conteo mínimo de 3 cMN y un conteo máximo de 8 cMN. El promedio antes mencionado fue significativamente mayor que el hallado en los grupos normal e

inflamatorio y significativamente menor que el encontrado en LIEAG/HSIL (11.9 ± 4.2) y CI (16.4 ± 6.9). No se encontraron diferencias significativas con el diagnóstico ASCUS.

- Samanta et al. (105) incluyó en su estudio 38 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 4.7368 ± 5.62169 , valor que fue significativamente mayor que el hallado en los grupos normal e inflamatorio y significativamente menor que el presentado por los grupos LIEAG/HSIL (19.73 ± 17.18490) y CI (18.50 ± 9.54463) ($p < 0.05$). No hubo diferencias significativas respecto al promedio del grupo ASCUS (2.8667 ± 2.20866).

- Shi et al. (107) incluyó en su estudio a 40 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo donde encontró que el promedio de frecuencia de cMN era significativamente mayor que el de los grupos normal, inflamatorio y atrófico, pero significativamente menor que el promedio encontrado en los grupos LIEAG/HSIL y CI.

- Srivastava et al. (108) incluyó en su estudio longitudinal 100 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEBG/LSIL, grupo que fue dividido por los investigadores en dos: 80 frotis con un bajo conteo de cMN (< 5 cMN / 1000 células evaluadas) y 20 frotis con un alto conteo de cMN (>5 cMN/ 1000 células evaluadas). A los 12 meses se realizó un nuevo conteo y se encontró que 6 de los 80 frotis con un bajo conteo inicial de cMN seguían presentando un diagnóstico de LSIL (7.5%), mientras que 19 de los 20 frotis con un alto conteo inicial de cMN seguían presentando un diagnóstico de LSIL (95%). De acuerdo con dichos resultados, cuya diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$), se determinó que la persistencia de LIEBG/LSIL es más frecuente en aquellas pacientes con mayor frecuencia de cMN.

6.2.6. Sexta categoría: Frecuencia de cMN en el diagnóstico LIEAG/HSIL.

Del total de estudios incluidos en la revisión, 10 (83.33%) incorporaron el análisis de cMN el grupo diagnóstico LIEAG/HSIL, cuyos resultados se exponen a continuación:

- Ambroise et al. (98) analizó la frecuencia de cMN en frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, donde encontró que la frecuencia de cMN fue de 11.9 ± 4.2 , con un conteo mínimo de 5 cMN y un máximo de 20 cMN, valor que resultó ser significativamente más alto ($p < 0.001$) que el encontrado en los diagnósticos normal, atrófico, inflamatorio, infeccioso, ASCUS y LIEBG/LSIL. No se encontraron diferencias significativas respecto al promedio de frecuencia de cMN pesquisado en el diagnóstico de CI (16.4 ± 6.9).

- Bhat et al. (99) incluyó en su estudio 12 frotis citológicos diagnosticados como LIEAG/HSIL. Encontró que el promedio de frecuencia de cMN en dicho grupo fue de 2.79 ± 1.01 , valor que fue significativamente mayor que el promedio de los grupos no neoplásicos.

-Bueno et al (71) incluyó en su estudio 47 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL: 30 frotis con diagnóstico de NIC II y 17 frotis con diagnóstico de NIC III. El grupo con diagnóstico NIC II presentó un promedio de frecuencia de cMN de 5.97 ± 1.83 , mientras que el grupo con diagnóstico NIC III presentó un promedio de frecuencia de cMN de 7.29 ± 1.55 . Ambos valores fueron significativamente mayores que los encontrados en los grupos no neoplásicos.

- Gayathri et al. (100) incluyó en su estudio 31 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, grupo en el que encontró un promedio de frecuencia de cMN de 8.032 ± 1.642 , valor que fue significativamente mayor que el encontrado en los grupos no neoplásicos (normal, inflamatorio), ASCUS y LIEBG/LSIL, y significativamente menor que el encontrado en el CI (10.5 ± 2.016) ($p < 0.001$).

- Kumbhar et al. (101) incluyó en su estudio a 22 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, grupo en el que encontró un promedio de frecuencia de cMN de 7.057 ± 1.293 , valor que fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que el encontrado tanto en los grupos no neoplásicos (normal e inflamatorio), como neoplásicos (ASCUS, ASCH, LIEBG/LSIL). Sin embargo, fue significativamente menor que el hallado en el grupo diagnosticado con CI (9.855 ± 1.348).

- Mahanta et al. (102) incluyó en su estudio 17 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 9.3931 ± 4.550 , valor que fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que el de los grupos

normal, inflamatorio, ASCUS y LIEBG/LSIL, pero significativamente menor que el hallado en el grupo diagnosticado con CI (10.7008 ± 4.1946).

- Navya et al. (103) incluyó en su estudio a 6 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 20.33 ± 1.63 , valor que fue significativamente mayor que el hallado en los grupos normal, inflamatorio, ASCUS, ASCH, LIEBG/LSIL, pero significativamente menor que el del grupo diagnosticado con CI (23.00 ± 2.83) ($p < 0.0001$).

- Rathod et al. (104) incluyó en su estudio 10 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 11.9 ± 4.2 , con un conteo mínimo de 5 cMN y un conteo máximo de 20 cMN. El promedio encontrado fue significativamente mayor que el hallado en los grupos normal, inflamatorio, ASCUS, ASCH y LIEBG/LSIL.

- Samanta et al. (105) incluyó en su estudio 22 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, grupo donde encontró un promedio de frecuencia de cMN de 19.73 ± 17.18490 , valor que fue significativamente mayor que el hallado en los grupos diagnóstico normal, inflamatorio, ASCUS, LIEBG/LSIL; una excepción fue el CI (18.50 ± 9.54463), grupo con el que no presentó una diferencia significativa ($p < 0.05$).

- Shi et al. (107) incluyó en su estudio 21 frotis con diagnóstico citopatológico de LIEAG/HSIL, grupo donde el promedio de frecuencia cMN obtenido fue significativamente mayor que el encontrado en los grupos normal, atrófico, inflamatorio y LIEBG/LSIL ($p < 0.05$).

Tomando en consideración los datos expuestos previamente, se confeccionó una tabla resumen de los resultados reportados por los distintos estudios sobre los promedios de frecuencia de cMN en los grupos diagnósticos Normal, ASCUS, ASCH, LIEBG y LIEAG (71, 98-108) (véase Tabla 5).

Tabla 5. Promedios de frecuencia de cMN reportados por 12 estudios en los diagnósticos citológicos Normal, ASCUS, ASCH, LIEBG y LIEAG.

Estudio	Frecuencia de cMN en el diagnóstico citológico									
	Normal		ASCUS		ASCH		LIEBG		LIEAG	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Ambroise et al. (98)	1,2	1,1	ASCUS con resultado de biopsia LIE: 8,1	4,7			4,4	1,6	11,9	4,2
			ASCUS con resultado de biopsia INFLAMATORIA: 2,5	1,2						
Bhat et al. (99)	0,17	0,38	0,76	0,59			2,02	0,73	2,79	1,01
Bueno et al. (71)	0,95	1,12	2,98	1,2			4,04	1,45	NIC II: 5,97	NIC II: 1,83 NIC III: 1,55
Gayathri et al. (100)	0,843	0,677	3	0,73	4,774	1,43	4,062	1,134	8,032	1,642
Kumbhar et al. (101)	0,601	0,246	2,62	0,496	4,967	0,97	3,709	0,674	7,057	1,293
Mahanta et al. (102)	0,5069	0,3501	1,9607	0,9689			3,6585	1,3708	9,3931	4,55
Navya et al. (103)	2,57	1,38	10	2,83	13	2,83	15,8	1,44	20,33	1,63
Rathod et al. (104)	1,2	1,1	1,3	1,1	4,4	1,6	2,5	1,4	11,9	4,2
Samanta et al. (105)	1,025	1,59305	2,8667	2,20866			4,7368	5,62179	19,73	17,1849
Samanta et al. (106)			ASCUS con Resultado de biopsia LIE: 8.3478	6,44987						
			ASCUS con resultado de biopsia INFLAMATORIA: 2,8667	2,20866						

Shi et al. (107)	83,67						171,6		219,83	
Srivastava et al. (108)							LIEBG con frecuencia de cMN < 5			
							LIEBG con frecuencia de cMN > 5			

Como puede ser observado, las frecuencias de cMN reportadas son diferentes en cada grupo diagnóstico. Existen diferencias entre el grupo diagnóstico “Normal” y los diagnósticos precursores del carcinoma cervicouterino, así como también existen diferencias entre estos últimos, donde los autores reportan un aumento en la frecuencia de cMN a medida que aumenta la severidad del diagnóstico (71, 98-108) (véase Figura 2).

Los datos mencionados anteriormente (véase Tabla 5) fueron analizados utilizando el Microsoft Excel®, 2016. A partir de los valores de los promedios de frecuencia de cMN y las desviaciones estándar de los diagnósticos Normal, ASC, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL reportados por los estudios, se obtuvieron los valores medios de los promedios de frecuencia de cMN y el correspondiente error estándar para cada uno de estos diagnósticos citológicos. (véase Tabla 6).

Tabla 6. Valores medios y error estándar de los promedios de frecuencias de cMN reportados por los estudios incluidos en la revisión.

	Normal	ASCUS	LIEBG	ASCH	LIEAG
Media	1.00732222	3.10971111	4.99181111	6.03525	11.9540125
Error estándar	0.22556842	0.89978381	1.38176024	1.32681306	1.88178858

Considerando estos resultados, las medias de los promedios de frecuencia de cMN de los grupos diagnósticos precursores del carcinoma cervicouterino son mayores

encomparación a la encontrada en el grupo “Normal”. Además, las medias de los promedios de frecuencia de cMN van en aumento desde el diagnóstico ASCUS hasta el diagnóstico LIEAG, en el que se reportaron los mayores promedios de frecuencia de cMN, donde:

- El diagnóstico ASCUS obtuvo una media de promedios de frecuencia de cMN más alta que el grupo Normal y la más baja dentro de las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino.
- El diagnóstico LIEBG/LSIL obtuvo una media de promedios de frecuencia de cMN más alta que la alcanzada por los grupos Normal y ASCUS, pero más baja que la de los grupos ASCH y LIEAG/HSIL.
- El diagnóstico ASCH obtuvo una media de promedios de frecuencia de cMN más alta que la obtenida por los grupos Normal, ASCUS y LIEBG/LSIL, pero más baja que la del grupo LIEAG/HSIL.
- El diagnóstico LIEAG/HSIL obtuvo la media de promedios de frecuencia de cMN más alta dentro de las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino.

Asimismo, estos valores presentados en la Tabla 6, se utilizaron para confeccionar un gráfico de barras que esquematiza el nivel de asociación entre la frecuencia de cMN y el aumento en la severidad de las lesiones reportado en la literatura, el cual se expone en el capítulo de discusión (*véase* Figura 2).

7. DISCUSIÓN

Durante décadas el cáncer cervicouterino ha sido una de las neoplasias más frecuentes en la población mundial, sobre todo en aquellos países que se encuentran en vías de desarrollo (109). Chile no está ajeno a dicha realidad, pues corresponde a la cuarta neoplasia más común entre las mujeres y a la tercera causa de muerte más frecuente, con casi 800 decesos en el año 2020 (31). Por lo anterior, es que a lo largo de los años y a nivel mundial, los métodos de detección temprana del cáncer cervicouterino han evolucionado y con ello, ha disminuido la mortalidad asociada a dicha neoplasia (64).

Actualmente, la citología exfoliativa cervical o examen de Papanicolaou es la herramienta de detección temprana o de screening empleada en la mayor parte de los países en vías de desarrollo. Si bien, dicho examen ha ayudado a disminuir la mortalidad por cáncer cervicouterino, ni su cobertura ni su sensibilidad en los países subdesarrollados (<70% y <30% respectivamente) son suficientes para continuar mejorando el proceso de detección temprana de las lesiones cervicales causadas por el Virus del Papiloma Humano (110), dado que la cobertura varía considerablemente según las características sociodemográficas de la población (111) y la sensibilidad depende de factores como la toma de muestra, el entrenamiento de los cito-tecnólogos y/o citopatólogos y el seguimiento de las pacientes que presentan citología sospechosa o positiva a LIE y carcinoma (112).

Desde hace más de una década se ha establecido que la sensibilidad de otros métodos de detección del cáncer cervicouterino y sus lesiones precursoras es superior al 90% y por tanto deben ser utilizados como métodos de tamizaje primario, sin embargo, en países en vías de desarrollo su implementación no ha sido posible, por lo cual el examen de Papanicolaou debe ser mejorado mediante la incorporación de otros elementos al proceso diagnóstico, con la finalidad de aumentar su sensibilidad en la detección de lesiones precursoras del cáncer cervicouterino y la identificación de pacientes con un alto riesgo de desarrollar un proceso maligno (113).

Uno de estos elementos es la utilización de biomarcadores de daño genético, entre los que se encuentran los MN, que corresponden a estructuras intracelulares reconocidas

como biomarcadores de inestabilidad genómica (114), siendo este último un estado donde el genoma adquiere alteraciones en su estructura con mayor frecuencia, lo cual aumenta considerablemente el riesgo de desarrollar neoplasias malignas (8). Sobre lo anterior, se ha encontrado que la frecuencia de MN en las células de diversos tejidos aumenta frente a ciertas condiciones patológicas, como son los procesos preneoplásicos y neoplásicos malignos, donde el aumento de los MN ocurre incluso antes de que ocurran cambios clínicos detectables y, por tanto, puede ser empleado como un biomarcador y herramienta de apoyo diagnóstico, con el objetivo de identificar a pacientes que tienen un alto riesgo de desarrollar una neoplasia maligna (115-116).

Basado en esto, en el presente estudio se evaluó la información contenida en la literatura científica sobre el eventual aporte de los Micronúcleos como biomarcadores de progresión de daño genético, en frotis citológicos cervicales diagnosticados con lesiones precursoras del cáncer cervicouterino, mediante el examen de Papanicolaou.

La mayor parte de los estudios publicados respecto a la frecuencia de cMN en lesiones precursoras del cáncer cervicouterino provienen de India (*véase* Tabla 1 y Tabla 2) país que en el año 2018 registró 60.000 muertes por dicha neoplasia y que, junto a China, representan el 35% de casos y muertes por este cáncer a nivel global (117). Para el caso de Brasil, país del que proviene 1 de los estudios incluidos en esta revisión, el cáncer cervicouterino representa la tercera neoplasia más común y mortal entre las mujeres, pese a que cuenta con un programa nacional de tamizaje de cáncer cervicouterino, lo cual deja en evidencia que dicho programa necesita ajustes y mejoras para disminuir la incidencia y mortalidad por esta enfermedad en la población (118-119).

Otro factor importante para destacar, son los grupos diagnósticos evaluados en los estudios seleccionados, donde la mayoría incluyó el análisis de cMN en un grupo control compuesto por frotis normales (10 estudios) (71, 98-105, 107) y varios grupos diagnósticos precursores del carcinoma cervicouterino invasor (*véase* Tabla 3), dentro de los cuales se encuentran: ASCUS (10 estudios) (71, 98-106), LIEBG/LSIL (11 estudios) (71, 98-105, 107-108) y LIEAG/HSIL (10 estudios) (98-105, 107). Cabe resaltar que hubo dos estudios centrados exclusivamente en la evaluación de la frecuencia de cMN en un determinado diagnóstico citológico: por un lado, se encuentra el estudio de Samanta et al. (106), el cual analizó la frecuencia de cMN en dos grupos de pacientes diagnosticadas con ASCUS y por

otro, el estudio de Srivastava et al. (108), que analizó la frecuencia de cMN en dos grupos de pacientes con diagnóstico LIEBG/LSIL.

Por otra parte, sobre los criterios de identificación de los MN (véase Tabla 4), la totalidad de los estudios los describen de forma similar: cuerpos redondos u ovals, separados e independientes del NP, con intensidad de coloración similar a éste, no refringentes y en el mismo plano focal (71, 98-108). Sin embargo, hay discrepancias respecto al tamaño que deben tener los MN: algunos estudios indican que debe ser menor a 1/3 del tamaño del NP (98, 103-104, 107), otros que debe encontrarse entre 1/16 a 1/3 del diámetro del NP (99, 100, 102, 105-106, 108) y los restantes, indican que el tamaño debe ser menor al 20% del NP (71, 101).

Las características antes mencionadas fueron establecidas por Tolbert et al. (13) en 1992 y hoy en día, la mayoría de ellas han sido validadas por el grupo de expertos del proyecto HUMN (International Human Micronucleus Project) fundado en 1997, que tiene por objetivo coordinar la utilización de los ensayos de MN en la investigación sobre el daño en el ADN en poblaciones humanas a nivel mundial (120). Además de las características de los MN, estos expertos indican que gran parte de la variabilidad encontrada en los estudios donde se aplica el ensayo de MN en células exfoliadas se debe al método de conteo, dentro del cual se establece la importancia de poseer y aplicar criterios estrictos de identificación, tal como los recién indicados (96).

Respecto a la cantidad de células que fueron evaluadas para el conteo de cMN en los estudios incluidos en la revisión (véase Tabla 4), sólo 1 analizó menos de 1000 células (103) y los restantes 11 estudios analizaron más de 1000 células (71,98-103, 105-108), cantidad mínima recomendada por el protocolo oficial del ensayo de MN en células exfoliadas de la mucosa oral, el cual también indica que la evaluación de las células debe ser realizada por dos o más observadores de forma independiente (96) . Con este último parámetro cumplen 11 de los 12 estudios, en los cuales un mínimo de 2 observadores realizó el análisis de los frotis cervicales (98-99, 100-108). Si bien, producto de lo anterior, puede existir una variación inter observador en la frecuencia de cMN, ésta debería disminuir con el entrenamiento apropiado de los observadores y con la técnica citológica empleada, la cual se aconseja sea Citología de Base Líquida (LBC), en combinación con un colorante específico para ADN, como la tinción de Feulgen o Naranja de Acridina (121).

Los últimos dos aspectos nombrados son relevantes pues, la LBC entrega como resultado un frotis limpio y con menor cantidad de elementos que pueden ser confundidos con un MN (detritus celular o cúmulos de bacterias). Sobre esto, 11 estudios incluidos en esta revisión llevaron a cabo el conteo de cMN en frotis realizados mediante citología convencional (71, 98-106, 108) y 1 estudio en frotis realizados mediante LBC (107). Por otro lado, 6 de los 12 estudios indicaron la presencia de elementos como detritus celulares, depósitos de pigmento y cúmulos de bacterias, los que dificultaron el conteo de cMN, sin llegar a imposibilitarlo (98-99, 100-101, 103,106).

En complemento, la utilización de un colorante específico para ADN permite distinguir a un MN de un elemento intracelular similar, como pueden ser los gránulos de queratohialina presentes en células superficiales del epitelio cervical (96). Respecto a ello, todos los estudios incluidos en la revisión utilizaron la técnica de tinción Papanicolaou (71, 98-108). En una investigación realizada por Gupta et al. (122), fue comparada con otras tinciones para la identificación de MN en células exfoliadas de la cavidad oral y se concluyó que esta tinción, pese a no ser específica para ADN, da buenos resultados. Asimismo, otro estudio evaluó la frecuencia de MN en células exfoliadas de la cavidad oral mediante LBC e indicó que el conteo de cMN no variaba de forma significativa con las diferentes tinciones utilizadas (May Grunwald Giemsa, Hematoxilia- Eosina, Papanicolaou), pero que probablemente esto se debía a la implementación de LBC, más que a la tinción empleada (123).

En consecuencia, para poder alcanzar un consenso respecto a la tinción óptima para realizar el conteo de cMN, tanto en citología convencional como en LBC, se necesita mayor cantidad de estudios que proporcionen información relevante sobre el tema. Sin embargo, cabe destacar que los 12 estudios seleccionados en esta revisión pudieron llevar a cabo el conteo de cMN aplicando la tinción de Papanicolaou y, en la mayoría de los casos, utilizando citología convencional (71, 98-108). Con esto se puede inferir que, ni el uso de citología convencional ni la tinción Papanicolaou, representan un impedimento para poder utilizar la frecuencia de cMN como biomarcador de apoyo diagnóstico al momento de evaluar citologías cervicales.

Respecto a los antecedentes de las pacientes al momento en el que se les diagnosticaron las LIE, en los estudios sólo se menciona la edad. El promedio de edad de las

pacientes con LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL fue mayor a 40 años, con rango etario de 21 a 70 años, mientras que el CI se presentó en pacientes con rango etario de 25 a 76 años. Esta variación en la edad de las pacientes, al momento de presentar una lesión precursora de carcinoma cervicouterino, guarda relación con la historia natural de esta neoplasia (124) y con diversos factores ambientales, así como también a distintos aspectos asociados al estilo de vida, los que pueden actuar como genotóxicos y provocar inestabilidad genómica, aumentando así el riesgo de desarrollar una lesión precursora de cáncer cervicouterino (17, 125).

Múltiples factores que se encuentran asociados a estas neoplasias intraepiteliales son capaces de inducir daño en el genoma de las células cervicales, el que puede manifestarse de diferentes formas, entre ellas, la presencia de MN en las células exfoliadas del epitelio cervical. Acerca de esto, ha sido reportado que aquellas pacientes con uno o más factores de riesgo de padecer cáncer cervicouterino presentan frecuencias más altas de cMN (17).

En esta revisión, 3 de los 12 estudios incluidos asociaron la frecuencia de cMN con factores de riesgo como edad, número de embarazos y abortos, duración de la vida marital, presencia de una infección de transmisión sexual y positividad para algún genotipo de VPH de alto riesgo. Como resultado, ni la edad, ni el número de embarazos y abortos, ni la duración de la vida marital se pudieron asociar de forma significativa con la frecuencia de cMN que presentaban las pacientes. (98, 107-108), a diferencia de la frecuencia de cMN en pacientes con infecciones de transmisión sexual, donde se vio ligeramente elevada respecto al grupo control, sin embargo, la diferencia no fue significativa (98).

Un factor importante es la infección del tracto genital inferior por VPH, la cual desde hace ya más de dos décadas ha sido considerada como la causa necesaria para el desarrollo del cáncer cervicouterino y sus lesiones precursoras (126). En dos de los estudios incluidos en esta revisión, la positividad para algún genotipo de VPH de alto riesgo se asoció con una frecuencia mayor de cMN (107-108), deduciéndose que lo anterior podría ser un indicador de infección por VPH, la que tendría mayor tendencia a persistir cuando la frecuencia de cMN es alta (108).

De forma similar, en un estudio realizado por Cassel et al. (127) se investigó la asociación entre la presencia del ADN del VPH y la frecuencia de cMN en frotis citológicos normales, encontrando que una alta frecuencia se puede asociar de forma positiva con la

presencia del material genético del VPH, incluso sin existir cambios citológicos. Este aumento de la frecuencia de cMN sería una manifestación de la inestabilidad genómica causada por el VPH, el cual interactúa con diversos elementos de las diferentes vías de señalización celular, principalmente con aquellos que regulan procesos, como la progresión del ciclo celular, la reparación del ADN, la replicación y transcripción del material genético y la senescencia celular, llevando de esa forma al desarrollo de células con potencial maligno (128).

Según la literatura científica, ha sido indicado que es de esperar un aumento en la frecuencia de cMN en lesiones precursoras de cáncer cervicouterino (129), por lo que su evaluación en frotis citológicos puede ser utilizada como biomarcador de riesgo de cáncer cervical (130). Basándose en ello, el total de estudios incluidos en esta revisión evaluó la frecuencia de cMN en diferentes diagnósticos citológicos cervicales, desde los frotis normales, pasando por los frotis inflamatorios e infecciosos, hasta los grupos diagnóstico ASC, LIEBG/SIL y LIEAG/HSIL.

A partir de los resultados obtenidos por cada uno de los autores, se calculó la media de promedios de frecuencias de cMN de los grupos Normal, ASC, LIEBG/LSIL y LIEAG/HSIL con el objetivo de comparar estos valores (*véase* Tabla 6) y demostrar que, de acuerdo con la evidencia científica el promedio de frecuencia de cMN efectivamente aumenta según el grado de lesión (*véase* Figura 2), donde en los grupos precursores del carcinoma cervicouterino sus promedios son mayores en comparación al presentado en los grupos no neoplásicos (71, 98-108), indicando la existencia de un mayor daño genético en las lesiones intraepiteliales, el cual con una mayor frecuencia de cMN.

Promedio de valores medios de frecuencias de cMN reportados por los estudios incluidos en la revisión

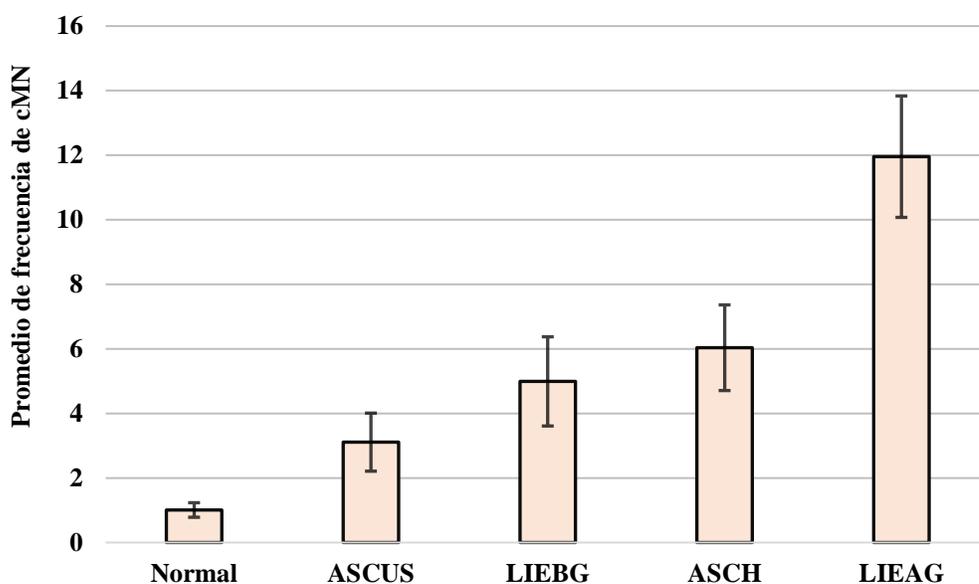


Figura 2. *Promedio de frecuencia de cMN reportadas en la literatura para los distintos grupos diagnósticos evaluados.* El gráfico muestra la media y error estándar obtenido de los valores promedio de frecuencia de cMN reportados en la literatura (71, 98-108)

En primer lugar, sobre la frecuencia de cMN en el diagnóstico LIEBG/LSIL, la mayor parte de los estudios encontró diferencias significativas en el promedio de frecuencia de cMN con respecto al grupo control compuesto por frotis normales cuya frecuencia fue considerablemente menor (71, 98-108). También, cabe destacar el estudio longitudinal de Srivastava et al. (108), en el cual se observó que, de aquellos casos LSIL que inicialmente tenían una baja frecuencia de cMN (< 5 cMN), el 92,5 % se resolvió al cabo de los 12, 18 y 24 meses posteriores, mientras que, de aquellos casos LSIL con una alta frecuencia de cMN (> 5 cMN), sólo un 5 % se resolvió en las evaluaciones posteriores y el restante 95%, persistió luego de 1-2 años de seguimiento. Conjuntamente, de estos últimos casos, la mitad correspondía a pacientes positivos para ciertos genotipos de VPH de alto riesgo. A partir de lo expuesto, los autores del estudio concluyeron que existe una correlación entre la frecuencia de cMN, la positividad para el VPH de alto riesgo y la persistencia o progresión de una

LIEBG/LSIL. Es por lo anterior, que el conteo de cMN podría ser utilizado como un complemento al examen de Papanicolaou, donde su valor predictivo ayudaría a distinguir entre aquellas pacientes cuyas LIEBG/LSIL tienen un alto riesgo de persistir y que, por tanto, necesitan ser monitoreadas con mayor frecuencia de aquellas que no tienen un riesgo elevado de persistencia o progresión de la lesión (108), hallazgos que coinciden con los de otros autores (127, 132).

En segundo lugar, relacionado a la frecuencia de cMN en el diagnóstico LIEAG/HSIL, la mayor parte de los estudios revelan que éste es el grupo diagnóstico con mayor frecuencia de cMN en los frotis cervicales (98-105, 107), resultado similar al obtenido en los estudios realizados por Aires et al. y Cerqueira et al. (132-133), en los que el promedio de frecuencia de cMN era significativamente mayor que en los frotis normales e incluso significativamente mayor al encontrado en los frotis LIEBG/LSIL.

Otro aspecto relevante es que, 3 de los 12 estudios incluidos, indican una determinada frecuencia de cMN ante la cual se puede decir, con cierto grado de certeza, que un diagnóstico corresponde a LIEAG/HSIL: Ambroise et al. (98) indica que, con una frecuencia igual o mayor a 8 cMN, se puede diagnosticar una LIEAG/HSIL con una sensibilidad y especificidad del 96,6 % y 99,0 % respectivamente; Mahanta et al. (102) indica que, con una frecuencia de cMN de 5.15 o mayor, se puede diagnosticar una LIEAG/HSIL con una precisión del 93,3%, una sensibilidad del 85,7% y especificidad del 97,2% ; Shi et al (107) indica que, con una frecuencia de cMN de 8 se puede diagnosticar una HSIL con una sensibilidad del 89,6% y especificidad del 66,7%. Pese a esto, los mismos autores sugieren que se necesitan más investigaciones, con un mayor tamaño de muestra, para reafirmar sus conclusiones.

En tercer lugar, respecto al diagnóstico ASC, 10 estudios incluyeron el análisis de la frecuencia de cMN en el grupo diagnóstico ASCUS; dentro de ellos destaca el de Samanta et al. (106), quien determinó que la frecuencia de cMN en frotis diagnosticados inicialmente como ASCUS pero con confirmación histopatológica de inflamación es significativamente menor a la encontrada en aquellos frotis diagnosticados inicialmente como ASCUS, pero que al examen histopatológico resultaron ser LIE (véase Figura 3) (106), con lo cual, la aplicación del conteo de cMN como apoyo diagnóstico en frotis ASCUS podría

ayudar a discriminar entre aquellas pacientes cuya atipia celular se debe a un proceso inflamatorio, de las que se asocia a un proceso neoplásico asociado a una LIE.

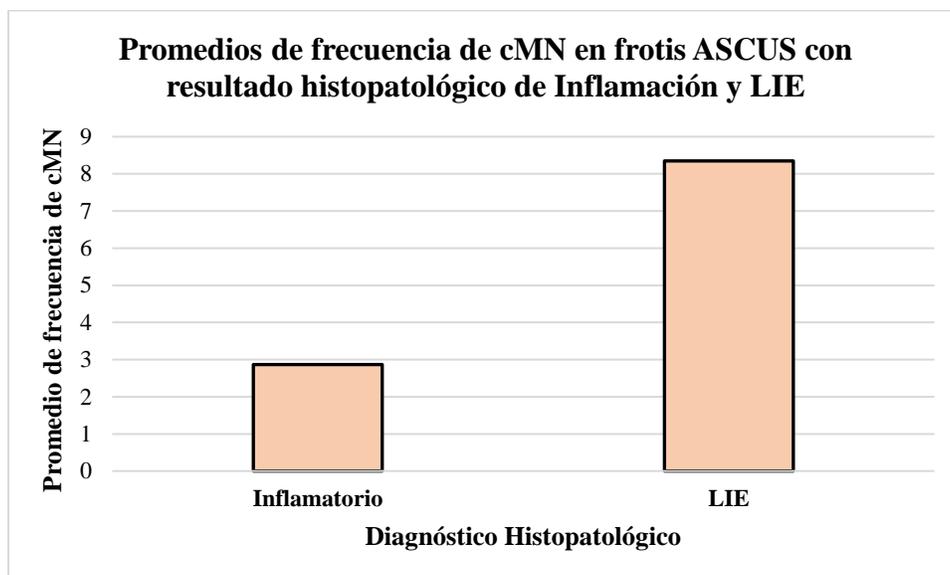


Figura 3. Conteo de cMN en frotis ASCUS con resultado histopatológico inflamatorio y con resultado de LIE. En el gráfico se observa la diferencia entre la frecuencia de cMN encontrada en el grupo de pacientes con diagnóstico citológico ASCUS, pero con resultado histopatológico de Inflamación y aquellas que tuvieron como resultado citológico ASCUS, pero con resultado histopatológico de LIE. En este último grupo la frecuencia de cMN resultó ser significativamente mayor (8.34786 ± 6.44987) que la reportada en el grupo Inflamatorio (2.86676 ± 2.20866). *Adaptado de Samanta et al (106).*

Los resultados antes mencionados contrastan con los encontrados en otro estudio del mismo autor, en el que el promedio de frecuencia de cMN en frotis ASCUS no difiere del encontrado en frotis normales, inflamatorios y LIEBG/LSIL (105). De forma similar, en otro estudio realizado en 2003 se encontró que el promedio de frecuencia de cMN en frotis ASCUS no presenta diferencias significativas respecto de los frotis normales (18), sin embargo, en dichos estudios no se disponía de los resultados histopatológicos de los frotis diagnosticados como ASCUS, por lo que no se pudo corroborar si los cambios celulares atípicos se debían a una condición inflamatoria o a una LIE enmascarada.

Sobre el diagnóstico ASCH, 4 de los 12 estudios incluyeron el análisis de la frecuencia de cMN en dicho grupo diagnóstico. Cada uno de ellos obtuvo diferentes resultados en los promedios de frecuencia de cMN y en el análisis estadístico de las diferencias con los demás grupos considerados, no pudiendo llegar a una conclusión sobre la frecuencia de cMN en los casos ASCH (100-101, 103-104).

Como se ha podido observar y de acuerdo con lo encontrado en la literatura científica, aún no se ha podido determinar una frecuencia de cMN específica para realizar el diagnóstico de cada una de las lesiones precursoras de cáncer cervicouterino con seguridad. Lo anterior se debe a la alta variabilidad en la frecuencia de cMN que puede ser observada entre cada individuo, probablemente debido a que cada uno está expuesto a diferentes agentes genotóxicos, los que interactúan con el material genético de diversas formas (116). Por tanto, cada caso debe ser evaluado de una forma particular, tomando en cuenta no sólo las características celulares y su diagnóstico citopatológico, sino también los factores de riesgo y el estilo de vida que presenta cada paciente.

Pese a esto y basado en los resultados obtenidos por los estudios incluidos en esta revisión, la eventual implementación del conteo de cMN durante el diagnóstico del examen de Papanicolaou sería un método sencillo, reproducible y de bajo costo que aportaría información complementaria como biomarcador de inestabilidad genómica (12, 18) , es decir, un biomarcador que indicaría la acumulación y progresión de daño genético en las células del epitelio cervical, atribuible tanto a una infección por VPH, como a factores medioambientales y del estilo de vida de cada paciente permitiendo la identificación de aquellas que tienen un elevado riesgo de desarrollar una lesión precursora de cáncer cervicouterino (129-130) y que, por tanto, necesitan un seguimiento clínico frecuente.

Cabe destacar que no existen estudios realizados en Chile sobre la frecuencia de cMN en lesiones precursoras del cáncer cervicouterino, lo cual representa una oportunidad para poder colaborar, tanto en la generación de conocimiento sobre el tema, como en la mejora de los métodos de tamizaje existentes en la actualidad, aumentando las herramientas de apoyo diagnóstico disponibles para optimizar la evaluación del examen de Papanicolaou y facilitando la labor de los citotecnólogos al momento de enfrentar y evaluar frotis cervicales que resultan ser un desafío diagnóstico, lo que en última instancia impactaría

beneficiosamente sobre las pacientes que presentan un mayor riesgo de desarrollar esta neoplasia

8. CONCLUSIÓN

Como ha sido descrito, el cáncer cervicouterino es una de las neoplasias más frecuentes en la población femenina a nivel mundial y el principal método empleado para su detección temprana es el examen de Papanicolaou, el cual podría ser complementado con otras técnicas que permitan aumentar su sensibilidad en el diagnóstico de las lesiones precursoras del cáncer cervicouterino. Una de éstas es la incorporación del conteo de cMN en frotis cervicales, en el que los MN son reconocidos como biomarcadores de progresión de daño genético y, en consecuencia, de la transformación maligna de las células.

A partir de lo expuesto por diversos autores sobre la frecuencia de cMN y su aporte en el proceso diagnóstico de frotis cervicales, información que ha sido sintetizada en esta tesis narrativa, se pueden destacar las siguientes consideraciones:

- La frecuencia de cMN reportada por los autores en los grupos diagnósticos precursores del carcinoma cervicouterino es significativamente mayor a la reportada en el grupo diagnóstico “Normal”.
- La frecuencia de cMN aumenta en paralelo a la severidad de las alteraciones celulares malignas, desde el diagnóstico ASCUS, seguido por LIEBG/LSIL, hasta el diagnóstico LIEAG/HSIL.
- A mayor progresión de daño genético en las células del epitelio cervical, atribuible principalmente a la infección con un genotipo de VPH de alto riesgo, mayor es la frecuencia de cMN.
- No se ha podido estimar un rango exacto de frecuencias de cMN que permita clasificar cada frotis dentro de un determinado grupo diagnóstico, debido a la variabilidad en la frecuencia de cMN entre cada paciente.

Adicionalmente, el ensayo de MN en células exfoliadas del epitelio cervical posee grandes ventajas, como lo es ser una prueba sencilla, reproducible y de bajo costo. Además, puede llevarse a cabo sobre los mismos frotis cervicales obtenidos en el examen de Papanicolaou, sin necesidad de realizar una nueva toma de muestra o una tinción diferente,

logrando ser de gran utilidad en el monitoreo de la progresión de daño genético de pacientes que tienen un alto riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino y que, por tanto, debiesen ser controladas constantemente, a fin de evitar el desarrollo de dicha neoplasia. Por lo mismo, el conteo de cMN es una prueba que, de acuerdo con los estudios incluidos, podría ser utilizada en situaciones específicas durante el diagnóstico del examen de Papanicolaou, como lo son:

- En el diagnóstico LIEBG/LSIL, sería una herramienta auxiliar al momento de estimar la posibilidad de regresión dado que, los casos LIEBG/LSIL con una alta frecuencia de cMN tienen una menor probabilidad de regresión, a diferencia de aquellos casos que presentan una baja frecuencia de cMN, los que tienen una mayor probabilidad de regresión de la lesión.
- En el diagnóstico LIEAG/HSIL, contribuiría en la estimación del riesgo de desarrollo de esta lesión ya que, ante determinadas frecuencias de cMN se podría estimar con altos porcentajes de precisión, sensibilidad y especificidad, la presencia de una LIEAG/HSIL.
- En el diagnóstico ASCUS, aportaría información valiosa para discriminar si estas atipias celulares de origen indeterminado son atribuibles a un posible diagnóstico de inflamación o a uno de LIE, pues una elevada frecuencia de cMN permitiría sospechar que los cambios atípicos pesquisados son producto de una LIEBG/LSIL o LIEAG/HSIL enmascarada, mientras que, una baja frecuencia de cMN sugeriría que un proceso inflamatorio es el responsable de esos cambios.

Debido a lo recién expuesto, se puede concluir que la frecuencia de cMN como biomarcador de progresión de daño genético en frotis cervicales diagnosticados con lesiones precursoras de cáncer cervicouterino, además de ser una técnica aplicable, aporta información que complementa y apoya el diagnóstico del examen de Papanicolaou, facilitando la labor de los citotecnólogos y citopatólogos, sobre todo frente a la evaluación de frotis cervicales que resulten ser un desafío diagnóstico, lo que conlleva a un beneficio directo sobre las pacientes de mayor riesgo, gracias a la optimización de los métodos de detección temprana de estas lesiones intraepiteliales existentes en la actualidad.

Asimismo, es importante destacar que no existen investigaciones realizadas en Chile sobre la frecuencia de cMN en frotis cervicales, lo cual ofrece la oportunidad de

colaborar en la generación de conocimiento que permita complementar y reforzar las conclusiones presentadas.

9. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Granados M, Arrieta O, Hinojosa J. “Tratamiento del Cáncer”. 1ª ed. México D.F. : Editorial El Manual Moderno; 2016.
2. International agency for research on Cancer. World incidence mortality and prevalence by cancer site 2020 [Internet]. Lyon: GLOBOCAN; 2020. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>
3. Rosai J. Sistema reproductor femenino. Rosai & Ackerman Surgical Pathology. 10ª ed. Londres: Elsevier, 2011. P. 1436-1440.
4. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Jameson L, Longo D, Loscalzo J. Tumores ginecológicos. Harrison Principios de Medicina Interna. 19ª ed. Mexico D.F.: Mc Graw Hill, 2016. P. 595
5. Gravitt P, Winer R. Natural History of HPV Infection across the Lifespan, Role of viral Latency. *Viruses*. 2017; 9: 267-277.
6. Lacruz C. Nomenclatura de las lesiones cervicales de Papanicolaou a Bethesda 2001. *Revista Española de Patología*. 2003; 36 (1): 5-10.
7. Mohan H. “Textbook of Patology”. 6ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2010.
8. Terradas M, Martín M, Genescà A. Detection of Impaired DNA Replication and Repair in Micronuclei as Indicators of Genomic Instability and Chromothripsis. *Methods in Molecular Biology*. 2018; 1769: 197-208.
9. Patil D. “Emergence of micronuclei and apoptosis as potential biomarker of oral carcinogenesis: An updated review. *Asian Journal of Oncology*.2018; 4:11-6.
10. Wilde S, Queisser N, Holz C, Raschke M, Sutter A. “ Differentiation of aneuploids and clastogens in the in Vitro Micronucleus test by kinetochore scoring using automated image analysis”. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2019; 60: 227-242.
11. Kalsbeek D, Goldsteyn R. “G2/M Phase checkpoint adaptation and Micronuclei formation as mechanisms that contribute to genomic instability in Human cells”. *IJMC*.2017; 18.
12. Alcántara L, Terán Y, Alejandro O, Gallegos V. “Micronucleus assay in preneoplastic injuries of cervical cancer”. 2018; 7 (9): 23-25.

13. Tolbert P, Shy C, Allen J. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Research*. 1992; 271: 69-77.
14. Okamoto A, Utani K, Shimizu N. DNA replication occurs in all lamina positive micronuclei, but never in lamina negative micronuclei. *Mutagenesis*. 2012; 27 (3): 323-327.
15. Adhikari A. “Micronuclei (MN), an important cancer biomarker”. *Edelweiss Cancer*. 2019; 1: 37-42.
16. Cortés E, Dávila M, Vargas J, Hernández F, Cerda R. “Association between Human Papilloma Virus-type Infections with Micronuclei Frequencies”. *Prague Medical Report*. 2010; 111 (1): 35-41.
17. Franco L Dias F, Gregg L, Candido E. “Prevalence of micronuclei in exfoliated uterine cervical cells from patients with risk factors for cervical cancer”. *Sao Paulo Med Journal*. 2008; 126(6): 323-328.
18. Guzman P, Sotelo R, Mohar A, Gonsebatt M. “Positive Correlation Between the frequency of Micronucleated Cells and Dysplasia in Papanicolaou Smears”. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2003; 41 :339- 343.
19. DeVita V, Lawrence T, Rosenberg S. “Cancer Principles and Practice of Oncology: Primer of the molecular biology of Cáncer”. 2ª ed. Philadelphia : Wolters Kluwer Health; 2015.
20. Highlander S, Rodriguez F, White B. *Encyclopedia of Metagenomics*. Boston: Springer International Publishing, 2015.
21. Hanahan D, Weinberg R. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000; 100: 57-70.
22. Hanahan d, Weinberg R. The Hallmarks of Cancer: The next generation. *Cell*. 2011; 144.
23. Ritchie H, Roser M. Causes of death [Internet]. Our World in Data. 2018. Disponible en: <https://ourworldindata.org/causes-of-death>.
24. Arya L, Schwartz N. Sistema reproductor femenino. *Anatomía de Gray*. 41.ª ed. Londres: Elsevier; 2016. p. 1295.
25. Moore K, Dalley A, Agur A. *Pelvis y periné. Anatomía con orientación clínica*. 6.ª ed. Ontario: Wolters Kluwer; 2010. pp. 385–388.
26. Nauth F. *Citodiagnóstico Ginecológico*. 2004. 1ª ed. Editorial Médica Panamericana.
27. Lacruz C, Fariña J. *Citología ginecológica: de Papanicolaou a Bethesda*. 1ª ed. Madrid: Editorial Complutense; 2003.

28. Reich O, Regauer S, McCluggage W, Bergeron C, Redman C. Defining the Cervical Transformation Zone and Squamocolumnar Junction: Can we reach a common colposcopic and histologic definition.. *International Journal of Gynecological Pathology*. 2017; 00: 1-7.
29. Koss L, Melamed M. “Koss’ Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases”. 5^a ed. Philadelphia: Wolter Kluwers; 2006.
30. World Health Organization. *Comprehensive cervical cancer control, a guide to essential practice*. 2^a ed. Geneva. WHO; 2014: p 48.
31. International agency for research on Cancer. Chile: incidence mortality and prevalence by cancer site 2020 [Internet]. Lyon: GLOBOCAN; 2020. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/152-chile-fact-sheets.pdf>.
32. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecologic Oncology*. 2008; 110: 4-7.
33. Wang X, Huang X, Zhang Y. Involment of Human Papillomaviruses in Cervical Cancer. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9 : 1-14.
34. Gupta S, Kumar P, Das B. HPV: Molecular Pathways and targets. *Current problems in Cancer*. 2018; 42: 161-174.
35. Schiffman M, Castle P, Jeronima J, Rodriguez A, Wacholder S. Human papilomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2007; 370: 809-907.
36. Fang JH, Yu XM, Zhang SH, Yang Y. “Effect of smoking on high-grade cervical cancer in women on the basis of human papillomavirus infection studies”. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 2018;14(1):84-89.
37. Clement P, Young R. *Atlas of gynecologic surgical pathology*. 3^a ed. Londres: Elsevier Saunders, 2014. p 100-120.
38. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. “Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: Collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies”. *IJC*. 2005. 118: 1481–1495
39. Siokos G, Siokou O, Tzafetas I. “*Correlation between cervical carcinogenesis and tobacco use by sexual partners*”. *Hellenic Journal of Nuclear Medicine*. 2019 ; 22 (2): 184-190.

40. Mayadev J, Lim J, Johnson B, Valicenti R, Alvarez E. “*Smoking Decreases Survival in Locally Advanced Cervical Cancer Treated with Radiation Therapy*”. American Journal of Clinical Oncology. 2018; 41(3): 295-301.
41. Min K, Lee J, So K, Kim M. “*Association between passive smoking and the risk of cervical intraepithelial neoplasia 1 in Korean Women*”. Journal of Epidemiology. 2018; 28(1): 48-53.
42. Su B, Quin W, Xue F. “*The relation of passive smoking with cervical cancer*”. Medicine Journal. 2018; 97: 46.
43. Rehm J, Shield K. Alcohol Consumption. International Agency for Research on Cancer: World Cancer Report. 2018: 96-104.
44. Min K, Lee J, Lee S, Kim M. Alcohol consumption and viral load are synergistically associated with CIN1. PLoS One. 2013; 8(8).
45. Oh H, Seo S, Kim M, Lee D, Chung Y, Lim M, Kim J, Lee C, Park S. Synergistic effect of viral load and alcohol consumption on the risk of persistent high risk Human Papillomavirus infection. PLoS One. 2014; 9(8).
46. Stumbar S, Stevens M, Feld Z. Cervical cancer and its precursors. Primary Care: Clinics in office practice. 2018: 1-18.
47. La Vecchia C, Boccia S. Oral contraceptives, human papillomavirus and cervical cancer. European Journal of cancer prevention. 2014; 23(2): 110-112.
48. Louie K, Sanjose S, Díaz M, Castellsagué X, Herrero R, Meijer C, Franceschi S, Muñoz N, Bosch F. Early age at first sexual intercourse and early pregnancy as factors for cervical cancer in developing countries. British Journal of Cancer. 2009; 100: 1191-1197.
49. Chang Z, Dong W, Hui Y, Hua X, Dong S. Multiple sexual partners as a potential independent risk factor for cervical cancer: a meta analysis of epidemiological studies. Asian Pac J Cancer Prev. 2015; 16(9): 3893-3900.
50. Benard V, Johnson C, Thompson T, Roland K, Min S, Cokkinides V, Tangka F, Hawkins N, Lawson H, Weir H. Examining the Association Between Socioeconomic Status and Potential Human Papillomavirus-associated Cancers. American Cancer Society. 2008: 2910-2918.
51. Wang L, Zhu L, Ma N, Huang H, Zhang X, Li Y, Fang J. Association between asymptomatic sexually transmitted infections and high risk human papillomavirus in cervical lesions. Journal of international medical research. 2019; 47(11):5548-5559.

52. Gosh I, Muwonge R, Mittal S, Banerjee D, Kundu P, Mandal R, Biswas J, Basu P. Association between high risk human papillomavirus infection and co-infection with *Candida* spp. And *Trichomonas Vaginalis* in women with cervical premalignant and malignant lesions. *Journal of Clinical Virology*. 2017; 87: 43-48.
53. Smith J, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch X, Eluf J, Castellsagué X, Meijer C, Vand den Brule A, Franceschi S, Ashley R. Herpes Simplex Virus-2 as a Human Ppillovirus Cofactor in the Etiology of Invasive Cervical Cancer. *Cancer spectrum knowledge environment*. 2002; 94(21): 1604-1613.
54. Chirenje Z.M. HIV and cancer of the cervix. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2005; 19(2):269-276.
55. Dugué P, Rebolj M, Garred P, Lynge E. Immunosuppression and risk of cervical cancer. *Expert review of anticancer Therapy*. 2013; 13(1): 29-42.
56. Gray W, Kocjan G. *Diagnostic Cytopathology*. 3^a ed. Londres: Churchill Livingstone Elsevier; 2010. P 599-644.
57. Krause K, Nelson D, Butler S. Koilocytosis. [Updated 2020 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532958/>
58. Nayar R, Wilbur D. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology*. 3^a ed. New York: Springer International Publishing; 2015.
59. Dey P. *Diagnostic Cytology*. 1^a ed. Nueva Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd, 2014.
60. Bibbo M, Wilbur D. *Comprehensive Cytopathology*. 3^a ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2008
61. Naib Z. Pap Test. *The clinical Methods: The History, physical and laboratory examinations*. 3^a ed. 1990. 830-832.
62. Sachan P, Singh M, Lal Patel M, Sachan R. A study on cervical cancer screening using pap smear test and clinical correlation. *Asia Pacific Journal of Oncology Nursing*. 2018; 5: 337-341.
63. Tambouret R. The evolution of the Papanicolaou Smear. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2013; 53 (1): 3-9.
64. Kiernan J. *Histological and histochemical methods*. 3^a ed. Ontario: Arnold publishers, 2005.

65. Ministerio de Salud. Guía Clínica Cáncer Cervicouterino (CaCu). Santiago: Minsal; 2015: p 12.
66. Fica A, Prevención del cáncer cervicouterino en Chile. *Revista Chilena de Infectología*. 2014; 31(2): 196-203.
67. Leniz J, Van de Wyngard V, Lagos M, Barriga M, Puschel K, Ferreccio C. Detección precoz del cáncer cervicouterino en Chile: tiempo para el cambio. *Revista Medica de Chile*. 2014; 142: 1047-1055.
68. Miyazaki K, Ichikawa Y, Noriko S, Saitoh H. "Three Types of Nuclear Envelope Assemblies Associated with Micronuclei". *CellBio*. 2020; 9: 14-28.
69. Bhatia A, Kumar Y. Cancer cell micronucleus: an update on clinical and diagnostic applications. *Acta pathologica, microbiológica et inminologica scandinavica*. 2012; 121: 569-581.
70. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S, Fenech M. Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*. 2009; 4(6): 825-837.
71. Bueno C, Dornelles C, Barcellos R, Da Silva J, Dos Santos C, Sampaio J, Menezes H, Rossetti M. Association between cervical lesión grade and micronucleus frequency in the Papanicolaou test. *Genetics and Molecular Biology*. 2014; 37(3): 496-499.
72. Guo X, Ni j, Liang Z, Xue J, Fenech M, Xu W. "The molecular origins and pathophysiological consequences of micronuclei: New insights into an age old problem". *Reviews in Mutation Research*. 2019; 779: 1-35.
73. Kisurina O, Sutiagina O, Onishchenko G. "Biogenesis of Micronuclei". *Biochemistry Moscow*. 2016; 81 (5): 453-464
74. Luzhna L, Kathiria P, Kovalchuk O. "Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond". 2013; 4(131).
75. Norppa H, Falck G. "What do human micronuclei contain?". *Mutagenesis*. 2003; 18(3): 221-233.
76. Hintzche H, Hemmann U, Poth A, Utesch D, Lott J, Stopper H. "Fate of micronuclei and micronucleated cells". *Mutation research*. 2017; 771: 85-98.
77. Gaillar H, García T, Aguilera A. Replication stress and cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2015; 15(5): 276-289.

78. Hayes M, Li J. An integrative framework for the identification of double minute chromosomes using next generation sequencing data. *BMC Genetics*. 2015;16(2).
79. Terradas M, Martín M, Genescà A. Impaired nuclear functions in micronuclei results in genoma instability and chromothripsis. *Archives of Toxicology*. 2016.
80. Maas K, Rosing F, Ronchi P, Willmund K, Devens F, Hergt M, Herrmann H, Lichter P, Ernst A. Altered nuclear envelope structure and proteasome function of micronuclei. *Experimental cell research*. 2018.
81. Zhang C, Spektor A, Cornils H, Francis J, Jackson E, Liu S, Meyerson M, Pellman D. Chromothripsis from DNA damage in Micronuclei. *Nature*. 2015; 522: 179-184.
82. Crasta K, Ganem N, Dagher R, Lantermann A, Ivanova E, Pan Y, Nezi L, Protopopov A, Chowdhury D, Pellman D. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis. *Nature*. 2012; 482: 53-58.
83. Rello Varona S, Lissa D, Shen S, Niso M, Senovilla L, Mariño G, Vitale I, Jemaà M, Harper F, Pierron G, Castedo M, Kroemer G. Autophagic removal of micronuclei. *Cell Cycle*. 2012; 11(1): 170-176.
84. Bartsch K, Knittler K, Borowski C, Rudnik S, Damme M, Aden K, Spehlmann M, Frey N, Saftig P, Chalaris A, Rabe B. Absence of RNase H2 triggers generation of immunogenic micronuclei removed by autophagy. *Human Molecular Genetics*. 2017.
85. Shimizu N, Shimura T, Tanaka T. Selective elimination of acentric double minutes from cancer cells through the extrusion of micronuclei. *Mutation Research*. 2000; 448: 81-90.
86. Reimann H, Stopper H, Hintzsche H. Long-term fate of etoposide-induced micronuclei and micronucleated cells in HeLa.h2B-GFP cells. *Archives of Toxicology*. 2020; 94: 3553-3561.
87. Sommer S, Buraczewska I, Kruszewki M. Micronucleus Assay: the state of art, and future directions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21: 1534.
88. Thomas P, Fenech M. Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay in Lymphocytes. *Methods in Molecular Biology: DNA Damage Detection In Situ, Ex Vivo, and In Vivo*. Springer Science. 2011: 217–234.
89. Center for the Food Safety and Applied Nutrition. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. *Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients*. EE. UU. FDA. 2017.

90. Ladeira C, Smajdova L. "The use of genotoxicity biomarkers in molecular epidemiology: applications in environmental, occupational and dietary studies". *Genetics*. 2017; 4(3) : 166-191.
91. Torres O, Zavala M, Nava A, Flores A, Ramos M. "Potencial uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells". *Disease Markers*. 2014.
92. Califf R. Biomarkers definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine*. 2018; 243: 213-221.
93. Heddle J, Cimino M, Hayashi M, Romagna F, Shelby M, Tucker J, Vanparys P, MacGregor J. "Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future". *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1991; 18: 277-291.
94. Jois Harshvardhan, Kale A, Kumar M. "Micronucleus as potential biomarker of oral carcinogenesis". *Indian Journal of Dental Advancements*. 2010; 2(2): 197-201.
95. Bhatia A, Kumar Y. Cancer cell micronucleus: an update on clinical and diagnostic applications. *Acta pathologica, microbiológica et immunologica scandinavica*. 2012; 121: 569-581.
96. Holland N, Bolognesi C, Kirsch M, Bonassi S, Knasmueller S, Fenech M. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN Project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*. 2008; 659: 93-108.
97. Giridharan J, Natarajan U, Kotasthane D. "Predictive Value of Micronucleus Cpunt in Cervical Smears of Normal, Infective Inflammatory & Intraepithelial Neoplasia Pathology in Perimenopausal Woman". *International Journal of Science and Research*. 2014; 3 (10): 1571-1574.
98. Ambroise M, Balasundaram K, Phansalkar M. Predictive Value of Micronucleus Count in cervical intraepithelial neoplasia en carcinoma. *Turk Patoloji Derg*. 2013; 29: 171-178.
99. Bhat A, Vijaya C, Padmasri R. Apoptosis and micronucleus in cervical pap smears: promising assays to increase the diagnostic value of the test. *APALM*. 2016; 3(4): 320-328.
100. Gayathri B, Kalyani R, Hemalatha A, Vasavi B Significance of micronucleus in cervical intraepithelial lesions and carcinoma.. *Journal of Cytology*. 2012; 29(4): 236-240.
101. Kumbhar S, Kanetkar J, Mane A, Gore A, Kau P, Dad A. Study of micronuclei in cervical pap smear. *International journal of research in pharmaceutical sciences*. 2020; 11(3): 4468-4472.

102. Mahanta T, Saha D, Roy P, Agarwal I, Maiti B, Kumar N. Does micronucleus score significantly correlate with dysplasia in cervical pap smear. *Journal of medical sciences*. 2020; 40(6): 251-256.
103. Navya B, Supriya S, Geeta D, Alva S. Micronucleus test as a prognostic marker in cervical lesions on pap smear. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences*. 2016; 4(10): 3758-3763.
104. Rathod G, Jain M, Vachhani D, Chandra A, Balar M. Significance of micronucleus in the whole spectrum of uterine cervical lesions. *International Archives of Integrated Medicine*. 2016; 3(1): 18-23.
105. Samanta S, Dey P, Nijhawan R. Micronucleus in cervical intraepithelial lesions and carcinoma. *Acta Cytologica*. 2011; 55: 42-47.
106. Samanta S, Dey P, Gupta N, Mouleeswaran, Nijhawan R. Micronucleus in atypical squamous cells of undetermined significance.. *Diagnostic Cytopathology*.2010; 39(4): 242-244.
107. Shi Y, Wang B, Tuokan T, Li Q, Zhang Y. Association between micronucleus frequency and cervical intraepithelial neoplasia grade in Thinprep cytological test and its significance. *IJCEP*. 2015; 8(7):8426- 8432.
108. Srivastava A, Shanker J, Ahmad R. Assessment of Micronuclei count as tumor marker in cervical carcinogenesis: a follow up study. *Cytopathology* 2020; 31(4): 292-297.
109. Hull R, Mbele M, Makhafola T, Hicks C, Wang S, Reis R, Mehrota R, Mkhize Z, Kibiki G, Bates D, Dlamini Z. Cervical cancer in low and middle income countries (Review). *Oncology letters*. 2020; 20: 2058-2074.
110. Ferreccio C. New strategies for the prevention and control of cervical cancer in Chile. *Salud Publica Mex*. 2018; 60:713-721.
111. Marín M. Características sociodemográficas y su relación con la cobertura de Papanicolaou, Chile 2009-2014. [Posgrado]. Universidad de Chile. 2017
112. Léniz J, Van de Wyngard V, Lagos M, Barriga M, Puschel K, Ferreccio C. Early detection of cervical cancer in Chile: Time for change. *Rev Med Chile*. 2014; 142: 1047-1055.

113. Leyden W, Manos M, Geiger A, Weinmann S. Cervical cancer in women with comprehensive health care Access: Atributable factors in the screening process. *Journal of the National Cancer Institute*. 2005; 97: 675-683.
114. Fenech M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*. 2002; 181: 411-416.
115. Fenech M, Holland N, Kirsch M, Knudsen L, Wagner K, Stopper H, Knasmueller S, Bolognesi C, El-Zein R, Bonassi S. Micronuclei and disease- Reporto f HUMN Project workshop at Rennes 2019 EEMGS conference. *Mutat Res Gen Tox En*. 2020.
116. Samanta S, Pranab D. Micronucleus and its applications. *Diagnostic Cytopathology*. 2012; 40(1): 84-90.
117. Arbyn M, Weirderpass E, Bruni L, Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, Bray F. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *Lancet Global Health*. 2020;8(2):191-203.
118. Costa R, Longatto A, Pinheiro C, Zeferino L, Fregnani J. Historical Analysis of the Brazilian Cervical Cancer Screening Program from 2006 to 2013: A Time for Reflection. *PLoS ONE*. 2015;10(9).
119. Costa R, Longatto A, Lima F, Pinheiro C, Zeferino L, Tavares J. Trend analysis of the quality indicators for the Brazilian cervical cancer screening programme by region and state from 2006 to 2013. *BMC Cancer*. 2018; 18:126.
120. Fenech M, Holland N, Zeiger E, Chang W, Burgaz S, Thomas P, et al. The HUMN and HUMNxl international collaboration Project son human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells- past, present and future. *Mutagenesis*. 2011; 26(1): 239-245.
121. Bonassi S, Coskun E, Ceppi M, Lando C, Bolognesi C, Burgaz S, Holland N, KirshVolders M, Knasmueller S, Zeiger E, Carnesoltas D, Cavallo D, da Silva J et al. The HUmAn MicroNucleus project on eXfoLiAted buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat Res*2011;728(3):88-97.
122. Gupta J, Gupta K, Agarwal R. Comparison of different stains in exfoliated oral mucosal cell micronucleus of potentially malignant disorders of oral cavity. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2019; 15: 615-9.

123. Arul P, Shetty S, Suresh M, Akshatha C. Micronucleus Assay in Exfoliated Buccal Epithelial Cells Using Liquid Based Cytology Preparations in Building Construction Workers. *Iranian Journal of Pathology*. 2018; 13(1): 30-37.
124. Bosch X, Burchell A, Schiffman M, Giuliano A, Sanjose S, Bruni L, Tortolero G, Kruger S, Muñoz N. Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type- Specific Implications in Cervical Neoplasia. *Vaccine*. 2008; 26: 1-16.
125. Au W, Abdou S, Sierra C, Al-Hendy A. Environmental risk factors for prevention and molecular intervention of cervical cancer. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2007; 210: 671- 678.
126. Balasubramaniam S, Balakrishnan V, Oon C, Kaur G. Key molecular events in cervical cancer development. *Medicina*. 2019; 55: 384.
127. Cassel A, Barcellos R, Dornelles C, Almeida S, Rossetti M. Association between HPV DNA and micronuclei in normal cervical cytology. *Genetics and Molecular Biology*.2014; 37(2): 360-363.
128. Prati B, Marangoni B, Boccardo E. Human papilomavirus and genoma instability: from productive infection to cancer. *Clinics*.2018; 73(1): 539.
129. Cortés E, Dávila M, Cerda R. Chromosomal damage and prognosis marker in cervical carcinogenesis. *Cytology and Genetics*.2014; 48(3): 180-188
130. Nersesyan A. Possible role of the micronucleus assay in diagnostic and secondary prevention of cervix cancer: a minireview. *Cytology and Genetics*. 2007; 41(5): 317-318.
131. Adam M, Pini C, Tulio S, Lins J, Torres R, Dos Santos R. assesment of the association between MN and the degree of uterine lesions and viral load in women with human papilomavirus. *Cancer Genomics and Proteomics*. 2015; 12: 67-72.
132. Aires G, Meireles J, Oliveira P, Araujo E, Pires B, Cruz E, Jesus N et al. Micronuclei as biomarkers for evaluating the risk of malignant tranformation in the uterine cervix. *Genetics and molecular research*. 2011; 10(3): 1558-1564.
133. Cerqueira E, Santoro C, Donozo N, Freitas B, Braganca C, Bevilacqua R, Machado G. Genetic damage in exfoliated cells of the uterine cervix: association and interaction between cigarette smoking and progression to malignant transformation? *Acta Cytologica*.1998; 42(3):639-649.

10.ANEXOS

10.1. ANEXO A: Resumen de búsqueda y selección de estudios

Tabla A.1 **Detalle de los resultados de búsqueda de artículos en seis bases de datos.**

Base de Datos	N° de artículos encontrados
Medline (PUBMED)	126
SCIELO	13
Science Direct	30
Scopues	141
Springer Link	183
Web of Science	24
TOTAL	517

Tabla A.2 **Detalle de la selección de artículos, según contenido de título y resumen, repeticiones y criterios de inclusión.**

Criterio de selección de artículos	Cantidad de estudios
Estudios seleccionados posterior a la evaluación de los apartados título y resumen	62
Estudios eliminados por tratarse de revisiones sistemáticas	1
Estudios eliminados por ser duplicados	34
Estudios eliminados por tratarse de minirevisión	1
Estudios eliminados por no cumplir con criterio de idioma	1
Estudios eliminados por encontrarse fuera del período de publicación 2010-2020	3
Estudios eliminados por no aplicar la coloración de Papanicolaou	5
Estudios eliminados por no abordar la frecuencia de MN en Lesiones Precursoras de Cáncer Cervicouterino	5
Estudios seleccionados posterior a la aplicación de criterios de inclusión	12