ANÁLISIS GEOMÉTRICO DE LESIONES PRENEOPLÁSICAS Y NEOPLÁSICAS DE CUELLO UTERINO EN CÉLULAS DE CITOLOGÍA VAGINAL

JAVIER RODRÍGUEZ VELÁSQUEZ, JOSÉ FERNANDO GIRALDO, FREDDY BARRIOS, SIGNED PRIETO, CATALINA CORREA, YOLANDA SORACIPA, JAIRO JATTIN, DANILO PINZÓN

GRUPO INSIGHT, UNIVERSIDAD DE MAIZALES. BOGOTÁ, COLOMBIA

RESUMEN

A través de la geometría fractal y euclidiana se han logrado cuantificar las anormalidades preneoplásicas y neoplásicas de las células del cuello del útero observadas en extendidos citológicos, estableciendo diferencias objetivas y reproducibles de células normales, con lesión de bajo grado y con lesión de alto grado. **OBJETIVO:** Confirmar la capacidad diagnóstica del método físico-matemático de evaluación desarrollado para diferenciar células del cérvix, mediante un estudio ciego. **MÉTODO:** Se tomaron 60 muestras de citología cervical, enmascarando su diagnóstico convencional; se realizó un análisis fotográfico de los extendidos para delimitar las superficies y bordes del núcleo y del citoplasma. Se evaluaron las dimensiones fractales y los espacios de ocupación de cada objeto, y se determinó su diagnóstico matemático con base en los criterios previamente establecidos. Se realizó un estudio ciego para establecer la concordancia entre el diagnóstico convencional y el matemático, calculando valores de sensibilidad, especificidad y coeficiente Kappa. **RESULTADOS:** Se observó una diferencia entre las células normales de las L-SIL y H-SIL mediante los tamaños nucleares y citoplasmático del borde y superficie, así como la relación entre ambos. Los valores de especificidad y sensibilidad fueron del 100 % con un coeficiente Kappa de 1. **CONCLUSIONES:** El método matemático desarrollado permite diferenciar objetivamente la evolución de las lesiones cervicales estudiando el frotis vaginal, aclarando además el estado de normalidad o anormalidad de las células ASCUS.

PALABRAS CLAVE: Fractal, cuello del útero, diagnóstico, frotis vaginal, citología.

SUMMARY

Through the Euclidean and the fractal geometry has been made to quantify the neoplastic and the preneoplastic abnormalities of the cervix cells observed in extended cytology, establishing objective and reproducible differences from the normal cells with lesion of low grade and the high grade lesion. **OBJECTIVE:** To confirm the diagnostic capability of the mathematical method of assessment developed to differentiate the cells of the cervix, using a blind study. **METHOD:** Took 60 samples of cervical cytology, masking its conventional diagnostics; they were a photographic analysis of the extended to demarcate the surfaces and edges of the nucleus and the cytoplasm. The Fractal dimensions and spaces of occupation of each object is evaluated, and determined the mathematical diagnosis based on the previously established criteria. A blind study was conducted to establish the concordance between the conventional diagnosis and the mathematician, calculating sensitivity, specificity and Kappa coefficient values. **RESULTS:** It was observed a difference between the normal cells of the L-SIL and H-SIL by nuclear and cytoplasmic edge and surface sizes, as well as the relationship between the two. The values of sensitivity and specificity were 100 % with a 1 Kappa coefficient. **CONCLUSIONS:** The mathematical method developed allows us to objectively distinguish the evolution of the cervical lesions studying the vaginal smear, clarifying likewise the status of the normality or abnormality of the ASCUS cells.

KEY WORDS: Fractal, neck of the uterus, diagnosis, vaginal smear, cytology.

Recibido: 10/12/2018 Revisado: 04/02/2019
Aceptado para publicación: 18/03/2019

Correspondencia: Dr. Javier Rodríguez V. Cra 79B No.
51-16 sur Int 5, Apt 102. Bogotá, Colombia. E-mail:
grupoinight2025@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

Las estructuras que se encuentran en el cuerpo humano por lo general tienen una forma irregular⁽¹⁾, pero clásicamente han sido medidos desde la geometría euclidiana, que se ocupa de estudiar los objetos regulares. Sin embargo, se ha evidenciado que la aplicación de medidas euclidianas en el contexto de estructuras irregulares puede llevar a resultados paradójicos, como lo ha sido la medición de las costas de Gran Bretaña, por lo cual la geometría fractal, encargada de estudiar las figuras irregulares, ha surgido como medio de análisis⁽²⁾. Uno de los métodos para la caracterización de las estructuras anatómicas mediante la geometría fractal es el método de Box-Counting, que indica su grado de irregularidad a partir del establecimiento de su dimensión fractal⁽³⁾.

La incidencia de las enfermedades no transmisibles ha ido en aumento en el mundo, por el incremento del tiempo de vida, la exposición a factores de riesgo y otros, siendo el cáncer una de las enfermedades que ha aumentado⁽⁴⁾. Dentro de estas patologías, el cáncer cervical es la causa más común de muerte en países en desarrollo⁽⁵⁾, particularmente en África, Centro y Sur América⁽⁶⁾ convirtiéndose en un indicador de inequidad en salud pues el 86 % de las muertes por cáncer cervical se dan en estos países⁽⁷⁾. Para Colombia se determinó una incidencia del 2008 de 4 736 casos con una tasa de mortalidad de 10 por 100 000 habitantes⁽⁸⁾. Causalmente, se le ha relacionado con el virus del papiloma humano⁽⁹⁾, atribuyéndose generalmente a los serotipos 16, 18, 31, 33 y 45⁽¹⁰⁾. La sobrevivencia a 5 años en pacientes con cáncer estadio 0 es cercana al 93 %, mientras que para el estadio IVA-B es del 15 %-16 %⁽¹¹⁾, relacionándose algunos factores como un nivel educativo y socio-económico bajo y no el no haberse realizado una prueba de Papanicolaou⁽¹²⁾, de la cual se han establecido

sus valores de sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivo y negativo en 57 %, 75 %, 26 % y 92 % respectivamente⁽¹³⁾. Sin embargo, a pesar de que se considera uno de los métodos de tamizaje de cáncer cervical, suelen encontrarse serias discrepancias inter e intra-observador, lo que puede suponerse principalmente a las dificultades de establecer diferencias cualitativas^(14,15).

Por lo anterior, fue necesaria la introducción de un sistema que integre los conceptos con los cuales se evalúan los extendidos de la citología mundialmente para así reducir estos errores, dentro del cual el más usado es el sistema Bethesda⁽¹⁶⁾. Sin embargo, persisten las limitaciones a la hora de definir morfológicamente las lesiones celulares, ejemplificadas a través de las células escamosas atípicas de significado indeterminado, que continúan siendo un reto diagnóstico^(14,17).

Partiendo desde la geometría fractal y la metodología de *Box-Counting*, se han estudiado las citologías cervicales, particularmente a través de mediciones que se realizan sobre imágenes que contemplan el núcleo y el citoplasma celular⁽¹⁸⁾ así como sus límites. Con base a estos estudios, se ha llegado a establecer valores que determinan la normalidad así como las lesiones de bajo y alto grado, incluyendo a las atipias de células escamosas de significado indeterminados *ASCUS*⁽¹⁹⁾ y cómo estas se comportan en el tiempo, es decir, si estas viran hacia alguna de las lesiones de bajo o alto grado⁽²⁰⁾.

El propósito de esta investigación es aplicar la metodología⁽¹⁸⁾ basada en el análisis geométrico y matemático para distinguir las células cervicales normales de aquellas con algún grado lesión o si son de significado incierto, confirmando así su capacidad diagnóstica.

MÉTODO

Definiciones

Dimensión fractal de *Box-Counting*: elemento empleado para evaluar numéricamente la irregularidad de los objetos, en este caso, de los fractales caóticos, expresada por la ecuación 1:

$$D = \frac{\text{Log } N(2^{-(K+1)}) - \text{Log } N(2^{-K})}{\text{Log } 2^{K+1} - \text{Log } 2^K} = \text{Log}_2 \frac{N(2^{-(K+1)})}{N(2^{-K})} \text{ ecuación 1.}$$

Siendo D la dimensión fractal; N la cantidad de cuadros ocupados por el objeto y K la partición de la rejilla.

Superficie de los objetos: cantidad de píxeles que el núcleo y el citoplasma ocupan.

Borde del objeto: cantidad de píxeles que el borde del núcleo y el citoplasma ocupan con la rejilla de 2 píxeles.

Relación citoplasma-núcleo: relación entre las cifras obtenidas del borde del citoplasma y el núcleo.

Procedimiento

A partir de los registros de la base de datos del grupo Insight se seleccionaron 60 muestras tomadas en el año 2018 de mujeres entre los 20 a 55 de edad de citologías cervicales uterinas que van desde la normalidad a varias lesiones incluyendo el carcinoma acorde al criterio de un patólogo, correspondiendo 15 anormales, 15 L-SIL, 15 H-SIL y 15 ASCUS. Estos diagnósticos fueron encubiertos para poder establecer un estudio ciego.

Posteriormente, se observan los extendidos cervicales con un microscopio óptico tomando un registro fotográfico con una cámara digital que es transferido a un computador y es analizado mediante el procesador de imágenes, el cual se usa para delimitar los bordes citoplasmático y nuclear de todas las fotografías. Luego, se sobrepone una rejilla de 2 píxeles y otra de 4 píxeles para calcular la dimensión fractal del núcleo y del citoplasma

mediante un programa empleado previamente⁽¹⁸⁾ para después cuantificar el borde y la superficie de los objetos para así poder calcular la relación del citoplasma y el núcleo.

Con base a las cifras obtenidas de la superficie citoplasmática y nuclear siguiendo una metodología previa⁽²⁰⁾, se procede a construir criterios para clasificar a las células en normales y con lesión intraepitelial de bajo grado (L-SIL) o lesión intraepitelial de alto grado (H-SIL).

Para el análisis estadístico se procede a enmascarar los diagnósticos de las muestras estudiadas y se toma como *gold standard* su análisis histopatológico por un patólogo, para poder evaluar la concordancia diagnóstica de la prueba. Lo anterior, es evaluado a través de una tabla de contingencia para calcular el coeficiente Kappa, integrando tanto a la lesión intraepitelial de bajo grado como a la de alto grado dentro del mismo grupo patológico, definiendo los verdaderos positivos (VP) como las muestras consideradas patológicas acorde tanto al diagnóstico matemático como del obtenido por citología; los falsos positivos (FP) siendo las muestras consideradas como normales por citología pero patológicas matemáticamente; los verdaderos negativos (VN) siendo las muestras evaluadas como normales por la citología y por el método matemático y los falsos negativos (FN) siendo las muestras evaluadas como anormales por la citología pero normales por el método matemático.

RESULTADOS

Se obtuvieron cifras de la superficie nuclear de 17 a 40 para establecer la normalidad, para la L-SIL entre 70 a 153, para la H-SIL de 186 a 218 y para las *ASCUS* de 33 a 206. Con estas cifras se logra hacer una diferenciación entre H-SIL, L-SIL y las células normales (Cuadro 1).

Las cifras de la medición de la superficie citoplasmática fueron de 358 a 1 412 para la normalidad, para las L-SIL entre 443 a 1 008, para la H-SIL de 712 a 895 y para las *ASCUS* 617 a 986. La relación citoplasma y núcleo fue de 10,48 a 58,29 para establecer la normalidad,

para la L-SIL entre 3,07 a 12,31 para la H-SIL de 2,99 a 4,59 y de 2,99 a 29,789 para las *ASCUS*.

Análisis estadístico

Una vez definida la tabla de contingencia para VN, VP, FN y FP se procedió a desenmascarar los diagnósticos histopatológicos y se realizó una comparación con los diagnósticos matemáticos para establecer los valores de sensibilidad y especificidad, los cuales fueron del 100 %. Igualmente, se calculó el coeficiente Kappa que resultó de 1. Se excluyeron las muestras catalogadas como *ASCUS* del análisis estadístico al no tener un método diagnóstico específico.

Cuadro 1. Comparación de diagnósticos matemáticos y evaluación histológica de las células cervicales.

Número de células	Diagnóstico matemático	C	N	C/N	Evaluación histológica
1	N	991	17	58,294	N
2	N	1412	40	35,3	N
3	N	986	33	29,879	ASCUS
4	N	358	33	10,848	N
5	N	1085	25	43,4	N
6	LSIL	443	144	3,076	ASCUS
7	LSIL	642	92	6,978	LSIL
8	LSIL	862	70	12,314	ASCUS
9	LSIL	653	153	4,268	LSIL
10	LSIL	1008	124	8,129	N
11	HSIL	751	186	4,038	HSIL
12	HSIL	895	195	4,59	HSIL
13	HSIL	617	206	2,995	ASCUS
14	HSIL	712	199	3,577	HSIL
15	HSIL	849	218	3,894	HSIL

C: citoplasma; N: núcleo; C/N: relación citoplasma-núcleo.

DISCUSIÓN

Este es el primer trabajo en el que se realiza un análisis geométrico fractal y euclidiano aplicado

a la citometría cervical para establecer una concordancia entre el diagnóstico histopatológico y el matemático con respecto a la normalidad, las lesiones de bajo o alto grado y para evaluar

el comportamiento de las células *ASCUS*. Para esto, se emplearon mediciones de la superficie nuclear y citoplasmática así como su relación y los límites entre ambas imágenes para determinar de una manera cuantitativa estos diagnósticos. La cuantificación de las medidas de la superficie nuclear permitió la diferenciación de las células normales de aquellas con lesión de bajo grado y las *ASCUS*, las cuales matemáticamente presentan el comportamiento de las previas. Cuando se aplica la resta de los límites del citoplasma y del núcleo se puede diferenciar la lesión de alto grado y las células normales. Esto provee un marco de referencia numérico para poder establecer un diagnóstico, más allá de los parámetros cualitativos habitualmente usados.

Previamente se habían realizado investigaciones de morfometría cervical en los que se pudo concluir que la medición de la dimensión fractal⁽²¹⁾ mediante el método de *Box-Counting* no era suficiente para poder establecer diferencias cuantitativas precisas de la normalidad y la patología, por lo cual fue necesario integrar el análisis de las superficies y límites tanto citoplasmáticos como nucleares^(22,23). En este trabajo es posible confirmar la aplicación clínica de la metodología desarrollada⁽¹⁸⁾ para evaluar la dinámica celular normal a estados patológicos⁽²⁴⁾.

Típicamente, la diferenciación clínica de las células se hace a través de las características morfológicas bajo la microscopía obtenidas a través de los extendidos de la citología cervical, sin embargo, la distinta interpretación que acarrea estas visualizaciones genera errores de reproducibilidad y haciendo un poco más difícil evaluar la progresión de las lesiones por elementos como las *ASCUS*^(14,25,26). En esta metodología no se hace uso de criterios cualitativos para concluir diagnósticos, además de que es posible diferenciar las *ASCUS* como lesiones de bajo grado.

De manera general en la práctica médica, los análisis estadísticos y aquellos que involucran

grandes series de pacientes han sido usados para establecer patrones de causa-efecto, pero sus resultados no son extrapolables cuando se cambia alguno de los parámetros evaluados con la población. Esta metodología se fundamenta en el pensamiento de la física teórica y de la matemática, con la cual se generan inducciones de los fenómenos de la naturaleza descritos por teorías y así poder aplicar las metodologías y conclusiones a todos los casos particulares que se encuentren independientemente de las variables estadísticas o factores de riesgo.

Siguiendo esta línea de pensamiento se han generado otras metodologías que buscan establecer diferencias cuantitativas objetivas y reproducibles de condiciones clínicas e investigación básica, principalmente en el área de la inmunología prediciendo la unión de péptidos al HLA⁽²⁷⁾, predicción de mortalidad en la unidad de cuidados intensivos⁽²⁸⁾, epidemias de malaria⁽²⁹⁾ y el estudio de las arterias coronarias⁽³⁰⁾.

Agradecimientos: Agradecemos a la Universidad de Manizales, por la financiación del presente proyecto. **Dedicación.** A nuestros hijos.

REFERENCIAS

1. Goldberger A, Rigney DR, West B. Caos y Fractales en la fisiología humana. *Investigación y Ciencia*. 1990;163:32-38.
2. Mandelbrot B. En: Mandelbrot B, editor. *Los objetos fractales*. España: Tusquets Editores SA; 2000.p.13-26.
3. Peitgen HO, Jurgens H, Saupe D. En: Peitgen HO, Jurgens H, Saupe D. *Chaos and Fractals; New frontiers of science*. New York: Springer Verlag; 1992.
4. Ghoncheh M, Pournamdar Z, Salehiniya H. Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(S3):43-46.
5. Denny L. Cervical cancer: Prevention and treatment.

- Discov Med. 2012;14:125-131.
6. Globocan. Cervical Cancer. Estimated incidence, Mortality and prevalence Worldwide in 2012. [Consultado 24/06/2018]. Disponible en: URL: <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/cervix-new.asp>
 7. Sreedevi A, Javed R, Dinesh A. Epidemiology of cervical cancer with special focus on India. *Int J Womens Health*. 2015;7:405-414.
 8. Muñoz N, Bravo LE. Epidemiología del cáncer cervical en Colombia. *Salud pública Mex*. 2014;4:56:431-439.
 9. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2013;382:889-899.
 10. Aref M, Freeman T. Cervical cancer prevention and screening: The role of human papillomavirus testing. *The Obstetrician & Gynaecologist*. 2016;18:251-263.
 11. American Cancer Society. Survival rates for cervical cancer, by stage. 2017. [Consultado el 24/06/2018]. Disponible en: URL: <https://www.cancer.org/cancer/cervical-cancer/detection-diagnosis-staging/survival.html>
 12. Behnamfar F, Azadehrah M. Factors associated with delayed diagnosis of cervical cancer in Iran-a survey in Isfahan City. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(2):635-639.
 13. Barut MU, Kale A, Kuyumcuoğlu U, Bozkurt M, Ağaayak E, Özekinci S, et al. Analysis of sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values of smear and colposcopy in diagnosis of premalignant and malignant cervical lesions. *Med Sci Monit*. 2015;21:3860-3867.
 14. Schmidt, JL, Henriksen JC, McKeon DM, Savik K, Gulbahce HE, Pambuccian SE. Visual estimates of nucleus-to-nucleus ratios: Can we trust our eyes to use the Bethesda ASCUS and LSIL size criteria? *Cancer*. 2008;114(5):287-293.
 15. Geisinger KR, Vrbin C, Grzybicki DM, Wagner P, Garvin AJ, Raab SS. Interobserver variability in human papillomavirus test results in cervico vaginal cytologic specimens interpreted as atypical squamous cells. *Am J Clin Pathol*. 2007;128(6):1010-1014.
 16. Nayar R, Wilbur D. The Bethesda System for reporting cervical cytology: A historical perspective. *Acta Cytol*. 2017;61:359-372.
 17. Quinn AM, Minhajuddin AT, Hynan LS, Reisch JS, Cibas ES. Agreement between cytotechnologists and cytopathologists as a new measure of cytopathologist performance in gynecologic cytology. *Cancer Cytopathol*. 2017;125(7):576-580.
 18. Prieto S, Rodríguez J, Correa C, Soracipa Y. Diagnosis of cervical cells based on fractal and Euclidian geometrical measurements: Intrinsic geometric cellular organization. *BMC Med Phy*. 2014;14:2 doi: 10.1186/1756-6649-14-2.
 19. Rodríguez J, Prieto S, Tabares L, Rubiano A, Prieto I, Domínguez D, et al. Evolución de células de cuello uterino desde normales hasta atipias escamosas de significado indeterminado (ASCUS) con geometría fractal. *Rev UDCA Act & Div Cient*. 2013;16(2):303-311.
 20. Rodríguez J, Prieto S, Melo M, Domínguez D, Cardona DM, Correa C, et al. Simulación de rutas de alteración de células de cuello uterino desde el estado normal hasta lesión intraepitelial de bajo grado. *Rev UDCA Act & Div Cient*. 2014;17(1):5-12.
 21. Rodríguez J, Prieto S, Ortiz I, Wiesner C, Díaz M, Correa C. Descripción matemática con dimensiones fractales de células normales y con anomalías citológicas de cuello uterino. *Rev Cienc Salud Bogotá (Colombia)*. 2006;4(2):58-63.
 22. Rodríguez J, Prieto S, Correa C, Posso H, Bernal P, Puerta G, et al. Generalización fractal de células preneoplásicas y cancerígenas del epitelio escamoso cervical. Una nueva metodología de aplicación clínica. *Rev Med*. 2010;18(2):173-181.
 23. Rodríguez J, Prieto S, Correa C, Soracipa Y, Polo F, Pinilla L, et al. Metodología diagnóstica geométrica fractal y euclidiana de células de cuello uterino. *IATREIA*. 2014;27(1):5-13.
 24. Velásquez J, Prieto S, Catalina C, Domínguez D, Cardona DM, Melo M. Geometrical nuclear diagnosis and total paths of cervical cell evolution from normality to cancer. *J Cancer Res Ther*. 2015;11(1):98-104.
 25. Landy R, Castanon A, Hamilton W, Lim AW, Dudding N, Hollingworth A, et al. Evaluating cytology for the detection of invasive cervical cancer. *Cytopathology*. 2016;27(3):201-209.
 26. Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: A systematic review. *Ann Intern Med*. 2000;132:810-819.
 27. Rodríguez J. Teoría de unión al HLA clase II teorías de probabilidad combinatoria y entropía aplicadas a secuencias peptídicas. *Inmunología*. 2008;27(4):151-166.
 28. Rodríguez J. Dynamical Systems applied to dynamic variables of patients from the intensive care unit (ICU): Physical and mathematical mortality predictions on

-
- ICU. *J Med Med Sci*. 2015;6(8):209-220.
29. Rodríguez J. Método para la predicción de la dinámica temporal de la malaria en los municipios de Colombia. *Rev Panam Salud Pública*. 2010;27(3):211-218.
30. Rodríguez J, Prieto S, Correa C, Bernal P, Puerta G, Vitery S, et al. Theoretical generalization of normal and sick coronary arteries with fractal dimensions and the arterial intrinsic mathematical harmony. *BMC Medical Physics*. 2010;10:1-6.