ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Ανασκόπηση της σύγχρονης πραγματικότητας στη διαδικασία πρόληψης του καρκίνου τραχήλου της μήτρας

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Χρήστος Α. Παπακωνσταντίνου

Επιβλέπων: Δημήτριος-Διονύσιος Κουτσούρης
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Οκτώβριος 2012

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

Ανασκόπηση της σύγχρονης πραγματικότητας στη διαδικασία πρόληψης του καρκίνου τραχήλου της μήτρας

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Χρήστος Α. Παπακωνσταντίνου

Επιβλέπων: Δημήτριος-Διονύσιος Κουτσούρης
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 30η Οκτωβρίου 2012.

.....	…….	…….
Δ.-Δ. Κουτσούρης	Γ. Ματσόπουλος	Π. Καρακίτσος
Καθηγητής Ε.Μ.Π.	Επ. Καθηγητής Ε.Μ.Π.	Αν. Καθηγητής Κυτταρολογίας Ε.Κ.Π.Α.

Αθήνα, Οκτώβριος 2012

……..
Χρήστος Α. Παπακωνσταντίνου

Διπλωματούχος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.

Copyright ©Χρήστος Α. Παπακωνσταντίνου, 2012.
Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Περίληψη

Η παρούσα εργασία ασχολείται με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, ο οποίος δυστυχώς χαρακτηρίζεται από υψηλά ποσοστά θνησιμότητας ανάμεσα στις γυναίκες που έχουν προσβληθεί από τη συγκεκριμένη νόσο.

Η αντιμετώπιση επομένως του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας αποτελεί ένα θέμα μείζονος σημασίας. Ο συσχετισμός του με συγκεκριμένους τύπους του ιού HPV αποτέλεσε ένα σημαντικό βήμα προς αυτή την κατεύθυνση, με άλλους τύπους να ευθύνονται περισσότερο (όπως για παράδειγμα οι τύποι 16, 18, 31, 33 και 45 που ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου) και άλλους λιγότερο για τη δημιουργία διαφόρων μορφών τραχηλικής δυσπλασίας. Στα πλαίσια εξεύρεσης έγκαιρων και έγκυρων τεχνικών για την ανίχνευση αυτών των δυσπλασιών, η ανακάλυψη του pap test από το Γ. Παπανικολάου (1943) και η μέχρι σήμερα εκτεταμένη χρήση του για τη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας αποτέλεσε ορόσημο σε αυτή την προσπάθεια.

Εντούτοις, η πρόβλεψη του pap test δεν είναι καθολικά επιτυχής, με την ύπαρξη λανθασμένων αποτελεσμάτων να είναι πιθανή (η επισκόπηση των σχετικών μελετών και μετα-αναλύσεων κατέδειξε εύρος μεταβολής 52-88.2% στην περίπτωση της ευαισθησίας και 94-100% στην περίπτωση της ειδικότητας του test για διαφορετικά είδη δυσπλασιών). Σε τέτοιες περιπτώσεις, είτε η ασθενής υποβάλλεται σε περαιτέρω εξετάσεις χωρίς να χρειάζεται, αυξάνοντας έτσι την ταλαιπωρία της αλλά και το κόστος της διαδικασίας, είτε περιστατικά που χρήζουν περαιτέρω παρακολούθησης και θεραπείας υποεκτιμώνται, με κίνδυνο για την υγεία της ασθενούς.

Είναι επομένως αναγκαία η ανάπτυξη και εφαρμογή νέων τεχνικών ανίχνευσης των τραχηλικών αλλοιώσεων, ώστε να ελαχιστοποιηθεί το ποσοστό λανθασμένης πρόβλεψης του pap test. Ανάμεσα σε αυτές τις τεχνικές συμπεριλαμβάνονται το HPV DNA test, το mRNA test, το p16 test και η κυτταρομετρία ροής, με την καινοτομία αυτών των νέων τεχνικών να εντοπίζεται στην ανίχνευση του γενετικού υλικού του ιού HPV και πώς αυτό μεταβάλλεται ως προς τη συγκέντρωσή του. Η χρησιμότητά τους έγκειται τόσο στη μεμονωμένη χρήση τους (μια διαδικασία όμως που δεν ενδείκνυται στην περίπτωση μαζικού προληπτικού ελέγχου λόγω αυξημένου κόστους) όσο κατά κύριο λόγο στη συνδυαστική τους χρήση με το pap test. Η επισκόπηση των μελετών κατέδειξε αύξηση της ευαισθησίας ακόμα και κατά 30% σε περιπτώσεις δυσπλασίας των τύπων CIN2+ όταν εφαρμόστηκαν συνδυαστικά το pap test με το HPV DNA test, με τους υπόλοιπους

συνδυασμούς να δίνουν επίσης βελτιωμένα αποτελέσματα σε σχέση με τη μεμονωμένη χρήση του pap test.

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η ανασκόπηση της σύγχρονης πραγματικότητας στη διαδικασία πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και ο ρόλος της τεχνολογίας σε αυτή. Για το σκοπό αυτό αναλύθηκε η εφαρμογή τόσο του παραδοσιακού pap test και των βελτιώσεων που αυτό έχει επιδεχθεί κατά καιρούς, όσο και των νέων τεχνικών ανίχνευσης όπως το HPV DNA test, το mRNA test, το p16 test και η κυτταρομετρία ροής, εντοπίζοντας διάφορα χαρακτηριστικά τους αλλά και σημεία που απαιτούν βελτίωση, καθώς και πεδία μελλοντικής έρευνας. Στη συνέχεια περιγράφτηκαν στατιστικά μέτρα απόδοσης, με βάση τα οποία έγινε ακολούθως επισκόπηση μελετών και μετα-αναλύσεων που αφορούν στην απόδοση των παραπάνω τεχνικών, τόσο σε συγκριτικό όσο και σε συνδυαστικό επίπεδο, οδηγώντας σε συγκεκριμένα συμπεράσματα σχετικά με το δυναμικό αυτών των νέων τεχνικών στη διαδικασία πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και τον τρόπο που βοηθούν στην ενίσχυση της προγνωστικής απόδοσης του pap test. Τέλος, αναλύθηκε ο ρόλος της τεχνολογίας στη βελτίωση των τεχνικών ανίχνευσης μέσω των συστημάτων υποστήριξης κλινικής απόφασης (clinical decision support systems – CDSS), παρουσιάζοντας συγκεκριμένες εφαρμογές τέτοιου είδους συστημάτων σε ομάδες μελέτης με τραχηλικές δυσπλασίες διαφόρων κατηγοριών. Το συμπέρασμα που εξήχθη είναι πως η ανάπτυξη και η εφαρμογή τέτοιων συστημάτων μπορεί να βοηθήσει σημαντικά, ιδιαίτερα στο πεδίο της διαλογής των περιστατικών, πάντα βέβαια λειτουργώντας ως υποστηρικτικά ιατρικά «εργαλεία» και όχι αντικαθιστώντας τον ανθρώπινο κλινικό παράγοντα.

Λέξεις-κλειδιά: HPV, Καρκίνος τραχήλου μήτρας, Pap test, Προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος, Διαλογή, HPV DNA test, mRNA test, p16 test, Κυτταρομετρία ροής, Ευαισθησία, Ειδικότητα, Συστήματα Υποστήριξης Κλινικής Απόφασης

Abstract

This study deals with cervical cancer, which is unfortunately characterized by high mortality rates among the women that have been affected by the disease. Therefore, facing the problem of cervical cancer is a very important issue. An important step to this direction was its correlation with specific types of Human Papillomavirus (HPV), with some of them being accused more (for example types 16, 18, 31, 33 and 45 which belong to the high risk group) and others less for the development of various cervical lesions.

The discovery of pap test from G. Papanicolaou in 1943, was a landmark in the effort of finding new and effective techniques for cervical cancer prediction. However, the prognostic result of pap test is not always totally successful (the review of relevant studies and meta-analyses showed a range between 52-88.2% in the case of sensitivity and 94-100% in the case of specificity for different types of lesions). In these cases, either the patient is prompted for unnecessary further examinations, increasing in this way her discomfort as well as the cost of the procedure, or cases which indeed require further testing are being overlooked, putting the patient's health in danger.

In this context, the need for developing and applying new techniques for the detection of cervical lesions in order to minimize the false predictions of pap test was a physical consequence. Among the several techniques that have been developed the most important ones include the HPV DNA test, mRNA test, p16 test and flow cytometry. The innovation of these new techniques lies in identifying the gene expression of HPV in cervical cells and how its concentration is modified. Their usefulness has to do not only with their single use (a procedure which is not preferable for massive preventive control because of its high cost), but also with their combination with pap test. A thorough review of relevant studies and meta-analyses showed an increase in sensitivity of rate of 30% in cases of CIN2+ when a combination of pap and HPV DNA tests was applied. Similar results have been reported for other combinations of diagnostic tests.

The aim of this study is to perform a thorough review of the state of the art procedures in cervical cancer prevention. For this reason, the application of pap test and its improvements was analyzed. Also, the underlying principles of novel diagnostic tests, such as the HPV DNA test, mRNA test, p16 test and flow cytometry, were analyzed, by studying their basic characteristics and identifying aspects for future research and improvement.

Additionally, statistical measures of accuracy were described, based on which a detailed review of relevant studies and meta-analyses was carried out, relative to the performance of these techniques, both in comparative and combined level, leading to specific conclusions on how these new tests can enhance the predictive efficiency of the conventional pap test. Finally, the role of technology, and more specifically the potentials of clinical decision support systems (CDSS), for the improvement of the predictive value of these novel diagnostic tests was analyzed, and specific implementations of such systems in study groups with various cervical lesions were presented. The conclusion of this analysis is that clinical decision support systems can be very helpful in the management of cervical cancer and especially in the field of triage, providing significant support to the clinicians in their everyday practice.

Key-words: HPV, Cervical Cancer, Pap test, Screening, Triage, HPV DNA test, mRNA test, p16 test, Flow Cytometry, Sensitivity, Specificity, Clinical Decision Support Systems

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βιοϊατρικής Τεχνολογίας της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Για την πραγματοποίησή της θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου προς τον επιβλέποντα καθηγητή, κ. Δημήτριο Κουτσούρη, για την καθοδήγησή του αλλά και για τη δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο σημαντικό και ταυτόχρονα ενδιαφέρον θέμα. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρα. Μαρία Χαρίτου για τη συνολική της υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας, καθώς και τον υποψήφιο Δρα. Παναγιώτη Μπούντρη, του οποίου η συμπαράσταση ήταν αμέριστη, και η συνεργασία μαζί του υπήρξε ιδιαίτερα αποδοτική και καταλυτική για την ολοκλήρωση της εργασίας. Επίσης, ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, κύριο Γιώργο Ματσόπουλο, επίκουρο καθηγητή της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Ε.Μ.Π., και κύριο Πέτρο Καρακίτσο, αναπληρωτή καθηγητή Κυτταρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και Διευθυντή του Εργαστηρίου Διαγνωστικής Κυτταρολογίας του Π.Γ.Ν. «Αττικόν». Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους που με τον τρόπο τους συνέβαλλαν έστω και στον ελάχιστο βαθμό στην περάτωση της διπλωματικής εργασίας.

Θέμα της διπλωματικής εργασίας είναι η ανασκόπηση της σύγχρονης πραγματικότητας στη διαδικασία πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και ο ρόλος της τεχνολογίας σε αυτή. Στόχος της εργασίας είναι η εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την επικρατούσα κατάσταση όσον αφορά στη χρήση των διαφόρων διαθέσιμων τεχνικών τόσο σε συγκριτικό όσο και σε συνδυαστικό πλαίσιο, καθώς και ο προσδιορισμός του ρόλου που μπορούν να διαδραματίσουν νέα τεχνολογικά συστήματα, όπως τα συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης, στη συνολική διαδικασία διαχείρισης της νόσου.

Η δομή της εργασίας συνοψίζεται στις εξής ενότητες: Στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται μια εισαγωγή στο ιατρικό πρόβλημα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, περιγράφοντας τη σχέση του με τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV), τις διάφορες κατηγορίες στις οποίες κατατάσσονται οι τραχηλικές αλλοιώσεις, τα συμπτώματα της νόσου καθώς και τα στάδια εκδήλωσής της. Στο δεύτερο κεφάλαιο αναλύονται οι διάφορες

τεχνικές ανίχνευσης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, από το συμβατικό pap test έως τις νέες τεχνικές εντοπισμού του γενετικού υλικού του ιού όπως το HPV DNA test, το mRNA test, το p16 test και η κυτταρομετρία ροής. Στο τρίτο κεφάλαιο, περιγράφονται βασικά στατιστικά μέτρα απόδοσης μέσω των οποίων ακολουθεί στη συνέχεια επισκόπηση διαφόρων μελετών και μετα-αναλύσεων σχετικά με την απόδοση των προαναφερόμενων τεχνικών, τόσο μεμονωμένα όσο και επιμέρους συνδυασμών τους. Στο τέταρτο κεφάλαιο αναλύονται τα συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης (CDSS) μέσω συγκεκριμένων εφαρμογών τους σε ομάδες μελέτης με διαφόρων κατηγοριών τραχηλικές αλλοιώσεις. Τέλος, στο πέμπτο κεφάλαιο εξάγονται τα σχετικά συμπεράσματα με βάση όλα τα προαναφερόμενα στοιχεία και διατυπώνονται προτάσεις αλλά και σημεία που χρήζουν περαιτέρω μελλοντικής έρευνας.

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη 6

Abstract 8

Πρόλογος 10

Λίστα Εικόνων 15

Λίστα Πινάκων 16

Λίστα Διαγραμμάτων 18

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ 19

1.1 Ανατομία του τραχήλου της μήτρας 19

1.1.1 Η έννοια και η σημασία της μετάπλασης 22

1.2 Επιδημιολογία 23

1.3 Αιτιολογία 26

1.3.1 Ο ιός Human Papilloma Virus (HPV) 26

1.3.1.1 Η δομή του ιού 26

1.3.1.2 Οι τύποι του ιού 27

1.3.1.3 Σχέση του ιού με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας 29

1.3.1.3.1 Μηχανισμός δράσης του ιού 29

1.3.1.3.2 Αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος 30

1.3.2 Άλλες αιτίες 31

1.4 Ταξινόμηση προκαρκινικών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας 32

1.5 Σταδιοποίηση καρκίνου τραχήλου μήτρας 34

1.6 Ιστολογικοί τύποι καρκίνου τραχήλου της μήτρας 36

1.7 Συμπτώματα 36

1.8 Διάγνωση 37

1.8.1 Οπτική εξέταση του τραχήλου της μήτρας 38

1.8.1.1 Οπτική επισκόπηση με χρήση οξικού οξέος 38

1.8.1.2 Οπτική επισκόπηση με χρήση διαλύματος Lugol 39
1.8.2 Βιοψία μέσω κολποσκόπησης 39
1.8.2.1 Αγκύλη διαθερμίας 40
1.8.2.2 Κωνοειδής εκτομή 41
1.8.2.3 Punch Biopsy 41
1.9 Πρόληψη 41
1.10 Θεραπεία 43
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ 45
2.1 Pap test 45
2.1.1 Κατηγοριοποίηση των αποτελεσμάτων του pap test 46
2.2 Νέες τεχνικές ανίχνευσης καρκίνου τραχήλου μήτρας 50
2.2.1 HPV DNA test 50
2.2.1.1 Τεχνικές πολλαπλασιασμού σήματος 51
2.2.1.2 Τεχνικές πολλαπλασιασμού στόχου 52
2.2.1.3 Τεχνικές μη πολλαπλασιασμού 53
2.2.1.4 Χρήση DNA μικροσυστοιχιών 55
2.2.2 mRNA test 56
2.2.2.1 Flow Cytometry 58
2.2.3 p16 test 60
2.2.4 Πολικός δείκτης (Polarprobe) 61
2.2.5 Τραχηλογραφία 62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ 63
3.1 Βασικά στατιστικά μέτρα απόδοσης τεχνικών ανίχνευσης 63
3.1.1 Ευαισθησία και ειδικότητα 63
3.1.2 Ορθότητα και ακρίβεια 66

3.1.3 Θετική και αρνητική προγνωστική αξία 68

3.1.4 Καμπύλη ROC 69

3.2 Επισκόπηση μελετών απόδοσης των διαφόρων τεχνικών ανίχνευσης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας 71

3.2.1 Προσέγγιση ανά τεχνική ανίχνευσης 71

3.2.2 Συγκριτική προσέγγιση 73

3.2.3 Συνδυαστική προσέγγιση 87

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ 99

4.1 Η αναγκαιότητα χρήσης συστημάτων βελτίωσης 99

4.1.1 Τεχνικές ενίσχυσης του pap test 100

4.2 Συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης 100

4.2.1 Εφαρμογές συστημάτων υποστήριξης κλινικής απόφασης στην περίπτωση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας 103

4.2.1.1 Υποστήριξη κλινικής απόφασης προληπτικού ελέγχου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας μέσω συστήματος αυτοματοποιημένου κειμένου 103

4.2.1.2 Το Γερμανικό μοντέλο προληπτικού ελέγχου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας: Ανάπτυξη και αξιολόγηση ενός αναλυτικού μοντέλου λήψης αποφάσεων για τον προληπτικό έλεγχο καρκίνου του τραχήλου της μήτρας στη Γερμανία 105

4.2.1.3 Προμελέτη του δυναμικού των δέντρων ταξινόμησης για τη διαλογή περιστατικών HSIL 108

4.2.1.4 Σταδιοποίηση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας με τη χρήση γενετικών αλγορίθμων 111

4.2.1.5 Εφαρμογή Δυναμικών Δικτύων Bayesian για τον προληπτικό έλεγχο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας 114

4.2.1.6 Εφαρμογή Τεχνητών Νευρωνικών Δικτύων στο γυναικολογικό καρκίνο 115

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ 118

5.1 Συμπεράσματα 118

5.2 Στοιχεία Μελλοντικής Έρευνας..... 120

Βιβλιογραφία..... 122

Λίστα Εικόνων

Εικόνα 1: Η θέση του τραχήλου της μήτρας στην πρόσθια και την πλάγια όψη του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος και το σχήμα του τραχηλικού στομίου πριν και μετά από την εγκυμοσύνη και μετά την εμμηνόπαυση [1,2]..... 20

Εικόνα 2: Διαδικασία της μετάπλασης [2]..... 23

Εικόνα 3: Εκτίμηση κατάταξης των γυναικείων καρκινικών αιτιών όσον αφορά περιστατικά και θανάτους και θέση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε αυτή (2008) [6]..... 24

Εικόνα 4: Η δομή του ιού HPV [11]..... 27

Εικόνα 5: Υψηλού βαθμού δυσπλασία τραχήλου CN III [5]..... 34

Εικόνα 6: Κολποσκόπιο (Seiler 955) [38]..... 40

Εικόνα 7: Συλλογή πλακωδών και αδενικών κυττάρων για την εφαρμογή pap test με τη συσκευή cervix [46]..... 46

Εικόνα 8: Στάδια υλοποίησης τεχνικής Southern Blot [61]..... 54

Εικόνα 9: Τυπικά αποτελέσματα εφαρμογής τεχνικής ανίχνευσης DNA μικροσυστοιχιών [63]..... 56

Εικόνα 10: Κυκλική φάση τεχνολογίας NASBA [64]..... 57

Εικόνα 11: Διάταξη κυτταρομετρίας ροής [69]..... 59

Εικόνα 12: Παράδειγμα αποτελεσμάτων Oncotest [71]..... 60

Εικόνα 13: Σχέση μεταξύ ορθότητας και ακρίβειας [84]..... 67

Λίστα Πινάκων

Πίνακας 1: Αντιστοιχία τύπων ιού HPV και επιπτώσεών τους στον ανθρώπινο οργανισμό [11,12] 28
Πίνακας 2: Σταδιοποίηση καρκίνου τραχήλου της μήτρας κατά FIGO [27, 28] 35
Πίνακας 3: Συσχετισμός συστημάτων ταξινόμησης αποτελεσμάτων pap test [51] 49
Πίνακας 4: Αντιστοιχία αποτελεσμάτων pap test και περαιτέρω ελέγχου – θεραπείας [49] 49
Πίνακας 5: Συσχετισμός τύπων και τεχνικών ανίχνευσης [68] 58
Πίνακας 6: Έκφραση του γονιδίου p16 κατά τη διάγνωση και το follow up ασθενών με HPV λοίμωξη [72] 61
Πίνακας 7: Πίνακας συσχέτισης δυαδικού διαγνωστικού test [79] 64
Πίνακας 8: Σύγκριση ευαισθησίας που επέδειξε το pap test σε περίπτωση συλλογής του δείγματος από τον εξεταζόμενο και από ειδικευμένο προσωπικό [92] 72
Πίνακας 9: Απόδοση HPV DNA test στη διαδικασία του follow up [53] 73
Πίνακας 10: Σύγκριση απόδοσης HCII test και κυτταρολογίας για διαφορετικές μελέτες [37] 74
Πίνακας 11: Σύνοψη των μετά-αναλύσεων όσον αφορά την απόδοση του HPV DNA test σε διάφορες πιθανές κλινικές εφαρμογές [37] 75
Πίνακας 12: Αθροιστικά ποσοστά ανίχνευσης περιστατικών CIN-3+ από HC2 και Pap test για περίοδο follow up 18 ετών [95] 76
Πίνακας 13: Σύγκριση απόδοσης του Flow Cytometry (E6/E7 mRNA) και του HPV DNA test (Hybrid Capture II)[45] 77
Πίνακας 14: Σύγκριση απόδοσης Pap test, p16 test και HPV DNA test [96] 78
Πίνακας 15: Αποτελέσματα HPV DNA test σε αναλογία με την κυτταρολογία [97] 78
Πίνακας 16: Αποτελέσματα test p16 σε αναλογία με την κυτταρολογία [97] 79
Πίνακας 17: Σύγκριση απόδοσης p16 test και HPV DNA test στο triage περιπτώσεων ASCUS και LSIL [98] 79
Πίνακας 18: Αποτελέσματα σύγκρισης απόδοσης p16 και HC2 test για διαφορετικά κυτταρολογικά αποτελέσματα [99] 80
Πίνακας 19: Ανίχνευση της p16 στα διάφορα στάδια τραχηλικής αλλοίωσης [99] 81
Πίνακας 20: Συγκριτικές αποδόσεις Amplicor, PreTect HPV-Proofer και Linear Array tests [101] 82

Πίνακας 21: Αξιολόγηση απόδοσης HPV mRNA και DNA test [102]..... 83
Πίνακας 22: Απόδοση mRNA test για ανίχνευση CIN-2,3 και διηθητικού καρκίνου [68]. 84
Πίνακας 23: Απόδοση της μεθόδου p16 στις διάφορες αλλοιώσεις του τραχήλου [68]..... 84
Πίνακας 24: Αποτελέσματα εφαρμογής συμβατικής κυτταρολογίας και κυτταρομετρίας εικόνας σε δείγμα 132 γυναικών [107]..... 85
Πίνακας 25: Σύγκριση αποδόσεων κυτταρολογίας, HPV testing, τεχνικών οπτικής επισκόπησης και τραχηλογραφίας [108] 86
Πίνακας 26: Απόδοση των Pap test και HPV DNA test σε ασθενείς που έχουν λάβει θεραπεία για ενδοτραχηλικό καρκίνωμα in situ [109]..... 87
Πίνακας 27: Αποδόσεις συνδυασμού Pap και HC2 test κατά τη διαδικασία του follow up [110]..... 88
Πίνακας 28: Αποδόσεις συμβατικής κυτταρολογίας, HPV DNA test και συνδυασμού τους [112]..... 89
Πίνακας 29: Σύγκριση απόδοσης Pap και HPV DNA test [113]..... 90
Πίνακας 30: Αξιολόγηση απόδοσης συνδυασμού Pap και HPV DNA test [113] 91
Πίνακας 31: Σύγκριση απόδοσης HPV DNA (Hybrid Capture 2) και E6, E7 mRNA test [114]..... 92
Πίνακας 32: Απόδοση συνδυασμού κυτταρολογίας και HPV E6, E7 mRNA test [115].... 93
Πίνακας 33: Συγκριτικός πίνακας επισκόπησης μελετών 97
Πίνακας 34: Ετήσιες πιθανότητες μετάβασης από τη μια κατάσταση στην άλλη για την εφαρμογή του μοντέλου Markov των U. Siebert et al., (2006) [121] 106
Πίνακας 35: Απόδοση διαφορετικών στρατηγικών χρήσης του pap test στα πλαίσια του προληπτικού ελέγχου και της εφαρμογής του μοντέλου Markov των U. Siebert et al., (2006) [121]..... 107
Πίνακας 36: Σύνθεση συνόλου δειγμάτων μελέτης ανάπτυξης δέντρου ταξινόμησης των P. Karakitsos et al. (2011) [128]..... 109
Πίνακας 37: Μεταβλητές σύνθεσης κανόνων για την ανάπτυξη δέντρου ταξινόμησης των P. Karakitsos et al. (2011) [128]..... 109
Πίνακας 38: Αποτελέσματα εφαρμογής δέντρου ταξινόμησης στην περίπτωση της εκπαίδευσης και της δοκιμής του P. Karakitsos et al. (2011) [128]..... 111
Πίνακας 39: Σύγκριση αποτελεσματικότητας κατηγοριοποιήσεων μεταξύ διαφορετικών μοντέλων γενετικών αλγορίθμων [131]..... 113

Λίστα Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Κανονικοποίηση ανά ηλικία περιστατικών και θνησιμότητας σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές ανά 100.000 γυναίκες [7] 25
Διάγραμμα 2: Πορεία της HPV λοίμωξης [20] 30
Διάγραμμα 3: Ταξινόμηση προκαρκινικών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας 33
Διάγραμμα 4: Μηχανισμός λειτουργίας εμβολιασμού HPV [20] 42
Διάγραμμα 5: Στάδια υλοποίησης τεχνικής PCR 52
Διάγραμμα 6: Παράδειγμα καμπύλης ROC 70
Διάγραμμα 7: Σχηματική απεικόνιση συγκρίσεων και συνδυασμών 98
Διάγραμμα 8: Κατηγορίες των CDSS και βασικά τους μέρη 101
Διάγραμμα 9: Διάγραμμα ροής των κανόνων του μοντέλου αυτοματοποιημένου κειμένου των K. Wagholikar et al. (2012) [120] 104
Διάγραμμα 10: Μοντέλο Markov για την παρακολούθηση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (E.Siebert et al.,2006) [121] 105
Διάγραμμα 11: Αρχιτεκτονική δέντρου ταξινόμησης του μοντέλου των P. Karakitsos et al. (2011) [128] 110
Διάγραμμα 12: Παράδειγμα εφαρμογής μοντέλου Pccsm [133] 115
Διάγραμμα 13: Τυπικό μοντέλο τεχνητού νευρώνα για ένα σύστημα πρόβλεψης κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας 116

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

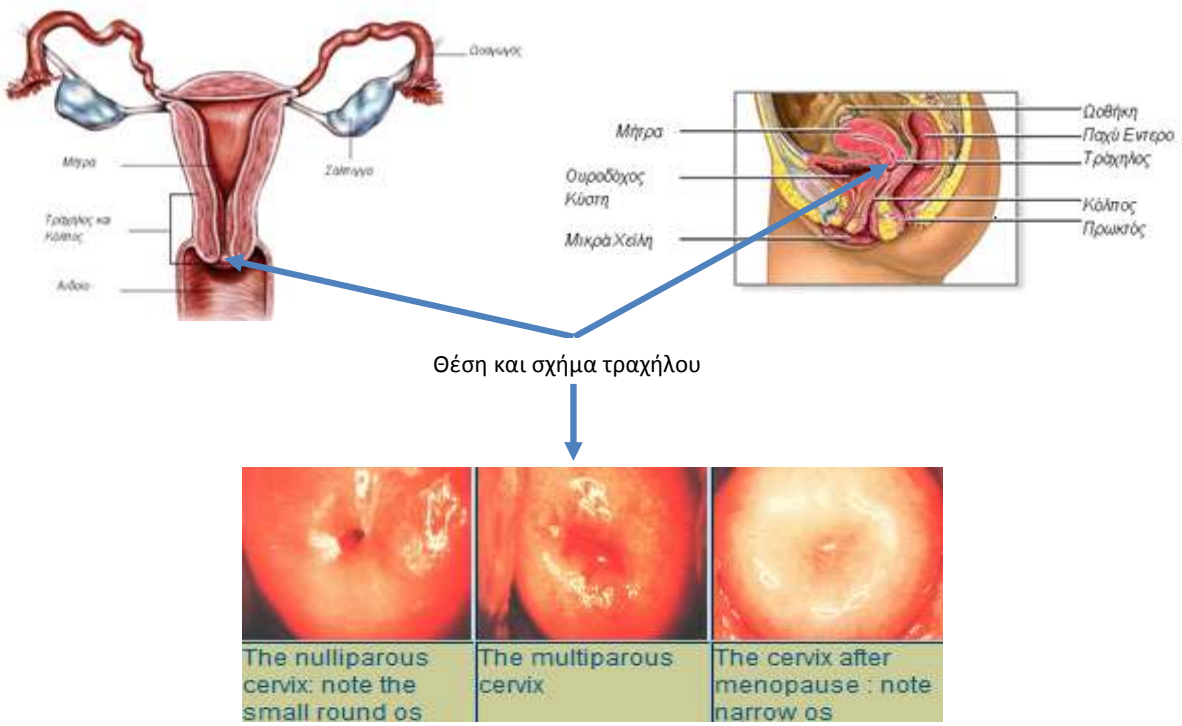
1.1 Ανατομία του τραχήλου της μήτρας

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα εδρεύει στην πύελο (την οστέινη δομή σε σχήμα λεκάνης στη βάση της σπονδυλικής στήλης) και αποτελείται από τα εξής κύρια μέρη όπως φαίνεται στην εικόνα που ακολουθεί: τις ωοθήκες, τις σάλπιγγες, τη μήτρα, τον τράχηλο της μήτρας και τον κόλπο.

Οι δύο ωοθήκες είναι «υπεύθυνες» για την παραγωγή των γεννητικών κυττάρων της γυναίκας, δηλαδή των ωαρίων και των ορμονών οι οποίες με τη σειρά τους διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον εμμηνορρυσιακό κύκλο και στα δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου όπως η ανάπτυξη των μαστών, η εναπόθεση του λίπους κ.α. Έχουν έτσι τόσο αναπαραγωγική όσο και ενδοκρινική λειτουργία. Το χρώμα τους είναι ροδίζον λευκό προς γκρι και οι επιφάνειες τους είναι ανώμαλες και με προεξοχές.

Οι σάλπιγγες ή ωαγωγοί είναι δύο σωλήνες που χρησιμεύουν για τη μεταφορά του τυχόν γονιμοποιηθέντος ωαρίου στη μήτρα. Κάθε σάλπιγγα έχει μήκος 10-12cm και αποτελείται από τον κώδωνα, τη λήκυθο (μέσα στην οποία γίνεται η γονιμοποίηση του ωαρίου), τον ισθμό και την μητριαία μοίρα, ενώ από τα δύο στόμιά της το μητριαίο εκβάλλει στη μήτρα και το κοιλιακό βρίσκεται πάνω από την σύστοιχη ωοθήκη [1].

Η μήτρα αποτελεί εκείνο το κοίλο μυώδες όργανο που υποδέχεται το γονιμοποιημένο ωάριο και μέσω των τοιχωμάτων της προστατεύει το κύημα μέχρι να το εξωθήσει μέσω κατάλληλων συσπάσεων. Τα βασικά της μέρη είναι ο πυθμένας, το σώμα και ο τράχηλος η ανατομία του οποίου αποτελεί και το αντικείμενο της παρούσας ενότητας, ακόμη μια κοιλότητα και δύο στόμια, το έσω και το έξω.



Εικόνα 1: Η θέση του τραχήλου της μήτρας στην πρόσθια και την πλάγια όψη του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος και το σχήμα του τραχηλικού στομίου πριν και μετά από την εγκυμοσύνη και μετά την εμμηνόπαυση [1,2]

Αναλυτικότερα, όσον αφορά στον τράχηλο, αποτελεί το λεπτότερο και κατώτερο τμήμα της μήτρας και διαθέτει ένα άνοιγμα μέσω του οποίου επικοινωνεί η κοιλότητα της μήτρας με τον κόλπο. Μέσω του τραχηλικού ανοίγματος περνάει το αίμα της περιόδου προς τον κόλπο και έξω από το σώμα και τα σπερματοζωάρια από τον κόλπο προς τις σάλπιγγες [3]. Το συγκεκριμένο άνοιγμα εξαρτάται από το αν η γυναίκα βρίσκεται σε στάδιο πριν ή μετά εγκυμοσύνης αλλά και μετά την εμμηνόπαυση όπως φαίνεται στην παραπάνω εικόνα.

Πρόκειται για ένα ινομυώδες όργανο που καλύπτεται από μία μεμβράνη βλέννης, έχει 3 εκ. μήκος (μισό περίπου από το οποίο εισέχει μέσα στο άνω τμήμα του κόλπου) και 2.5 εκ. διάμετρο, είναι δε ιδιαίτερα διατατός. Διασχίζεται από τον ενδοτραχηλικό σωλήνα, ο οποίος προς τα επάνω βρίσκεται σε συνέχεια με το σώμα της μήτρας, στον ισθμό, ενώ προς τα κάτω βρίσκεται σε συνέχεια με τον κόλπο (κολεό), στο τραχηλικό στόμιο. Το ενδοκολεϊκό μέρος του τραχήλου είναι δυνατό να επισκοπηθεί με τη βοήθεια ειδικού οργάνου, είτε να ψηλαφηθεί. Ο μυϊκός ιστός αποτελεί το 28% του σώματος ενώ από το ύψος του ισθμού τα μυϊκά στοιχεία σταδιακά μειώνονται και αυξάνονται αντίστοιχα τα

συνδετικά (ελαστικές ίνες). Αυτά ακριβώς τα συνδετικά στοιχεία είναι εκείνα που δίνουν τη «σκληρή» αίσθηση αφής του τραχήλου. Οι τραχηλικοί αδένες είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή βλέννας και τη δημιουργία του βλεννώδους «βύσματος» που εμποδίζει την είσοδο μικροβίων από τον κόλπο στη μήτρα, με την αλκαλικότητα της αντίδρασης να επιτρέπει την επιθυμητή είσοδο των σπερματοζωαρίων [2].

Ο ενδοτραχηλικός σωλήνας έχει σχήμα ατρακτοειδές, αποπλατυσμένο από εμπρός προς τα πίσω, ενώ η κατά τόπους αναίρεση του βλεννογόνου (μεμβράνη βλέννης) σχηματίζει παράλληλες φοινικοειδείς πτυχές που εξασφαλίζουν μέσω των μεταξύ τους αυλάκων (κρυπτών) τη συνεχή ροή των σπερματοζωαρίων. Οι κρύπτες αυτές, όπως και ολόκληρη η επιφάνεια του αυλού του ενδοτραχηλικού σωλήνα καλύπτονται από μία στιβάδα κυλινδρικών κυττάρων.

Η κυτταρική επιφάνεια του τραχήλου της μήτρας, λέγεται τραχηλικό επιθήλιο και διακρίνεται στο πλακώδες επιθήλιο (αφορά στην επιφάνεια του τραχήλου) και το αδενικό επιθήλιο (αφορά στην εσωτερική επιφάνεια του τραχηλικού σωλήνα).

Το κυλινδρικό - αδενικό επιθήλιο αποτελείται από ψηλά κυλινδρικά κύτταρα, που διακρίνονται στους εξής τύπους: τα εκκριτικά κυλινδρικά κύτταρα, τα κροσσωτά κυλινδρικά κύτταρα και τα εφεδρικά κύτταρα [4].

Τα εκκριτικά κύτταρα παράγουν όξινη και ουδέτερη βλέννη η οποία βοηθάει στην εύκολη διέλευση των σπερματοζωαρίων. Στην περίπτωση πυκνής βλέννης μπορεί να δημιουργηθεί το πρόβλημα των καλοηθών κύστεων, ονομαζόμενων «κύστεων Naboth». Τα κροσσωτά κύτταρα εντοπίζονται ως επί το πλείστον στην ενδομητρική/ενδοτραχηλική συμβολή και είναι επιφορτισμένα με το έργο μεταφοράς της βλέννης κατά μήκος της βλεννώδους μεμβράνης. Τα εφεδρικά κύτταρα είναι μικρά αδιαφοροποίητα πολυδύναμα κύτταρα, τα οποία χρησιμοποιούνται για την αντικατάσταση κυλινδρικών κυττάρων κατά τη διαδικασία της μετάπλασης.

Η κυτταρική διαστρωμάτωση του πλακώδους επιθηλίου αποτελείται από τις εξής στοιβάδες:

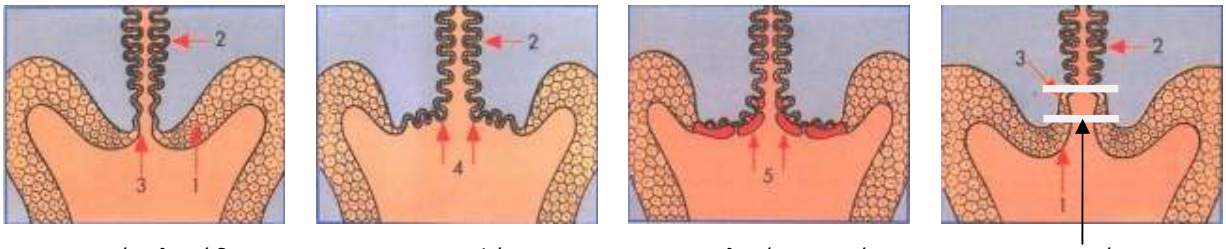
- τη βασική στοιβάδα, ένα στρώμα κυττάρων μικρού μεγέθους (διαμέτρου 12μm) και κυβοειδούς σχήματος, στην οποία περιορίζεται η διαδικασία της αναγέννησης σε φυσιολογικές συνθήκες,
- την παραβασική στοιβάδα ή ακανθωτή, η οποία αποτελείται από 3-4 στρώματα κυττάρων με την ίδια εμφάνιση με τα προηγούμενα αλλά λίγο μεγαλύτερα (εξαιτίας μεγαλύτερης ποσότητας κυτταροπλάσματος),

- την ενδιάμεση στοιβάδα (σκαφοειδής), η οποία αποτελείται από 5-6 στρώματα κυττάρων που γίνονται προοδευτικά πιο επίπεδα όσο πλησιάζουν στην επιφάνεια και ενώνονται μεταξύ τους παράγοντας το σχέδιο της «πλέξης καλαθιού»,
- την επιφανειακή ή κερατινοποιημένη στοιβάδα, η οποία αποτελείται από 6-8 στρώματα κυττάρων και μοιάζουν με αυτά της ενδιάμεσης,
- την αποφολιδούμενη στοιβάδα, με τα κύτταρα να αποφολιδώνονται μόνα τους διατηρώντας τους πυρήνες τους, διαδικασία η οποία τα διαφοροποιεί από αυτά της επιδερμίδας [2,5].

1.1.1 Η έννοια και η σημασία της μετάπλασης

Ως μεταπλασία ορίζεται η διαδικασία κατά την οποία ένας τύπος επιθηλίου μετατρέπεται σε ένα άλλο. Πρόκειται για ένα συνηθισμένο φαινόμενο που ακολουθεί μια ορμονική αλλαγή ή ερέθισμα. Αφορά πολλά και διαφορετικά μέρη του σώματος, ενώ όσον αφορά στον τράχηλο της μήτρας οι μεταπλαστικές αλλαγές περιλαμβάνουν μετατροπή του αδενικού επιθηλίου του ενδοτραχήλου σε πλακώδες επιθήλιο, με το ερέθισμα να είναι η έκθεση του αδενικού επιθηλίου στο όξινο pH του κόλπου.

Τα δύο προαναφερόμενα είδη επιθηλίων (κυλινδρικό-αδενικό και πλακώδες) του τραχήλου της μήτρας συναντώνται στη θέση που ονομάζεται αδενοπλακώδης συμβολή (ΑΠΣ - squamocolumnar junction) και η οποία ποικίλει κατά τη διάρκεια της ζωής εξαιτίας των τεκταινόμενων μεταπλαστικών αλλαγών. Έτσι, ενώ πριν την εφηβεία η ΑΠΣ συνήθως βρίσκεται στο έξω τραχηλικό στόμιο κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας της γυναίκας και λόγω της επιδράσεως των οιστρογόνων στις κολλαγόνες ίνες του τραχήλου, ένα μέρος του κατώτερου ενδοτραχηλικού σωλήνα εκστρέφεται προς τον εξωτράχηλο δημιουργώντας τη «ζώνη μεταπτώσεως», την περιοχή στην οποία αρχίζει η καρκινογένεση στον τράχηλο της μήτρας [2,5].



1: γηγενές πλακώδες επιθήλιο

3:αδενοπλακώδης συμβολή (ΑΠΣ)

4: αναστροφή του ενδοτραχηλικού επιθηλίου

2: κυλινδρικό επιθήλιο του ενδοτραχήλου

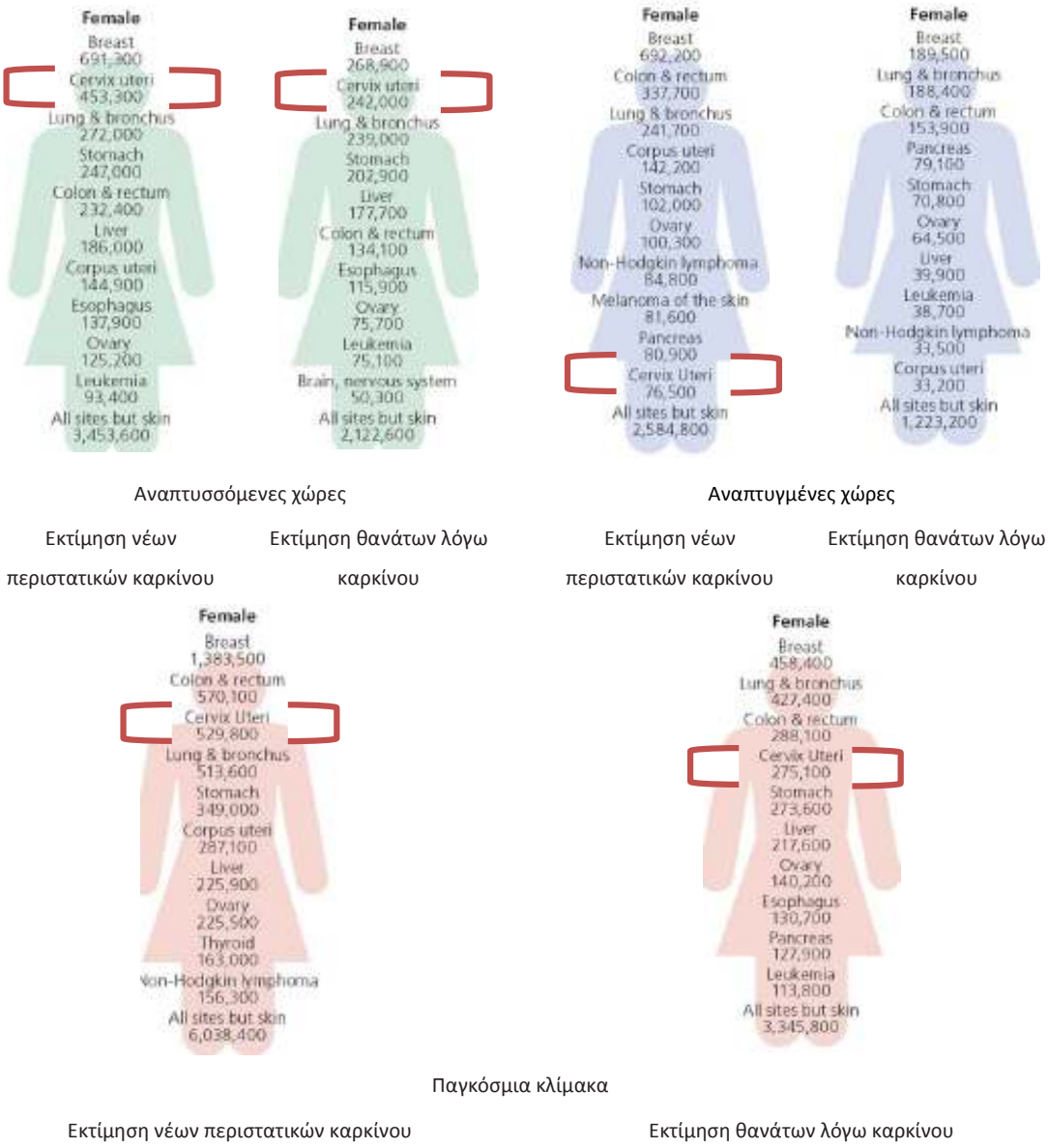
5: μεταπλασία στην ζώνη μετάπλασης

Παρατηρούμενη επιμήκυνση του πλακώδους επιθηλίου

Εικόνα 2: Διαδικασία της μετάπλασης [2]

1.2 Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας πρέπει ασφαλώς να θεωρηθεί με βάση το συνολικό ποσοστό περιστατικών καρκίνου και το μέγεθος που έχει προσλάβει το συγκεκριμένο φαινόμενο για την ανθρώπινη ζωή γενικότερα. Για να γίνει αντιληπτή η σημασία του καρκίνου (από όποια αιτία και αν προέρχεται) αρκεί να αναφερθεί πως το 2008 συνέβησαν περίπου 12.7 εκατομμύρια περιστατικά καρκίνου και 7.6 εκατομμύρια θάνατοι, με ποσοστά των 56% και 64% αντίστοιχα να λαμβάνουν χώρα σε οικονομικά ανεπτυγμένες χώρες. Ειδικότερα όσον αφορά στην περίπτωση περιστατικών καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, ιδιαίτερα σημαντική είναι η κατάταξη που παρουσιάζει η συγκεκριμένη αιτιολογία για τις γυναίκες, με το καρκίνο του μαστού να συγκεντρώνει την πλειονότητα των περιστατικών τόσο στις οικονομικά ανεπτυγμένες όσο και στις οικονομικά αναπτυσσόμενες χώρες και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και του πνεύμονα να ακολουθεί στην περίπτωση των αναπτυσσόμενων χωρών. Χαρακτηριστική είναι η ακόλουθη εικόνα, στην οποία φαίνεται η κατάταξη των γυναικείων καρκινικών αιτιών σε παγκόσμια κλίμακα, επισημαίνοντας κάθε φορά τη θέση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας στη σχετική λίστα.



Αναπτυσσόμενες χώρες

Εκτίμηση νέων περιστατικών καρκίνου

Εκτίμηση θανάτων λόγω καρκίνου

Αναπτυγμένες χώρες

Εκτίμηση νέων περιστατικών καρκίνου

Εκτίμηση θανάτων λόγω καρκίνου

Παγκόσμια κλίμακα

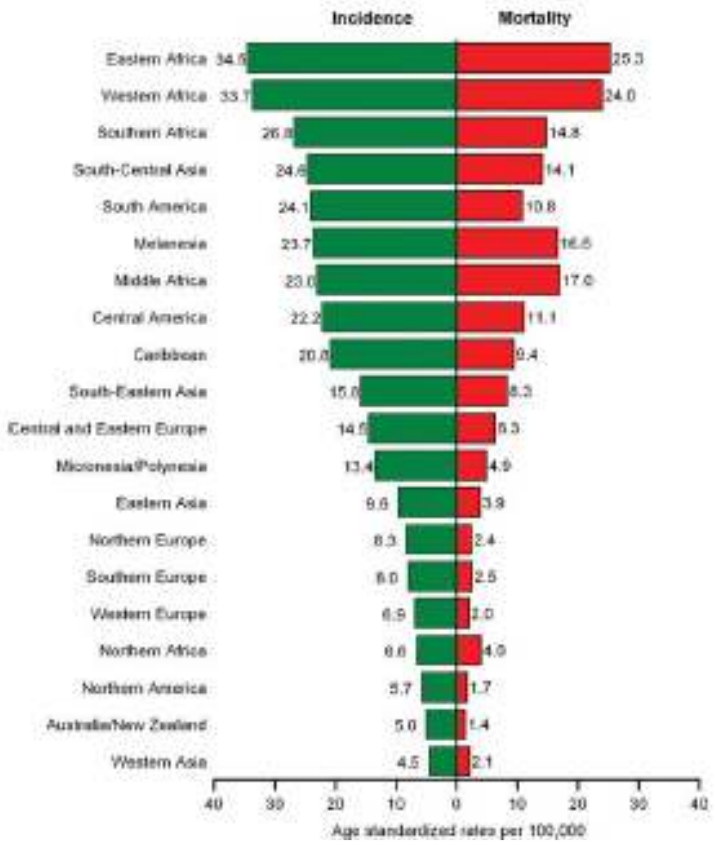
Εκτίμηση νέων περιστατικών καρκίνου

Εκτίμηση θανάτων λόγω καρκίνου

Εικόνα 3: Εκτίμηση κατάταξης των γυναικείων καρκινικών αιτιών όσον αφορά περιστατικά και θανάτους και θέση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε αυτή (2008) [6]

Όπως προκύπτει από τα παραπάνω στοιχεία ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί την τρίτη αιτία διάγνωσης καρκίνου και την τέταρτη αιτία θανάτων λόγω καρκίνου σε παγκόσμια κλίμακα στο γυναικείο πληθυσμό. Πάνω από το 85% των περιπτώσεων και των θανάτων συμβαίνουν στις αναπτυσσόμενες χώρες με την Ινδία να συγκεντρώνει το ποσοστό του 27% του συνόλου των θανάτων. Οι υψηλότερες αναλογίες περιστατικών εμφανίζονται στην Ανατολική, Δυτική και Νότια Αφρική, όπως επίσης και

στη Νότια – Κεντρική Ασία και στην Νότια Αμερική. Στον αντίποδα, τα χαμηλότερα ποσοστά εμφανίζονται στη Δυτική Ασία, στην Αυστραλία, στη Νέα Ζηλανδία αλλά και στη Βόρεια Αμερική, όπως απεικονίζεται στο ακόλουθο διάγραμμα.



Διάγραμμα 1: Κανονικοποίηση ανά ηλικία περιστατικών και θνησιμότητας σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές ανά 100.000 γυναίκες [7]

Η εμφάνιση υψηλών ποσοστών καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε περιοχές με χαμηλή ποιότητα ιατρικών υπηρεσιών σχετίζεται με την έλλειψη προληπτικού ελέγχου και τη μη υποστήριξη των σχετικών δοκιμών. Ενδεικτικό αυτής της διαπίστωσης είναι το γεγονός ότι η συχνότητα εμφάνισης και η θνησιμότητα στις ΗΠΑ είναι περίπου το ήμισυ αυτών για τον υπόλοιπο κόσμο και οφείλεται κυρίως στην επιτυχία του προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου με το test Pap [8].

1.3 Αιτιολογία

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας έχει μελετηθεί εκτενώς όσον αφορά στον προσδιορισμό των αιτιών του, μια διαδικασία η οποία συνεχίζεται ακόμα και σήμερα. Εντούτοις, δεν έχει αναδειχθεί ένα συγκεκριμένο αίτιο ως αποκλειστικός παράγοντας της νόσου. Αντίθετα, οι μελέτες έχουν αναδείξει τη δράση ενός συνδυασμού παραγόντων, οι οποίοι θα προσδιορισθούν αναλυτικά στην παρούσα ενότητα.

1.3.1 Ο ιός Human Papilloma Virus (HPV)

Ο συγκεκριμένος ιός ανήκει στην ευρύτερη κατηγορία των papillomaviruses, τα κυριότερα χαρακτηριστικά των οποίων είναι το μικρό τους και χωρίς εξωτερικό περίβλημα μέγεθος, η κοινή γενετική τους δομή, το κυκλικό διπλής έλικας DNA που περιέχει κατά κύριο λόγο οκτώ περιοχές κωδικοποίησης (εν δυνάμει γονίδια) και η ιδιότητά τους να προσβάλλουν τα επιθηλιακά κύτταρα του δέρματος και των βλεννογόνων προκαλώντας πολλαπλασιασμό των κυττάρων [9]. Σε αυτήν ακριβώς την ιδιότητα έγκειται και η σχέση του συγκεκριμένου ιού με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

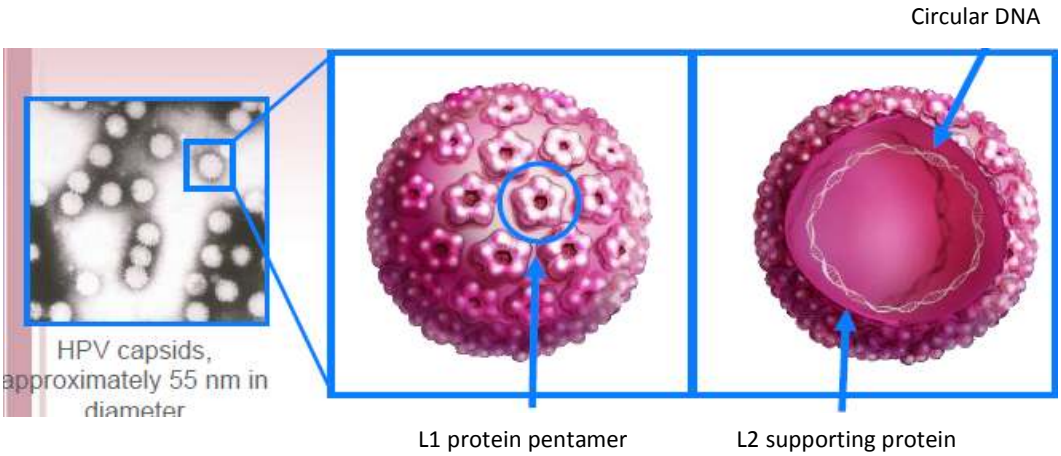
1.3.1.1 Η δομή του ιού

Η δομή του ιού είναι εικοσαεδρική, με διάμετρο μεταξύ 52nm και 55nm. Στο εσωτερικό του περιέχει ένα διπλής έλικας DNA, με περίπου 8.000 ζεύγη νουκλεοτιδίων (base pairs, bp). Το καψίδιο του συνίσταται από δύο δομικές πρωτεΐνες, L1 και L2, που κωδικοποιούνται από το DNA. Το γενετικό υλικό αντιπροσωπεύεται από τα γονίδια του ιού, των οποίων η λειτουργική περιοχή χωρίζεται σε τρία μέρη.

- την πρώιμη περιοχή (E, early) που καταλαμβάνει το 50% περίπου του DNA και κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες E1 έως E7 οι οποίες είναι απαραίτητες για την αναπαραγωγή του ιού.

- την όψιμη περιοχή (L, late) που καταλαμβάνει περίπου το 40% του DNA και κωδικοποιεί την κύρια πρωτεΐνη καψιδίου L1 (major capsid protein) και τη δευτερεύουσα πρωτεΐνη καψιδίου L2 (minor capsid protein), οι οποίες απαιτούνται για τη συγκέντρωση του ιού.
- ένα ευρύ, μη κωδικοποιημένο τμήμα που αναφέρεται ως long control region (LCR) ή non-coding region (NCR) ή upstream regulatory region (URR) και σχετίζεται με την αναπαραγωγή του ιού.

Ο διαχωρισμός των προαναφερόμενων περιοχών γίνεται μέσω δύο polyadenylation τμημάτων, (early και late PA) [9, 10].



Εικόνα 4: Η δομή του ιού HPV [11]

1.3.1.2 Οι τύποι του ιού

Με τον όρο «τύποι» γίνεται αναφορά στις διάφορες μεταλλάξεις του ιού οι οποίοι είναι δυνατό να απομονωθούν. Στην περίπτωση των ανθρώπων, ο αριθμός τους υπερβαίνει τους 100, μέγεθος το οποίο μεγαλώνει κατά πολύ αν συνυπολογιστούν απομονώσεις μερών της γενετικής ακολουθίας. Για να θεωρηθεί ένας τύπος διαφορετικός από τους ήδη υπάρχοντες θα πρέπει να καταγραφεί το σύνολο του γενετικού του κώδικα και ταυτόχρονα η ακολουθία του γονιδίου L1 (που δείχνει και τη μεγαλύτερη σταθερότητα στη διατήρησή της) να διαφέρει περισσότερο από 10% από τον πιο κοντινό γνωστό τύπο. Στην περίπτωση που η διαφορά είναι μεταξύ 2% και 10% ορίζεται ένας υποτύπος (subtype), ενώ για διαφορές μικρότερες του 2% ορίζεται μια παραλλαγή (variant).

Η ομαδοποίηση των τύπων γίνεται με βάση την ομοιότητα στο γενετικό τους κώδικα και συνεπάγεται ανάλογη ομοιότητα στις ιδιότητες που παρουσιάζουν. Οι πιο υψηλόβαθμες ομάδες τύπων του ιού ονομάζονται «γένη» (genus), με τύπους από διαφορετικά γένη να παρουσιάζουν συνολική ομοιότητα από 23% έως 43%, ενώ ο διαχωρισμός κάθε γένους γίνεται σε «είδη» (species), με τα διαφορετικά είδη ενός γένους να παρουσιάζουν ομοιότητα από 60% έως 70% στην ταύτιση του DNA. Μέχρι σήμερα έχουν σχηματιστεί 16 γένη που αναγνωρίζονται με βάση τα ελληνικά γράμματα. Εκείνο το γένος το οποίο σχετίζεται με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, είναι το πρώτο (Alphapapillomaviruses) [9].

Ιδιαίτερη σημασία έχει η αντιστοιχία τύπων του ιού και επιπτώσεών του στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως καταγράφεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Τύπος Ιού HPV	*Επίπτωση στον ανθρώπινο οργανισμό*
HPV 1-4, 7, 10, 26-29, 41, 48, 49, 57, 60, 63, 85	Δερματικές Μυρμηκίες
HPV 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19-25, 36, 38, 47, 90	Ακροχορδονόμορφη επιδερμοδυπλασία (Lewandowsky-Lutz) και SCC
HPV 2, 6, 11, 16, 18, 30, 40-42, 44, 45, 54, 55, 61	Θηλώματα Πρωκτογεννητικής Χώρας
HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51-53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82	Καρκινώματα Πρωκτογεννητικής Χώρας (Υψηλή επικινδυνότητα)
HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81	Καρκινώματα Πρωκτογεννητικής Χώρας (Χαμηλή επικινδυνότητα)
HPV 26, 53, 66	Καρκινώματα Πρωκτογεννητικής Χώρας (Πιθανώς υψηλή επικινδυνότητα)
HPV 2, 6, 11, 13, 16, 32	Θηλώματα Ανώτερου Αναπνευστικού και Οφθαλμού

Πίνακας 1: Αντιστοιχία τύπων ιού HPV και επιπτώσεών τους στον ανθρώπινο οργανισμό [11,12]

1.3.1.3 Σχέση του ιού με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Όπως προκύπτει και από τον παραπάνω πίνακα η παρουσία πολλών τύπων HPV σχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Μια μικρή όμως ομάδα ευθύνεται σε πολύ μεγαλύτερα ποσοστά για τη συγκεκριμένη νόσο, τουλάχιστον συγκριτικά με τους υπολοίπους. Ειδικότερα, οι HPV16 (στα καρκινώματα πλακώδους επιθηλίου) και HPV18 (στα αδενοκαρκινώματα τραχήλου) ευθύνονται για το 70% περίπου των διαγνώσεων καρκίνου της μήτρας, σε ποσοστά 50% και 20% αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, οι δύο παραπάνω τύποι σε συνδυασμό με τους HPV31 και HPV45 καλύπτουν περισσότερο απ' το 80% των διαγνώσεων καρκίνου της μήτρας [5, 12, 13].

Εκείνο που έχει ιδιαίτερη σημασία είναι η άμεση σχέση του ιού HPV και του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι το ιατρικώς αποδεκτό πρότυπο, που έχει εγκριθεί από την Αμερικανική Κοινωνία Καρκίνου (American Cancer Society), είναι ότι η ασθενής πρέπει να έχει μολυνθεί από τον HPV για να αναπτύξει καρκίνο τραχήλου [14].

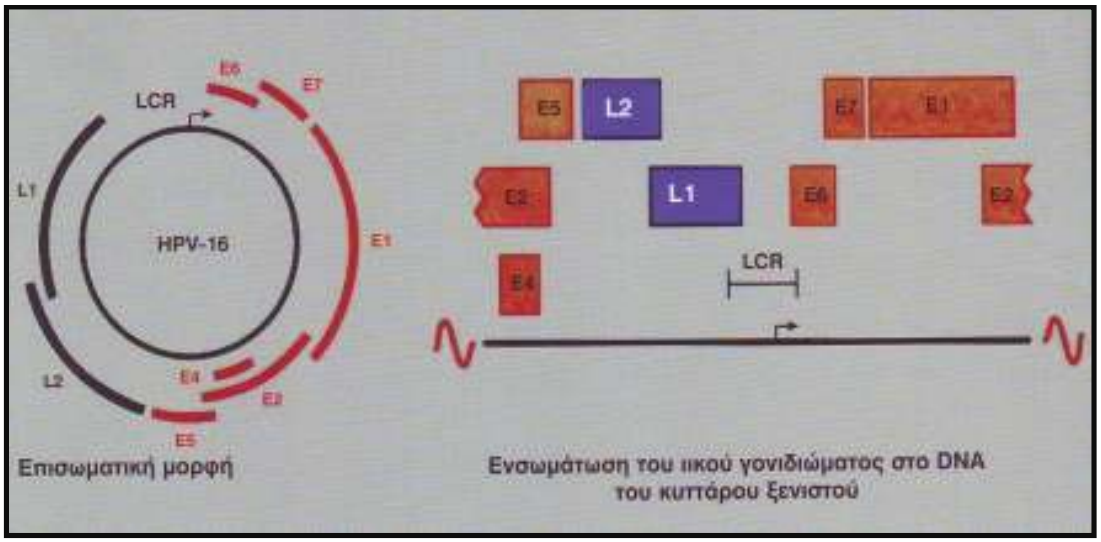
1.3.1.3.1 Μηχανισμός δράσης του ιού

Στο αρχικό στάδιο ο ιός μολύνει τα κύτταρα των επιθηλιακών ιστών (συνήθως στη ζώνη μετάπλασης) μέσω μικρών εκδορών ή άλλων επιθηλιακών τραυμάτων που προσβάλουν τομείς της βασικής μεμβράνης [15]. Ακολούθως, τα γονίδια του ιού μεταφέρονται στον πυρήνα του ξενιστή και αντιγράφονται μαζί με το υπόλοιπο «υγιές» γονιδίωμα του ξενιστή, ακολουθώντας τη διαδικασία μεταγραφής και μετάφρασης του κύτταρου – ξενιστή, με αποτέλεσμα την επέκταση της διάρκειας ζωής του ιού [16].

Με την προσβολή αυξάνονται πρώτα οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών E1 και E2, μέχρι να γίνει η ενσωμάτωση στον ξενιστή, οπότε και αυξάνονται οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών E6 και E7 πρωτεϊνών, αύξηση η οποία συνεπάγεται και την ανάλογη αδρανοποίηση δύο άλλων βασικών πρωτεϊνών καταστολής όγκων, της p53 από την E6 και της pRb από την E7 αντίστοιχα [17]. Εξαιτίας της αδρανοποίησης της p53 δεν είναι δυνατό να παρεμποδιστεί ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός των κυττάρων οπότε και η περαιτέρω μόλυνσή τους. Επιπρόσθετα, με την αδρανοποίηση του ρετινοβλαστώματος

pRb απελευθερώνεται ο μεταγραφικός παράγοντας E2F, ενισχύοντας το συγκεκριμένο πολλαπλασιασμό [16,18]. Τα γονίδια L1 και L2 συμμετέχουν στη διαδικασία, ενθυλακώνοντας το γονιδίωμα του ιού σε ένα καψίδιο για να το προστατεύσουν, σταθεροποιώντας έτσι το ιϊκό φορτίο [19].

Ο χρόνος βέβαια που απαιτείται για να οδηγήσει μια λοίμωξη σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας ποικίλει σε αρκετούς μήνες ή και χρόνια.



Διάγραμμα 2: Πορεία της HPV λοίμωξης [20]

1.3.1.3.2 Αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος

Το γεγονός ότι μεγάλος αριθμός τύπων του ιού μπορεί να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά από τον ανθρώπινο οργανισμό χωρίς να προκαλέσουν καρκίνο, συνεπάγεται την αποδοτική λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Εντούτοις, ο ιός HPV παρουσιάζει δυσκολίες στην αντιμετώπισή του, οι οποίες εντοπίζονται στα εξής σημεία:

- αντί για καταστροφή των κυττάρων που θα είχε ως συνέπεια την πρόκληση φλεγμονής προκαλεί πολλαπλασιασμό τους,
- εντοπίζεται στην περιοχή των επιθηλιακών κυττάρων, μακριά από τα λεμφοκυτταρικά βλαστικά κέντρα που θα ενίσχυαν μια ανοσολογική αντίδραση,

- μέσω της παρεμπόδισης της παραγωγής ιντερφερόνης από τις πρωτεΐνες του Ε6 και Ε7, μπορεί να «ξεγελάσει» το αμυντικό σύστημα όσον αφορά στην αναγνώρισή του [2].

1.3.2 Άλλες αιτίες

Εκτός από την παρουσία του ιού HPV ένα πλήθος άλλων παραγόντων σχετίζεται με την εκδήλωση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να συνοψιστούν στα εξής σημεία:

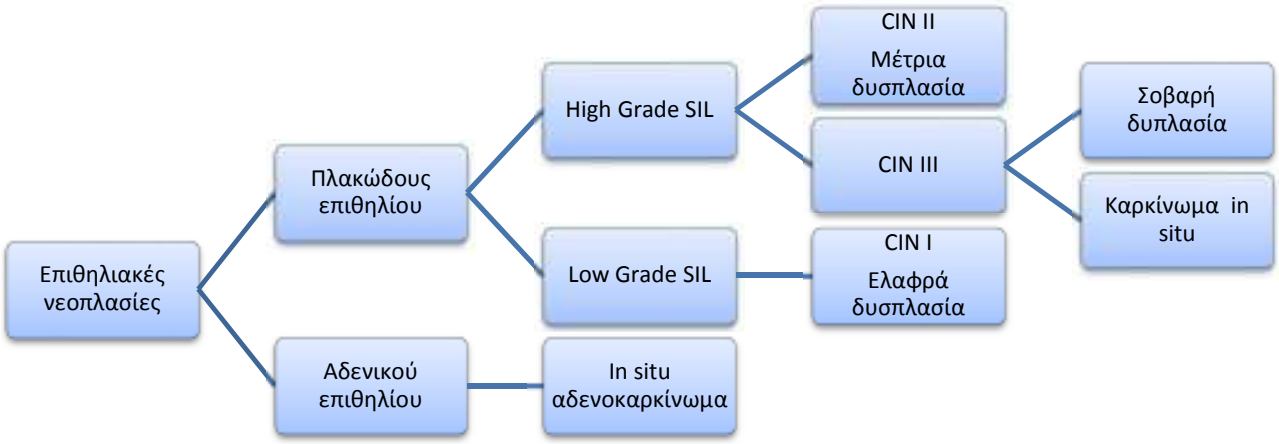
- Σεξουαλική δραστηριότητα: Πρόκειται για έναν παράγοντα που διαδραματίζει βασικό ρόλο όσον αφορά στη μετάδοση του ιού HPV και στην έναρξη της διαδικασίας μόλυνσης.
- Χρήση αντισυλληπτικών σκευασμάτων: Πρόκειται για έναν αμφιλεγόμενο παράγοντα που χρήζει ασφαλώς περαιτέρω διερεύνησης. Εντούτοις, πολλές έρευνες (Διεθνή Υπηρεσία Ερεύνης Καρκίνου - 2002, Vessey et al - 2003), οδήγησαν στον συμπέρασμα πως η παρατεταμένη χρήση αντισυλληπτικών αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, εφόσον έχει προηγηθεί μόλυνση με κάποιον από τους τύπους του ιού HPV που ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου (συνήθως HPV 16 ή 18). Μάλιστα, το διάστημα χρήσης αυτών των σκευασμάτων είναι ανάλογο με την αύξηση του συγκεκριμένου κινδύνου.
- Κάπνισμα: Η γενικότερη σχέση καπνίσματος και καρκίνου έχει στοιχειοθετηθεί πολλές φορές. Δε μπορεί λοιπόν παρά να έχει σχέση και με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, με τα παράγωγα της νικοτίνης να έχουν ανιχνευθεί μέσα στην τραχηλική βλέννη. Επίσης, ο συνδυασμός του με την παρουσία του ιού HPV μπορεί να επιτείνει τη διαδικασία δημιουργίας κακοήθων επιθηλιακών κυττάρων. Ενδεικτικά, σε γυναίκες θετικές για HPV 16/18 που καπνίζουν, η πιθανότητα ανάπτυξης διηθητικού καρκίνου τραχήλου είναι μεγαλύτερη σε σχέση με γυναίκες που δεν καπνίζουν [21]. Τέλος, σε βιοψίες τραχήλου καπνιστριών έχει παρατηρηθεί πολύ συχνότερη μεθυλίωση των βάσεων του DNA (adducts) από την επίδραση των πολύ κυκλικών υδρογονανθράκων, σε σχέση με τραχηλικές βιοψίες μη-καπνιστριών, η οποία δυνητικώς οδηγεί στην ανάπτυξη μεταλλάξεων [22].

- Μικρόβια – μικροοργανισμοί: Η διαδικασία της καρκινογένεσης μπορεί να ενισχυθεί από την παρουσία μικροβιακών παραγόντων όπως η τριχομονάδα του κόλπου, ο έρπης των γεννητικών οργάνων και τα χλαμύδια [2].
- Μη επαρκής λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος: Κάτι τέτοιο μπορεί να οφείλεται σε άλλες νόσους οι οποίες έχουν καταστήσει το ανοσοποιητικό σύστημα ανεπαρκές να αντιμετωπίσει ακόμα και τύπους του ιού HPV που ανήκουν στις ομάδες χαμηλού κινδύνου.

Εκείνο το σημείο που πρέπει να τονιστεί είναι ότι κοινή συνιστώσα όλων των προαναφερόμενων παραγόντων είναι η παρουσία του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων, με τις άλλες αιτίες να ενισχύουν τη διαδικασία καρκινογένεσης. Σε αυτό το πνεύμα, η Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρεία κατάρτισε κατάλογο συμπαραγόντων κινδύνου για τον καρκίνο τραχήλου στον οποίο συμπεριλαμβάνονται το κάπνισμα, η λοίμωξη από τον ιό HIV, η μόλυνση από χλαμύδια, οι σχετιζόμενες με το άγχος διαταραχές, οι παράγοντες δίαιτας, η ορμονική αντισύλληψη, οι πολλαπλές κυήσεις, η έκθεση στο ορμονικό φάρμακο diethylstilbestrol (DES) καθώς και το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του τραχήλου της μήτρας [23].

1.4 Ταξινόμηση προκαρκινικών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας

Η ταξινόμηση των προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας μπορεί να συνοψιστεί στο ακόλουθο διάγραμμα.



Διάγραμμα 3: Ταξινόμηση προκαρκινικών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας

Με τον όρο τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (Cervical Intraepithelial Neoplasia ή CIN) περιγράφεται ολόκληρο το φάσμα των ανωμαλιών – αλλοιώσεων που υφίστανται στα κύτταρα του τραχηλικού πλακώδους επιθηλίου. Ο όρος «δυσπλασία» περιλαμβάνει όλες τις διαταραχές διαφοροποιήσεως του πλακώδους επιθηλίου που δεν εκπληρώνουν τις προϋποθέσεις του in situ καρκινώματος. Στο καρκίνωμα in situ δεν εμφανίζεται η παραμικρή διαφοροποίηση σε ολόκληρο το πάχος του πλακώδους επιθηλίου.

Ανάλογα με τη βαρύτητα και την έκταση των δυσπλαστικών αλλοιώσεων, η δυσπλασία διακρίνεται σε CIN-I (ελαφρά), CIN-II (μέτρια) και CIN-III (βαριά δυσπλασία και in situ καρκίνωμα) και η οποία με τη σειρά της οποία μπορεί να εξελιχθεί σε SIL (Squamous Intraepithelial Lesion), μια προκαρκινική δηλαδή κατάσταση.

Ιστολογικά, οι αλλοιώσεις εντοπίζονται στην περιοχή της ζώνης μετάπλασης όπως αναφέρθηκε στην παραπάνω αντίστοιχη ενότητα. Ειδικότερα, στο CIN-I εντοπίζονται στο κατώτερο τριτημόριο του πάχους του επιθηλίου, ενώ στο CIN-II και CIN-III αυτές οι διαταραχές παρατηρούνται στα δύο τρίτα και σε ολόκληρο το πάχος του επιθηλίου αντιστοίχως [5,24,25].

Η διαδοχή των παραπάνω αλλοιώσεων δεν είναι εύκολο να προσδιοριστούν, με τα ποσοστά υποστροφής των διαφόρων βαθμών CIN να είναι αντιστρόφως ανάλογα της βαρύτητας των αλλοιώσεων (για παράδειγμα αλλοιώσεις CIN II υποστρέφουν σε ποσοστό

54% και αλλοιώσεις CIS (καρκίνωμα in situ) σε ποσοστό 25% αντίστοιχα, ενώ από τις CIN-I μόνο ένα ποσοστό 16% επιδεινώνεται προς CIN-III (υποστροφή 84%) [26].

Στις επιθηλιακές νεοπλασίες από πλακώδες επιθήλιο ανήκει και το μικροδιηθητικό επιδερμοειδές καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας, εκείνο δηλαδή το καρκίνωμα το οποίο διηθεί το υπόστρωμα σε βάθος μικρότερο από 5mm και έχει διάμετρο μικρότερη των 7 mm. Η δεύτερη κατηγορία των επιθηλιακών νεοπλασιών είναι αυτή του αδενικού επιθηλίου, με το in situ αδενοκαρκίνωμα σε πολλές περιπτώσεις (40-50%) να συνυπάρχει με το CIN [5].

Μακροσκοπική

Κυτταρολογική

Εικόνα 5: Υψηλού βαθμού δυσπλασία τραχήλου CN III [5]

1.5 Σταδιοποίηση καρκίνου τραχήλου μήτρας

Σύμφωνα με την Παγκόσμια Ομοσπονδία Μαιευτικής και Γυναικολογίας (International Federation of Gynecology and Obstetrics - FIGO), έχει καταρτιστεί μια λίστα πέντε σταδίων του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, η οποία βασίζεται σε κλινικές εξετάσεις και όχι σε χειρουργικές επεμβάσεις. Η συγκεκριμένη σταδιοποίηση και η οποία καταγράφεται στην ακόλουθη λίστα, έχει ιδιαίτερη σημασία γιατί μπορεί να βοηθήσει στο σχεδιασμό της εκάστοτε θεραπείας.

Στάδιο	*Περιγραφή*
0	Καρκίνωμα in situ – Καταλαμβάνεται μόνο το επιφανειακό στρώμα των κυττάρων που επενδύουν τον τράχηλο χωρίς να εισβάλει στους ιστούς του τραχήλου
I	Περιορισμός στον τράχηλο
IA	Η διάγνωση μπορεί να γίνει μόνο με μικροσκόπιο. Δεν υπάρχουν ορατές αλλοιώσεις
IA1	Η αλλοίωση επισημαίνεται σε βάθος μικρότερο των 3 mm (βάθος διήθησης), ενώ η οριζόντια διασπορά της είναι μέχρι 7 mm
IA2	Η αλλοίωση επισημαίνεται σε βάθος μεγαλύτερο των 3 mm και μικρότερο των 5 mm, ενώ η οριζόντια διασπορά της είναι μέχρι 7 mm
IB	Ορατές μικροσκοπικές αλλοιώσεις σε βάθος μεγαλύτερο των 5 mm και μικρότερο των 5 mm, ενώ η οριζόντια διασπορά τους είναι μεγαλύτερη των 7 mm
IB1	Ορατή αλλοίωση μέχρι 4 cm στη μεγαλύτερη διάστασή της
IB2	Ορατή αλλοίωση μεγαλύτερη των 4 cm στη μεγαλύτερη διάστασή της
II	Η αλλοίωση έχει προχωρήσει πέρα από τον τράχηλο αλλά όχι στο τοίχωμα της πυέλου
IIA	Η αλλοίωση έχει προχωρήσει στα ανώτερα δύο τρίτα του κόλπου χωρίς περαιτέρω παραμήτρια αλλοίωση
IIB	Υφίσταται παραμήτρια αλλοίωση, πέρα από τα δύο τρίτα του κόλπου
III	Οι αλλοιώσεις επεκτείνονται στους κολπικούς θόλους και τοιχώματα ή στο χαμηλότερο τριτημόριο του κόλπου
IIIA	Η αλλοίωση εντοπίζεται στο χαμηλότερο τριτημόριο του κόλπου, όχι όμως στους κολπικούς θόλους και τοιχώματα
IIIB	Η αλλοίωση έχει επεκταθεί στους κολπικούς θόλους και τοιχώματα, ενώ έχει ταυτόχρονα επηρεάσει τη νεφρική λειτουργία, οδηγώντας σε διόγκωση των νεφρών λόγω απόφραξης (υδρονέφρωση)
IVA	Η αλλοίωση υπεισέρχεται στο βλεννογόνο της ουροδόχου κύστεως ή του ορθού
IVB	Προκαλείται μετάσταση σε περιοχές με σχετική απόσταση όπως στην κοιλία, στο ήπαρ, στο γαστρεντερικό σωλήνα, ή στους πνεύμονες

Πίνακας 2: Σταδιοποίηση καρκίνου τραχήλου της μήτρας κατά FIGO [27, 28]

1.6 Ιστολογικοί τύποι καρκίνου τραχήλου της μήτρας

Οι βασικοί ιστολογικοί τύποι του διηθητικού καρκίνου τραχήλου της μήτρας είναι τα καρκινώματα από πλακώδες επιθήλιο και τα αδενοκαρκινώματα. Τα καρκινώματα από πλακώδες επιθήλιο είναι και τα συχνότερα εμφανιζόμενα (σε ποσοστό 85-90%) και διακρίνονται ιστολογικά σε αυτά που αφορούν μεγάλα κερατινοποιημένα κύτταρα, μεγάλα μη κερατινοποιημένα κύτταρα και μικρά κύτταρα. Η διαφοροποίηση είναι υψηλότερη στην περίπτωση των κερατινοποιημένων κυττάρων.

Τα αδενοκαρκινώματα εμφανίζονται σπανιότερα (σε ποσοστό 10-15%) με τον πιο συχνό τύπο να είναι το βλεννώδες ενδοτραχηλικό αδενοκαρκίνωμα. Ανάλογα με τη διαφοροποίηση που παρουσιάζουν διακρίνονται σε υψηλά, μέτρια και χαμηλά, συγκρίνοντας πάντα το φυσιολογικό αδενικό κύτταρο με το καρκινικό. Υφίστανται και άλλοι τύποι καρκινώματος όπως τα αδενοπλακώδη, τα αδενοκυστικά, τα μεταστατικά, αποτελούν όμως ένα μικρό ποσοστό σε σχέση με τα παραπάνω (μόλις το 3-5%) [2,5].

1.7 Συμπτώματα

Τα συμπτώματα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας έχουν άμεση σχέση με το στάδιο της νόσου. Στα αρχικά στάδια η νόσος είναι ασυμπτωματική [8,29], γεγονός που μπορεί να έχει ως συνέπεια η νόσος να προχωρήσει χωρίς να γίνει αντιληπτή για σημαντικό χρονικό διάστημα. Αργότερα όμως μπορεί να εμφανιστεί ανεξήγητη κολπική αιμορραγία, αυξημένη συγκέντρωση κολπικών υγρών, πόνοι στην περιοχή της μήτρας, δυσχερής διούρηση (με ή χωρίς ίχνη αίματος), συχνουρία, οιδήματα στα κάτω άκρα και οσφυαλγία [30].

Σε προχωρημένο στάδιο της ασθένειας, μπορεί να παρατηρηθούν μεταστάσεις στην κοιλιά, στους πνεύμονες ή σε άλλα όργανα του σώματος. Τα συμπτώματα του προχωρημένου καρκίνου του τραχήλου μπορεί να περιλαμβάνουν: απώλεια όρεξης και βάρους, κόπωση, πυελικό άλγος, οσφυαλγία, πόνος στα κάτω άκρα, πρησμένο πόδι, βαριά αιμορραγία από τον κόλπο και απώλεια ούρων [31].

1.8 Διάγνωση

Όπως σε κάθε νόσο, έτσι και στην περίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, η έγκυρη και η όσο το δυνατό γρηγορότερη διάγνωση μπορεί να είναι καθοριστική για την αντιμετώπισή της, με την έννοια της διάγνωσης να αφορά στην κλινική πράξη εξακρίβωσης της ανίχνευσης του καρκίνου. Πρόκειται ασφαλώς για μια διόλου απλή διαδικασία, η οποία εξελίσσεται σε διαφορετικά διακριτά στάδια, με καθένα από αυτά να επηρεάζει καθοριστικά την απόδοση της διαδικασίας στο σύνολό της.

Στο διαγνωστικό λοιπόν πλαίσιο εντάσσεται η διαδικασία του screening, του προληπτικού δηλαδή πληθυσμιακού ελέγχου μέσω της συστηματικής παρακολούθησης των γυναικών ως ένα είδος δευτερογενούς πρόληψης της ασθένειας. Οι μέθοδοι με τις οποίες πραγματοποιείται αυτός ο έλεγχος αναλύονται στο επόμενο κεφάλαιο. Εφόσον το screening οδηγήσει σε θετικά αποτελέσματα, τότε ακολουθεί η διαδικασία της διαλογής (triage). Το triage αναφέρεται στη ξεχωριστή αντιμετώπιση της καθεμίας ασθενούς, λαμβάνοντας ταυτόχρονα υπόψη τόσο τα αποτελέσματα των ιατρικών εξετάσεων όσο και ένα πλήθος προσωπικών στοιχείων, όπως ηλικία, οικογενειακή κατάσταση, ιατρικό ιστορικό, ψυχολογικούς παράγοντες κτλ. Μέσω του συνδυασμού αυτών των στοιχείων, ο ιατρός αποφασίζει για την περαιτέρω αντιμετώπιση του εκάστοτε περιστατικού (επανεξέταση εντός ορισμένου χρονικού διαστήματος ή θεραπεία). Στη συγκεκριμένη μάλιστα κατεύθυνση γίνονται προσπάθειες ώστε μέσω της βοήθειας κατάλληλων τεχνολογικών συστημάτων να αναπτυχθούν αυτοματοποιημένα πρωτόκολλα διαλογής (τέτοιου είδους συστήματα είναι τα συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης – CDSS, τα οποία αναλύονται εκτενώς σε επόμενο κεφάλαιο). Στο τελικό στάδιο της διάγνωσης συμπεριλαμβάνονται η οπτική εξέταση (με χρήση οξικού οξέος και διαλύματος Lugol) και η βιοψία μέσω κολποσκόπησης, η οποία έρχεται να επιβεβαιώσει ύποπτα αποτελέσματα της οπτικής εξέτασης, με τις σχετικές τεχνικές να αναλύονται ακολούθως.

1.8.1 Οπτική εξέταση του τραχήλου της μήτρας

Πρόκειται για μια απλή εξέταση η οποία βασίζεται στην αντίληψη των όποιων αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας δια «γυμνού οφθαλμού». Για τη διευκόλυνση της εξέτασης χρησιμοποιείται οξικό οξύ ή ιώδιο Lugol [2], όπως αναλύεται στη συνέχεια. Η συγκεκριμένη εξέταση παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως:

- μπορεί να εφαρμοστεί από μια σειρά ιατρικών επαγγελματιών,
- παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία (sensitivity) (σε διάφορες μελέτες εκπαιδευόμενοι ιατροί εντόπισαν ορθά 45% μέχρι και 79% των γυναικών με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου [32]),
- μπορεί να γίνει σε σύντομο χρόνο, με αποτέλεσμα να είναι δυνατός ο συνδυασμός της με θεραπευτικές μεθόδους (για παράδειγμα με κρυοθεραπεία) [33],
- δεν απαιτεί ιδιαίτερο εξοπλισμό και έχει χαμηλό κόστος, με αποτέλεσμα να μπορεί να εφαρμοστεί εύκολα σε χώρες με χαμηλούς πόρους για τα συστήματα υγείας τους, στα πλαίσια του ευρύτερου προληπτικού ελέγχου [34].

Στα μειονεκτήματα της μεθόδου συμπεριλαμβάνονται η χαμηλή ειδικότητα (specificity) και η εξάρτησή της από την υποκειμενικότητα του ατόμου που διενεργεί την εξέταση.

1.8.1.1 Οπτική επισκόπηση με χρήση οξικού οξέος

Η μέθοδος VIA (visual inspection with acetic acid;), είναι επίσης γνωστή ως DVI (direct visual inspection ή ως AAT (acetic acid test), περιλαμβάνει την εξέταση του τραχήλου δια γυμνού οφθαλμού με τη χρήση φωτεινής πηγής, ένα λεπτό μετά την εφαρμογή διαλύματος οξικού οξέος (3-5%) μέσω ειδικού σπρέι. Το τεστ θετικοποιείται με την ανίχνευση λευκών σημαδιών κοντά στην περιοχή της αδενοπλακώδους συμβολής. Τα περιστατικά που είναι δυνατό να ανιχνευθούν με τη συγκεκριμένη τεχνική περιλαμβάνουν πρώιμη μεταπλασία των πλακωδών κυττάρων και τραχηλικές νεοπλασίες στη συγκεκριμένη περιοχή, Η λεύκανση οφείλεται στην πήξη συγκεκριμένων πρωτεϊνών των οποίων η συγκέντρωση είναι αυξημένη στην περίπτωση νεοπλασιών. Βασικό της πλεονέκτημα είναι το άμεσο αποτέλεσμα και επομένως η άμεση έναρξη της θεραπείας στα πλαίσια του “screen-and-treat” [35], αλλά και το χαμηλό της κόστος από πλευράς

απαιτούμενου εξοπλισμού και αναλωσίμων. Επίσης, η εκπαίδευση του προσωπικού για την πραγματοποίησή της μπορεί εύκολα να γίνει σε σύντομη περίοδο των 5-10 ημερών [36].

1.8.1.2 Οπτική επισκόπηση με χρήση διαλύματος Lugol

Κατά τη συγκεκριμένη μέθοδο VILI (Visual inspection with Lugol's iodine) γίνεται εμβροχή της εξεταζόμενης τραχηλικής περιοχής με διάλυμα Lugol, με τη θετικοποίηση του τεστ να προκύπτει από την ανίχνευση πρασινοκίτρινων περιοχών [37].

1.8.2 Βιοψία μέσω κολποσκόπησης

Αποτελεί την κατεξοχήν μέθοδο επιβεβαίωσης του καρκίνου ή προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας. Για την υλοποίησή της από το γυναικολόγο ιατρό χρησιμοποιείται το κολποσκόπιο (στην εικόνα που ακολουθεί απεικονίζεται το κολποσκόπιο Seiler 955), το οποίο μέσω ενός ειδικού μικροσκοπίου και μιας κατάλληλα προσαρτημένης μηχανής μαγνητοσκόπησης διευρύνει έως και 40 φορές το οπτικό πεδίο επιτρέποντας έτσι:

- τον προσδιορισμό τυχόν ανώμαλων περιοχών, οι οποίες δεν είναι δυνατό να γίνουν αντιληπτές με γυμνό μάτι,
- το σαφή προσδιορισμό της περιοχής που θα γίνει η βιοψία και την πραγματοποίησή της, με αποτέλεσμα την επιβεβαίωση της κυτταρολογικής εξέτασης.

Εικόνα 6: Κολποσκόπιο (Seiler 955) [38]

Είναι επίσης απαραίτητη η χρήση αραιού διαλύματος οξικού οξέος (3-5%) το οποίο τοποθετημένο στην περιοχή αφαιρούμενου επαναληπτικού κολποτραχηλικού επιχρίσματος καθιστά το ανώμαλο επιθήλιο ορατό στο γυμνό μάτι, παρουσιάζοντας τις αντίστοιχες περιοχές ως άσπρες αισθητά καθορισμένες (acetowhite), εξαιτίας της υψηλής πυκνότητας της πυρηνικής πρωτεΐνης στις περιοχές CIN [2].

Η κολποσκόπηση μπορεί να συνδυαστεί με περαιτέρω διαδικασίες όπως η αφαίρεση πολύ μικρών δειγμάτων (punch biopsies), η χρήση αγκύλης διαθερμίας (loop electrical excision procedure - LEEP) και η κωνοειδής εκτομή (conization).

1.8.2.1 Αγκύλη διαθερμίας

Η συγκεκριμένη τεχνική είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος βιοψίας σήμερα. Ονομάζεται επίσης και LEEP (Loop Electrosurgical Excision Procedure – Ονομασία U.S.A) ή LLETZ (Large Loop Excision of the Transformation Zone - Ονομασία U.K.). Για την εκτέλεσή της χρησιμοποιείται μια μεταλλική αγκύλη που θερμαίνεται με χρήση ηλεκτρισμού, ώστε να αποκόψει τον προς ιστολογική εξέταση τραχηλικό ιστό. Στα βασικά της πλεονεκτήματα συμπεριλαμβάνονται η απλότητά της, η τοπική αναισθησία, η γρήγορη επούλωση και η μικρή απώλεια αίματος [39].

Τα όρια εκτομής με τη χρήση της συγκεκριμένης τεχνικής επηρεάζονται από τη θερμική βλάβη (thermal artifact). Κατά συνέπεια, υπάρχει η πιθανότητα ύπαρξης

αβεβαιότητας ως προς την πλήρη και επί υγιούς αφαίρεση της βλάβης, λόγω αδυναμίας εκτίμησης των ορίων εκτομής του παρασκευάσματος [40].

1.8.2.2 Κωνοειδής εκτομή

Η συγκεκριμένη μέθοδος ονομάστηκε έτσι επειδή ο αφαιρούμενος τραχηλικός ιστός έχει σχήμα κώνου. Μπορεί να γίνει είτε με τη χρήση ακτινών Laser, είτε με τη χρήση ειδικού νυστεριού, ενώ βασικό της πλεονέκτημα έναντι της LEEP είναι ότι παρουσιάζει πολύ μικρότερη πιθανότητα θερμικής βλάβης. Αντίθετα, παρουσιάζει μειονεκτήματα όσον αφορά στην πιθανή στένωση του τραχηλικού στομίου, αλλά και στο ότι απαιτεί περισσότερο χρόνο εκτέλεσης και εκπαίδευσης αλλά και ειδικότερο και επομένως ακριβότερο εξοπλισμό [39,40].

1.8.2.3 Punch Biopsy

Κατά τη συγκεκριμένη μέθοδο βιοψίας, μέσω ενός ειδικού εργαλείου – λαβίδας (punch), ο τραχηλικός ιστός τρυπιέται και αφαιρείται ένα μικρό κυκλικό δείγμα, ενώ συχνά η διαδικασία επαναλαμβάνεται στη γύρω περιοχή, λαμβάνοντας συνολικά περισσότερα από ένα δείγματα προς ιστολογική εξέταση.

1.9 Πρόληψη

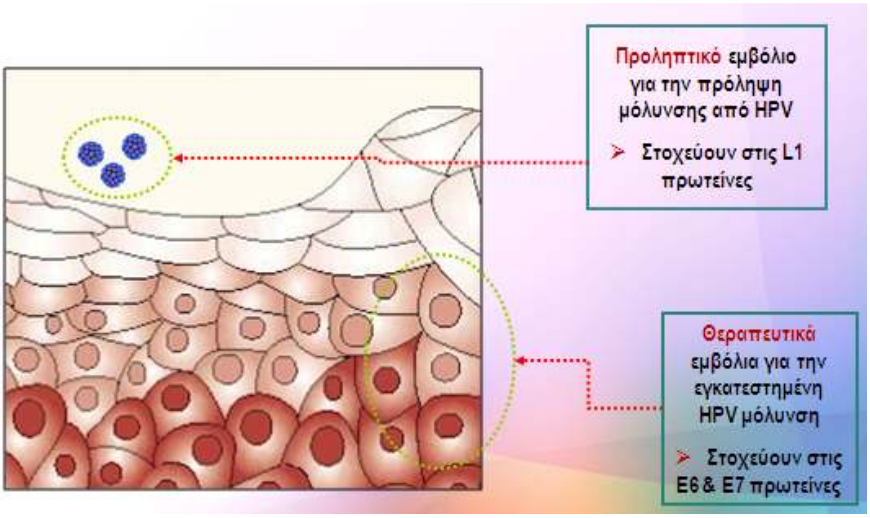
Το ζητούμενο της πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας μπορεί να διαιρεθεί σε δύο βασικές κατηγορίες, αυτή της πρωτογενούς πρόληψης που περιλαμβάνει όλες τις δυνατές δράσεις για την ελαχιστοποίηση της πιθανότητας εκδήλωσης της νόσου και αυτή της δευτερογενούς πρόληψης η οποία αφορά στο συστηματικό προληπτικό πληθυσμιακό έλεγχο (screening) των γυναικών και τις χρησιμοποιούμενες ιατρικές μεθόδους οι οποίες θα αναλυθούν διεξοδικά στο επόμενο κεφάλαιο.

Στην κατηγορία λοιπόν της πρωτογενούς πρόληψης ανήκουν οι εξής δράσεις, προκειμένου την κατά το δυνατό αποφυγή εκδήλωσης της συγκεκριμένης νόσου:

Εμβολιασμός

Πρόκειται για τη πιο σημαντική μέθοδο πρωτογενούς πρόληψης. Τα εμβόλια που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν και τα οποία έχουν πάρει έγκριση από την Αμερικανική Υπηρεσία Διατροφής και Φαρμάκων και την Ευρωπαϊκή Ιατρική Υπηρεσία, καλύπτουν τα στελέχη HPV 16/18 (Cervarix, GlaxoSmithKline) καθώς και επιπρόσθετα τα στελέχη 6/11 (Gardasil, Merck), περιλαμβάνουν δε αντιγόνα του καψιδίου των HPV. Το εμβόλιο χορηγείται σε τρεις δόσεις (1, 2 και 6 μήνες) στην ηλικία των 15-23 ετών και καλύπτει ένα χρονικό διάστημα 5-10 ετών, με την ισχυρότερη ανοσολογική απόκριση μετά από διάστημα 3,5 ετών [41].

Το ζήτημα όμως του εμβολιασμού συγκεντρώνει αρκετά προβλήματα, όπως οι αντιδράσεις εφαρμογής του σε πρώιμη ηλικία (η Αμερικάνικη Συμβουλευτική Επιτροπή σε Πρακτικές Ανοσοποίησης πρότεινε να χορηγείται στην παιδική ηλικία των 11-12 ετών [42]) αλλά και οι ενστάσεις της ιατρικής κοινότητας όσον αφορά στην ανάγκη περαιτέρω εξέτασης των εμβολίων.



Διάγραμμα 4: Μηχανισμός λειτουργίας εμβολιασμού HPV [20]

Σεξουαλική Προφύλαξη

Η σεξουαλική προφύλαξη συνίσταται έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η προστασία έναντι άλλων σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, όπως τα χλαμύδια που επιτείνουν τη μόλυνση με τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων και κατ΄επέκταση την πρόκληση προκαρκινικών αλλοιώσεων στον τράχηλο. Επίσης, σχετικές μελέτες έχουν οδηγήσει στη διαπίστωση ότι η έκθεση στο σπέρμα αυξάνει την πιθανότητα προκαρκινικών αλλαγών, καθώς και επιταχύνει την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου [43,44].

Άλλα μέτρα

Άλλα προληπτικά μέτρα σχετικά με την ελαχιστοποίηση της πιθανότητας εκδήλωσης καρκίνου τραχήλου της μήτρας προκύπτουν από τη συνολική αιτιολογία της νόσου. Έτσι, συνιστάται η αποφυγή του καπνίσματος, η αποφυγή λήψης αντισυλληπτικών φαρμάκων και η απόδοση ιδιαίτερης προσοχής στην εξασφάλιση της διατροφικής και ψυχολογικής ισορροπίας του ατόμου.

1.10 Θεραπεία

Οι θεραπευτικές μέθοδοι – «εργαλεία» αντιμετώπισης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ποικίλουν και η επιλογή τους είναι συνάρτηση πολλών και διαφορετικών παραγόντων. Οι μέθοδοι αυτές είναι

- Κωνοειδής εκτομή: αφαιρείται ένα τμήμα ιστού από τον τράχηλο σε σχήμα κώνου. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως διαγνωστική μέθοδος, όπως προαναφέρθηκε.
- Ολική υστερεκτομή: Η μήτρα και ο τράχηλος αφαιρούνται χειρουργικά μέσω του κόλπου ή της κοιλίας.
- Αμφοτερόπλευρη σάλπιγγο-ωοθηκεκτομή: αφαιρούνται χειρουργικά οι ωοθήκες και οι σάλπιγγες.
- Ριζική υστερεκτομή: αφαιρούνται χειρουργικά οι ωοθήκες, η μήτρα, ο τράχηλος, μέρος του κόλπου, τα παραμήτρια και οι λεμφαδένες της πυέλου.
- «Εξεντέρωση» της πυέλου και στομίες: Χειρουργική αφαίρεση του κατιόντος κόλου, του ορθού εντέρου, και της ουροδόχου κύστης μαζί με τον τράχηλο, τον κόλπο, τις ωοθήκες και τους ενδοπυελικούς λεμφαδένες.
- Κρυοχειρουργική: Ο παθολογικός ιστός καταστρέφεται μέσω ψύξης.

- Χειρουργική επέμβαση με λέιζερ.
- Διαθερμία με βρόχους: η αφαίρεση γίνεται μέσω ηλεκτρικού ρεύματος που διαρρέει ένα βρόχο καλωδίων. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί και ως διαγνωστική μέθοδος, όπως προαναφέρθηκε.
- Ακτινοθεραπεία: Τα καρκινικά κύτταρα καταστρέφονται μέσω ακτινών υψηλής ενέργειας με εξωτερική ή εσωτερική πηγή (ραδιενεργό ουσία)
- Χημειοθεραπεία: Ο πολλαπλασιασμός των καρκινικών κυττάρων αναστέλλεται μέσω φαρμακευτικών παραγόντων [28].

Το θεραπευτικό σχήμα που θα επιλεγεί κάθε φορά έχει άμεση σχέση με το στάδιο που βρίσκεται η νόσος, ενισχύοντας τη σημασία της διαδικασίας σταδιοποίησης όπως προαναφέρθηκε στην αντίστοιχη ενότητα. Βασικοί επίσης παράμετροι είναι αυτοί της εγκυμοσύνης και της επιθυμίας τεκνοποίησης. Έτσι, οι θεραπευτικές μέθοδοι που ακολουθούνται ανά στάδιο έχουν ως εξής:

- στην περίπτωση του σταδίου 0 πραγματοποιείται τοπική εξαίρεση του καρκινικού επιθηλίου με διαθερμία ή λέιζερ,
- στην περίπτωση του σταδίου I πραγματοποιείται ριζική υστερεκτομή, με τη διατήρηση ή μη των ωοθηκών να εξαρτάται από τον παράγοντα της ηλικίας και το ζητούμενο εξασφάλισης της γονιμότητας,
- στην περίπτωση προχωρημένου σταδίου πραγματοποιείται ριζική υστερεκτομή ή/και πυελική ακτινοθεραπεία
- στην περίπτωση εξαπλωμένου καρκίνου πραγματοποιείται ακτινοθεραπεία ή/και χημειοθεραπεία [2].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΟΣ ΠΛΗΘΥΣΜΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Ο προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος αποτελεί μέρος της διαδικασίας πρόληψης στη δευτερογενή της μορφή με βασικό στόχο να ανιχνευθούν τυχόν προκαρκινικές αλλοιώσεις, πριν εκδηλωθούν τα όποια συμπτώματα, καθιστώντας έτσι τα screening tests ένα αποτελεσματικό «εργαλείο» στην καταπολέμηση της νόσου, επιβεβαιώνοντας περίτρανα την αξία του «προλαμβάνειν» έναντι του «θεραπεύειν».

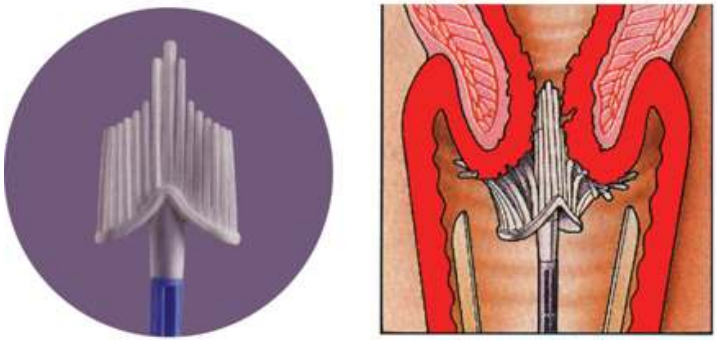
Στο παρόν κεφάλαιο, θα αναλυθούν οι εξετάσεις που χρησιμοποιούνται σήμερα στα πλαίσια του προληπτικού ελέγχου, από το καθιερωμένο και εφαρμόσιμο εδώ και πολλά χρόνια pap test, μέχρι τις νέες τεχνικές ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας που συνεχίζουν να αποτελούν αντικείμενο μελέτης. Θα παρατεθούν διεξοδικά οι βασικές αρχές που τις διέπουν καθώς και οι μηχανισμοί λειτουργίας τους, ενώ ταυτόχρονα θα γίνει μια πρώτη αναφορά στις ιδιότητες της ευαισθησίας και της ειδικότητάς τους, με το ζήτημα της απόδοσής τους να αποτελεί αντικείμενο του επόμενου κεφαλαίου (τόσο σε μεμονωμένο επίπεδο όσο και σε επίπεδο της μεταξύ τους σύγκρισης).

2.1 Pap test

Πρόκειται για το screening test με τη μεγαλύτερη περίοδο εφαρμογής και δοκιμών αφού μόνο για την περίπτωση της Αμερικής χρησιμοποιείται τουλάχιστον για 40 έτη και ευθύνεται για τη μείωση των θανάτων εξαιτίας καρκίνου του τραχήλου της μήτρας κατά 74% [45]. Ανακαλύφθηκε από τον ιατρό Γεώργιο Παπανικολάου, έναν Αμερικανό ανατόμο Ελληνικής καταγωγής, ο οποίος διακρίνοντας ότι καρκινικά κύτταρα μπορούσαν να παρατηρηθούν στις κολπικές εκκρίσεις από γυναίκες με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, δημοσίευσε το 1943 το άρθρο «Διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας από το κολπικό επίχρισμα» [2].

Βασικός του μηχανισμός είναι η αφαίρεση δείγματος επιθηλιακών κυττάρων από τον τράχηλο της μήτρας με μια σπάτουλα και από τον ενδοτραχηλικό σωλήνα με ένα βουρτσάκι, έτσι ώστε να συλλεχθούν όλες οι κατηγορίες κυττάρων της περιοχής (πλακώδη, αδενικά και μεταπλαστικά). Τα κύτταρα στη συνέχεια τοποθετούνται σε γυάλινα πλακίδια όπου στερεώνονται με χρήση σπρέι ή διαλύματος αλκοόλης για να εξεταστούν στη συνέχεια στο μικροσκόπιο.

Τα τελευταία χρόνια η διαδικασία έχει διαφοροποιηθεί με τη χρήση ειδικής συσκευής (cervex), για την ταυτόχρονη συλλογή πλακωδών και αδενικών κυττάρων). Ακολούθως, το δείγμα τοποθετείται σε ειδικό φιαλίδιο μαζί με το τελικό τμήμα της συσκευής και με τη βοήθεια κατάλληλου μηχανήματος τα κύτταρα στρώνονται σε γυάλινο πλακίδιο, αποδίδοντας προσοχή στο στρώσιμο μονής στοιβάδας ώστε να αποφεύγονται φαινόμενα αλληλοεπικάλυψης. Η συγκεκριμένη τεχνική, η οποία απεικονίζεται στην ακόλουθη εικόνα ονομάζεται LBC (Liquid Based Cytology) ή Κυτταρολογία Υγρής Φάσης**.**



Εικόνα 7: Συλλογή πλακωδών και αδενικών κυττάρων για την εφαρμογή pap test με τη συσκευή cervix [46]

Η LBC έχει το πλεονέκτημα ότι είναι κατάλληλη για επιπρόσθετα HPV tests και ότι μειώνει τα ανεπαρκή δείγματα από το 4,1% στο 2,6% [47].

2.1.1 Κατηγοριοποίηση των αποτελεσμάτων του pap test

Η κατηγοριοποίηση των αποτελεσμάτων του pap test, βασίζεται στο σύστημα Bethesda και έχει ως εξής ανάλογα με τα εκάστοτε ευρήματα:

1. Κατηγορία WNL (within normal limits), η οποία αφορά παθολογικά ευρήματα εντός φυσιολογικών ορίων.
2. Καλοήθεις κυτταρικές αλλοιώσεις, φλεγμονή και αντιδραστικές αλλοιώσεις.
3. Κατηγορία ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) ή «άτυπα πλακώδη κύτταρα απροσδιορίστου σημασίας». Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλαμβάνονται ευρήματα που αφορούν κύτταρα στα οποία έχει βρεθεί κάποια ατυπία, χωρίς όμως να μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια η σοβαρότητα και η βαρύτητά της, με αποτέλεσμα να είναι πιθανή ή ύπαρξη αλλοιώσεων, οι οποίες με τη σειρά τους θα διαπιστωθούν μέσω κολποσκόπησης με ή χωρίς βιοψία και αναζήτηση HPV-DNA. Έχει παρατηρηθεί, ότι σε σύνολο περίπου 1.000 tests αυτής της κατηγορίας, ανευρίσκεται τελικά και ένας καρκίνος.

   Κατηγορία AGUS: Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλαμβάνονται ευρήματα που αφορούν κύτταρα στα οποία έχει βρεθεί κάποια ατυπία από αδενικά κύτταρα, που δεν μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια. Ο κίνδυνος που ελλοχεύει στα αποτελέσματα αυτής της κατηγορίας αφορά ένα ποσοστό 30-50%, ανάλογα με την ηλικία και το ιστορικό της ασθενούς και μπορεί να είναι HSIL, αδενοκαρκίνωμα in situ (μη μεταστατικό) και διηθητικός καρκίνος
4. Κατηγορία LSIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion): Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλαμβάνονται ευρήματα που αφορούν κύτταρα στα οποία έχουν βρεθεί αλλοιώσεις χαμηλού βαθμού, ή αλλοιώσεις που οφείλονται σε θηλωματοϊούς και την ελαφριά δυσπλασία CIN1 (Cervical Intraepithelial Neoplasia). Η περαιτέρω διερεύνηση εξαρτάται από την ηλικία της εξεταζόμενης, με τις γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας να χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Η συγκεκριμένη αναγκαιότητα πηγάζει από το ποσοστό των περιστατικών που αργότερα εμφανίζονται ως HSIL.
5. Κατηγορία HSIL (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion): Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλαμβάνονται ευρήματα που αφορούν κύτταρα στα οποία έχουν βρεθεί αλλοιώσεις υψηλού βαθμού. Περιλαμβάνει τη δυσπλασία μετρίου βαθμού CIN2, τη σοβαρή δυσπλασία CIN3 και το καρκίνωμα in situ (carcinoma in situ - cis). Απαιτείται στη συνέχεια κολποσκόπηση, η οποία σπανίως οδηγεί σε ευρήματα LSIL, με σημαντικό το ποσοστό εμφάνισης διηθητικού καρκίνου όπως φαίνεται στο ακόλουθο διάγραμμα.
6. Καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων.

7. Καρκίνωμα εξ αδενικών κυττάρων.
8. Άλλα κακοήθη νεοπλάσματα [2,46,48].

Η παραπάνω ταξινόμηση χρησιμοποιήθηκε από το 1988 έως και το 2001. Από το 2001 βρίσκεται σε χρήση το αναθεωρημένο σύστημα Bethesda, σύμφωνα με το οποίο:

Α. Οι κατηγορίες 1 και 2 συνενώθηκαν σε μια κατηγορία, «αρνητικά για ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση ή κακοήθεια». Με τον τρόπο αυτό οι αντιδραστικές μεταβολές χαρακτηρίζονται πιο καθαρά ως «αρνητικές».

Β. Οι αλλοιώσεις ASCUS που είχαν προκαλέσει διλήμματα αναφορικά με την αντιμετώπιση τους διαχωρίστηκαν σε δύο κατηγορίες: ASCUS-καλοήθεις αλλοιώσεις και ASC-H (atypical squamous cells with possible HSIL) ή «άτυπα πλακώδη κύτταρα που δεν αποκλείουν την ύπαρξη υψηλού βαθμού πλακώδους ενδοεπιθηλιακής βλάβης». Τα κύτταρα δεν είναι φυσιολογικά αλλά ο κυτταρολόγος δεν είναι σίγουρος για την βαρύτητα της βλάβης. Το ASC-H έχει μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι προκαρκινική κατάσταση [49,50]. Η αναθεωρημένη λοιπόν κατηγοριοποίηση έχει ως εξής:

I. Αποτέλεσμα αρνητικό για ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση ή κακοήθεια: Οργανισμοί, αντιδραστικές κυτταρικές αλλοιώσεις, κυλινδρικά κύτταρα, ατροφία,
II. Επιθηλιακές κυτταρικές ανωμαλίες:
    i. Πλακώδη κύτταρα: άτυπα πλακώδη κύτταρα απροσδιόριστης σημασίας (ASCUS), άτυπα πλακώδη κύτταρα με κίνδυνο να υποκρύπτεται υψηλόβαθμη πλακώδης αλλοίωση (ASC-H), πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση χαμηλού βαθμού (LSIL) και υψηλού βαθμού (HSIL), καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων,
    ii. Αδενικά κύτταρα: άτυπα αδενικά κύτταρα (AGS), άτυπα αδενικά κύτταρα μάλλον νεοπλασματικά, ενδοτραχηλικό αδενοκαρκίνωμα in situ, αδενοκαρκίνωμα,
III. Άλλο [50].

Ο συσχετισμός της ταξινόμησης κατά Bethesda, σε σχέση με τα υπόλοιπά συστήματα ταξινόμησης παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα.

Σύστημα ταξινόμησης	Εντός φυσιολ. ορίων	Καλοήθεις κυτταρικές αλλαγές	Μη φυσιολογικές κυτταρικές αλλοιώσεις				
Κατά Bethesda	Φλεγμονή Αντίδραση Επανόρθωση		ASCUS AGUS	LGSIL HPV	HGSIL		Διηθητικό καρκίνωμα
Κατά Reagan *και συνεργ.*				Ελαφρά δυσπλασία	Μέτρια δυσπλασία	Σοβαρά Δυσπλασία Ca in situ	
Κατά Richart				CIN I	CIN II	CIN III	
Κατά Παπανικολάου	Κατ. I	Κατ. II		Κατ. III		Κατ. IV	Κατ. V

Πίνακας 3: Συσχετισμός συστημάτων ταξινόμησης αποτελεσμάτων pap test [51]

Είναι βασικό να αναφερθεί πως η αποτελεσματικότητα του PAP test δεν είναι καθολική, όπως συμβαίνει άλλωστε σε κάθε ιατρική εξέταση. Μια τέτοια περίπτωση αναποτελεσματικότητας μπορεί να οφείλεται:

- στο μέγεθος (διαμέτρου< 0.5cm) και στη θέση (ψηλά στον ενδοτραχηλικό σωλήνα) των CIN αλλοιώσεων,
- στην ανεπιτυχή λήψη δείγματος και
- στην υποκειμενικότητα του εξεταστή [2].

Για αυτούς τους λόγους καθίσταται αναγκαία η χρήση συμπληρωματικών τεχνικών αλλά και ο τακτικός έλεγχος που θα ελαχιστοποιήσει το ενδεχόμενο λανθασμένων αποτελεσμάτων. Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφεται η αντιστοιχία αποτελέσματος και διαδικασίας περαιτέρω ελέγχου όσον αφορά ένα pap test και τα αποτελέσματά του.

Αποτέλεσμα τεστ Παπανικολάου	*Περαιτέρω έλεγχος – θεραπεία*
ASC-US	Κολποσκόπηση (αν χρειάζεται και βιοψία)
ASC-H	Κολποσκόπηση και βιοψία
AGC	Κολποσκόπηση και βιοψία και ενδοτραχηλική διαγνωστική απόξεση
AIS	Κολποσκόπηση και βιοψία και ενδοτραχηλική διαγνωστική απόξεση
LSIL ή CIN1 ή ήπια δυσπλασία	Κολποσκόπηση και βιοψία
HSIL ή CIN2 ή CIN3 ή μέτρια ή βαριά δυσπλασία ή καρκίνωμα in situ	Κολποσκόπηση και βιοψία ή/και ενδοτραχηλική διαγνωστική απόξεση. Θεραπεία με Laser ή LEEP ή κωνοειδή εκτομή.

Πίνακας 4: Αντιστοιχία αποτελεσμάτων pap test και περαιτέρω ελέγχου – θεραπείας [49]

2.2 Νέες τεχνικές ανίχνευσης καρκίνου τραχήλου μήτρας

2.2.1 HPV DNA test

Η ανάλυση του DNA «έρχεται» να καλύψει τις αδυναμίες των άλλων διαγνωστικών tests και βασίζεται στις μοριακές τεχνολογίες που είναι δυνατό να ανιχνεύσουν το DNA του ιού σε δείγματα κυττάρων από την περιοχή του τραχήλου. Οι μοριακές τεχνολογίες με τη σειρά τους μπορούν να διαιρεθούν σε αυτές που δεν υφίστανται καμία ενίσχυση (όπως τα τεστ ανίχνευσης νουκλεϊκών οξέων) και σε αυτές που εκμεταλλεύονται τη διαδικασία της ενίσχυσης όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR - polymerase chain reaction). Οι τεχνικές πολλαπλασιασμού / ενίσχυσης μπορούν να διαιρεθούν περαιτέρω σε τρεις επιμέρους κατηγορίες, την ενίσχυση στόχου, σήματος και ιχνηθέτη (target, signal and probe amplification). Ζητούμενο επίσης αποτελεί εκτός από τον προσδιορισμό της παρουσίας του ιού και ο ακριβής προσδιορισμός του τύπου του ιού, αφού κάθε τύπος έχει διαφορετικό ογκογενετικό δυναμικό [52].

Ένα βασικό πρόβλημα της HPV DNA εξέτασης, παρά το γεγονός της υψηλής της ευαισθησίας είναι η χαμηλή ειδικότητά της, με χαρακτηριστική την περίπτωση θετικής HPV DNA και αρνητικής κυτταρολογικής εξέτασης. Σχετική μελέτη, επισήμανε τον αυξημένο κίνδυνο στις συγκεκριμένες περιπτώσεις, με το 15% από 2000 γυναίκες να αναπτύσσουν τραχηλική αλλοίωση υψηλού βαθμού εντός πέντε ετών [2], καθιστώντας έτσι τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα άξια περαιτέρω προσοχής.

Εντούτοις, η χρήση της HPV DNA εξέτασης δεν περιορίζεται μόνο στην ανίχνευση του καρκίνου του τραχήλου στα πλαίσια προληπτικού ελέγχου αλλά και ως βοηθητικό μέσο της κυτταρολογίας καθώς και ως μέθοδος παρακολούθησης μετά από θεραπεία [53], έτσι ώστε να αποφευχθεί το ενδεχόμενο υποτροπής, ένα ενδεχόμενο αυξημένης πιθανότητας αν ληφθεί υπόψη πως το 5 - 19% των περιπτώσεων που διαγνώστηκαν με CIN II ή III και θεραπεύτηκαν με χειρουργική επέμβαση, τελικά υποτροπίασαν [54].

2.2.1.1 Τεχνικές πολλαπλασιασμού σήματος

Στην ομάδα των τεχνικών πολλαπλασιασμού – ενίσχυσης σήματος για την ανίχνευση του ιού HPV ανήκει η τεχνική Hybrid Capture (HC) η οποία είναι και η ευρύτερα διαδεδομένη. Έχει αναπτυχθεί από την Digene Corporation και στοχεύει στην ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων, με την ενίσχυση σήματος να βελτιώνει την ευαισθησία της μεθόδου. Υφίστανται δύο διαφορετικά προϊόντα, το πρώτης γενιάς Hybrid Capture Tube (HCT) test και το πιο πρόσφατο Hybrid Capture II (HCII), ενώ και τα δύο ανιχνεύουν τύπους υψηλού κινδύνου. Αναλυτικότερα, το HCT test που εγκρίθηκε από την US FDA το Μάιο του 1995, ανιχνεύει τους τύπους 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 και 56, ενώ το δεύτερης γενιάς HC II πήρε την έγκριση το Μάρτιο του 1999 και εμπλούτισε την ομάδα των προς ανίχνευση τύπων με τους 39, 58, 59, and 68. Το επίπεδο ανιχνευσιμότητας ανέρχεται σε 5,000 αντίγραφα ιού ανά δείγμα ή σε ένα πικογραμμάριο ανά δείγμα (σε αντίθεση με την πρώτη γενιά που ανιχνεύει 10 πικογραμμάρια ανά δείγμα) [52].

Η ευαισθησία του HC II test για το εύρος ηλικιών 30-35, ανέρχεται σε 80-90% και η ειδικότητα σε 57-89% [55]. Όσον αφορά στην ανίχνευση περιστατικών HSIL, σχετική μελέτη κατέδειξε ειδικότητα της τάξης του 88.4%, ενώ σε περίπτωση εξέτασης διαφορετικών ηλικιακών ομάδων (18 - 30, 31 - 40, >41), η ειδικότητα ήταν υψηλότερη (94%) στην περίπτωση των μεγαλύτερων σε ηλικία γυναικών. Συγκριτικά με το συμβατικό pap test, το HC II test επιδεικνύει υψηλότερη ευαισθησία (88.4 έναντι 77.7%) στην περίπτωση των HSIL, αλλά χαμηλότερη ειδικότητα (89 έναντι 94%) [52].

Σε μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 1400 γυναικών από την Νότια Αφρική με ηλικίες από 35 έως 65, το HC II test επέδειξε ευαισθησία 66.1% για τις περιπτώσεις HSIL και καρκίνου δίνοντας 17,1% ψευδώς θετικά αποτελέσματα όταν τα δείγματα συλλέχθηκαν από τις εξεταζόμενες, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 83,9% και 15,5% όταν η συλλογή έγινε από επαγγελματίες. Τα ίδια ποσοστά για το pap test ήταν 60.7% και 3.2% αντίστοιχα, για την περίπτωση όμως περιστατικών LSIL [56].

2.2.1.2 Τεχνικές πολλαπλασιασμού στόχου

Οι τεχνικές πολλαπλασιασμού στόχου βασίζονται σε μια εργαστηριακή διαδικασία κατά την οποία αντιγράφονται τμήματα της ακολουθίας DNA ενός γονιδίου στόχου, παρέχοντας έτσι συγκεντρωμένα δείγματα συγκεκριμένης γενετικής ακολουθίας. Υπάρχουν διάφορες τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται με βάση αυτή την τεχνική, με την PCR να είναι η περισσότερο εφαρμόσιμη όσον αφορά στην ανίχνευση του ιού HPV. Βασικό της μειονέκτημα είναι ότι δεν ενδείκνυται για την εφαρμογή της σε προγράμματα προληπτικού ελέγχου ευρείας κλίμακας εξαιτίας του αυξημένου της κόστους, ενώ το βασικό της πλεονέκτημα έγκειται στη δυνατότητά της να ανιχνεύσει ακόμα και πολύ μικρές ποσότητες του ιού. Η υλοποίηση της τεχνικής περιλαμβάνει τρία διακριτά στάδια, όπως φαίνεται στο ακόλουθο διάγραμμα [57].

Διάγραμμα 5: Στάδια υλοποίησης τεχνικής PCR

Ένα test που χρησιμοποιεί τη συγκεκριμένη μέθοδο και κυκλοφορεί ευρέως στο εμπόριο είναι το LINEAR ARRAY HPV Genotyping PCR Test (Roche Diagnostics), το οποίο χρησιμοποιεί την ενίσχυση του DNA στόχου με PCR και υβριδισμό νουκλεϊκού οξέος για την ανίχνευση και ταυτοποίηση τριάντα επτά γονότυπων HPV (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 (MM9), 81, 82 (MM4), 83 (MM7), 84 (MM*), IS39 και CP108) σε κύτταρα τραχήλου, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται ασφαλώς οι 13 γονότυποι υψηλού κινδύνου (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 και 68) [58].

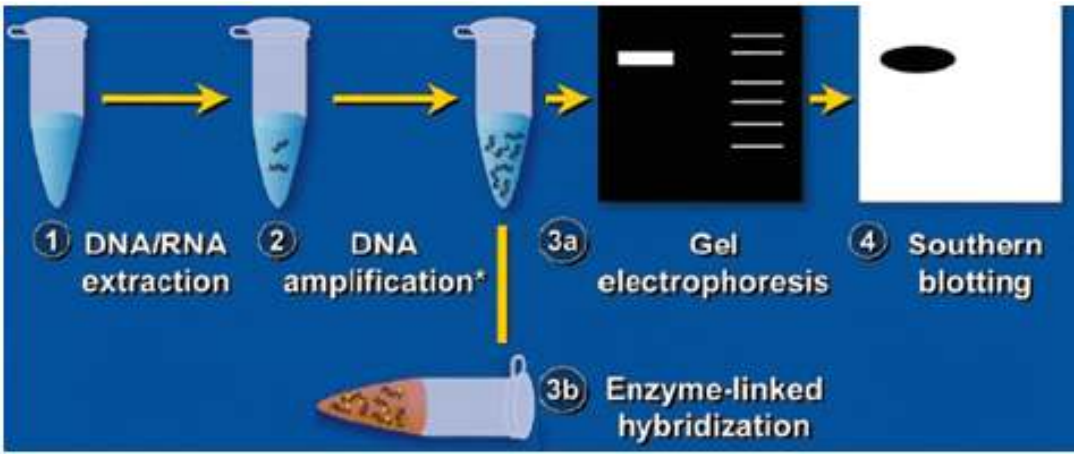
2.2.1.3 Τεχνικές μη πολλαπλασιασμού

Οι τεχνικές μη πολλαπλασιασμού βασίζονται σε μοριακές διαγνωστικές μεθόδους, συμπεριλαμβάνοντας τεχνικές υβριδισμού όπως οι Southern blot, dot blot και in situ. Πολλαπλοί παράγοντες εμποδίζουν την ενσωμάτωση αυτών των μεθοδολογιών σε προγράμματα μαζικού προληπτικού ελέγχου, όπως η χαμηλή τους ευαισθησία, η απαίτηση χρόνου για την υλοποίησή τους, ειδικά εκπαιδευμένων τεχνικών αλλά και υψηλής τεχνολογίας και επομένως κόστους εξοπλισμού.

Υβριδισμός Southern blot

Πρόκειται για μια τεχνική η οποία χρησιμοποιείται γενικά για την κατηγοριοποίηση νεοταυτοποιημένων τύπων [59]. Βασικό της μειονέκτημα είναι η απαίτηση ενός εξειδικευμένου εργαστηριακού περιβάλλοντος για την υλοποίησή της, κατά την οποία το γονιδίωμα του ιού HPV εξάγεται από ένα δείγμα και η αλυσίδα του DNA «σπάει» με τη χρήση ενζύμων. Το προϊόν στη συνέχεια συνενώνεται με τη μορφή ενός gel το οποίο τροφοδοτείται με ηλεκτρικό ρεύμα, μια διαδικασία που ονομάζεται ηλεκτροφόρηση (electrophoresis) και που έχει ως συνέπεια το διαχωρισμό της ακολουθίας DNA σε διαφορετικά τμήματα, που οδηγούνται με τη σειρά τους σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης και διασταυρώνονται με κλωνοποιημένους ιχνηθέτες του HPV γονιδιώματος. Οι ιχνηθέτες αναγνωρίζονται μέσω ραδιοϊσοτόπων, αναγνώριση η οποία συνεπάγεται την παρουσία του ιού στο δεδομένο δείγμα [52].

Η ευαισθησία της μεθόδου κυμαίνεται μεταξύ 0,1-0,01 αντιγράφων ιϊκού γονιδιώματος ανά κύτταρο και απαιτεί ποσότητα ολικού κυτταρικού DNA της τάξεως των 10ng [60].



Εικόνα 8: Στάδια υλοποίησης τεχνικής Southern Blot [61]

Υβριδισμός dot blot

Η τεχνική υβριδισμού Dot blot απαιτεί μια απλούστερη, εργαστηριακή επίσης διαδικασία, δεν προτιμάται όμως εξαιτίας της χαμηλής της ευαισθησίας [62]. Για την υλοποίηση της μεθόδου το κυτταρικό DNA απομονώνεται και τοποθετείται με τη βοήθεια μικρής συσκευής στη μεμβράνη της νιτροκυτταρίνης χωρίς να έχει προηγηθεί πέψη και διαχωρισμός με ηλεκτροφόρηση. Στη συνέχεια το DNA αποδιατάσσεται και ακολουθεί ο υβριδισμός με τη χρήση μίγματος DNA ανιχνευτών. Η ευαισθησία της μεθόδου αντιστοιχεί σε 1 αντίγραφο ϊκού γονιδιώματος ανά κύτταρο, ενώ η ποσότητα του ολικού DNA πρέπει να είναι γύρω στα 500ngr [60].

Υβριδισμός in situ

Συμπεριλαμβάνει τεχνικές διασταύρωσης άθικτου DNA και μολυσμένων κυττάρων, η οποία λαμβάνει χώρα στη γυάλινη επιφάνεια ενός μικροσκοπίου. Μετά την επανεπεξεργασία του δείγματος για την απομάκρυνση των κυτταρικών συστατικών που δεν ανήκουν στο DNA στόχο, το δείγμα θερμαίνεται για την αποδόμηση του DNA. Εφαρμόζονται ιχνηθέτες οι οποίοι εμποδίζουν την κίνηση του HPV DNA εφόσον αυτό είναι παρόν. Στη συνέχεια εισάγονται αντισώματα στους ιχνηθέτες και προστίθενται ένζυμα που σχηματίζουν ένα είδος κηλίδας εφόσον υφίσταται ο ιός. Στην εμπορική της μορφή η συγκεκριμένη τεχνική έχει αναπτυχθεί από την Kreatech Biotechnology B.V., σε

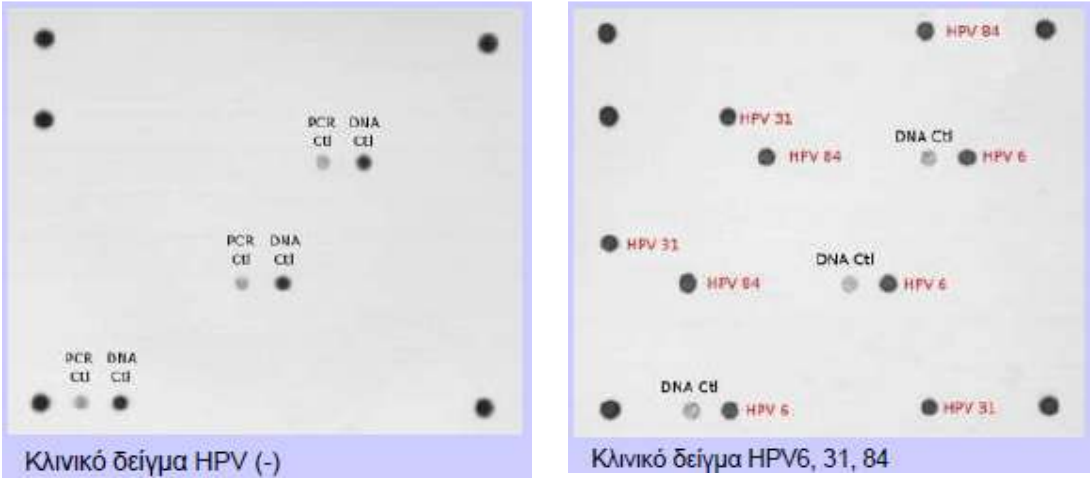
ερευνητικό όμως επίπεδο (απαιτεί 4-5 ώρες για την ολοκλήρωσή της και ανιχνεύει τους τύπους 1, 2, 6, 11, 16, 18, 31 και 33) [52].

2.2.1.4 Χρήση DNA μικροσυστοιχιών

Πρόκειται για μια σχετικά νέα τεχνική (εμπορικά είναι διαθέσιμη από το 2006 [63]) η οποία βασίζεται στο συνδυασμό τεχνικών μοριακής ανίχνευσης και μικροσυστοιχιών πυριτίου, κατασκευασμένων με τεχνολογία ανάλογης αυτής των ηλεκτρονικών υπολογιστών. Η επιφάνεια του chip καλύπτεται συχνά με μια πολύ λεπτή στρώση χρυσού, στην οποία προσαρμόζονται κατάλληλοι ιχνηθέτες, σχηματίζοντας έτσι μια διάταξη που ονομάζεται μικροσυστοιχία. Καθένας από τους χρησιμοποιούμενους ιχνηθέτες διαφέρει ελάχιστα από τον άλλον, ανάλογα με τον υβριδισμό για τον οποίο έχει σχεδιαστεί. Τα στάδια της διαδικασίας για την ανίχνευση του ιού HPV έχει ως εξής:

- το προς ανάλυση δείγμα κυττάρων του τραχήλου της μήτρας προετοιμάζεται για ανάλυση μικροσυστοιχίας και τοποθετείται στην επιφάνεια του chip,
- εισάγονται εκκινητές που συγκρατούν τη γενετική ακολουθία στόχου, με τη συνοχή αυτή να μετράται με ειδικό όργανο,
- στην περίπτωση που η συγκεκριμένη συνοχή ανιχνευθεί πάνω από κάποιο επίπεδο το δείγμα θεωρείται θετικό [52].

Ουσιαστικά χρησιμοποιεί μια υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας PCR υβριδοποιημένη με την τεχνολογία των μικροσυστοιχιών, με την αντίδραση όμως να λαμβάνει χώρα στην επιφάνεια ειδικού chip. Τα βασικά της πλεονεκτήματα είναι η υψηλή διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα (98,2 και 100% αντίστοιχα), το σύντομο χρονικό διάστημα των αποτελεσμάτων (48h), η δυνατότητα διαχωρισμού σε πολλαπλή και μονή λοίμωξη αλλά και η δυνατότητα εφαρμογής της σε περιβάλλον νοσοκομειακού εργαστηρίου [63].



Εικόνα 9: Τυπικά αποτελέσματα εφαρμογής τεχνικής ανίχνευσης DNA μικροσυστοιχιών [63]

2.2.2 mRNA test

Η συγκεκριμένη εξέταση βασίζεται στο γεγονός ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας έχει συνδεθεί με την έκφραση των ογκογονιδίων E6/E7 [64] και επομένως με την ανίχνευση του m-RNA μετεγγράφου (transcript).

. Η ανίχνευση αυτής της έκφρασης γίνεται είτε μέσω της τεχνολογίας NASBA είτε μέσω τεχνικών Real Time-PCR.

Τεχνολογία NASBA

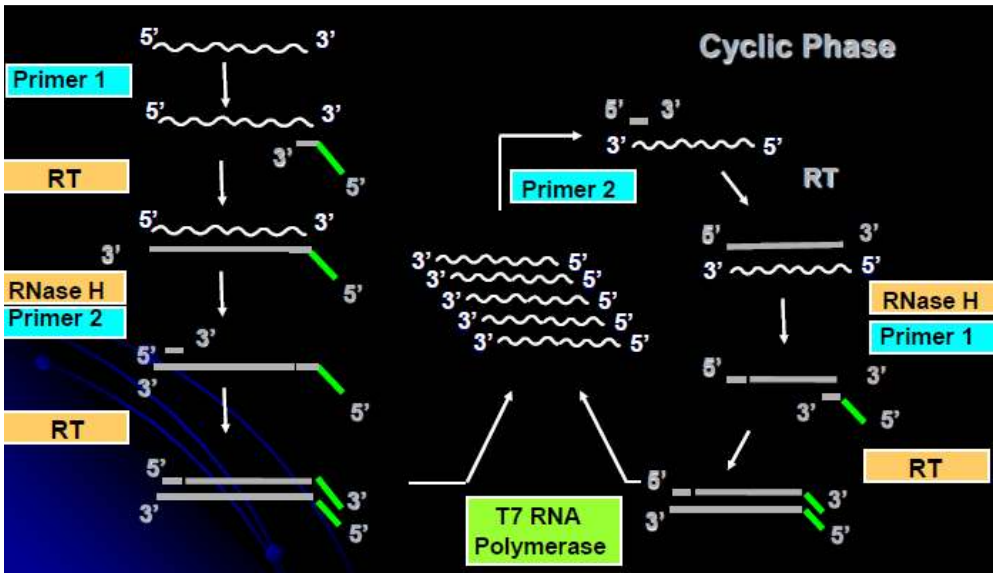
Στην πρώτη περίπτωση, αυτή της τεχνολογίας NASBA (nucleic acid sequence-based amplification) χρησιμοποιούνται εκκινητές (primers) ανάλογα με τον προς ανίχνευση τύπο του ιού, σε μια ενζυματική αντίδραση στους 41°C. Το προϊόν της αντίδρασης οπτικοποιείται μέσω ανάλυσης Northern blot και ενός ειδικού ιχνηθέτη (ολιγονουκλεοτίδιο) ή ενός μη ραδιοενεργού ενζύμου (ELGA - enzyme-linked gel assay).

Η διαδικασία, που περιγράφεται στην ακόλουθη εικόνα, ξεκινά μέσω κατάλληλου εκκινητή (P1), ακολουθεί αντίστροφη μεταγραφή του τμήματος της RNA πολυμεράσης που εμπεριέχεται στον εκκινητή μέσω της AMV (avian myeloblastosis virus) και υδρόλυση της ακολουθίας στόχου RNA από την RNase H. Στη συνέχεια ενεργοποιείται ο εκκινητής (P2) ο οποίος προστίθεται στην ακολουθία στόχου RNA και με υποκινητή την T7 RNA

πολυμεράση παράγονται αντίστροφα μονόκλωνα μετάγραφα του αρχικού στόχου, έτσι ώστε ο κύκλος της διαδικασίας να επανεκκινηθεί, με την κατεύθυνση προς τη διακλάδωση αντιγραφής να δηλώνεται από τα αντίστοιχα βέλη [65].

Το τελικό ζητούμενο είναι μετά την προαναφερθείσα ενίσχυση μέσω των πολλαπλών αντιγραφών να προκύψει ένα σήμα παραγόμενου φθορισμού, η ανίχνευση του οποίου θα συνεπάγεται και την ύπαρξη του ιού.

Σήμερα, το διαθέσιμο εμπορικά κιτ ανίχνευσης με τη μέθοδο NASBA είναι το Nuclisens HPV της εταιρίας Biomerieux [66]. Οι τύποι του ιού που ανιχνεύονται με τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι οι 16,18, 31, 33 και 45, οι οποίοι ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου [64], με ζητούμενο ασφαλώς την επέκταση της μεθόδου και σε άλλους τύπους, χωρίς όμως απώλειες στην ευαισθησία και στην ειδικότητα της εξέτασης.



Εικόνα 10: Κυκλική φάση τεχνολογίας NASBA [64]

Τεχνική RT-PCR

Η τεχνική Real Time PCR, είναι απλούστερη διαδικασία σχετικά με τη συμβατική PCR, εξαιτίας της χρήσης φθοριζόντων μορίων, με αποτέλεσμα να είναι εφικτή η οπτική ανίχνευση του προϊόντος της αντίδρασης. Ο φθορισμός μάλιστα που παράγεται σε κάθε κύκλο είναι ανάλογος του πληθυσμού των παραγόμενων αλληλουχιών σε κάθε θερμοδυναμικό κύκλο, ενώ η αρχική αύξηση της ποσότητας του PCR προϊόντος (CT - threshold cycle) συσχετίζεται άμεσα με την αρχική ποσότητα του νουκλεϊκού οξέος που

υπάρχει στο προς εξέταση δείγμα. Οι μέθοδοι με τις οποίες μπορεί να υλοποιηθεί η συγκεκριμένη τεχνική είναι:

- οι ιχνηθέτες υβριδισμού-υδρόλυσης (TaqMan),
- οι ιχνηθέτες υβριδισμού (adjacent probes, Beacons, Scorpions) και
- οι παράγοντες που προσδένονται σε δίκλωνο DNA (SYBR Green) [67].

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφεται η σχέση ανάμεσα στους ανιχνευόμενους τύπους και στην τεχνική ανίχνευσης, έτσι όπως έχει καταγραφεί σε διάφορες μελέτες, στη μετα –ανάλυση των K.Cuschieri και N. Wentzensen (2008) [68].

Author	Detection method	HPV type detection range
Stoler, 1992 (18)	*In situ* hybridization with Riboprobes	16 and 18
Smits, 1995 (29)	NASBA with E6/E7-specific primers	16
Rose, 1995 (27)	Qualitative E6/E7 RT-PCR	16
Nakagawa, 2000 (26)	Qualitative consensus RT-PCR	16, 18, 31, 33, 35, 51, 52, 56, 58, and 59
Wang-Johanning, 2001 (31)	Quantitative E6/E7 RT-PCR with FRET probes	16
Lamarcq, 2002 (25)	Quantitative E7 RT-PCR with TaqMan probes	16 and 18
Sotlar, 2004 (30)	Qualitative nested E6/E7 RT-PCR with type-specific primers	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, and 68
Scheurer, 2005 (28)	Quantitative E7 RT-PCR with SYBR Green	16 and 18

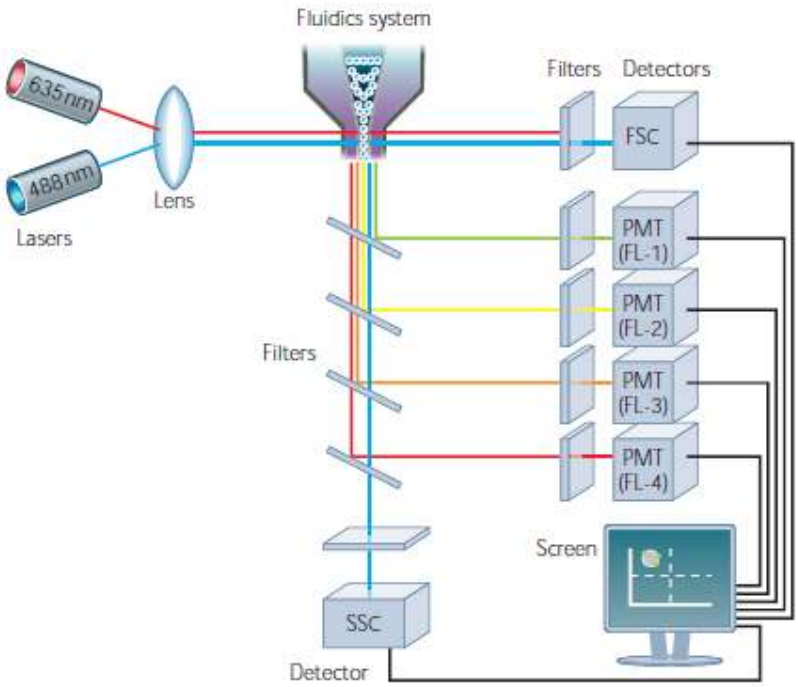
Πίνακας 5: Συσχετισμός τύπων και τεχνικών ανίχνευσης [68]

2.2.2.1 Flow Cytometry

Η κυτταρομετρία ροής αποτελεί μια διαδικασία μέτρησης η οποία εκμεταλλευόμενη τα φυσικά φαινόμενα υδροδυναμικής, σκέδασης και φθορισμού μπορεί να παρέχει συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με τη φυσική και χημική δομή ενός σωματιδίου. Μια τέτοια διάταξη παρουσιάζεται στην ακόλουθη εικόνα και η λειτουργία της μπορεί να συνοψιστεί στα εξής:

Δέσμη laser συγκεκριμένου μήκους κύματος «οδηγείται» μέσω κατάλληλου φακού και μιας υδροδυναμικά συγκλίνουσας ροής υγρού. Τα σωματίδια που αιωρούνται μέσα στο υγρό και έχουν μέγεθος 0,2-150 nm σκεδάζουν το φως προς μία κατεύθυνση ενώ σε μια άλλη κατεύθυνση συγκεντρώνεται η φθορίζουσα ακτινοβολία, με το μήκος κύματος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας από την ουσία που διεγείρεται να είναι διαφορετικό από αυτό της πηγής. Ειδικότερα στην περίπτωση της σκέδασης, η σκεδαζόμενη ακτινοβολία χωρίζεται στην εμπρόσθια (FSC - forward scatter channel) και στην πλάγια (SCC - side scatter channel), παρέχοντας πληροφορίες για τον όγκο και την εσωτερική δομή του

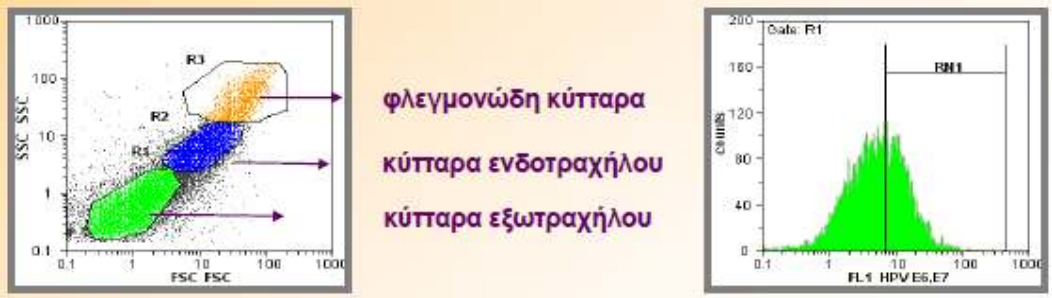
σωματιδίου αντίστοιχα. Η συλλογή της ακτινοβολίας και στις δύο κατευθύνσεις γίνεται μέσω κατάλληλων φίλτρων, ανιχνευτών και ενισχυτών του φωτεινού σήματος (PMTs - photomultiplier tubes), οδηγούμενη σε ηλεκτρονικό υπολογιστή για την επεξεργασία των δεδομένων [69,70].



Εικόνα 11: Διάταξη κυτταρομετρίας ροής [69]

Η χρήση της συγκεκριμένης τεχνικής γίνεται εκμεταλλεύσιμη στη μέτρηση της έκφρασης των ογκογονιδίων E6/E7 και επομένως με την ανίχνευση του m-RNA μετεγγράφου, ως μια εναλλακτική των προαναφερόμενων μεθόδων εξέτασης PCR και RT-PCR.

Σχετικές μάλιστα μελέτες, έχουν αναδείξει την αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης εξέτασης εφόσον συνδυαστεί με το PAP και το HPV DNA test. Η εμπορική μορφή της συγκεκριμένης εξέτασης έχει την ονομασία HPV Oncotect της εταιρίας InCellDX και η θετικοποίησή της συνεπάγεται τη μέτρηση συγκέντρωσης φθοριζόντων κυττάρων σε ποσοστό μεγαλύτερο του 1,5% [45]. Στην ακόλουθη εικόνα παρουσιάζεται παράδειγμα εκτέλεσης της συγκεκριμένης εξέτασης, στην οποία έχει ανιχνευθεί ποσοστό φθοριζόντων κυττάρων της τάξης του 23% και επομένως θετική υπερέκφραση m-RNA E6/E7 και θετική διάγνωση περιστατικού LSIL [71].



Εικόνα 12: Παράδειγμα αποτελεσμάτων Oncotest [71]

2.2.3 p16 test

Ο ιός HPV στοχεύει σε έναν αριθμό νουκλεϊκών οξέων και πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση της πρωτεΐνης ρετινοβλαστώματος pRb και των σχετικών γονιδίων ογκοκαταστολής. Τον επιβλαβή αυτό «ρόλο» αναλαμβάνει η πρωτεΐνη E7 με αποτέλεσμα να επιτρέπεται ο σχηματισμός νεοπλασιών εξαιτίας της παρουσίας του ιού HPV, ενώ παράλληλη εξέλιξη αποτελεί η υπερέκφραση της πρωτεΐνης $p^{16INK4a}$ [72].

Αυτή ακριβώς η υπερέκφραση είναι που υποδεικνύει την εξέλιξη των προκαρκινικών αλλοιώσεων και το αποτέλεσμα του διεξαγόμενου test, με την περίπτωση της ανίχνευσης υπερέκφρασης της πρωτεΐνης $p^{16INK4a}$ να καταδεικνύει ταυτόχρονα και θετικό αποτέλεσμα, ενώ σε αντίθετη περίπτωση θεωρείται ότι το αποτέλεσμα είναι αρνητικό.

Το $p16^{INK4a}$ είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο, η αυξημένη συγκέντρωση του οποίου συνδέεται με διαταραχή του κυτταρικού κύκλου (φάση G1-S) μέσω της ογκοπρωτεΐνης E7. Αναλυτικότερα, το γονίδιο p16 αποτρέπει τη σύνδεση των πρωτεϊνών cyclin-dependent kinases (CDKs) με τις κυκλίνες (cyclins), εμποδίζοντας έτσι την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου στις επόμενες φάσεις του και επομένως την επέκταση του όγκου. Η συγκεκριμένη ιδιότητα του γονιδίου «οδήγησε» στο συνδυασμό της ανίχνευσης του συγκεκριμένου βιοδείκτη με τύπους HPV υψηλού κινδύνου [73].

Η χρήση του από τον κλάδο ανοσοϊστοχημείας έχει ως στόχο τη μείωση των ψευδώς αρνητικών αλλά και θετικών αποτελεσμάτων έτσι ώστε να επιλέγεται κάθε φορά η κατάλληλη θεραπεία και στο βαθμό που αυτή είναι αποτελεσματική για την εκάστοτε

ασθενή. Σε σχετική μελέτη (American Journal of Clinical Pathology, March 2010) η αναζήτηση του συγκεκριμένου δείκτη σε 500 δείγματα οδήγησε σε μείωση των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων κατά 50% αλλά και βελτίωση της ευαισθησίας κατά 13%, με τα συμπεράσματα να αφορούν περιστατικά HSIL [74].

Ενδεικτικά είναι τα αποτελέσματα του ακόλουθου πίνακα, σχετικά με τη σχέση του γονιδίου p16 και των περιστατικών εμφάνισης του ιού HPV, τόσο κατά τη διαδικασία διάγνωσης όσο και κατά το follow-up των ασθενών (η μελέτη αφορά 200 κολποτραχηλικά δείγματα και πραγματοποιήθηκε στο κυτταρολογικό εργαστήριο του νοσοκομείου ΙΑΣΩ κατά την περίοδο 2006-07).

Διάγνωση	N=200	Έκφραση της L1		Έκφραση του p16 INKA 4a	
		Θετική	Αρνητική	Θετική	Αρνητική
Αρνητικό	30	1	29	-	30
ASC-US	14	-	14	3	11
LGSIL	137	54	83	56	81
HGSIL	9	1	8	9	-
Μάρτυρες	10	-	-	-	-

Α. Σε σχέση με τη διάγνωση

N=30	1η εξέταση p16(+)	1η εξέταση p16(-)	2η εξέταση p16(+)	2η εξέταση p16(-)	3η εξέταση p16(+)	3η εξέταση p16(-)	4η εξέταση p16(+)	4η εξέταση p16(-)	Πορεία της HPV λοίμωξης
18	5	13	3	15	-	18	-	18	Υποστροφή
7	4	3	3	4	5	2	3	4	Επιμένουσα
5	3	2	4	1	5	-	5	-	Εξέλιξη

Β. Κατά το follow-up

Πίνακας 6: Έκφραση του γονιδίου p16 κατά τη διάγνωση και το follow up ασθενών με HPV λοίμωξη [72]

2.2.4 Πολικός δείκτης (Polarprobe)

Πρόκειται για μια νέα ηλεκτρονική μέθοδο αναγνώρισης προκαρκινικών και καρκινικών αλλοιώσεων του τραχηλικού επιθηλίου η οποία αναπτύχθηκε από την Polartechnics Ltd, (Sydney, Australia) και η οποία βασίζεται στη διαφορετική αντίδραση του παθολογικού από το φυσιολογικό επιθήλιο σε φωτεινά και ηλεκτρικά ερεθίσματα. Κατά την υλοποίησή της χρησιμοποιείται μητροσκόπιο και ένας ειδικός «δείκτης» (με τη

μορφή στυλό, μήκους 25 cm με άκρη 5 mm) έρχεται σε επαφή με τον τράχηλο, προκαλώντας τα συγκεκριμένα ερεθίσματα (ακτινοβολία διαφορετικών μήκων κύματος υπό χαμηλή τάση). Η ανταπόκριση των επιθηλιακών κυττάρων καταγράφεται και επεξεργάζεται μέσω ειδικού λογισμικού και ανάλογα με τις καμπύλες που προκύπτουν συμπεραίνεται η ύπαρξη του ιού.

Στα πλεονεκτήματα της συγκεκριμένης τεχνικής συμπεριλαμβάνονται το σύντομο χρονικό διάστημα διεξαγωγής της διαδικασίας και εξαγωγής των αποτελεσμάτων, αλλά επίσης και το γεγονός ότι μπορεί να διεξαχθεί από εκπαιδευμένο σε σύντομο χρονικό διάστημα προσωπικό.

Σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την εγκυρότητα της διαδικασίας, σχετικές συγκρίσεις κατέδειξαν συμφωνία μεταξύ των κυτταρολογικών/κολποσκοπικών ευρημάτων και των αποτελεσμάτων του πολικού δείκτη σε ποσοστό 85% για χαμηλού βαθμού βλάβες, 90% για CIN II-III και 99% για διηθητικό καρκίνο [75], καθώς και ευαισθησία 97% και εξειδίκευση 94% στην αναγνώριση του διηθητικού καρκίνου σε ομάδα εξεταζομένων στη Βραζιλία [76, 77].

2.2.5 Τραχηλογραφία

Κατά τη συγκεκριμένη τεχνική η οποία χρησιμοποιείται ως συμπληρωματική μέθοδος του Pap test για μαζικό έλεγχο ρουτίνας, γίνεται εμβροχή του τραχήλου με διάλυμα οξικού οξέος και ακολουθεί φωτογράφηση της ζώνης μετάπλασης. Στη συνέχεια οι ληφθείσες φωτογραφίες αποστέλλονται σε ειδικό, ο οποίος θα μεγεθύνει, θα αναλύσει και τελικά θα αποφασίσει για περαιτέρω έλεγχο με κολποσκόπηση και βιοψίες.

Σε σχετική μελέτη ενός δείγματος 700 γυναικών συγκρίθηκε η διαγνωστική ακρίβεια κολποσκοπικών, κυτταρολογικών και τραχηλογραφικών ευρημάτων. Σε 296 γυναίκες με ευρήματα κυτταρολογικών δυσπλασιών, 136 διαγνώσθηκαν με απευθείας βιοψία, ενώ ποσοστό 91,1 % κολποσκοπικών και τραχηλογραφικών εξετάσεων έδωσε «ύποπτα» αποτελέσματα, με 2.9% των περιπτώσεων να ανιχνεύεται αποκλειστικά από την τραχηλογραφία και 5,9% αποκλειστικά από την κολποσκοπία. Σε 404 δείγματα ελέγχου ρουτίνας με μη προηγούμενα ευρήματα δυσπλασιών, 9 περιπτώσεις (2,2%) βρέθηκαν μέσω τραχηλογραφίας [78].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

3.1 Βασικά στατιστικά μέτρα απόδοσης τεχνικών ανίχνευσης

Στην παρούσα ενότητα θα επεξηγηθούν συνοπτικά βασικές έννοιες οι οποίες θα χρησιμοποιηθούν εκτενώς στη συνέχεια, σχετικά με την αξιολόγηση των αποδόσεων των διαφόρων τεχνικών ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Οι χρησιμοποιούμενες ως στατιστικά μέτρα απόδοσης έννοιες έχουν ως εξής:

3.1.1 Ευαισθησία και ειδικότητα

Ευαισθησία (sensitivity ή recall rate ή power)
Εκφράζει την ικανότητα του test να αναγνωρίζει σωστά τους ασθενείς. Μετρά δηλαδή το ποσοστό των αληθώς θετικών αποτελεσμάτων του test στο σύνολο των πραγματικών θετικών αποτελεσμάτων (το ποσοστό των πραγματικών ασθενών ανθρώπων που σωστά έχουν προσδιοριστεί από το test ως ασθενείς)

Ειδικότητα (specificity)
Εκφράζει την ικανότητα του τεστ να αναγνωρίζει σωστά εκείνους που δεν είναι ασθενείς. Μετρά δηλαδή το ποσοστό των αληθώς αρνητικών αποτελεσμάτων του test στο σύνολο των πραγματικών αρνητικών αποτελεσμάτων (το ποσοστό των πραγματικά υγιών ανθρώπων που σωστά έχουν προσδιοριστεί από το test ως υγιείς).

Στη βέλτιστη λοιπόν περίπτωση θα είχε επιτευχθεί 100% ευαισθησία (δηλαδή θα είχαν προβλεφθεί όλοι οι άνθρωποι από την ομάδα των ασθενών ως ασθενείς) και 100%

ειδικότητα (δηλαδή θα είχαν προβλεφθεί όλοι οι άνθρωποι από την ομάδα των υγιών ως υγιείς).

Τα δύο αυτά μέτρα, είναι ιδιαίτερα σημαντικά εφόσον πρόκειται για την αξιολόγηση ενός νέου διαγνωστικού test. Έστω λοιπόν ότι ζητούμενο είναι μια τέτοια αξιολόγηση, με την ομάδα στην οποία πρόκειται να γίνει ο προληπτικός έλεγχος να περιλαμβάνει ανθρώπους που μπορεί να έχουν την ασθένεια για την οποία προορίζεται το test αλλά μπορεί και όχι. Ανάλογα με τη σχέση των αποτελεσμάτων του test και της πραγματικής κατάστασης του ατόμου μπορεί να ληφθούν τα εξής αποτελέσματα:

- Αληθώς θετικό (true positive-TP): Ασθενής αναγνωρίστηκε σωστά ως ασθενής.
- Ψευδώς θετικό (false positive-FP): Υγιής αναγνωρίστηκε λανθασμένα ως ασθενής.
- Αληθώς αρνητικό (true negative-TN):Υγιής αναγνωρίστηκε σωστά ως υγιής
- Ψευδώς αρνητικό (false negative-FN): Ασθενής αναγνωρίστηκε λανθασμένα ως υγιής.

Για να γίνει αντιληπτή η μαθηματική σχέση που αποδίδει τα δύο αυτά μέτρα απόδοσης, παρατίθεται ο ακόλουθος πίνακας συσχέτισης του νέου, προς αξιολόγηση test με ένα αντίστοιχο πρότυπο τεστ (gold standard), το καλύτερο τεστ που είναι κατά περίπτωση διαθέσιμο. Η σύγκριση αυτή γίνεται μέσω του ακόλουθου πίνακα

Gold Standard Test	
+	-
a+c (το άθροισμα όλων όσων έχουν την ασθένεια)	b+d (το άθροισμα όλων όσων δεν έχουν την ασθένεια)

		+	-
Νέο Τεστ	+	α (αληθώς θετικά)	b(ψευδώς θετικά)
	-	c (ψευδώς αρνητικά)	d (αληθώς αρνητικά)

Πίνακας 7: Πίνακας συσχέτισης δυαδικού διαγνωστικού test [79]

Οι τύποι που περιγράφουν μαθηματικά τα δύο αυτά μέτρα απόδοσης είναι σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα:

$$Ευαισθησία = \frac{a}{a+c} = \frac{αληθώς\ θετικά}{άθροισμα\ όλων\ όσων\ έχουν\ την\ ασθένεια}$$

$$Ειδικότητα = \frac{d}{b+d} = \frac{αληθώς\ αρνητικά}{άθροισμα\ όλων\ όσων\ δεν\ έχουν\ την\ ασθένεια}$$

Προκύπτει λοιπόν το συμπέρασμα ότι ένα θετικό αποτέλεσμα ενός test με υψηλή ειδικότητα χρησιμοποιείται για να επιβεβαιώσει την ασθένεια. Αντίστοιχα, ένα αρνητικό αποτέλεσμα ενός test με υψηλή ευαισθησία χρησιμοποιείται για να αποκλείσει την ασθένεια [79, 80].

Ειδικά για την περίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, τα προαναφερόμενα αποτελέσματα έχουν την εξής ερμηνεία:

- το ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι κατά την κυτταρολογική εξέταση δεν ανιχνεύθηκαν τα άτυπα κύτταρα τα οποία ήταν παρόντα στο επίχρισμα
- το ψευδώς θετικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι κατά την κυτταρολογική εξέταση ανιχνεύθηκαν κατά λάθος άτυπα κύτταρα στο εξεταζόμενο επίχρισμα χωρίς αυτά να υφίστανται [2].

Μέσω των μέτρων της ειδικότητας και της ευαισθησίας μπορούν να προσδιοριστούν διάφορες πιθανότητες προσδιορισμού απόδοσης όπως οι εξής:

- Πιθανότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων False Positive Rate or Fraction = FPF = α = FP / (FP + TN) = 1 – specificity
- Πιθανότητα ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων False Negative Rate or Fraction = FNF = β = FN / (TP + FN) = 1 – sensitivity = 1 – power
- Πιθανότητα αληθώς θετικών αποτελεσμάτων True Positive Rate or Fraction = TPF = sensitivity = power
- Πιθανότητα αληθώς αρνητικών αποτελεσμάτων True Negative Rate or Fraction = TNF = specificity [2].

3.1.2 Ορθότητα και ακρίβεια

Ορθότητα (accuracy)

Αναφέρεται στη διαφορά μεταξύ του μέσου όρου μιας σειράς μετρήσεων από μία τιμή η οποία είναι αποδεκτή ως η αληθής (true) ή ορθή (correct) τιμή της μετρούμενης ποσότητας. Αποτελεί με άλλα λόγια το βαθμό του πόσο κοντά στις πραγματικές τιμές μιας ποσότητας είναι οι μετρούμενες τιμές της (βαθμός προσέγγισης πραγματικότητας), δείχνοντας ουσιαστικά την ικανότητα του διαγνωστικού test να προβλέπει σωστά την ύπαρξη ασθένειας ή όχι.

Η μαθηματική απόδοση του συγκεκριμένου μέτρου περιγράφεται από τη σχέση [81]

$$Ορθότητα = \frac{\alpha + d}{\alpha + b + c + d} = \frac{αληθώς\ θετικά + αληθώς\ αρνητικά}{άθροισμα\ όλων\ όσων\ εξετάστηκαν}$$

Στην περίπτωση που είναι γνωστή η ευαισθησία και η ειδικότητα του διαγνωστικού test, η ορθότητα μπορεί να υπολογιστεί από τον τύπο [82]

$$Ορθότητα = (ευαισθησία)(επιπολασμός) + (ειδικότητα)(1 - (επιπολασμός))$$

(όπου με τον όρο επιπολασμός ή prevalence αποδίδεται η συχνότητα εμφάνισης της νόσου στον πληθυσμό).

Ακρίβεια (precision)

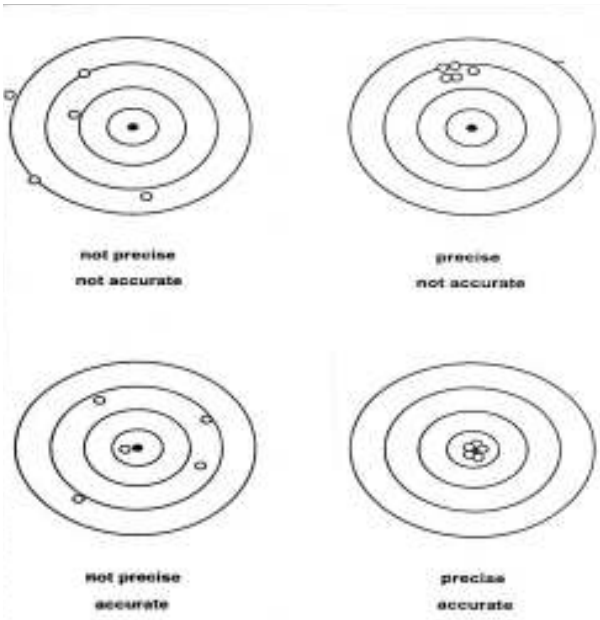
Το συγκεκριμένο μέτρο εκφράζει την προσέγγιση της συμφωνίας μεταξύ των επαναλαμβανομένων αποτελεσμάτων της μεθόδου και το βαθμό στον οποίο επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (υπό τις ίδιες συνθήκες) δίνουν ίδια αποτελέσματα. Μπορεί να περιγραφεί ως η ποσότητα που μετρά τη διασπορά (dispersion) των αποτελεσμάτων όταν η αναλυτική μεθοδολογία επαναλαμβάνεται σε ένα δείγμα. Η διασπορά των αποτελεσμάτων προκαλείται από διάφορες τυχαίες πηγές και θα βρίσκεται γύρω από την αναμενόμενη τιμή του αποτελέσματος εάν δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα. Πρόκειται ουσιαστικά για ένα μέτρο της σωστής πραγματοποίησης της δοκιμής, αντανακλώντας την ποιότητα του προσωπικού και των διαδικασιών που εφαρμόζονται [79,83].

Η μαθηματική απόδοση του συγκεκριμένου μέτρου περιγράφεται από τη σχέση [81]:

$$Ακρίβεια = \frac{\alpha}{\alpha + b} = \frac{αληθώς\ θετικά}{αληθώς\ θετικά + ψευδώς\ θετικά}$$

Υποσύνολα της ακρίβειας θεωρούνται η επαναληψιμότητα (repeatability) και η αναπαραγωγιμότητα (reproducibility), με την πρώτη να αφορά το μέτρο της διασποράς των αποτελεσμάτων διαδοχικών ελέγχων στο ίδιο δείγμα, που εκτελούνται κάτω από τις ίδιες συνθήκες, δηλ. ίδια μέθοδος ελέγχου, ίδιος αναλυτής, ίδια συσκευή, ίδιο εργαστήριο και βραχύ χρονικό διάστημα, και τη δεύτερη να αφορά το μέτρο της διασποράς μεταξύ των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται με την ίδια μέθοδο στο ίδιο δείγμα, κάτω από διαφορετικές συνθήκες, δηλ. διαφορετικός αναλυτής, διαφορετικές συσκευές, διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων, διαφορετικούς χρόνους. Ανάλογα λοιπόν με τις εκάστοτε συνθήκες του εργαστηριακού ελέγχου, υφίστανται η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα ή ενδιάμεση πιστότητα (στο ίδιο εργαστήριο), η διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (σε διαφορετικά εργαστήρια), η εντός προσδιορισμού επαναληψιμότητα (ίδιο τμήμα δείγματος) και η μεταξύ προσδιορισμών επαναληψιμότητα (διαφορετικά τμήματα του ιδίου δείγματος) [84].

Η σχέση μεταξύ ορθότητας και ακρίβειας γίνεται εύκολα αντιληπτή μέσω της ακόλουθης εικόνας.



Εικόνα 13: Σχέση μεταξύ ορθότητας και ακρίβειας [84]

3.1.3 Θετική και αρνητική προγνωστική αξία

Θετική προγνωστική αξία (Positive predictive value - PPV)

Εκφράζει την αναλογία των ασθενών που σύμφωνα με το test είναι θετικοί και έχουν στην πραγματικότητα την ασθένεια. Το συγκεκριμένο μέτρο απαντά στο ερώτημα «αν ένα άτομο διαγνωσθεί θετικό, ποια είναι η πιθανότητα να έχει πραγματικά την ασθένεια;» [79]. Δείχνει λοιπόν ουσιαστικά πόσο καλό είναι το διαγνωστικό test στο να επιβεβαιώνει την ασθένεια (θετικό αποτέλεσμα) [85]. Η μαθηματική απόδοση του συγκεκριμένου μέτρου περιγράφεται από τη σχέση [81]:

$$\Theta\varepsilon\tau\iota\kappa\acute{\eta}\ \pi\rho o\gamma\nu\omega\sigma\tau\iota\kappa\acute{\eta}\ \alpha\xi\acute{\iota}\alpha = \frac{\alpha}{\alpha + b} = \frac{\alpha\lambda\eta\theta\acute{\omega}\varsigma\ \theta\varepsilon\tau\iota\kappa\acute{\alpha}}{\alpha\lambda\eta\theta\acute{\omega}\varsigma\ \theta\varepsilon\tau\iota\kappa\acute{\alpha} + \psi\varepsilon\upsilon\delta\acute{\omega}\varsigma\ \theta\varepsilon\tau\iota\kappa\acute{\alpha}}$$

ενώ μέσω του επιπολασμού δίνεται από τη σχέση [79]:

$$\Theta\varepsilon\tau\iota\kappa\acute{\eta}\ \pi\rho o\gamma\nu\omega\sigma\tau\iota\kappa\acute{\eta}\ \alpha\xi\acute{\iota}\alpha = \frac{(\varepsilon\upsilon\alpha\iota\sigma\theta\eta\sigma\acute{\iota}\alpha)(\varepsilon\pi\iota\pi o\lambda\alpha\sigma\mu\acute{o}\varsigma)}{(\varepsilon\upsilon\alpha\iota\sigma\theta\eta\sigma\acute{\iota}\alpha)(\varepsilon\pi\iota\pi o\lambda\alpha\sigma\mu\acute{o}\varsigma) + (1 - \varepsilon\iota\delta\iota\kappa\acute{o}\tau\eta\tau\alpha)(1 - \varepsilon\pi\iota\pi o\lambda\alpha\sigma\mu\acute{o}\varsigma)}$$

Αρνητική προγνωστική αξία (Negative predictive value - NPV)

Εκφράζει την αναλογία των ασθενών που σύμφωνα με το test είναι αρνητικοί και δεν έχουν στην πραγματικότητα την ασθένεια. Το συγκεκριμένο μέτρο απαντά στο ερώτημα «αν ένα άτομο διαγνωσθεί αρνητικό, ποια η πιθανότητα να μην έχει την ασθένεια;» [79]. Δείχνει λοιπόν ουσιαστικά πόσο καλό είναι το διαγνωστικό test στο να απορρίπτει την ασθένεια (θετικό αποτέλεσμα) [85]. Η μαθηματική απόδοση του συγκεκριμένου μέτρου περιγράφεται από τη σχέση [81]:

$$\Alpha\rho\nu\eta\tau\iota\kappa\acute{\eta}\ \pi\rho o\gamma\nu\omega\sigma\tau\iota\kappa\acute{\eta}\ \alpha\xi\acute{\iota}\alpha = \frac{d}{d + c} = \frac{\alpha\lambda\eta\theta\acute{\omega}\varsigma\ \alpha\rho\nu\eta\tau\iota\kappa\acute{\alpha}}{\alpha\lambda\eta\theta\acute{\omega}\varsigma\ \alpha\rho\nu\eta\tau\iota\kappa\acute{\alpha} + \psi\varepsilon\upsilon\delta\acute{\omega}\varsigma\ \alpha\rho\nu\eta\tau\iota\kappa\acute{\alpha}}$$

ενώ μέσω του επιπολασμού δίνεται από τη σχέση [79]:

$$\text{Θετική προγνωστική αξία} = \frac{(\text{εισικότητα})(1-\text{επιπολασμός})}{(\text{ειδικότητα})(1-\text{επιπολασμός})+(1-\text{ευαισθησία})(\text{επιπολασμός})}$$

Στην περίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας η θετική προγνωστική αξία ενός PAP test αφορά στην ακρίβεια με την οποία ένα θετικό αποτέλεσμα επιχρίσματος προβλέπει την ύπαρξη νεοπλασίας στον τράχηλο, ενώ η αρνητική προγνωστική του αξία την ακρίβεια με την οποία ένα αρνητικό αποτέλεσμα επιχρίσματος προβλέπει την απουσία της νόσου [2].

3.1.4 Καμπύλη ROC

Βασικός στόχος κατά τη διαδικασία αξιολόγησης ενός test μέσω σχετικών στατιστικών μέτρων είναι να βρεθεί ένα σημείο διαχωρισμού (cut-off point) πέρα από το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ότι το τεστ είναι θετικό. Έτσι, αν T είναι η μέτρηση του διαγνωστικού τεστ, το ζητούμενο είναι η τιμή t για την οποία ισχύει

- Αν T≤t => η νόσος δεν είναι παρούσα (αρνητικό τεστ)
- Αν T> t => η νόσος είναι παρούσα (θετικό τεστ)

Για την επιλογή αυτού ακριβώς του σημείου διαχωρισμού χρησιμοποιούνται οι καμπύλες ROC (Receiver Operating Characteristic curves), οι οποίες απεικονίζουν (με μια καμπύλη) τους συνδυασμούς της αναλογίας των ψευδών θετικών περιπτώσεων (1-specificity) (άξονας X) και της ευαισθησίας (άξονας Y) για όλες τις τιμές του ελέγχου T που παρατηρούνται στο δείγμα [86].

Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθούν οι πιθανότητες false positive fraction-FPF στο X-άξονα και true positive fraction-TPF στον Y-άξονα [87].

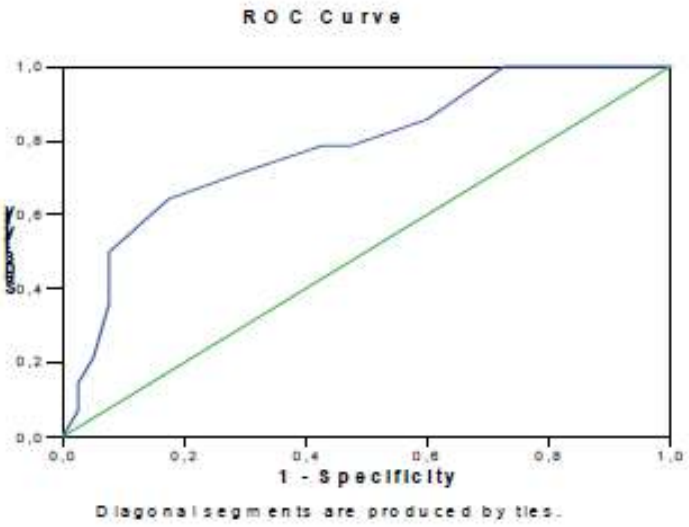
Η επιλογή των πιθανών σημείων διαχωρισμού γίνεται από την άνω αριστερή περιοχή του διαγράμματος, περιοχή στην οποία υφίσταται χαμηλός αριθμός ψευδώς θετικών περιπτώσεων και υψηλή ευαισθησία). Συμπερασματικά οι καμπύλες ROC,

- είναι η διαγραμματική απεικόνιση των χαρακτηριστικών ενός ποσοτικού διαγνωστικού test,
- βοηθούν να εξεταστεί η απόδοση του test για διαφορετικά σημεία προγνωστικού ελέγχου,

- βοηθούν στην επιλογή του σημείου απόφασης όσον αφορά αν ένας έλεγχος θεωρείται θετικός ή αρνητικός.

Σημαντική ποσότητα στις καμπύλες ROC αποτελεί η περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC – area under curve), της οποίας το εμβαδόν συνδέεται με την πιθανότητα η τιμή του test για ένα ασθενή να είναι μεγαλύτερη από την τιμή του test για ένα άτομο που δεν έχει την ασθένεια [86].

Στην περίπτωση ενός τέλειου διαγνωστικού test ισχύει AUC=1 και ενός μη πληροφοριακού test ισχύει AUC=0.5. Άλλα χαρακτηριστικά μεγέθη της καμπύλης είναι η μέγιστη κάθετη απόσταση (maximum vertical distance), δηλαδή η απόσταση της ROC curve από τη διαγώνιο γραμμή (όσο μεγαλύτερη είναι η απόσταση αυτή, τόσο πιο πληροφοριακό είναι το διαγνωστικό test) και το σημείο συμμετρίας (symmetry point), στο οποίο ισχύει ότι sensitivity = specificity [88].



Διάγραμμα 6: Παράδειγμα καμπύλης ROC

3.2 Επισκόπηση μελετών απόδοσης των διαφόρων τεχνικών ανίχνευσης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Η διαδικασία προληπτικού ελέγχου είναι αναμφισβήτητα ιδιαίτερα σημαντική. Για να είναι όμως αποτελεσματική και να οδηγήσει στην έγκαιρη πρόληψη της ασθένειας θα πρέπει το επιλεγμένο διαγνωστικό test να παρουσιάζει εκείνα τα χαρακτηριστικά που θα αποτρέπουν ενδεχόμενα υπερδιάγνωσης ή εσφαλμένης διάγνωσης. Στη συνέχεια της παρούσας ενότητας παρατίθενται μελέτες σχετικά με τα στατιστικά μέτρα απόδοσης των τεχνικών ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, τόσο μεμονωμένα, όσο και σε συνδυασμό αυτών, με απώτερο σκοπό να επιτευχθεί η καλύτερη συνδυαστική τιμή αυτών των μέτρων.

3.2.1 Προσέγγιση ανά τεχνική ανίχνευσης

Μέθοδοι οπτικής επισκόπησης

- Σύμφωνα με μελέτη των R. Sankaranarayanan et al. (2004), η οποία αφορά αποτελέσματα εξετάσεων σε πλήθος 49.000 γυναικών από πολυεθνικό κέντρο στην Ινδία και στην Αφρική, η μέθοδος VILI παρουσίασε ευαισθησία 92% και ειδικότητα 85% στην περίπτωση περιστατικών high-grade CIN, με τα αντίστοιχα ποσοστά για τη μέθοδο VIA να είναι 77 και 86% [89].
- Σύμφωνα με μελέτη των L.O. Sarian et al. (2005), η εφαρμογή των συγκεκριμένων τεχνικών σε πλήθος 3000 γυναικών στη Λατινική Αμερική, η μέθοδος VILI επέδειξε ευαισθησία της τάξης του 53% και ειδικότητα σε ποσοστό 78%, όσον αφορά στην ανίχνευση περιστατικών high-grade CIN [90].

Pap test

- Σε αμερικάνικη μετα-ανάλυση των D.C. McCrory et al. (1999), για τις κολποσκοπικά ή ιστολογικά επιβεβαιωμένες CIN-2 αλλοιώσεις βρέθηκε

ευαισθησία 87% και ειδικότητα 100%, ενώ για τις CIN-1 αλλοιώσεις η ευαισθησία ήταν μόνο 52% και η ειδικότητα 96% [91].

- Ενδιαφέρον παρουσιάζει στη μελέτη των Bhatla και Moda (2009) η σύγκριση της ευαισθησίας που παρουσιάζει το test στις περιπτώσεις που το δείγμα έχει συλλεχθεί από το κλινικό προσωπικό καθώς και από τον ίδιο τον εξεταζόμενο, όπως επίσης και σε σχέση με τη συμβατική κυτταρολογική εξέταση, για τις περιπτώσεις αλλοιώσεων HSIL και καρκίνου [92], αναδεικνύοντας τη σημασία που έχει η διαδικασία συλλογής του προς εξέταση δείγματος για την επιτυχία της εφαρμογής του test.

Table. Comparison of self-collected HPV with clinician obtained HPV and conventional cytology

	% Self-collected HPV (sensitivity)	% Clinician-obtained HPV (sensitivity)	% Cytology (sensitivity)
Wright *et al*, 2000	66	84	61
Belinson *et al*, 2003	87.5	96.8	88.3

Πίνακας 8: Σύγκριση ευαισθησίας που επέδειξε το pap test σε περίπτωση συλλογής του δείγματος από τον εξεταζόμενο και από ειδικευμένο προσωπικό [92]

HPV DNA test

- Σύμφωνα με τη μελέτη των J. Cuzick, P. Sasieni και P. Davies (1999), το HPV DNA test (HC II) ανέδειξε ευαισθησία στην ανίχνευση υψηλού βαθμού δυσπλασιών της τάξης του 80-90%. Η ειδικότητα κυμάνθηκε σε εύρος 57-89% [55].
- Ο ρόλος του HPV DNA testing στη διαδικασία του follow up διερευνήθηκε στη μετα-ανάλυση των E. Paraskevaidi et al. (2004), τα συγκεντρωμένα αποτελέσματα της οποίας παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα, σχετικά με περιπτώσεις CIN και στον οποίο παρατηρείται η υψηλή απόδοση του test (περιλαμβάνονται διάφορες τεχνικές και διαφορετικοί πληθυσμοί δειγμάτων [53].

Table 2 HPV detection after treatment for CIN

Author	N	Initial HPV test Pos.	No treatment failures			Treatment failure			Sensitivity %	Specificity %	NPV %	PPV %
				HPV Neg.	HPV Pos.		HPV Neg.	HPV Pos.				
Elfgren (1996)	23	18	19	18	1	4	0	4	100	95	100	80
Chua (1997)	48	45	22	22	0	26	2	24	92	100	*	*
DiStefano (1998)	36	36	27	13	14	9	14	6	48	–	–	–
Bollen (1999)	43	ND	27	12	15	16	0	16	100	44	100	52
Kjellberg (2000)	88	75	88	86	2	0	0	0	–	–	–	–
Nagai (2000)	56	56	51	45	6	5		5	100	88	100	45
Kucera (2001)	84	119/142	84	79	5	0	0	0	–	–	–	–
Lin (2001)	75	75	48	23	25	27	0	27	100	48	100	52
Nobbenhuis (2001)	184	181	155	134	21	29	2	27	93	86	99	56
Paraskevaidis (2001)	123	ND	82	69	13	41	3	38	93	84	*	*
Aciadious (2002)	116	113/219	69	65	4	47	25	22	47	94	*	*
Total	876	82.2%	672	84.2%	15.8%	204	17.2%	82.8%	NA	NA	NA	NA

ND: not defined, NA: not applicable.
* In these studies the prevalence of treatment failure was predetermined and predictive values for normal and abnormal test outcome could not be calculated.

Πίνακας 9: Απόδοση HPV DNA test στη διαδικασία του follow up [53]

Ειδικότερα για τις περιπτώσεις των μελετών που έχουν επισημανθεί στον παραπάνω πίνακα, τα εξεταζόμενα δείγματα περιπτώσεων HSIL (179 αθροιστικά), το test έγινε θετικό στις 176 περιπτώσεις, επιδεικνύοντας ευαισθησία της τάξης του 98,3%.

3.2.2 Συγκριτική προσέγγιση

Σύγκριση Pap test και HPV DNA test

- Σύμφωνα με τη μελέτη των M. Schiffman et al. (2000), σε δείγμα 9000 γυναικών ηλικίας μεγαλύτερης των 18 ετών στην Κόστα Ρίκα, το συμβατικό pap test, για στην περίπτωση εντοπισμού περιστατικών HSIL και καρκίνου, επέδειξε ευαισθησία 77.7% και ειδικότητα 94%, ενώ το HC II test επέδειξε ευαισθησία 88.4% και ειδικότητα 89%, όπως αναφέρεται στο [52].
- Η μελέτη των S.L. Kulasingam et.al., (2002) κατά την οποία εξετάσθηκαν 4.075 γυναίκες (Washington State) έδειξε στην περίπτωση του HPV DNA test PCR

ευαισθησία 88.2% και ειδικότητα 78.8% και στην περίπτωση του HPV DNA test HCII ευαισθησία 90.8% και ειδικότητα 72.6%, όσον αφορά στον εντοπισμό περιστατικών CIN3 και CA, ενώ αντίστοιχα τα ποσοστά για το pap test ήταν 61,3% και 82,4% (το pap test θεωρήθηκε θετικό για περιπτώσεις ASCUS or worse) [93].

- Σε μια άλλη μελέτη, αυτή των T.C. Wright, L. Denny και L. Kuhn (2000) που πραγματοποιήθηκε σε δείγμα 1400 γυναικών από την Νότια Αφρική με ηλικίες από 35 έως 65, το HC II test επέδειξε ευαισθησία 83.9% όσον αφορά τον εντοπισμό HSIL και καρκίνου. Για το ίδιο δείγμα, το pap το test επέδειξε ευαισθησία 60.7%, για την περίπτωση όμως περιστατικών LSIL or worse [56].
- Σύμφωνα με τη μετα-ανάλυση των J. Cuzick et al. (2008) η χρήση του HC2 ως πρωταρχικό test πληθυσμιακού ελέγχου, οδηγεί στην ανίχνευση πάνω από το 90% των περιπτώσεων CIN2/3 ή καρκίνου και παρουσιάζει κατά 25% (95% CI: 15-36%) μεγαλύτερη σχετική ευαισθησία σε σχέση με την κυτταρολογία (θεωρώντας την κυτταρολογία θετική για περιστατικά ASCUS+ ή LSIL+ στις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχουν ASCUS). Ωστόσο, η HCII παρουσιάζει 6% μικρότερη σχετική ειδικότητα σε σχέση με την κυτταρολογία [37].

Comparison (test 1/test 2)	Outcome	Relative sensitivity			Relative specificity		
		pooled estimate (95%CI)	Range	Number of studies	Pooled estimate (95%CI)	Range	Number of studies[a]
HC2/Cyto. (ASC-US+)	CIN2+	1.29 (1.17–1.43)	0.87–2.93	19	0.96 (0.95–0.97)	0.86–1.10	16
HC2/Cyto. (LSIL+)		1.42 (1.27–1.59)	1.09–2.35	14	0.90 (0.89–0.92)	0.67–1.03	13
HC2/Cyto. (ASC-US/LSIL+)		1.33 (1.20–1.47)	0.91–2.93	21	0.94 (0.92–0.98)	0.67–1.10	19
PCR/Cyto. (ASC-US+)		1.27 (1.06–1.53)	0.75–3.57	8	0.98 (0.94–1.02)	0.86–1.08	6
PCR/Cyto. (LSIL+)		1.61 (0.84–3.09)	0.82–5.10	3	0.92 (0.89–0.95)	0.81–1.00	3
HC2/Cyto. (ASC-US+)	CIN3+	1.32 (1.06–1.64)	0.97–2.63	10	0.98 (0.97–1.00)	0.90–1.10	7
HC2/Cyto. (LSIL+)		1.31 (1.13–1.53)	0.97–2.32	9	0.94 (0.93–0.96)	0.85–1.03	7
Cyto. (ASC+) & HC2/Cyto (ASC-US+)	CIN2+	1.46 (1.34–1.59)	1.06–2.30	11	0.94 (0.93–0.94)	0.89–0.96	10
Cyto. (ASC+) & HC2/Cyto (ASC-US+)	CIN3+	1.35 (1.21–1.52)	1.02–2.18	7	0.93 (0.93–0.94)	0.89–0.95	5
Cyto. (ASC-US+) & HC2/HC2+	CIN2+	1.06 (1.05–1.06)	1.02–1.37	11	0.95 (0.94–0.96)	0.81–0.99	10
Cyto. (ASC-US+) & HC2/HC2+	CIN3+	1.04 (1.03–1.05)	1.02–1.17	7	0.93 (0.91–0.95)	0.81–0.99	5

[a] Meta-analyses of the relative specificity do not include randomised clinical trials, neither cross-sectional studies, where the absolute specificity of the two considered tests was not reported. ASC-US: atypical squamous cells of undetermined significance; CI: confidence interval; CIN: cervical intraepithelial neoplasia; CIN2+: CIN grade 2 or worse; CIN3+: CIN grade 3 or worse; Cyto: cytology; HC2: Hybrid Capture® 2 (Qiagen Gaitbersburg, Inc. MD, USA (previously Digene Corp.); LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesions; PCR: polymerase chain reaction.

Πίνακας 10: Σύγκριση απόδοσης HCII test και κυτταρολογίας για διαφορετικές μελέτες [37]

Στην ίδια μελέτη διερευνήθηκαν επίσης και οι αποδόσεις που παρουσιάζει το HPV DNA test σε διάφορες μελέτες με χρήση είτε του HCII είτε του PCR, όσον αφορά το triage των ASCUS, το triage των LSIL, καθώς και για τον πρωταρχικό πληθυσμιακό έλεγχο. Τα αποτελέσματα αυτής της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται συγκεντρωτικά στον παρακάτω πίνακα [37].

Application	Test	Test cut-off	Outcome	Studies	Sensitivity			Specificity			Test positivity rate	Prevalence of outcome at final diagnosis
					Pooled estimate (95% CI)	p	Range (%)	Pooled estimate (95% CI)	p	Range (%)	Pooled estimate (95% CI)	Pooled estimate (95% CI)
Triage ASC-US	HC2	1 pg/mL	CIN2+	22	93.3 (91.1–95.1)	0.30	69–100	62.2 (57.6–67.1)	<0.001	37–80	43.0 (37.8–48.2)	8.7 (6.9–10.5)
			CIN3+	9	95.5 (92.7–98.2)	0.04	75–100	68.5 (52.6–68.2)	<0.001	46–70	–	3.0 (2.4–3.5)
Triage LSIL	HC2	1 pg/mL	CIN2+	11	97.2 (95.6–98.8)	0.86	89–100	30.6 (22.7–38.6)	<0.001	19–48	74.4 (63.0–81.0)	17.6 (13.8–23.3)
			CIN3+	6	97.1 (94.9–100)	0.09	97–100	26.1 (15.1–37.1)	<0.001	17–46	–	7.4 (2.9–12.8)
Predictors treatment failure	HC2/PCR	Diverse	Recurrent CIN[a]	16	94.4 (90.8–97.9)	0.41	67–100	75.9 (68.7–81.4)	<0.001	44–100	32.4 (23.6–41.2)[a]	10.2 (6.7–13.8)
	HC2	1 pg/mL	CIN2+	19	89.7 (86.4–93.0)	<0.001	50–100	88.2 (86.2–90.1)	<0.001	61–95	13.4 (11.2–15.7)	2.3 (1.7–2.5)
			CIN2+	8[b]	98.1 (96.8–99.4)	<0.40	84–100	91.7 (90.3–93.1)	<0.001	85–95	9.3 (7.7–10.8)	0.9 (0.7–1.2)
			CIN3+	10[b]	96.3 (95.3–95.4)	<0.001	62–98	90.6 (88.7–92.6)	<0.001	84–95	–	1.0 (0.7–1.3)
Primary screening	PCR	+signal	CIN2+	7	84.2 (77.0–91.5)	<0.001	64–95	85.1 (81.4–86.8)	<0.001	75–90	6.8 (4.8–8.7)	2.2 (1.4–3.0)
	HC2 and cytology	1 pg/mL or ASC-US+	CIN2+	8[c]	99.4 (97.9–100)	0.99	98–100	88.2 (85.8–90.5)	<0.001	69–94	13.3 (10.7–15.8)	1.0 (0.7–1.3)

[a] If multiple visits per patient were documented, values from the visit near 6 months after treatment were chosen for pooling.
[b] Restricted to studies conducted in North America or Europe.
[c] After exclusion of the studies conducted in India (Table 1: 019–021) and Zimbabwe (Table 1: 08).
The three possible clinical applications described above include triage of minor cytological abnormalities (ASC-US or LSIL), prediction of residual or recurrent CIN after treatment and primary cervical cancer screening. Sensitivity and specificity (pooled estimate, p value for inter-study heterogeneity and range (minimum and maximum observed value) to detect histologically confirmed CIN2+ or CIN3+, pooled test positivity rate, and prevalence of CIN. ASC-US: atypical squamous cells of undetermined significance; CI: confidence interval; CIN: cervical intraepithelial neoplasia; HC2: Hybrid Capture 2® (Qiagen Gaithersburg, Inc. MD, USA (previously Digene Corp.); LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesions; PCR: polymerase chain reaction.

Πίνακας 11: Σύνοψη των μετά-αναλύσεων όσον αφορά την απόδοση του HPV DNA test σε διάφορες πιθανές κλινικές εφαρμογές [37]

- Σύμφωνα με άλλη μετα-ανάλυση των J. Cuzick et al. (2006), η οποία επισκόπησε την κατάσταση του HPV testing στην Ευρώπη και στη Βόρεια Αμερική (μελέτες σε Ηνωμένο Βασίλειο, Γερμανία, Γαλλία, Ολλανδία και Καναδά), προέκυψε ότι η ευαισθησία για την ανίχνευση περιστατικών CIN2+ ήταν 96% για το HPV DNA test και 53% για την κυτταρολογία, ενώ η ειδικότητα ήταν 92% και 97% αντίστοιχα. Προέκυψε επίσης ότι η ευαισθησία του HPV DNA test ήταν παρόμοια στις διαφορετικές περιοχές της έρευνας, κάτι που δε συνέβη με την κυτταρολογική εξέταση, η ευαισθησία της οποίας παρουσίασε υψηλή διακύμανση. Το HPV DNA test μάλιστα στις περιπτώσεις HSIL επέδειξε υψηλή αρνητική προγνωστική αξία (negative predictive value - NPV), με τις περισσότερες εξεταζόμενες μελέτες να αναφέρουν ποσοστά 99-100% [94].
- Η πιο πρόσφατη μελέτη σχετικά με την αξιολόγηση των τεχνικών ανίχνευσης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, αυτή των P. E. Castle et al. (2012), σύγκρινε τη χρήση του HCII και του pap test σχετικά με την ασφάλεια που παρέχει ένα τέτοιο test κατά τη διαδικασία του follow up, για μια περίοδο 18 ετών και εξεταζόμενο κατά καιρούς πληθυσμό μεγέθους 19512 γυναικών. Το εξαγόμενο συμπέρασμα ήταν ότι ένα αρνητικό HCII test δίνει μεγαλύτερη εξασφάλιση σχετικά με την ύπαρξη δυσπλασιών τύπου CIN-3+ για την εξεταζόμενη χρονική περίοδο των 18 ετών σε σχέση με ένα συμβατικό pap test. Παρά λοιπόν το γεγονός ότι και τα δύο tests προέβλεψαν σωστά την ανάπτυξη δυσπλασιών τύπου CIN-3+ στα πρώτα 2 έτη

του follow-up, μόνο το HCII test πέτυχε την ίδια πρόβλεψη για μια περίοδο 10-18 ετών [95]. Χαρακτηριστικά είναι τα μεγέθη του πίνακα που ακολουθεί.

Cumulative Detection of CIN3 or CIN3+ After Baseline Test for HR-HPV and Clinical Center Pap Test Stratified by Enrollment Age Group

HPV Result by Follow-Up Period (years)	Pap Result	Age < 30 Years				Age 30 to 39 Years				Age ≥ 40 Years			
		No. of Patients	No. of End Points	CIR	95% CI	No. of Patients	No. of End Points	CIR	95% CI	No. of Patients	No. of End Points	CIR	95% CI
0 to 4													
HR-HPV positive	ASC-US+	382	27	7.07	4.89 to 10.15	94	14	14.89	9.02 to 24.05	64	7	10.94	5.26 to 21.97
	Normal	1,301	24	1.84	1.24 to 2.74	496	8	1.61	0.81 to 3.21	427	5	1.17	0.49 to 2.80
HR-HPV negative	ASC-US+	140	6	4.29	1.93 to 9.38	170	5	2.94	1.22 to 6.98	212	3	1.42	0.45 to 4.36
	Normal	5,228	6	0.11	0.05 to 0.26	5,179	7	0.14	0.06 to 0.28	5,819	6	0.10	0.05 to 0.23
5 to 9													
HR-HPV positive	ASC-US+	108	1	7.75	5.32 to 11.22	34	0	14.89	9.02 to 24.05	29	0	10.94	5.26 to 21.97
	Normal	475	8	3.23	2.23 to 4.68	249	5	3.38	1.93 to 5.88	273	0	1.17	0.49 to 2.80
HR-HPV negative	ASC-US+	41	0	4.29	1.93 to 9.38	86	0	2.94	1.22 to 6.98	147	1	2.07	0.77 to 5.52
	Normal	2,214	15	0.70	0.45 to 1.09	3,030	5	0.28	0.16 to 0.51	4,048	6	0.24	0.14 to 0.43
≥ 10													
HR-HPV positive	ASC-US+	97	1	8.70	5.86 to 12.83	33	0	14.89	9.02 to 24.05	26	0	10.94	5.26 to 21.97
	Normal	375	7	5.04	3.54 to 7.15	202	1	3.85	2.23 to 6.62	211	1	1.64	0.71 to 3.77
HR-HPV negative	ASC-US+	34	0	4.29	1.93 to 9.38	65	0	2.94	1.22 to 6.98	117	0	2.07	0.77 to 5.52
	Normal	1,775	13	1.43	1.01 to 2.03	2,648	8	0.59	0.37 to 0.92	3,144	5	0.40	0.25 to 0.66

Abbreviations: ASC-US+, atypical squamous cells of undetermined significance or more severe; CIN3, cervical intraepithelial neoplasia grade 3; CIN3+, CIN3 or more severe; CIR, cumulative incidence rate; HR-HPV, high-risk human papillomavirus; Pap, Papanicolaou.

Πίνακας 12: Αθροιστικά ποσοστά ανίχνευσης περιστατικών CIN-3+ από HC2 και Pap test για περίοδο follow up 18 ετών [95]

Σύγκριση Flow cytometry (mRNA test) και HPV DNA test (Hybrid Capture2)

- Σύμφωνα με μελέτη των Narimatsu και Patterson (2005), πραγματοποιήθηκε σύγκριση της μεθόδου HPV FISH (fluorescence in situ hybridization) E6 and E7 mRNA και της Hybrid Capture II όσον αφορά στον εντοπισμό υψηλού βαθμού βλαβών, σε ένα δείγμα 149 γυναικών, των οποίων οι κυτταρολογικές εξετάσεις έδειξαν 109 WNL, 21 ASCUS, 5 LSIL, 12 HSIL και 2 CA. Χρησιμοποιώντας τα αποτελέσματα HSIL και CA ως όριο θετικοποίησης των δύο tests, προέκυψε για το HPV FISH E6 and E7 mRNA test ευαισθησία 71.4% και ειδικότητα 91%, ενώ για το Hybrid Capture II 64.2% και 88% αντίστοιχα. Όπως φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα, και τα δύο tests ανίχνευσαν 8 από τα 12 HSILs, ενώ το HPV FISH E6 and E7 mRNA test ανίχνευσε ένα περιστατικό CA παραπάνω [45].

Comparison of HPV FISH *E6* and *E7* mRNA and HCII in a Low-Risk HPV Cohort (n = 149)*

Papanicolaou Result	Intracellular *E6* and *E7* mRNA	Hybrid Capture II
WNL (n = 109)	10	13
ASCUS (n = 21)	14	9
LSIL (n = 5)	4	3
HSIL (n = 12)	8	8
Squamous cell carcinoma (n = 2)	2	1

ASCUS, atypical squamous cells of undetermined significance; FISH, fluorescence in situ hybridization; HCII, Hybrid Capture II; HPV, human papillomavirus; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; mRNA, messenger RNA; WNL, within normal limits.

* For intracellular *E6* and *E7* mRNA and Hybrid Capture II, respectively, sensitivity, ≥HSIL, 71.4% and 64.2%, and specificity, 91% and 88%.

Πίνακας 13: Σύγκριση απόδοσης του Flow Cytometry (E6/E7 mRNA) και του HPV DNA test (Hybrid Capture II)[45]

Σύγκριση Pap test, HPV DNA test και p16 test

- Μια τέτοια σύγκριση επιχειρήθηκε με τη μελέτη των T. Ekalaksananan et al. (2006) η οποία πραγματοποιήθηκε με την ανάλυση δείγματος 186 ασθενών (με μη φυσιολογικό αποτέλεσμα στο Pap test), με τα αποτελέσματά της να συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Conventional Pap test	Number	P16 protein detection		HPV DNA detection	
		Positive (%)	Negative (%)	Positive (%)	Negative (%)
Normal	148	11 (7.4)	137 (92.6)	5 (3.4)	143 (96.6)
ASCUS	13	8 (61.5)	5 (38.5)	0 (0)	13 (100)
Low-grade dysplasia					
ASC-H	6	4 (66.7)	2 (33.3)	2 (33.3)	4 (66.7)
LSIL	5	3 (60.0)	2 (40.0)	1 (20.0)	4 (80.0)
High-grade dysplasia					
HSIL	12	12 (100)	0 (0)	12 (100)	0 (0)
SCC	2	2 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (0)
Total	186	40 (21.5)	146 (78.5)	22 (11.8)	164 (88.2)

ASCUS, atypical squamous cells of undetermined significance; ASC-H, atypical squamous cells cannot exclude HSIL; LSIL, low squamous intraepithelial lesion; HSIL, high squamous intraepithelial lesion; SCC, squamous cervical carcinoma.

Πίνακας 14: Σύγκριση απόδοσης Pap test, p16 test και HPV DNA test [96]

Όπως προκύπτει από την παρατήρηση του παραπάνω πίνακα το ποσοστό της ευαισθησίας και της ειδικότητας γίνεται 100% εφόσον πρόκειται για περιστατικά σοβαρής ενδοτραχηλικής νεοπλασίας και καρκινώματος. Η συγκεκριμένη μελέτη κατέληξε ότι η χρήση των p16 test και HPV DNA test ενδείκνυται για την αποκάλυψη κάποιας προδιάθεσης ανάπτυξης καρκίνου [96].

- Στα ίδια πλαίσια σύγκρισης, η μελέτη της F.M. Carozzi (2007), τα αποτελέσματα της οποίας παρατίθενται στους παρακάτω πίνακες, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το HPV DNA test παρουσιάζει μεγάλη χρησιμότητα σε αμφιλεγόμενες περιπτώσεις του test Pap, ενώ το p16 test εμφανίζει μεγαλύτερη χρησιμότητα σαν εργαλείο ιατρικής διαλογής για ασθενείς με LSIL [97].

	N (%) of HR-HPV negative	N (%) of HR-HPV positive	Total – N (%)
Normal	100 (92.6)	89 (83.2)	189 (87.9%)
ASCUS	3 (2.8)	2 (1.9)	5 (2.3%)
LSIL	3 (2.8)	10 (9.3)	13 (6.04%)
HSIL	2 (1.8)	6 (5.6)	8 (3.7%)
Total	108 (50.2%)	107 (49.8%)	215

Πίνακας 15: Αποτελέσματα HPV DNA test σε αναλογία με την κυτταρολογία [97]

	N (%) of p16^{INK4a} negative	N (%) of p16^{INK4a} positive	Total – N (%)
Normal	58 (87.9)	31 (77.5)	89 (84.0)
ASCUS	1 (1.5)	1 (2.5)	2 (1.9)
LSIL	6 (9.1)	4 (10)	10 (9.4)
HSIL	1 (1.5)	4 (10)	5 (4.7)
Total	66 (62.3)	40 (37.7)	106

Πίνακας 16: Αποτελέσματα test p16 σε αναλογία με την κυτταρολογία [97]

- Ακόμα μια μελέτη της οποίας αντικείμενο αποτέλεσε η συγκεκριμένη σύγκριση, είναι αυτή των K. Denton et al., (2010), με την ανάλυση δείγματος 810 γυναικών για τις οποίες το test Pap έδειξε ASC-US ή LSIL. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης που παρατίθενται στον πίνακα που ακολουθεί, το p16 παρέχει σημαντικά καλύτερη ειδικότητα συγκριτικά με το HPV DNA test για το triage των περιπτώσεων που παρουσιάζουν κυτταρολογία ASCUS ή LSIL. Η ευαισθησία του p16 σχετικά με περιπτώσεις CIN2+ ή CIN3 βρέθηκε ότι βρίσκεται στα ίδια ή λίγο χαμηλότερα επίπεδα συγκριτικά με το HPV testing. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν την προοπτική του p16 για το αποτελεσματικό triage περιπτώσεων που παρουσιάζουν κυτταρολογία ASCUS ή LSIL [98].

	Sensitivity (%)	95% CI (%)	Specificity (%)	95% CI (%)
ASC-US, CIN 2+				
p16				
Path, morphology+	76.5	65.8-85.2	71.1	65.6-76.1
Path, score 2+	78.8	68.2-87.1	65.5	59.8-70.8
CT, morphology+	92.6	84.6-97.2	63.2	57.5-68.6
HPV	90.1	81.5-95.6	37.8	32.4-43.5
ASC-US, CIN 3				
p16				
Path, morphology+	75.9	62.4-86.5	67.1	61.7-72.1
Path, score 2+	83.0	70.2-91.9	62.5	57.1-67.8
CT, morphology+	92.6	82.1-97.9	58.6	53.1-64.0
HPV	88.9	77.4-95.8	35.3	30.2-40.8
LSIL, CIN 2+				
p16				
Path, morphology+	80.1	72.6-86.4	47.0	41.1-53.0
Path, score 2+	76.4	68.5-83.2	53.3	47.4-59.2
CT, morphology+	92.2	86.5-96.0	37.3	31.7-43.2
HPV	95.7	91.0-98.4	18.5	14.2-23.5
LSIL, CIN 3				
p16				
Path, morphology+	81.1	70.3-89.3	42.0	36.8-47.4
Path, score 2+	81.1	70.3-89.3	48.7	43.4-54.1
CT, morphology+	94.6	86.7-98.5	32.2	27.3-37.4
HPV	95.9	88.6-99.2	15.9	12.2-20.1

Πίνακας 17: Σύγκριση απόδοσης p16 test και HPV DNA test στο triage περιπτώσεων ASCUS και LSIL [98]

- Στη μετα-ανάλυση των I. Tsoumpou et al. (2009) [99], καταγράφονται τα συγκριτικά αποτελέσματα μεταξύ p16 και HC2 test, από διάφορες μελέτες, όπως παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα, για επίσης διαφορετικά ευρήματα της κυτταρολογικής εξέτασης (ASCUS και LSIL). Το HC2 test επέδειξε μεγαλύτερη ευαισθησία στις 3 από τις 4 μελέτες και ταυτόχρονα χαμηλότερη ειδικότητα, αποτέλεσμα το οποίο έρχεται σε συμφωνία και με την ανάλυση των K. Denton et al.

Study	Cut-off	End-point	Test	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
Guo 2004	LSIL	CIN2	P16	92	49	33	96
			HC2	100	7	21	100
Nieh 2005	ASCUS	CIN2	P16	95	56	50	96
			HC2	86	31	37	82
Meyer 2007	ASCUS	CIN2	P16	0	93	0	93
			HC2	100	21	8	100
Meyer 2007	LSIL	CIN2	P16	80	52	27	92
			HC2	100	17	21	100

Πίνακας 18: Αποτελέσματα σύγκρισης απόδοσης p16 και HC2 test για διαφορετικά κυτταρολογικά αποτελέσματα [99]

Ιδιαίτερη αναφορά αξίζει η μελέτη των Meyer et al. (2007), σύμφωνα με την οποία, σε πλήθος 163 δειγμάτων με μη φυσιολογικά κυτταρολογικά αποτελέσματα και διαθέσιμα ιστολογικά αποτελέσματα για το 45% των δειγμάτων έπειτα από περίοδο 6 μηνών, 21 από τις 26 περιπτώσεις CIN2/3 ήταν θετικές στο p16 test καταδεικνύοντας ευαισθησία 81%, ενώ 29 από τις 47 περιπτώσεις CIN I or less έδωσαν αρνητικό p16 test, καταδεικνύοντας ειδικότητα 62%. Συγκριτικά, για τις ίδιες περιπτώσεις, το HC2 test επέδειξε ευαισθησία 100% και ειδικότητα 15% αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί πως μετά από επανέλεγχο των περιπτώσεων CIN2/3 βρέθηκαν 25 από τα 26 δείγματα θετικά στο p16, αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία στο 96% [100].

Τέλος, η μετα-ανάλυση των I. Tsoumpou et al. περιλαμβάνει και μελέτη σχετικά με τα θετικά δείγματα p16 ανά κυτταρολογική κατηγορία. Ο συγκερασμός των εξεταζόμενων μελετών είχε ως συνέπεια τη διαπίστωση πως η χρήση διαστήματος εμπιστοσύνης 95% σε θετικό p16 test οδήγησε σε ποσοστό 7-17% για περιπτώσεις φυσιολογικής κυτταρολογίας, 35-54% για περιπτώσεις ASCUS, 37-57% για περιπτώσεις LSIL και 84-95% για περιπτώσεις HSIL [99].

P16 Positivity in cervical cell samples and percentage of p16-positive samples per cytological category.

Study	p16 Positivity		% of p16 Positive samples			
	n or c	cut-off (+)	WNL	ASCUS	LSIL	HSIL
Bibbo 2002	n+c	>10 AC	0%	NA	74%	96%
Saqi 2002	n±c	>10 cells	21%	50%	74%	90%
Bibbo 2003	n+c	>10 AC	NA	NA	NA	63%
Murphy 2003	ND	ND	0%	100%	86%	100%
Pientong 2003	n+c	⩾3 cells	0%	57%	33%	93%
Akpolat 2004	n±c	⩾10% cells	0%	10%	NA	42%
Guo 2004	n±c	⩾5 AC	NA	NA	58%	97%
Pientong 2004	n+c	⩾10 cells	0%	53%	54%	100%
Sahebali 2004	n+c	ND	NA	NA	NA	N A
Trunk 2004	ND	ND	11%	67%	79%	100%
Yoshida 2004	n+c	⩾1 AC	NA	13%	58%	100%
Bose 2005	n+c	>10 cells	13%	29%	21%	81%
Filho 2005	ND	Any staining	49%	56%	NA	NA
Moore 2005	ND	>30% AC	0%	14%	44%	100%
Nieh 2005	ND	Any staining	NA	61%	NA	NA
Wentzensen 2005	n±c	NS>2	1%	NA	10%	98%
Ekalaksananan 2006	ND	⩾10 cells	7%	63%	60%	100%
Holladay 2006	n or c	⩾1 AC	0%	35%	42%	80%
Negri 2006	n or c	ND	13%	56%	67%	100%
Sahebali 2006	n+c	ND	NA	NA	NA	NA
Bollanca 2007	n±c	>1% cells	2%	NA	35%	96%
Carozzi 2007	ND	ND	35%	50%	40%	80%
Carydis 2007	ND	>10 cells	10%	NA	NA	NA
Liu 2007	n±c	>10 cells	20%	NA	50%	82%
Meyer 2007	n±c	⩾1 AC	9%	18%	42%	81%
Monsonego 2007	n or c	Any staining	36%	55%	28%	88%
Wentzensen 2007	n	NS > 2	NA	27%	24%	NA
Pooled value (random effect model) (95% CI)			12% (7–17%)	45% (35–54%)	45% (37–57%)	89% (84–95%)

AC: atypical cells, ASCUS: atypical squamous cells of undetermined significance, c: cytoplasmic staining, cut-off (+): number or percentage of cells stained positive for p16, HSIL: high-grade squamous intraepithelial lesion, CI: confidence interval, LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesion, n: nuclear staining, NA: not-applicable, ND: not-documented, NS: nuclear scoring, WNL: within normal limits.

Πίνακας 19: Ανίχνευση της p16 στα διάφορα στάδια τραχηλικής αλλοίωσης [99]

Σύγκριση Pap test, HPV DNA test και mRNA test

- Στη μελέτη των A. Trope et al., (2009), διερευνήθηκε η ύπαρξη υψηλού κινδύνου HPV τύπων στο DNA και στο E6/E7 mRNA σε 643 γυναίκες με υψηλού βαθμού νεοπλασία (135 περιπτώσεις CIN2, 495 περιπτώσεις CIN3/ACIS και 13 περιπτώσεις καρκινώματος) καθώς και σε 736 γυναίκες με φυσιολογικά κυτταρολογικά αποτελέσματα, χρησιμοποιώντας τις τεχνικές Amplicor (τεχνική HPV DNA) και PreTect HPV-Proofer (τεχνική mRNA). Επιπρόσθετα, η αναγνώριση του γενοτύπου έγινε με το Linear Array HPV για γυναίκες με φυσιολογική κυτταρολογία και θετικό HPV test καθώς και για όλες τις γυναίκες με επιβεβαιωμένη ιστολογία CIN2+. Στην περίπτωση των γυναικών με φυσιολογική κυτταρολογία, 8.3% (61/736) θετικοποιήθηκαν μέσω του Amplicor test και 3.3% (24/736) μέσω του PreTect HPV-Proofer. Σύμφωνα αποτελέσματα μεταξύ των δύο tests εμφανίστηκαν για το 90,3% (665/736) των περιπτώσεων. Όσον αφορά την ειδικότητα (αφορά το δείγμα των 736 γυναικών με φυσιολογικά κυτταρολογικά αποτελέσματα), για το HPV-Proofer αυτή ήταν της τάξης του 96,7%, με το αντίστοιχο ποσοστό για το Amplicor να είναι 91,7%. Στην περίπτωση των ευρημάτων CIN2+, 96.4% (620/643) των περιστατικών θετικοποιήθηκαν μέσω του Amplicor, 98.4% (633/643) μέσω του linear array και 64.1% (412/643) μέσω του PreTect HPV-Proofer. Σύμφωνα αποτελέσματα για τα τρία προαναφερόμενα tests

παρουσιάστηκαν σε ποσοστό 63.8%. Η αναγνώριση του γενοτύπου από τα linear array και PreTect HPV-Proofer έδειξε παρόμοια αποτελέσματα για τους τύπους 16, 18, 33 και 45. Οι τύποι 16 και/ή 18 αναγνωρίστηκαν στο 58.8% (378/643) των περιπτώσεων με HSIL [101].

Morphology (n)	PreTect HPV-Proofer		Amplicor		P value, Proofer vs Amplicor	Linear Array		P value, Proofer vs Linear Array
	% Positive (n)	% Negative (n)	% Positive (n)	% Negative (n)		% Positive (n)	% Negative (n)	
Normal[a] (736)	3.3 (24)	96.7 (712)	8.3 (61)	91.7 (675)	<0.0001	60.3 (47)	39.7 (31)	0.001
CIN2 (135)	50.4 (68)	49.6 (67)	95.6 (129)	4.4 (6)	0.091	98.5 (133)	1.5 (2)	0.992
CIN3/ACIS (495)	67.5 (334)	32.5 (161)	97 (480)	3 (15)	<0.0001	98.8 (489)	1.2 (6)	0.072
Carcinoma (13)	76.9 (10)	23.1 (3)	84.6 (11)	15.4 (2)	0.326	84.6 (11)	15.4 (2)	0.4
CIN2+ (643)	64.1 (412)	35.9 (231)	96.4 (620)	3.6 (23)	<0.0001	98.4 (633)	1.6 (10)	0.35

Test	% Sensitivity[a]	% Specificity[b]
Amplicor	96.4	91.7
Proofer	64.1	96.7
Linear Array	98.4	NA[c]

[a] Based on 643 women with histologically confirmed CIN2+.
[b] Based on 736 women with normal cytology.
[c] NA, not available. Specificity could not be measured using the Linear Array as only some (n = 78 HPV positive) of the 736 women with normal cytology were tested via this technique.

Πίνακας 20: Συγκριτικές αποδόσεις Amplicor, PreTect HPV-Proofer και Linear Array tests [101]

- Σύμφωνα με τη μελέτη των M. Benevolo et al. (2011), στην οποία εξετάζεται μέσω του PreTect HPV-Proofer E6/E7 mRNA assay (Norchip) ένα σύνολο 1.201 γυναικών, εκ των οποίων 688 γυναίκες εξετάστηκαν κολποσκοπικά και 195 είχαν ιστολογική επιβεβαίωση CIN2+, η ευαισθησία του HPV mRNA test ήταν 83% (με διάστημα εμπιστοσύνης 95% [CI] = 63 to 94%) στις περιπτώσεις ASC-US, 62% (95% [CI] = 47 to 75%) στις περιπτώσεις LSIL και 67% (95% [CI]= 57 to 76%) στις περιπτώσεις HSIL. Τα αντίστοιχα ποσοστά για το HPN DNA test ήταν 99, 91 και 96%. Η ειδικότητα για το HPV mRNA test βρέθηκε 82, 76 και 45%, αντίστοιχα, ενώ για το HPV DNA test ήταν 29, 13 και 4%. Η χρήση του HPV mRNA test ως triage test για περιπτώσεις ASC-US και LSIL μείωσε τις κολποσκοπήσεις κατά 79% (95% [CI] =74 - 83%) και 69% (95% [CI] = 65 to 74%) αντίστοιχα, ενώ η αντίστοιχη μείωση για το HPV DNA test ήταν 38% (95% [CI]=32 - 44%) και 15% (95% [CI]=12 - 19%). Ως ένα HPV DNA positivity triage test, το mRNA test μείωσε τις κολποσκοπήσεις κατά 63% (95% [CI] = 60 - 66%), έχοντας 68% ευαισθησία (95% [CI]= 61 – 75%), ενώ για τις περιπτώσεις όπου η κυτταρολογία ήταν ASCUS+ οι κολποσκοπήσεις μειώθηκαν κατά 23% (95% [CI] =

20 - 26%), επιδεικνύοντας 92% ευαισθησία (95% [CI]= 87 to 95%). Συμπερασματικά, το PreTect HPV-Proofer mRNA test μπορεί να είναι περισσότερο αποτελεσματικό ως ένα triage test από ένα HPV DNA test για τη μείωση των κολποσκοπήσεων στις περιπτώσεις ASC-US και LSIL [102].

Cytology	No. of women tested	No. of women with colposcopy follow-up	No. of CIN2+ women	Test	Test positivity[b]		Sensitivity[c]		Specificity[d]		PPV		NPV	
					%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI
ASC-US	238	136	26	HPV mRNA	21	17–26	83	63–94	82	73–89	46	31–63	94	87–98
				HPV DNA	62	56–68	99	83–100	29	21–39	22	15–32	99	87–100
L-SIL	472	289	51	HPV mRNA	31	26–35	62	47–75	76	70–81	36	26–47	91	86–94
				HPV DNA	85	81–88	91	80–97	13	9–18	19	14–24	93	80–99
ASC-US and L-SIL	755	425	77	HPV mRNA	27	24–30	67	52–75	45	73–82	80	31–48	31	88–95
				HPV DNA	76	73–79	93	85–98	18	14–22	20	16–25	97	90–100
H-SIL+	157	138	105	HPV mRNA	67	59–74	67	57–76	45	45–84	80	70–88	31	18–45
				HPV DNA	95	90–98	96	91–99	4	0–21	77	68–83	33	4–78

[a] 95% CI, 95% confidence interval; ASC-US,atypical squamous cells of undetermined significance; L-SIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; H-SIL, high-grade squamous intraepithelial lesion; CIN2+, cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or more severe diagnosis; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.
[b] Test positivity and its 95% CI are calculated based on the total number of women tested.
[c] Sensitivity and its 95% CI are calculated based on the number of CIN2+ women, adjusted by follow-up completeness.
[d] Specificity and its 95% CI are calculated based on the number of CIN2− women, i.e., (the number of women with colposcopy follow-up) − (the number of CIN2+ women), adjusted by follow-up completeness.

Πίνακας 21: Αξιολόγηση απόδοσης HPV mRNA και DNA test [102]

Σύγκριση mRNA και p16 test

- Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μετα-ανάλυση των Cuschieri και Wentzensen (2008) σύμφωνα με την οποία η ανίχνευση E6/E7 mRNA είναι υψηλή στις περιπτώσεις CIN2/3 και καρκίνου, όπως παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα. Παρατηρείται λοιπόν πως η ευαισθησία του mRNA test παρουσιάζει εύρος 77-100% (με μέσο όρο 81%) για την περίπτωση περιστατικών CIN2/3, ενώ βρίσκεται σε εξαιρετικά υψηλά επίπεδα στις περιπτώσεις διηθητικού καρκίνου (98%) [68].

Detection rate of E6/E7 transcipts in CIN2/3 and cervical cancers

Author	CIN2/3	Invasive CA
Rose, 1995 (27)		28/28 (100%)
Nakagawa, 1995 (26)	19/19 (100%)	31/31 (100%)
Kraus, 2006 (89)		199/204 (98%)
Lie, 2005 (36)	225/291 (77%)	20/20 (100%)
Molden, 2005 (37)	13/14 (93%)	
Sotlar, 2004 (30)	95/109 (87%)	
Total	352/433 (81%)	278/283 (98%)

Πίνακας 22: Απόδοση mRNA test για ανίχνευση CIN-2,3 και διηθητικού καρκίνου [68]

Στην ίδια μελέτη εξερευνήθηκε επίσης και η απόδοση του p16 test. Η επισκόπηση των σχετικών μελετών που παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα, ανέδειξε πως η ευαισθησία του p16 αυξάνεται ανάλογα με τη σοβαρότητα της αλλοίωσης (54% για CIN-1, 86% για CIN-2 και 96% για CIN-3 και καρκίνο) .

p16 staining in immunohistochemistry

Author	Nondysplastic*	CIN1	CIN2	CIN3	Invasive CA
Sano, 1998 (44)	0/15 (0%)	8/15 (53%)	16/17 (94%)	27/27 (100%)	38/39 (97%)
Klaes, 2001 (45)	1/111 (1%)	29/47 (61%)	32/32 (100%)	60/60 (100%)	58/60 (97%)
Klaes, 2002 (49)	7/58 (12%)	15/17 (88%)	10/10 (100%)	43/43 (100%)	46/46 (100%)
Agoff, 2003 (51)	30/247 (12%)	43/76 (57%)	60/80 (75%)	103/113 (91%)	47/53 (89%)
Wang, 2004 (56)†	12/179 (7%)	27/75 (36%)	12/19 (63%)	19/19 (100%)	
Hu, 2005 (54)†‖		20/45 (44%)	43/46 (93%)	51/51 (100%)	
Benevolo, 2006 (52)‡	0/17 (0%)	17/54 (31%)	9/10 (90%)	11/11 (100%)	8/8 (100%)
Ishikawa, 2006 (55)‡	0/7 (0%)	13/53 (25%)	32/40 (80%)	45/48 (94%)	16/16 (100%)
Focchi, 2007(53)‡	0/114 (0%)	80/88 (91%)	33/33 (100%)	32/32 (100%)	44/47 (94%)
Total	50/748 (7%)	252/470 (54%)	247/287 (86%)	391/404 (96%)	257/269 (96%)

*Includes normal, reactive, inflammation, hyperplasia, atypical, equivocal.
† Population-based study.
‡ Criteria modified from Horn et al. (49).
‖ Adolescents.

Πίνακας 23: Απόδοση της μεθόδου p16 στις διάφορες αλλοιώσεις του τραχήλου [68]

Σύγκριση συμβατικής κυτταρολογίας και κυτταρολογίας υγρής φάσης

- Στα πλαίσια της μελέτης των J. Coste et.al (2003), εξετάστηκαν 1.757 γυναίκες εκ των οποίων οι 828 παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση λόγω μη φυσιολογικών αποτελεσμάτων του test Pap. Η απόδοση της συμβατικής κυτταρολογίας έδωσε ευαισθησία 72% και ειδικότητα 94%, ενώ στην περίπτωση της κυτταρολογίας υγρής φάσης το test παρουσίασε ευαισθησία 66% και ειδικότητα 91%. Στη συγκεκριμένη μελέτη θεωρήθηκε ότι η CIN-3 είναι η χειρότερη κλινική κατάσταση

προ του καρκίνου, οπότε θεωρήθηκε αρνητικό ένα αποτέλεσμα μέχρι και CIN-2 και θετικό ένα αποτέλεσμα με CIN-3 ή με καρκίνωμα [103].

- Σε μελέτη των M. Corkill et al. (1998), που συμπεριέλαβε 1500 γυναίκες και σύγκρινε τη CP με την LBC, διαπιστώθηκε ότι η LBC διέγνωσε 54% περισσότερα HSIL και εμφάνισε ευαισθησία 71,4% σε σύγκριση με 34,5% της κλασικής μεθόδου για τα LSIL [104].
- Την ίδια υπεροχή της LBC στη διάγνωση των HSIL και LSIL κατέδειξαν επίσης δύο μελέτες που διεξήχθησαν στην Αγγλία [105, 106].

Σύγκριση συμβατικής κυτταρολογίας και κυτταρομετρίας εικόνας

- Στη μελέτη των Z. Li, M. Zhang και H. Li (2010) συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα της συμβατικής κυτταρολογίας και της κυτταρομετρίας εικόνας (Lanidng DNA image cytometer), με τις τεχνικές να εφαρμόζονται σε 132 περιπτώσεις βιοψιών και τα αποτελέσματά τους να εμφανίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Pathology	Conventional Cytology				DNA Image Cytometer Positive (aneuploidy > 5c)		
	Normal	ASCUS	LSIL	HSIL	Negative	1-2 cells	3 or more cells
Norma/benign (47)	2	42	3	0	2	39	6
CIN1 (34)	3	23	5	3	2	23	9
CIN2 (27)	4	10	11	2	1	9	17
CIN3 or CIS (16)	0	5	6	5	1	2	13
Invasive cancer (8)	0	3	3	2	0	0	8

Πίνακας 24: Αποτελέσματα εφαρμογής συμβατικής κυτταρολογίας και κυτταρομετρίας εικόνας σε δείγμα 132 γυναικών [107]

Η ευαισθησία και η ειδικότητα της συμβατικής κυτταρολογίας, της κυτταρομετρίας εικόνας και του συνδυασμού τους υπολογίστηκαν για τις περιπτώσεις CIN-2, CIN-3/CIS και καρκινώματος. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της συμβατικής κυτταρολογίας ήταν 56.8% και 86.4% αντίστοιχα. Με λαμβανόμενο κριτήριο αυτό των τουλάχιστον 3 κυττάρων να περιέχουν ποσότητα DNA μεγαλύτερη των 5c τα αντίστοιχα ποσοστά για την κυτταρομετρία εικόνας γίνονται 74.5% και 81.5%, αντίστοιχα, ενώ για το συνδυασμό τους ήταν 82.4% και 81.5% [107].

Σύγκριση Κυτταρολογίας, HPV testing, τεχνικών οπτικής επισκόπησης και τραχηλογραφίας

- Σύμφωνα με τη συγκριτική μελέτη των H. De Vuyst et al. (2005), της οποίας σκοπός ήταν η αξιολόγηση τεσσάρων μεθόδων ανίχνευσης τραχηλικών ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων σε περιοχή της Αφρικής (δείγμα 653 γυναικών - Κένυα), για τις περιπτώσεις CIN1+, το pap test επέδειξε ευαισθησία 68.1% και ειδικότητα 94.6%, η μέθοδος VIA επέδειξε ευαισθησία 60.5% και ειδικότητα 80.0%, το HR HPV DNA test επέδειξε ευαισθησία 83.3% και ειδικότητα 73.9%, ενώ όσον αφορά στην τραχηλογραφία τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 52.6% και 93.2%. Όσον αφορά τις περιπτώσεις CIN2+, το pap test επέδειξε ευαισθησία 83.3% και ειδικότητα 90.3%, η μέθοδος VIA επέδειξε ευαισθησία 73.3% και ειδικότητα 77.6%, το HR HPV DNA test επέδειξε ευαισθησία 94.4% και ειδικότητα 69.3%, ενώ όσον αφορά στην τραχηλογραφία τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 72.3% και 90.5%, όπως φαίνεται και στον ακόλουθο πίνακα [108].

  Προέκυψε λοιπόν πως το Pap test παρουσίασε μεγαλύτερη ειδικότητα (το Pap test θεωρήθηκε θετικό για περιπτώσεις LSIL or worse), ενώ αντίθετα το HPV DNA test μεγαλύτερη ευαισθησία.

Table 4 Sensitivity and specificity of the four screening tests

Disease threshold	Pap smear		VIA		HPV (any type)		HPV HR		Cervicography	
	Sensitivity %, 95% CI %	Specificity %, 95% CI %	Sensitivity %, 95% CI %	Specificity %, 95% CI %	Sensitivity %, 95% CI %	Specificity %, 95% CI %	Sensitivity %, 95% CI %	Specificity %, 95% CI %	Sensitivity %, 95% CI %	Specificity %, 95% CI %
CIN1+	68.1, 59.4–76.9	94.6, 92.6–96.5	60.5, 51.4–69.6	80.0, 76.6–83.4	86.3, 79.5–93.1	59.4, 54.7–64.2	83.3, 76.0–90.7	73.9, 69.7–78.2	52.6, 42.4–62.9	93.2, 90.8–95.7
CIN2+	83.3, 73.6–93.0	90.3, 87.9–92.8	73.3, 61.8–84.9	77.6, 74.2–80.9	96.3, 87.3, 99.6	55.8, 51.3–60.4	94.4, 84.6, 98.8	69.3, 65.0–73.5	72.3, 59.1–85.6	90.5, 87.8–93.1

Πίνακας 25: Σύγκριση αποδόσεων κυτταρολογίας, HPV testing, τεχνικών οπτικής επισκόπησης και τραχηλογραφίας [108]

3.2.3 Συνδυαστική προσέγγιση

Συνδυασμός Pap test και HPV DNA Test

- Στη μελέτη των S. Costa et al. (2007), εξετάστηκε η απόδοση της κυτταρολογίας και του HPV DNA test στην ανίχνευση καταλοίπων ή υποτροπής σε ασθενείς που παρακολουθήθηκαν για 40 μήνες μετά από θεραπεία για αδενοκαρκίνωμα in situ (AIS). Τα αποτελέσματα της μελέτης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα, όπου παρουσιάζονται ξεχωριστά οι αποδόσεις των 2 tests για κάθε follow-up επίσκεψη [109].

Test/FU visit	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	OR (95% CI)
First FU visit					
PAP smear	60.0 (26.2–87.8)	68.7 (41.3–88.9)	54.6 (23.4–83.2)	73.3 (44.9–92.2)	3.3 (0.63–17.16)
HPV test	90.0 (55.5–99.7)	58.3 (27.7–84.8)	64.3 (35.1–87.2)	87.5 (47.3–99.6)	12.6 (1.18–133.89)
Second FU visit					
PAP smear	66.7 (22.2–95.6)	73.7 (48.8–90.8)	44.4 (13.7–78.8)	87.5 (61.6–98.4)	5.6 (0.77–40.59)
HPV test	83.3 (35.8–99.5)	58.8 (32.9–81.5)	41.7 (15.1–72.3)	90.9 (58.7–99.7)	7.1 (0.67–75.21)
Third FU visit					
PAP smear	0.0 (0.0–84.2)	95.4 (77.2–99.8)	0.0 (0.0–97.5)	91.3 (71.9–98.9)	1.1 (0.96–1.24)
HPV test	0.0 (0.0–84.3)	91.7 (73.0–98.9)	0.0 (0.0–84.2)	91.7 (73.0–98.9)	1.1 (0.97–1.23)
Fourth FU visit	NC	NC	NC	NC	NC
Fifth FU visit	NC	NC	NC	NC	NC
Sixth FU visit	NC	NC	NC	NC	NC

Πίνακας 26: Απόδοση των Pap test και HPV DNA test σε ασθενείς που έχουν λάβει θεραπεία για ενδοτραχηλικό καρκίνωμα in situ [109]

Πέρα από τα ανωτέρω, οι συγγραφείς εξέτασαν επιπλέον την περίπτωση του συνδυασμού του Pap test και του HPV test. Σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, ένα συνδυαστικό test δίνει στην 1η επίσκεψη follow-up ευαισθησία 90.0%, ειδικότητα 50.0%, PPV 52.9% και NPV 88.9%. Στη 2η επίσκεψη follow-up, ο συνδυασμός των tests δίνει ευαισθησία 100%, ειδικότητα 52.6%, PPV 40.0% και NPV 100%.

Τα αποτελέσματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο συνδυασμός της κυτταρολογίας με το HPV test προσφέρει ξεκάθαρα πλεονεκτήματα συγκριτικά με τη χρήση μόνο της κυτταρολογίας για την παρακολούθηση γυναικών που έχουν θεραπευτεί για AIS [109].

- Με το παραπάνω συμπέρασμα συμφωνεί και μια άλλη μελέτη, αυτή των L.O. Sarian et al., (2004), η οποία αφορά την εξέταση της απόδοσης της κυτταρολογίας και του HPV DNA test (HCII) για την ανίχνευση CIN2+ κατά τη διαδικασία του

follow–up σε ασθενείς που υπέστησαν LEEP λόγω ιστολογικά επιβεβαιωμένου CIN2/3. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής (Πίνακας 27), τόσο το Pap test όσο και το HPV DNA test ξεχωριστά, έδειξαν παρόμοια ευαισθησία, ανιχνεύοντας το 100% των CIN2/3 στην πρώτη επίσκεψη follow-up. Στη δεύτερη επίσκεψη, το Pap test έδειξε καλύτερη ειδικότητα και PPV από το HPV DNA test, ενώ και τα δύο παρουσίασαν παρόμοια ευαισθησία και NPV. Ο συνδυασμός θετικού HPV DNA test και θετικού Pap test παρουσίασε την ίδια ευαισθησία σε σχέση με την ευαισθησία του κάθε test ξεχωριστά, αλλά η ειδικότητα και το PPV ήταν σημαντικά υψηλότερα. Ωστόσο, όταν μόνο ένα από τα 2 tests ήταν θετικό, αν και η ευαισθησία και το NPV παρέμειναν τα ίδια, η ειδικότητα και το PPV ήταν χαμηλότερα συγκριτικά με τα αντίστοιχα μέτρα που εμφάνισαν τα tests όταν εφαρμόστηκαν αυτόνομα [110]

HCII and Pap smear performance in detecting CIN 2 or 3 during follow-up

Follow-up	Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)	PPV* (%)	NPV** (%)
First visit (N = 88)				
Pap smear	100 (100–100)	81 (73–89)	32	100
HCII	100 (100–100)	86 (79–94)	39	100
Pap smear and HCII	100 (100–100)	96 (92–100)	70	100
Pap smear or HCII	100 (100–100)	77 (62–81)	23	100
Second visit (N = 87)				
Pap smear	80 (72–88)	97 (94–100)	67	99
HCII	80 (72–88)	83 (75–91)	22	98
Pap smear and HCII	80 (72–88)	100 (100–100)	100	99
Pap smear or HCII	80 (72–88)	80 (72–89)	20	99

*PPV = positive predictive values.
**NPV = negative predictive values.

Πίνακας 27: Αποδόσεις συνδυασμού Pap και HC2 test κατά τη διαδικασία του follow up [110]

- Στο ίδιο πνεύμα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα μετα-ανάλυσης των M. Schiffman και P.E. Castle (2006), όταν το HC2 test συνδυάζεται με το Pap test, η ευαισθησία του προσυμπτωματικού ελέγχου γίνεται 99,2% και η ειδικότητα 87,3% για την ανίχνευση βλαβών CIN 2/3. Αντίθετα, όταν το HPV test και συγκεκριμένα ο τύπος

HC II, χρησιμοποιείται μεμονωμένα ως δοκιμασία μαζικού πληθυσμιακού προσυμπτωματικού ελέγχου, έχει ευαισθησία 89,5% για τις CIN-2 βλάβες και 89% για τις CIN-3. Η ειδικότητα του test βρέθηκε 87,5% για τις CIN-2 βλάβες και 90,8% για τις CIN-3 [111].

- Σύμφωνα με τη μελέτη των P. Naucler et al. (2009), στην οποία χρησιμοποιήθηκε δείγμα 6257 γυναικών, ο συνδυασμός κυτταρολογίας και HPV DNA testing αύξησε την ευαισθησία κατά 35% (95% διάστημα εμπιστοσύνης confidence [CI] = 15% - 60%) όσον αφορά τον εντοπισμό περιστατικών CIN3+, συγκριτικά με την εφαρμογή μόνο κυτταρολογίας. Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Endpoint	Screening test	No. of women who were screening test positive/ No. of women with histology-verified diagnosis	Sensitivity, % (95% CI)	No. of women who were screening test negative/No. of women with no histological confirmation or a negative histological endpoint	Specificity, % (95% CI)
CIN2+	Cytology	62/87	71.3 (60.6 to 80.5)	6023/6107	98.6 (98.3 to 98.9)
	HPV DNA test	83/87	95.4 (88.6 to 98.7)	5652/6002	94.2 (93.5 to 94.7)
CIN3+	Cytology	37/50	74.0 (59.7 to 85.4)	6035/6144	98.2 (97.9 to 98.5)
	HPV DNA test	48/50	96.0 (86.3 to 99.5)	5654/6039	93.6 (93.0 to 94.2)

No. of women with histology-verified diagnosis/No. of women who were screening test positive	PPV, % (95% CI)	No. of women with no histological confirmation or a negative histological endpoint/No. of women who were screening test negative	NPV, % (95% CI)
62/146	42.5 (34.3 to 50.9)	6023/6048	99.59 (99.39 to 99.73)
83/433	19.2 (15.6 to 23.2)	5652/5656	99.93 (99.82 to 99.98)
37/146	25.3 (18.5 to 33.2)	6035/6048	99.79 (99.63 to 99.89)
48/433	11.1 (8.3 to 14.4)	5654/5656	99.96 (99.87 to 100.0)

Πίνακας 28: Αποδόσεις συμβατικής κυτταρολογίας, HPV DNA test και συνδυασμού τους [112]

- Σύγκριση αλλά και συνδυασμός μεταξύ του συμβατικού pap test και του HPV DNA test για την ανίχνευση περιστατικών HSIL πραγματοποιήθηκε και στη μελέτη των M. H. Mayrand et al. (2007), σε δείγμα 10.154 γυναικών, ηλικίας μεταξύ 30 και 69 ετών.

  Στην περίπτωση της σύγκρισης, η ευαισθησία του HPV DNA test στις περιπτώσεις CIN 2/3, ήταν 94.6% (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI] = 84.2 - 100), ενώ στην περίπτωση του Pap test η ευαισθησία ήταν 55.4%, (95% CI = 33.6 - 77.2; P = 0.01). Τα αντίστοιχα ποσοστά ειδικότητας ήταν 94.1% (95% CI = 93.4 - 94.8) για το HPV DNA test και 96.8% (95% CI = 96.3 - 97.3; P<0.001) για το Pap test [113].

Table 2. Group-Specific Comparison of Pap and HPV Testing to Identify High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cancer.

Case Definition*	Screening Test†	Crude Estimate	Corrected Estimate‡
		% (95% CI)	
Conservative			
Sensitivity	Pap	57.1 (34.0–78.2)	55.4 (33.6–77.2)
	HPV	95.0 (75.1–99.9)	94.6 (84.2–100.0)
Specificity	Pap	80.6 (77.4–83.6)	96.8 (96.3–97.3)
	HPV	60.9 (57.2–64.6)	94.1 (93.4–94.8)
Positive predictive value	Pap	8.7 (4.6–14.7)	7.1 (4.8–10.3)
	HPV	6.6 (4.0–10.1)	6.4 (5.0–8.0)
Negative predictive value	Pap	98.3 (96.8–99.2)	99.8 (99.7–99.9)
	HPV	99.8 (98.7–100.0)	100.0 (98.6–100.0)
Liberal			
Sensitivity	Pap	57.7 (36.9–76.6)	43.4 (13.2–73.6)
	HPV	82.8 (64.2–94.2)	45.9 (18.9–72.9)
Specificity	Pap	80.9 (77.7–83.9)	96.9 (96.4–97.4)
	HPV	61.1 (57.4–64.8)	94.2 (93.5–94.9)
Positive predictive value	Pap	10.9 (6.2–17.3)	9.1 (4.7–16.7)
	HPV	8.3 (5.4–12.1)	8.0 (5.6–11.3)
Negative predictive value	Pap	97.9 (96.3–99.0)	99.6 (99.3–99.8)
	HPV	98.8 (97.3–99.6)	99.4 (99.1–99.5)

* According to the conservative definition, cases were considered only if confirmed on the loop electrosurgical excision procedure (LEEP) specimen or in the confirmatory biopsy when ablative treatment was used. The liberal definition includes all cases of grade 2 or 3 cervical intraepithelial neoplasia, adenocarcinoma in situ, or cervical cancers confirmed by histologic examination of any of the ectocervical or endocervical biopsy specimens.

† Positivity was defined as a result of atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) or worse for Pap testing and at least 1 pg of HPV DNA per milliliter for the HPV DNA test.

‡ The estimates are corrected for verification bias.

Πίνακας 29: Σύγκριση απόδοσης Pap και HPV DNA test [113]

Ο συνδυασμός των Pap test και HPV DNA test οδήγησε σε ευαισθησία 100% και ειδικότητα 92,5% στην ανίχνευση περιστατικών CIN2/3. Αναλυτικότερα τα

αποτελέσματα του συνδυασμού αυτών των tests παρατίθενται στον πίνακα που ακολουθεί.

Table 4. Comparison of Pap Testing and HPV DNA Testing Using Combined Study Groups According to Different Positivity Thresholds and Test Combinations.*

Screening Approach	Definition of Positivity	Sensitivity	Specificity	Positive Predictive Value	Negative Predictive Value	No. of Tests Needed for Screening	Referrals for Colposcopy
		%					%
Pap only	ASCUS or worse	56.4	97.3	8.5	99.8	9,959	2.9
	LSIL or worse	42.2	99.1	17.5	99.7	9,959	1.0
HPV only	≥1 pg HPV DNA/ml	97.4	94.3	7.0	100.0	9,959	6.1
	≥2 pg HPV DNA/ml	81.1	95.5	9.1	99.9	9,959	4.8
Pap screening followed by HPV triage	Triage of all results of ASCUS; ≥1 pg HPV DNA/ml	53.8	98.7	14.9	99.8	10,145	1.6
HPV screening followed by Pap triage	Triage of all with ≥1 pg HPV DNA/ml; Pap threshold of ASCUS or worse	53.8	99.1	21.4	99.8	10,563	1.1
Pap and HPV cotesting	Pap result of ASCUS or worse, or HPV result of ≥1 pg HPV DNA/ml	100.0	92.5	5.5	100.0	19,918	7.9

* Estimates are corrected for verification bias according to the conservative case definition and are based on pooled data from 9959 women in the two study groups who had available Pap and HPV results. HPV denotes human papillomavirus, ASCUS atypical squamous cells of undetermined significance, and LSIL low-grade squamous intraepithelial lesion.

Πίνακας 30: Αξιολόγηση απόδοσης συνδυασμού Pap και HPV DNA test [113]

Συνδυασμός HPV DNA και HPV E6, E7 mRNA test

- Σύμφωνα με τη μελέτη των G. Coquillard et al. (2010), η θετική προγνωστική αξία που παρουσίασε το E6/E7 mRNA test για την περίπτωση περιστατικών CIN-2+ ήταν 78%, πολύ μεγαλύτερη από αυτή που εμφάνισε το HPV DNA (Hybrid Capture 2) test από μόνο του (43%). Η ειδικότητα του E6/E7 mRNA test για περιστατικά με αρνητική κυτταρολογία ήταν 96%, ενώ αντίστοιχα το HCII παρουσίασε 82%. Για την περίπτωση περιστατικών CIN 2−, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 85% για το E6/E7 mRNA test και 35% για το HCII test [114].

Biopsy diagnosis	HPV DNA (HC2)	Oncotect E6, E7 mRNA	Total
Benign	57 (52%)	12 (11%)	109
CIN 1	64 (82%)	21 (26.9%)	78
CIN 2	38 (88.3%)	36 (83.7%)	43
CIN 3	20 (91%)	20 (91%)	22
SCC 7	7 (87.5%)	8 (100%)	8
Specificity (incl CIN 2−)	35%	85%	

Πίνακας 31: Σύγκριση απόδοσης HPV DNA (Hybrid Capture 2) και E6, E7 mRNA test [114]

Προκύπτει λοιπόν, πως η επιπρόσθετη χρήση του E6, E7 mRNA test σε συνδυασμό με το HPV DNA (Hybrid Capture 2) test βελτιώνει την ειδικότητα και τη θετική προγνωστική αξία χωρίς να έχει αρνητικές επιπτώσεις στην ευαισθησία.

Συνδυασμός κυτταρολογίας και HPV E6, E7 mRNA test

- Στη μελέτη των S. W. Sørbye et al. (2010), χρησιμοποιήθηκε το HPV test PreTect HPV-Proofer, ως triage test σε συνδυασμό με επαναλαμβανόμενη κυτταρολογία. Στις 2099 εξεταζόμενες γυναίκες, θετικό ήταν το test για 406 περιπτώσεις. Από αυτές επιβεβαιώθηκαν με ιστολογική εξέταση οι 347 περιπτώσεις, με 243 από αυτές να εμφανίζουν CIN-2+, δίνοντας PPV 70.0% (95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI], 65.2%–74.8%). Για τύπους HPV 16 και 33 που βρέθηκαν σε θετικά δείγματα γυναικών με ηλικία πάνω από 40 ετών της συγκεκριμένης ομάδας μελέτης (περιστατικά CIN-2+), η θετική προγνωστική αξία ήταν 83.7% (95% CI, 73.3%–94.0%) και 84.6% (95% CI, 65.0%–100.0%) αντίστοιχα. Στην περίπτωση που τα αποτελέσματα της κυτταρολογίας ήταν HSIL, η εφαρμογή του test οδήγησε σε ποσοστά PPV 94.2% (95% [CI], 88.7%–99.7%), όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα [115].

Cytological diagnosis at triage	Number of women with this diagnosis	HPV positives	Women with CIN2+ among the HPV positives	Number of women with a histological diagnosis	PPV* (95% CI)
Normal	1 191	42	13	20	65.0 (44.1–85.9)
Unsatisfactory	109	16	6	9	66.7 (35.9–97.5)
ASC-US	358	98	45	89	50.6 (40.2–60.9)
AGUS	2	0	-	-	-
LSIL	252	115	64	97	66.0 (56.6–75.4)
ASC-H	103	63	50	63	79.4 (69.4–89.4)
HSIL	84	72	65	69	94.2 (88.7–99.7)
Total	2 099	406	243	347	70.0 (65.2–74.8)

Πίνακας 32: Απόδοση συνδυασμού κυτταρολογίας και HPV E6, E7 mRNA test [115]

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζεται συνολικά η ευαισθησία και η ειδικότητα που κατέγραψαν οι προαναφερόμενες μελέτες, έτσι ώστε να είναι ευκολότερη η γενικότερη σύγκριση των συγκεκριμένων μέτρων απόδοσης.

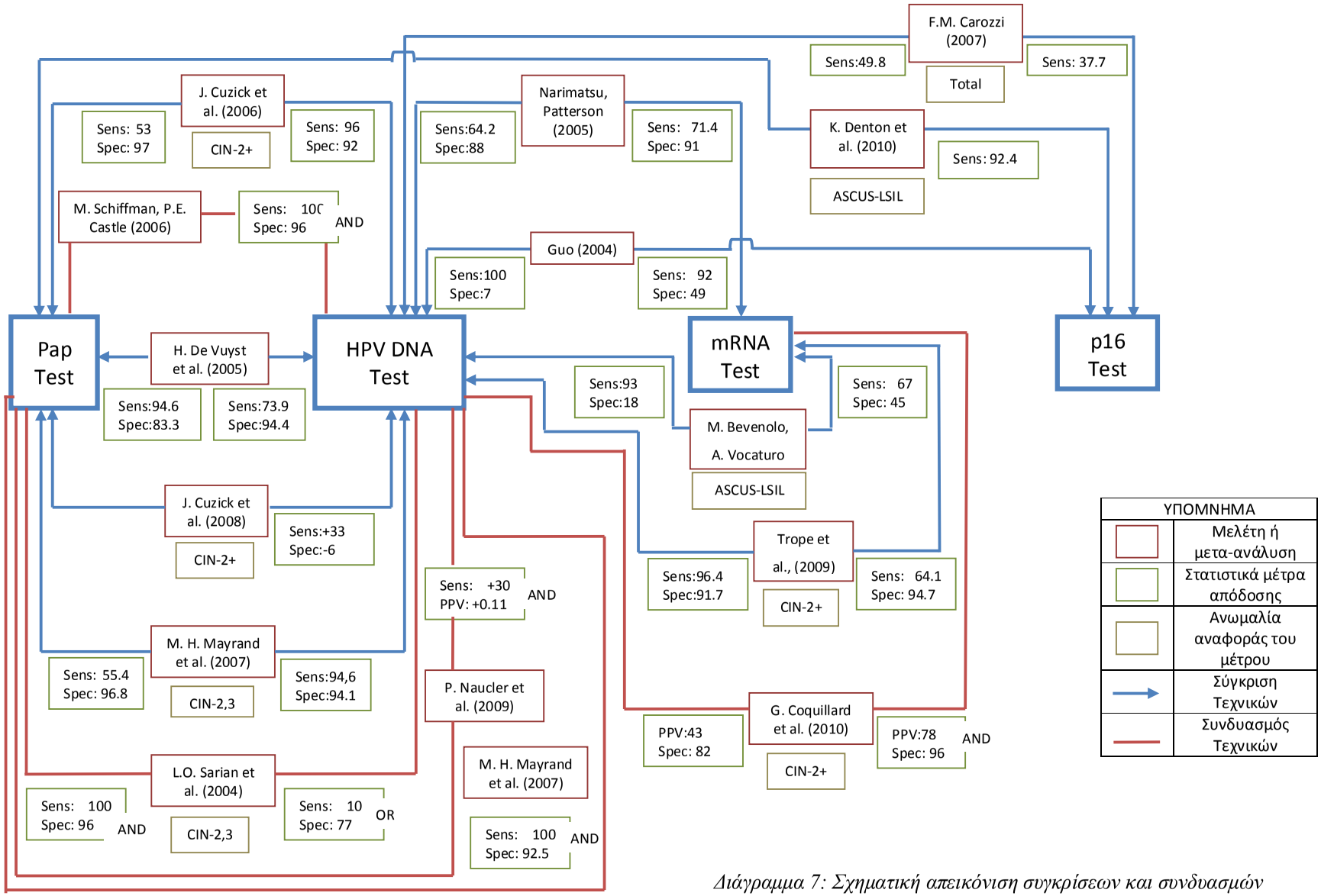
Μελέτη	*Test*	*Ευαισθησία (%)*	*Ειδικότητα (%)*	*Πρόσθετα στοιχεία διεξαγωγής κλινικής δοκιμής*
M. Schiffman, et al (2000)	Pap Test	77,7	94	Εντοπισμός HSIL και CA σε δείγμα 9000 γυναικών ηλικίας 18+ (Κόστα Ρίκα)
	HPV DNA Test	88,4	89	
T.C. Wright, L. Denny, L. Kuhn (2000)	Pap Test	60,7	-	Εντοπισμός LSIL or worse σε δείγμα 1400 γυναικών με ηλικίες από 35 έως 65 (Νότιος Αφρική)
	HPV DNA Test	83,9	-	Εντοπισμός HSIL και CA σε δείγμα 1400 γυναικών με ηλικίες από 35 έως 65 (Νότιος Αφρική)
J. Coste et.al (2003)	Pap Test CP	72	94	Δείγμα 1.757 γυναικών (828 παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση). Θεωρήθηκε αρνητικό ένα αποτέλεσμα μέχρι και CIN-2 και θετικό ένα αποτέλεσμα με CIN-3 ή με καρκίνωμα
	LBC	66	91	
S.L. Kulasingam et.al. (2002)	Pap Test	61,3	82,4	Εντοπισμός περιστατικών CIN3 και CA σε δείγμα 4.075 γυναικών (το Pap test θεωρήθηκε θετικό για περιπτώσεις ASCUS or worse)
	HPV DNA Test (PCR)	88,2	78,8	
	HPV DNA Test (HCII)	90,8	72,6	
H. De Vuyst et al. (2005)	Pap Test	83,3	94,6	Εντοπισμός περιστατικών CIN2 or higher σε δείγμα 653 γυναικών (Κένυα). Η ειδικότητα αφορούσε τον αποκλεισμό περιστατικών με οποιαδήποτε δυσπλασία CIN καθώς και καρκίνο. Το Pap test θεωρήθηκε θετικό για περιπτώσεις LSIL or worse.
	HPV DNA Test	94,4	73,9	

D.C. McCrory et al. (1999)	Pap test	87	100	Εντοπισμός κολποσκοπικά ή ιστολογικά επιβεβαιωμένων CIN-2 αλλοιώσεων
		52	96	Εντοπισμός κολποσκοπικά ή ιστολογικά επιβεβαιωμένων CIN-1 αλλοιώσεων
J. Cuzick et al. (2006)	Pap test	53	97	Επισκόπηση μελετών από Ηνωμένο Βασίλειο, Γερμανία, Γαλλία, Ολλανδία και Καναδά σχετικά με τον εντοπισμό περιστατικών αλλοιώσεων CIN2 or worse
	HPV DNA Test	96	92	
L.O. Sarian et al. (2004)	Pap test	80	97	Εντοπισμός αλλοιώσεων CIN2/3 σε δείγμα 107 γυναικών που υποβλήθηκε σε θεραπεία LEEP (κατά τη δεύτερη επίσκεψη). Το Pap test θεωρήθηκε θετικό για περιπτώσεις ASCUS or worse
	HPV DNA Test	80	83	
Narimatsu και Patterson (2005)	HPV DNA Test	64,2	88	Εντοπισμός HSIL και CA, με την εξέταση δείγματος 149 γυναικών, των οποίων οι κυτταρολογικές εξετάσεις έδειξαν 109 WNL, 21 ASCUS, 5 LSIL, 12 HSIL και 2 CA
	mRNA Test	71,4	91	
M. Schiffman, P.E. Castle (2006)	HPV DNA Test	89,5	87,5	Χρήση του HC II στα πλαίσια μαζικού πληθυσμιακού προσυμπτωματικού ελέγχου σχετικά με τον εντοπισμό CIN-2 βλαβών
		89	90,8	Χρήση του HC II στα πλαίσια μαζικού πληθυσμιακού προσυμπτωματικού ελέγχου σχετικά με τον εντοπισμό CIN-3 βλαβών
A. Trope et.al., (2009)	HPV DNA Test	96,4	91,7	Εντοπισμός αλλοιώσεων CIN2 or worse σε δείγμα 643 γυναικών (135 περιπτώσεις CIN2, 495 περιπτώσεις CIN3/ACIS και 13 περιπτώσεις καρκινώματος) καθώς και 736 γυναικών με
	mRNA Test	64,1	96,7	

				φυσιολογικά κυτταρολογικά αποτελέσματα. Η ευαισθησία υπολογίστηκε με βάση τις 643 γυναίκες οι οποίες είχαν ιστολογικά επιβεβαιωμένο CIN2+, ενώ η ειδικότητα με βάση τις 736 γυναίκες με φυσιολογικά ευρήματα.
Cuschieri, Wentzensen (2008)	mRNA Test	81	-	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό αλλοιώσεων CIN2 or worse
		98	-	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό CA
	p16 Test	54	-	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό CIN1
		86	-	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό CIN2
		96	-	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό CIN3
		96	-	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό CA
Meyer et al. (2007)	p16 test	81	62	Εντοπισμός αλλοιώσεων CIN2/3 σε πλήθος 163 δειγμάτων με μη φυσιολογικά κυτταρολογικά αποτελέσματα LSIL και διαθέσιμα ιστολογικά αποτελέσματα για το 45% των δειγμάτων έπειτα από περίοδο 6 μηνών
	HPV DNA Test	100	15	
R. Sankaranarayanan et al. (2004)	VILI	92	85	Εντοπισμός περιστατικών high-grade CIN σε πλήθος 49.000 γυναικών από πολυεθνικό κέντρο στην Ινδία και στην Αφρική
	VIA	77	86	
L.O. Sarian et al. (2005)	VILI	53	78	Εντοπισμός περιστατικών high-grade CIN σε πλήθος 3.000 γυναικών στη Λατινική Αμερική
J. Cuzick, P. Sasieni, P. Davies (1999)	HPV DNA Test	80-90	57-89	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό HSIL σε δείγμα γυναικών με εύρος ηλικιών 30-35

E. Paraskevaidis et al (2004)	HPV DNA Test	98,3	-	Επισκόπηση μελετών σχετικά με τον εντοπισμό HSIL σε δείγμα 179 γυναικών
J. Cuzick et al. (2008)	HPV DNA Test	93,1	62,3	Επισκόπηση μελετών όσον αφορά το triage των ASCUS για τον εντοπισμός CIN2+
		97,2	30,6	Επισκόπηση μελετών όσον αφορά το triage των LSIL για τον εντοπισμός CIN2+

Πίνακας 33: Συγκριτικός πίνακας επισκόπησης μελετών



Διάγραμμα 7: Σχηματική απεικόνιση συγκρίσεων και συνδυασμών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

4.1 Η αναγκαιότητα χρήσης συστημάτων βελτίωσης

Από τα παραπάνω στοιχεία που αφορούν στις αποδόσεις των διαφόρων τεχνικών απόδοσης, προέκυψε με μια πρώτη παρατήρηση, σημαντική διαφορετικότητα στις τιμές των στατιστικών μέτρων απόδοσης, τα οποία με τη σειρά τους παρουσίασαν εξάρτηση με το εξεταζόμενο κάθε φορά δείγμα. Η συνολική θεώρηση των αποτελεσμάτων της επισκόπησης των προαναφερόμενων μελετών οδήγησε στο συμπέρασμα πως στην παρούσα φάση δεν υπάρχει κάποια τεχνική ανίχνευσης ή κάποιος συγκεκριμένος συνδυασμός που να εξασφαλίζει το απόλυτο της αντιμετώπισης της νόσου, είτε πρόκειται για προληπτικό έλεγχο (screening), είτε για διαλογή των σοβαρών περιστατικών (triage), είτε για λήψη μιας ιατρικής απόφασης σχετικά με την αντιμετώπιση του εκάστοτε περιστατικού.

Επίσης, πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη το στοιχείο της εξασφάλισης ενός κατά το δυνατό χαμηλού κόστους, αφού ακόμα και αν μια τεχνική ανίχνευσης αποτελεί την αποτελεσματικότερη λύση από πλευράς ευαισθησίας και ειδικότητας, αυτό δε σημαίνει ταυτόχρονα ότι αποτελεί και τη βέλτιστη λύση, μιας και στην περίπτωση του μαζικού προληπτικού ελέγχου, θα οδηγούσε σε δυσβάσταχτα οικονομικά κόστη. Ακόμα όμως και στην περίπτωση της διαλογής των σοβαρών περιστατικών, η συνέχεια της «διαδρομής» με αφετηρία την ανίχνευση ύποπτων ευρημάτων, θα πρέπει να γίνει με την καλύτερη δυνατή επιλογή εκ των διαθέσιμων εναλλακτικών, ώστε να αποφευχθούν άστοχες κινήσεις που θα είναι επιβαρυντικές για την υγεία του ασθενούς αλλά και για το κόστος της διαδικασίας.

Είναι αναγκαία λοιπόν η ανάπτυξη υποστηρικτικών συστημάτων που θα βοηθήσουν στη συγκεκριμένη κατεύθυνση, βοηθώντας τους γιατρούς να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας του screening, του triage ή ακόμα και της απόφασης για εγχείρηση.

Στο συγκεκριμένο κεφάλαιο θα παρουσιαστούν τέτοιου είδους συστήματα, που έχουν ως στόχο, εκτιμώντας την κατάσταση ενός ασθενούς μέσα από αποτελέσματα τεχνικών ανίχνευσης και άλλων ιατρικών εξετάσεων να παρέχουν ουσιαστικές κλινικές συμβουλές, συνδράμοντας το ρόλο του ιατρού που καλείται να αντιμετωπίσει το εκάστοτε περιστατικό.

4.1.1 Τεχνικές ενίσχυσης του pap test

Στα πλαίσια αυτής λοιπόν της αναγκαιότητας η Αμερικανική Υπηρεσία Φαρμάκων και Τροφίμων έχει εγκρίνει κατά καιρούς διάφορες τεχνικές ενίσχυσης του pap test, όπως:

- AutoPap 300 QC Παπανικολάου (Screener-Αυτόματο Σύστημα): ένα πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα ελέγχου της ποιότητας του δείγματος, έτσι ώστε να μειωθεί ο αριθμός των ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.
- Papnet Testing System: ένα σύστημα υπολογιστή που επιλέγει τα 128 χειρότερα κύτταρα που λαμβάνονται από το τεστ Παπανικολάου, τα οποία στη συνέχεια εξετάζονται και αξιολογούνται από κυτταρολόγο.
- Σύστημα Pathfinder: ένας αυτοματοποιημένος υπολογιστής με βάση το μικροσκόπιο, που βοηθά κυτταρολόγους στον εντοπισμό, τη σήμανση και την καταγραφή ύποπτων κυττάρων στην εξέταση κατά Παπανικολάου.

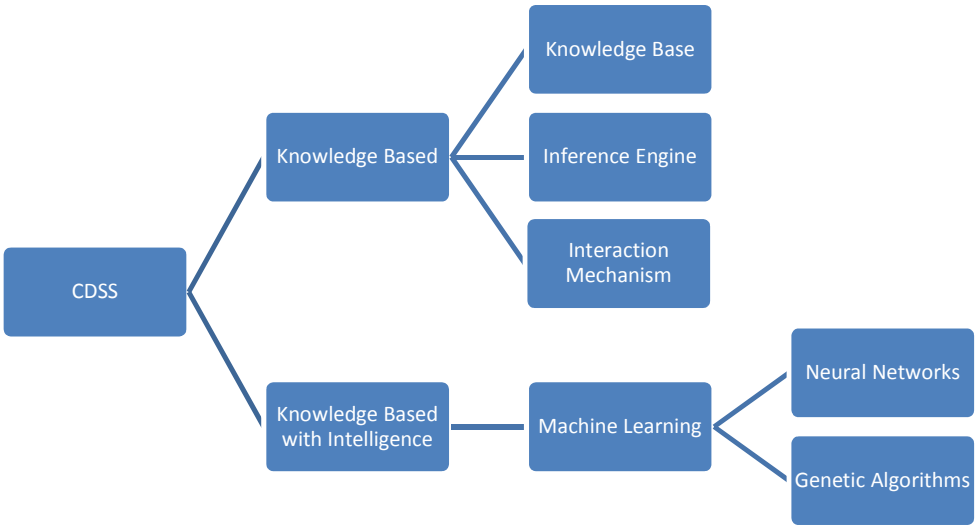
Πέρα όμως από αυτές τις τεχνικές, οι οποίες εφαρμόζονται στη συνηθέστερη μέθοδο προληπτικού ελέγχου (το pap test), η συμβολή της τεχνολογίας στη στήριξη της κλινικής απόφασης συνίσταται σε πολυπλοκότερα συστήματα, τα οποία λαμβάνουν υπόψη τους ένα πλήθος μεταβλητών, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η αποτελεσματικότερη υποστήριξη της κλινικής διαδικασίας, συστήματα τα οποία θα αναλυθούν στην επόμενη ενότητα.

4.2 Συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης

Πρόκειται για συστήματα τα οποία βασισμένα σε ένα λογισμικό, αλληλεπιδρούν με το χρήστη (ιατρό, επαγγελματία υγείας ή συνεργάτη του), προκειμένου να τον

υποστηρίξουν στη λήψη της εκάστοτε κλινικής απόφασης. Θεωρούμενα ως μέρος της τεχνητής νοημοσύνης, τα συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης (clinical decision support systems – CDSS) μπορούν να οριστούν ως «τα συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης που συνδέουν κλινικές εποπτικές παρατηρήσεις και ιατρική γνώση για να επηρεάσουν τις επιλογές των επαγγελματιών υγείας με σκοπό τη βελτίωση της ιατρικής φροντίδας».

Το βασικό χαρακτηριστικό των CDSS είναι ότι λειτουργούν συνεργατικά με το γιατρό και όχι αυτόνομα, καθώς και ότι η όποια υπόδειξή τους πρέπει να εκληφθεί ως κατευθυντήρια συμβουλή και να εκτιμηθεί ανάλογα. Η κατηγοριοποίηση των CDSS και τα βασικά μέρη κάθε κατηγορίας περιγράφονται στο ακόλουθο σχήμα:



Διάγραμμα 8: Κατηγορίες των CDSS και βασικά τους μέρη

Τα βασισμένα σε γνώση (Knowledge-Based) CDSS συμπεριλαμβάνουν τη βάση γνώσης (knowledge base), τη μηχανή συμπεράσματος (inference engine) και τον μηχανισμό επικοινωνίας-αλληλεπίδρασης (interaction mechanism) και η λειτουργία τους βασίζεται στην εισαγωγή μιας βάσης δεδομένων και στον μεταξύ τους συσχετισμό ώστε να εξαχθούν οι επιθυμητές υποδείξεις. Βασικό μέλος της συγκεκριμένης κατηγορίας αποτελούν τα Μπεϋζιανά δίκτυα (Bayesian Networks), τα οποία θα αναλυθούν στη συνέχεια.

Τα βασισμένα σε γνώση συστήματα CDSS με νοημοσύνη (Knowledge-Based with Intelligence) χρησιμοποιούν μεν τη βάση δεδομένων για την εκπαίδευσή τους, αλλά μετά από αυτή τη διαδικασία επιδεικνύουν ένα είδος νοημοσύνης χρησιμοποιώντας μια διαδικασία εκμάθησης μηχανής (machine learning), μαθαίνοντας ουσιαστικά πως θα κρίνουν νέα περιστατικά με βάση αντίστοιχα παλαιότερα. Διακρίνονται σε αυτά που χρησιμοποιούν τεχνητά νευρωνικά δίκτυα (artificial neural networks) και σε εκείνα που χρησιμοποιούν γενετικούς αλγορίθμους (genetic algorithms). Στην πρώτη περίπτωση χρησιμοποιούνται κόμβοι και συνδέσεις τους ώστε να βρεθούν οι κατάλληλοι συσχετισμοί και στη δεύτερη αλγόριθμοι επιλογής μιμούνται την εξελικτική διαδικασία. Η διαφορά των δύο κατηγοριών έγκειται στο ότι τα μη βασισμένα στη γνώση συστήματα χρησιμοποιούνται για περισσότερο στοχευμένη δράση [116].

Η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής τους αποτελεί ωστόσο ένα θεμελιώδες ζητούμενο, όπως άλλωστε κάθε νέο σύστημα του οποίου βασικό χαρακτηριστικό είναι η καινοτομία. Σε αυτά τα πλαίσια, έχουν γίνει διάφορες μελέτες κατά καιρούς, με τις σημαντικότερες ανασκοπήσεις τους να έχουν γίνει από τους Dr.Garg (2005 - 100 μελέτες διαφορετικών ασθενειών) και Kawamoto (2005 - 70 μελέτες), καταλήγοντας στα εξής συμπεράσματα:

- Το σύστημα θα πρέπει να χρειάζεται την ελάχιστη δυνατή προσπάθεια για την αλληλεπίδρασή του με το χρήστη
- Η πλήρης εκμετάλλευση των δυνατοτήτων του και επομένως η επίτευξη του μέγιστου ποσοστού βελτίωσης προϋποθέτει εξοικείωση με τέτοιου είδους συστήματα
- Συνολικά καταδείχθηκε βελτίωση της κλινικής πρακτικής, η οποία διέφερε κατά περίπτωση [117,118].

4.2.1 Εφαρμογές συστημάτων υποστήριξης κλινικής απόφασης στην περίπτωση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Η εφαρμογή των CDSS στην περίπτωση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παρουσιάζει τις εξής δυσκολίες:

- οι εκθέσεις του pap test που πρέπει να αξιοποιηθούν για την ενημέρωση του συστήματος δεν ακολουθούν μια συγκεκριμένη διατύπωση,
- δεν υπάρχει απόλυτη συμμόρφωση με τις οδηγίες και τις συστάσεις των οργανισμών υγείας.

4.2.1.1 Υποστήριξη κλινικής απόφασης προληπτικού ελέγχου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας μέσω συστήματος αυτοματοποιημένου κειμένου

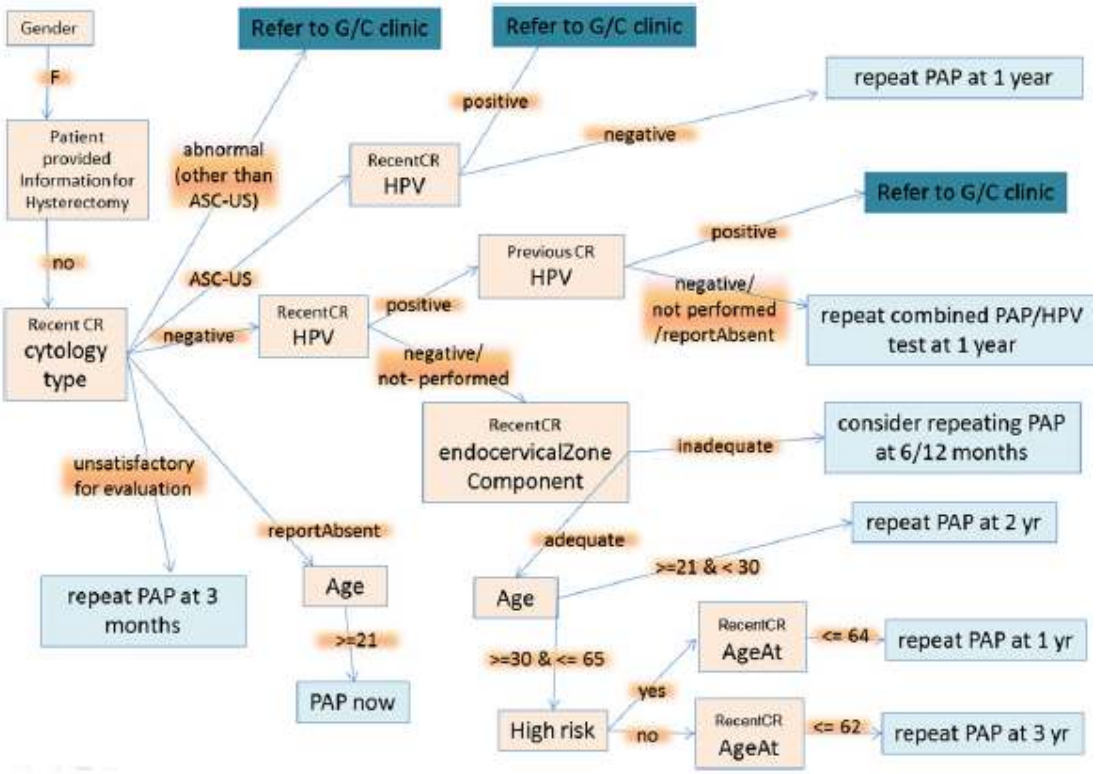
Στην περίπτωση του μοντέλου των K. Wagholikar et al., (2012), ο στόχος του συστήματος ήταν να καλύψει τα πεδία της διάγνωσης, της προληπτικής φροντίδας, της διαχείρισης της νόσου και της συνταγογράφησης, με τη χρήση του ηλεκτρονικού ιατρικού φακέλου (electronic medical record - EMR). Το πρόβλημα της μη συγκεκριμένης διατύπωσης των προς αξιοποίηση στοιχείων επιχειρήθηκε να επιλυθεί μέσω της χρήσης επεξεργασίας φυσικής γλώσσας (natural language Processing- NLP). Ανάλογη προσπάθεια έγινε από τους Dupuis et al., (2010) με την ανάπτυξη ενός λεκτικού αναλυτή, σχετικά με την ερμηνεία και καταχώρηση ελεύθερου κείμενου των αποτελεσμάτων pap tests [119].

Το συγκεκριμένο μοντέλο που άντλησε τα δεδομένα του από τη Mayo Clinic (Rochester), ανήκει στην κατηγορία των βασισμένων σε γνώση συστημάτων και περιλαμβάνει τη μονάδα δεδομένων (data module), η οποία διαχειρίζεται τις πληροφορίες του ηλεκτρονικού φακέλου, τον κατευθυντήριο μηχανισμό (guideline engine) για τη διατύπωση των κριτηρίων και τον επεξεργαστή ελεύθερου κειμένου (free-text processor) ο οποίος ερμηνεύει τα pap reports.

Ο συγκεκριμένος επεξεργαστής αναπτύχθηκε με την καταχώρηση 49.293 διαφορετικών pap tests και αποτελείται από δύο τμήματα, τον lexer, υπεύθυνο για τη μετατροπή των λέξεων σε σύμβολα και τον parser, υπεύθυνο για την επεξεργασία των

συμβόλων, την αντιστοίχισή τους με τη βάση δεδομένων και τη δημιουργία της εξόδου. Η αντιστοίχιση βασίστηκε στο σύστημα ταξινόμησης Bethesda (2001).

Όσον αφορά στον κατευθυντήριο μηχανισμό, βασίστηκε σε κανόνες του τύπου if – then σε συνεργασία με έμπειρους κλινικούς εξεταστές, έτσι ώστε να δομηθεί κατά το δυνατό άρτια η βάση των κανόνων του (rulebase). Το σύνολο αυτών των κανόνων και η μεταξύ τους αλληλεπίδραση παρουσιάζεται στο ακόλουθο διάγραμμα.



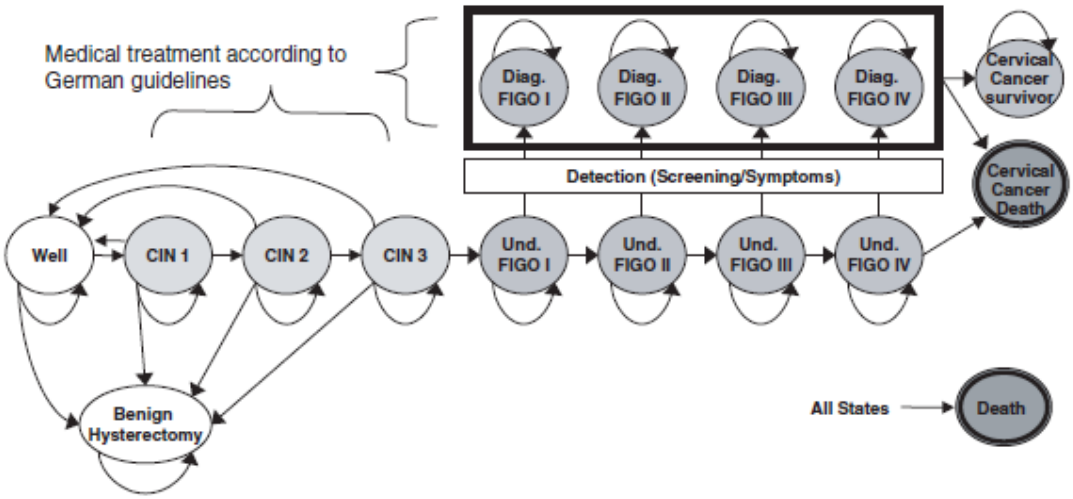
Διάγραμμα 9: Διάγραμμα ροής των κανόνων του μοντέλου αυτοματοποιημένου κειμένου των K. Wagholikar et al. (2012) [120]

Η αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου μοντέλου ήταν ιδιαίτερα ικανοποιητική αφού στις 66 από τις 74 περιπτώσεις, «έδωσε οδηγίες» ταυτόσημες με εκείνες του ιατρού, ενώ στις υπόλοιπες ακολούθησε τη βέλτιστη διαδρομή με μία μόνο εξαίρεση, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην έλλειψη στοιχείων [120].

4.2.1.2 Το Γερμανικό μοντέλο προληπτικού ελέγχου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας: Ανάπτυξη και αξιολόγηση ενός αναλυτικού μοντέλου λήψης αποφάσεων για τον προληπτικό έλεγχο καρκίνου του τραχήλου της μήτρας στη Γερμανία

Το συγκεκριμένο μοντέλο των U. Siebert et al., (2006), στηρίχθηκε στη μοντελοποίηση Markov και αφορά στη γερμανική περίθαλψη αφού τα δεδομένα σχεδιασμού του αντλήθηκαν από τη γερμανική βιβλιογραφία. Ο προγραμματισμός του έγινε με βάση τα στοιχεία του λογισμικού για την Επαγγελματική Υγεία (TreeAge Software Inc, Williamstown, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ) και όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με το SAS 8.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, ΗΠΑ), ενώ προφανώς ανήκει στην κατηγορία των βασισμένων σε γνώση συστημάτων.

Συγκεκριμένα, αναπτύχθηκε ένα μοντέλο 16 καταστάσεων, οι οποίες περιγράφουν διακριτά την πορεία της νόσου από τη στιγμή της εμφάνισής της μέχρι το θάνατο της ασθενούς και προσομοιώνουν τη ζωή της εξεταζόμενης κάθε φορά γυναίκας (με ηλικία έναρξης αυτή των 15 ετών), όπως παρουσιάζονται στο ακόλουθο διάγραμμα.



Διάγραμμα 10: Μοντέλο Markov για την παρακολούθηση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (E.Siebert et al.,2006) [121]

Αναλυτικότερα, οι περιγραφόμενες καταστάσεις είναι οι εξής: no cervical lesion (well), begin hysterectomy, mild cervical intraepithelial neoplasia (CIN 1), moderate cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2), severe cervical intraepithelial

neoplasia/carcinoma in situ (CIN 3), undiagnosed and diagnosed invasive cervical cancer Fe´de´ration Internationale de Gyne´cologie et d'Obste´trique (FIGO) stages I–IV, cervical cancer survivors 5 years after cervical cancer diagnosis and treatment, death from cervical cancer and death from other causes.

From	To	Age (years)	Annual probability
No lesion	CIN 1	15–55+	0.0017–0.0521
CIN 1	CIN 2	15–34	0.0173
		35+	0.0595
CIN 2	CIN 3		0.0567
CIN 1	No lesion	15–34	0.1027
		35+	0.0645
CIN 2	No lesion	15–34	0.1027
		35+	0.0645
CIN 3	No lesion	—	0.0567
CIN 3	FIGO I[a]	—	0.0410
FIGO I[a]	FIGO II[a]	—	0.2015
FIGO II[a]	FIGO III[a]	—	0.2592
FIGO III[a]	FIGO IV[a]	—	0.3624
Undiagnosed	Diagnosed[b]		
FIGO I	FIGO I	—	0.1098
FIGO II	FIGO II	—	0.2150
FIGO III	FIGO III	—	0.6120
FIGO IV	FIGO IV	—	0.9000

Πίνακας 34: Ετήσιες πιθανότητες μετάβασης από τη μια κατάσταση στην άλλη για την εφαρμογή του μοντέλου Markov των U. Siebert et al., (2006) [121]

Η μετάβαση από το ένα στάδιο στο άλλο γίνεται μέσω πιθανοτήτων, οι οποίες με τη σειρά τους προκύπτουν από τα βιβλιογραφικά δεδομένα [122,123,124], με τα περιστατικά που έχουν ταξινομηθεί κατά Bethesda να ανάγονται στην αντίστοιχη κατηγορία της CIN ταξινόμησης (όπως καταγράφονται στο διπλανό πίνακα). Ανάμεσα στα μεγέθη που προσδιορίζονται μέσω του συγκεκριμένου μοντέλου είναι το ποσοστό εντοπισθέντων περιστατικών καρκίνου της μήτρας, η θνησιμότητά του, το ποσοστό εμφάνισής του και το προσδόκιμο ζωής. Όσον αφορά στην αποτελεσματικότητα του μοντέλου, παρατηρήθηκε συμφωνία με τα μεγέθη που έχουν προκύψει από τη βιβλιογραφική επισκόπηση. Για παράδειγμα, το μοντέλο προέβλεψε πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου της μήτρας 3%, αναγνώρισε τη δυνατότητα του pap test να προλάβει περισσότερο από το 98% των περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και προέβλεψε επίσης ποσοστό θνησιμότητας λόγω καρκίνου της μήτρας 3,9/100.000 γυναίκες, αντίστοιχο με αυτό της βιβλιογραφίας (3,6/100.000). Ομοίως, η αποτελεσματικότητα του μοντέλου σε σχέση με την ηλικία μέγιστου κινδύνου εμφάνισης

νεοπλασιών (βρέθηκε στα 27 έτη) ενισχύεται από αντίστοιχα αποτελέσματα των βιβλιογραφικών αναφορών [125,126].

Αναλυτικότερα σχετικά με την αποδοτικότητα του pap test, συγκρίθηκαν οι εξής στρατηγικές προληπτικού ελέγχου: χωρίς pap test, διενέργεια pap test σε ετήσια βάση και επανάληψή του κάθε 2,3 και 5 χρόνια. Οι μεταβλητές εξόδου του μοντέλου ήταν η θνησιμότητα και η αύξηση του προσδόκιμου ζωής. Οι τιμές εξόδου παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα.

	No screening	Pap screening			
		1 year	2 years	3 years	5 years
Absolute cases per 100 000					
Cervical cancer cases	3032	38	180	310	699
Cervical cancer deaths	1004	4	23	53	128
Prevented cases per 100000[a]					
Cervical cancer cases	–	2994	2851	2676	2333
Cervical cancer deaths	–	1000	981	951	876
Life expectancy					
Absolute life years	65.80	66.06	66.06	66.05	66.02
Life days gained[a]	–	94.2	91.7	88.0	79.5

a: Versus no screening

Πίνακας 35: Απόδοση διαφορετικών στρατηγικών χρήσης του pap test στα πλαίσια του προληπτικού ελέγχου και της εφαρμογής του μοντέλου Markov των U. Siebert et al., (2006) [121]

Προκύπτει πως η αύξηση του διαστήματος ελέγχου είναι αντιστρόφως ανάλογη με την αποδοτικότητα του ελέγχου. Συγκριτικά με την απουσία ελέγχου, ο έλεγχος ανά 2,3 και 5 έτη οδηγεί στη μείωση των περιστατικών εκδήλωσης καρκίνου της μήτρας κατά 94.0%, 88.3% και 76.9% αντίστοιχα, ενώ στη μείωση των θανάτων από τη συγκεκριμένη αιτία κατά 97.7%, 94.8% και 87.3% αντίστοιχα. Στην περίπτωση της αύξησης του προσδόκιμου ζωής, στην περίπτωση του ετήσιου ελέγχου επιτυγχάνεται αύξηση κατά 94 μέρες, ενώ για έλεγχο κάθε 2, 3 ή 5 years, το αντίστοιχο διάστημα είναι 92, 88 και 80 μέρες αντίστοιχα.

Στις αδυναμίες του μοντέλου συμπεριλαμβάνονται η εξάρτησή του από τη χρονική περίοδο στην οποία αναφέρεται καθώς και οι αναγκαίες παραδοχές που πρέπει να γίνουν προκειμένου να εκφραστούν οι ανά κατάσταση πιθανότητες [121].

4.2.1.3 Προμελέτη του δυναμικού των δέντρων ταξινόμησης για τη διαλογή περιστατικών HSIL

Τα δέντρα ταξινόμησης (αποφάσεων) ανήκουν στην κατηγορία των βασισμένων σε γνώση CDSS με νοημοσύνη και βασικό τους χαρακτηριστικό είναι η απλότητα της δομής και της κατανόησής τους. Η χρήση των δέντρων ταξινόμησης στην ανάπτυξη CDSS για την περίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας έχει γίνει ήδη από το 1978 [127].

Το δέντρο ταξινόμησης που αναπτύχθηκε από τους P. Karakitsos et al. (2011), προσπάθησε να δώσει λύση στο πρόβλημα της διαλογής. Στην περίπτωση των περιστατικών LSIL με αποτέλεσμα CIN-2 θετικό, το ζήτημα της διαλογής αντιμετωπίζεται είτε με επαναλαμβανόμενες κυτταρολογικές εξετάσεις με την ύπαρξη κινδύνου εμφάνισης καρκίνου στα μεσοδιαστήματα, είτε με κολποσκοπία με το ενδεχόμενο αυξημένου κόστους και φόρτου εξυπηρέτησης των ασθενών. Στην περίπτωση των HSIL πραγματοποιείται μέσω του HPV DNA test, με αποτέλεσμα εκ νέου υψηλό κόστος. Σε κάθε περίπτωση επομένως, «χωρά» η λύση μιας εναλλακτικής που θα απαλλάσσει τη διαδικασία από τα συγκεκριμένα μειονεκτήματα.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, επιχειρήθηκε η ανάπτυξη δέντρου ταξινόμησης για τη διαλογή περιστατικών HSIL. Η ταξινόμηση αφορά δύο διαφορετικές ομάδες αποτελεσμάτων. Στην Ομάδα 1 ανήκουν περιστατικά με αρνητική κλινική και ιστολογική εξέταση καθώς και περιστατικά CIN1, ενώ στην Ομάδα 2 ανήκουν περιστατικά αδενοκαρκινωμάτων (ADENO-CA), καρκινωμάτων πλακωδών επιθηλιακών κυττάρων (SCC), καθώς και περιστατικά CIN2,3. Η βάση των προς ανάλυση δεδομένων περιελάμβανε 808 ιστολογικά επιβεβαιωμένα περιστατικά, για τα οποία μάλιστα είχε πραγματοποιηθεί μια σειρά από tests (HPV DNA, E6/E7 mRNA και p16). Η σύνθεση των δειγμάτων όσον αφορά στα κυτταρολογικά και ιστολογικά ευρήματα περιγράφεται στον ακόλουθο πίνακα.

Bethesda value	Histologic examination result									
	ADENO-CA	SCC	CA	CIN 3	CIN 2	CIN 1	HPV	Negative	Clinically negative	Total
ADENO-CA	6	1	0	0	0	0	0	0	0	7
SCC	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4
HSIL	0	3	1	38	29	14	2	5	0	92
ASC-H	0	0	0	0	0	0	2	1	0	3
LSIL	1	0	0	7	18	50	54	21	0	151
ASCUS	1	0	0	2	7	23	27	15	0	75
WNL	0	0	0	1	2	28	12	34	399	476
Total	8	8	1	48	56	115	97	76	399	808

WNL = within normal limits.

Πίνακας 36: Σύνθεση συνόλου δειγμάτων μελέτης ανάπτυξης δέντρου ταξινόμησης των P. Karakitsos et al. (2011) [128]

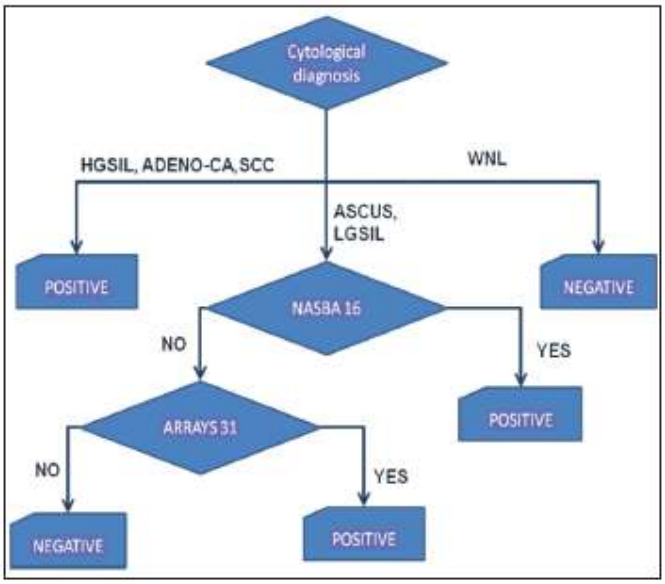
Η ταξινόμηση πραγματοποιήθηκε μέσω κανόνων του τύπου «αν η μεταβλητή X_1 έχει τιμή μικρότερη από A και η μεταβλητή X_2 έχει τιμή εντός του διαστήματος [C,D], τότε το δείγμα ταξινομείται ως καλοήθες με πιθανότητα ρ», ενώ συνεχίστηκε μέχρι ο διαχωρισμός σε μικρότερες υπομονάδες να μη μπορεί να προχωρήσει άλλο, δημιουργώντας έτσι τους τερματικούς κόμβους του δέντρου. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν για τη δόμηση των κανόνων παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

Variable name	Variable description	Variable value range
Bethesda	The result of the cytologic examination expressed according to Bethesda system	SCC, ADENO-CA, ASC-H, HSIL, ASCUS, LSIL, HPV, WNL
Arrays	The result of the HPV DNA test	0 if there is no subtype 1 if even a single subtype is found
A6, A11, A16, A18, A26, A31, A33, A35, A39, A40, A42, A43, A44, A45, A51, A52, A53, A54, A56, A58, A59, A61, A62, A66, A68, A70, A71, A72, A73, A81, A82, A83, A84, A85, A89	The existence of individual subtypes according to the arrays examination	0 if the specific subtype is not found 1 if the specific subtype is found
Arrays-N	The number of HPV subtypes found by the HPV DNA test	Expressed as number
Arrays-HR-VHR	The number of high-risk and very high-risk subtypes found by the HPV DNA test	Expressed as number
N16	The result of the E6/E7 mRNA test for HPV subtype 16	0 if negative/1 if positive
N18	The result of the E6/E7 mRNA test for HPV subtype 18	0 if negative/1 if positive
N31	The result of the E6/E7 mRNA test for HPV subtype 31	0 if negative/1 if positive
N33	The result of the E6/E7 mRNA test for HPV subtype 33	0 if negative/1 if positive
Flow	The result of the identification of E6/E7 mRNA expression of high-risk HPV using flow cytometry technique	0 if negative (positive expression <1.5%)/1 if positive (positive expression >1.5%)
p16	The result of the p16 immunocytochemical examination	0 if negative/1 if positive
Histology	The outcome of the histologic examination	Positive or negative

WNL = within normal limits.

Πίνακας 37: Μεταβλητές σύνθεσης κανόνων για την ανάπτυξη δέντρου ταξινόμησης των P. Karakitsos et al. (2011) [128]

Παρά το γεγονός ότι οι μεταβλητές εισήχθησαν στο σύνολό τους, το δέντρο ταξινόμησης κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης σταθεροποιήθηκε και έλαβε υπόψη του μόνο ένα μέρος αυτών, όπως φαίνεται στην ακόλουθη αρχιτεκτονική δομή του μοντέλου, με τις μεταβλητές που δεν έχουν συμπεριληφθεί στην ακόλουθη δομή να έχουν απορριφθεί.



Διάγραμμα 11: Αρχιτεκτονική δέντρου ταξινόμησης του μοντέλου των P. Karakitsos et al. (2011) [128]

Η αρχική βάση δεδομένων, όπως παρουσιάστηκε στον προηγούμενο πίνακα, διαχωρίστηκε σε δύο σετ δεδομένων, αυτό της εκπαίδευσης και αυτό της εφαρμογής του μοντέλου, με την επιλογή του 50% των περιστατικών κάθε κατηγορίας να γίνεται μέσω τυχαίας δειγματοληψίας. Για την υλοποίηση του δέντρου χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Statistical Package for Social Sciences και η μέθοδος ανάπτυξης CHAID (με χρήση των περισσότερων από 10 περιστατικών για τους κόμβους γονέα και 3 περιστατικών για τους κόμβους τέκνων).

Η απόδοση του μοντέλου έγινε με χρήση στατιστικών μέτρων απόδοσης όπως η ευαισθησία, η ειδικότητα, η θετική και αρνητική προγνωστική αξία, η αναλογία ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων και η συνολική ακρίβεια, με τα αποτελέσματα να καταγράφονται στους ακόλουθους πίνακες.

Results of the Classification Tree for the Training Set

	Predicted		
	Group 1	**Group 2**	**Total**
Observed			
Group 1	317	21	338
Group 2	9	53	62
Total	326	74	400
Characteristic			**Percentage**
Sensitivity			85.48
Specificity			93.79
PPV			71.62
NPV			97.24
FPR			6.21
FNR			14.52
OA			92.50

FNR = false negative rate, FPR = false positive rate, NPV = negative predictive value, OA = overall accuracy, PPV = positive predictive value.

Results of the Classification Tree for the Test Set

	Predicted		
	Group 1	**Group 2**	**Total**
Observed			
Group 1	319	30	349
Group 2	9	50	59
Total	328	80	408
Characteristic			**Percentage**
Sensitivity			84.75
Specificity			91.40
PPV			62.50
NPV			97.26
FPR			8.60
FNR			15.25
OA			90.44

FNR = false negative rate, FPR = false positive rate, NPV = negative predictive value, OA = overall accuracy, PPV = positive predictive value.

Πίνακας 38: Αποτελέσματα εφαρμογής δέντρου ταξινόμησης στην περίπτωση της εκπαίδευσης και της δοκιμής του P. Karakitsos et al. (2011) [128]

Συμπερασματικά, η αποτελεσματικότητα του μοντέλου κινήθηκε σε ικανοποιητικά επίπεδα, αφού η σωστή ταξινόμηση των θετικών αποτελεσμάτων έγινε αθροιστικά σε ποσοστό 66,9% και των αρνητικών σε ποσοστό 97,3%, με τη συνολική ακρίβεια να ανέρχεται στο 91,5% [128].

4.2.1.4 Σταδιοποίηση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας με τη χρήση γενετικών αλγορίθμων

Αρχικά θα πρέπει να γίνει μια εισαγωγή στην έννοια των γενετικών αλγορίθμων. Πρόκειται για μια ξεχωριστή κατηγορία των εξελικτικών αλγορίθμων, οι οποίοι βασίζονται στη μίμηση της εξελικτικής διαδικασίας. Μπορούν να υλοποιηθούν σε μια υπολογιστική προσομοίωση, στην οποία ένας πληθυσμός από αφαιρετικές αναπαραστάσεις υποψήφιων λύσεων για ένα πρόβλημα βελτιστοποίησης, (οι οποίες ονομάζονται χρωμοσώματα), εξελίσσεται σε καλύτερες λύσεις. Η εξέλιξη ξεκινά συνήθως από έναν πληθυσμό με τυχαία άτομα και συμβαίνει σε γενιές. Σε κάθε γενιά, η καταλληλότητα του κάθε ατόμου του πληθυσμού αξιολογείται. Πολλαπλά άτομα επιλέγονται στοχαστικά από το σημερινό πληθυσμό (με βάση την καταλληλότητά τους), και τροποποιούνται για να σχηματίσουν ένα νέο πληθυσμό. Ο νέος πληθυσμός χρησιμοποιείται στην επόμενη επανάληψη του

αλγορίθμου. Συνήθως, ο αλγόριθμος τερματίζεται όταν είτε ένας μέγιστος αριθμός γενεών έχει παραχθεί, ή ένα ικανοποιητικό επίπεδο καταλληλότητας έχει επιτευχθεί για τον πληθυσμό. Ένας τυπικός γενετικός αλγόριθμος απαιτεί μια γενετική αναπαράσταση του συνόλου των λύσεων (συνήθως πίνακας bits) και μια συνάρτηση καταλληλότητας για την αξιολόγηση της ποιότητας των λύσεων [129].

Οι γενετικοί αλγόριθμοι μπορούν να βρουν εφαρμογή στο πεδίο της λήψης αποφάσεων, σε συνδυασμό με τη χρήση νευρωνικών δικτύων, στο ευρύτερο πλαίσιο χρήσης μεθοδολογιών επεξεργασίας πληροφορίας σε πραγματικές καταστάσεις (soft computing) [130]. Ειδικότερα στα πλαίσια της ογκολογίας, η λήψη αποφάσεων δε σχετίζεται μόνο με το ζήτημα της σωστής διάγνωσης, αλλά ακόμα και με ζητήματα όπως το κοινωνικό και οικονομικό υπόβαθρο του ασθενούς, η ικανότητά του να ακολουθήσει πιστά ένα χρονοβόρο πρόγραμμα παρακολούθησης και θεραπείας κτλ. Εντοπίζεται επίσης σε διάφορα πεδία της πορείας της ασθένειας όπως είναι η σταδιοποίηση.

Η σταδιοποίηση (staging) είναι ιδιαίτερα σημαντική διαδικασία για την επιλογή της κατάλληλης κάθε φορά αντιμετώπισης της ασθένειας και του βέλτιστου θεραπευτικού σχήματος, αφού μέσω αυτής της διαδικασίας μπορεί να προσδιοριστεί ποια είναι ακριβώς η κατάσταση του ασθενούς (διαστάσεις της νεοπλασίας, όργανα που έχει προσβάλει κτλ.) [131].

Σε αυτά τα πλαίσια το μοντέλο των P. Mitra et al. (2000), για το γενετικό αλγόριθμο και την αναπαράσταση των χρωμοσωμάτων χρησιμοποιήθηκε μια δυαδική λέξη των 17 bits (με το πρώτο να υποδεικνύει την ύπαρξη συνδέσμου), ενώ η τροποποίηση του αρχικού πληθυσμού για το σχηματισμό νέου έγινε μέσω τελεστών διασταύρωσης (το ένα bit παίρνει τη θέση του άλλου μέχρι τη θέση που έχει οριστεί) και της μετάλλαξης (αλλαγή ενός bit ενός χρωμοσώματος). Ως συνάρτηση επιλογής χρησιμοποιήθηκε η $F= a_1 f_1+ a_2 f_2$, όπου a_1, a_2 τα συνδετικά βάρη, f_1 το πηλίκο των σωστά κατηγοριοποιημένων δειγμάτων προς το σύνολο των δειγμάτων και f_2 = 1 - (αριθμός υπαρχουσών συνάψεων / αριθμός δυνατών συνάψεων). Ως μηχανισμός επιλογής των ατόμων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του τροχού της ρουλέτας (roulette wheel), με την πιθανότητα επιλογής ενός ατόμου από τον πληθυσμό των πιθανών λύσεων να ισούται με το πηλίκο της καταλληλότητας του δια το άθροισμα όλων των τιμών καταλληλότητας των ατόμων που υπάρχουν στον πληθυσμό.

Η βάση δεδομένων της εφαρμογής περιελάμβανε 221 περιστατικά ασθενών με καρκίνο τραχήλου της μήτρας, η κατηγοριοποίηση των οποίων έγινε κατά FIGO. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης 21 λεκτικές μεταβλητές, με τις κατηγορίες της ασθένειας να

δίνονται από αντίστοιχα λεκτικά σύνολα, δημιουργώντας έτσι τους σχετικούς λεκτικούς κανόνες με δύο τρόπους, αυτόν της μη επεξεργασμένης πληροφορίας (rough set) και αυτόν του αλγορίθμου ID3 [131].

Για το συγκεκριμένο αλγόριθμο ορίζεται το μέγεθος της εντροπίας (η φυσική της έννοια αναφέρεται στη χρησιμότητα της πληροφορίας) από τον τύπο $-p\log_2 p$ με το p να είναι η πιθανότητα επιλογής, έτσι όπως προκύπτει από το μηχανισμό επιλογής. Οι N εξεταζόμενες περιπτώσεις υποδιαιρούνται σε κατηγορίες (classes) c_i, i=1,…,l. Ο πληθυσμός κάθε κλάσης c_i είναι n_i. Κάθε περίπτωση έχει n χαρακτηριστικά και κάθε χαρακτηριστικό έχει J τιμές. Τα βήματα υλοποίησης του αλγορίθμου έχουν ως εξής:

- Υπολογίζεται η αρχική τιμή της εντροπίας $I = \sum_{i=1}^{l} -p_i log_2 p_2$,
- Επιλέγεται εκείνο το χαρακτηριστικό που έχει ως συνέπεια τη μεγαλύτερη μείωση της εντροπίας και γίνεται ο νέος κόμβος του δέντρου λήψης αποφάσεων,
- Με βάση το νέο κόμβο, δομείται το νέο επίπεδο του δέντρου λήψης αποφάσεων,
- Τα παραπάνω βήματα επαναλαμβάνονται μέχρι να μηδενιστεί το μέγεθος της εντροπίας [132].

Η αποδοτικότητα των δύο κατηγοριοποιήσεων κρίθηκε μέσω σύγκρισης με ένα μοντέλο αναφοράς το οποίο δομήθηκε μέσω ενός MLP (Multi Layer Perceptron) με αλγόριθμο error backpropagation (οπισθοδιάδοσης λάθους). Ο συγκεκριμένος αλγόριθμος ελαχιστοποιεί το λάθος μέσω του αθροίσματος των επιμέρους σφαλμάτων των νευρώνων εξόδου.

Stage	Model O		Model S with knowledge encoding via			
			Rough set theory		ID3 algorithm	
	Train	Test	Train	Test	Train	Test
I(%)	65.00	64.70	65.00	64.70	90.00	89.71
II(%)	69.05	67.73	69.05	68.13	73.81	72.04
III(%)	93.66	93.01	94.13	90.02	90.14	90.02
IV(%)	42.11	40.09	44.21	41.87	42.11	40.19
Net(%)	80.97	79.23	81.02	79.52	82.74	80.02
# links	175		118		82	
Cycles	90		50		50	

Πίνακας 39: Σύγκριση αποτελεσματικότητας κατηγοριοποιήσεων μεταξύ διαφορετικών μοντέλων γενετικών αλγορίθμων [131]

Από τον πίνακα προκύπτει πως το πρόγραμμα έδωσε στην κατηγοριοποίηση ποσοστά της τάξης του 80% με εύρος επαναλήψεων 50, ενώ το μοντέλο αναφοράς χρειάστηκε 90 επαναλήψεις και πολύ περισσότερες συνάψεις για να επιτύχει τα ίδια ποσοστά, τόσο στα πραγματικά δεδομένα όσο και σε αυτά της εκπαίδευσης.

4.2.1.5 Εφαρμογή Δυναμικών Δικτύων Bayesian για τον προληπτικό έλεγχο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Τα δυναμικά δίκτυα Bayesian (Dynamic Bayesian Networks) προσφέρουν ένα πλαίσιο για τη μοντελοποίηση χρονικών σχέσεων και χρησιμοποιούνται συχνά ως προγνωστικά εργαλεία.

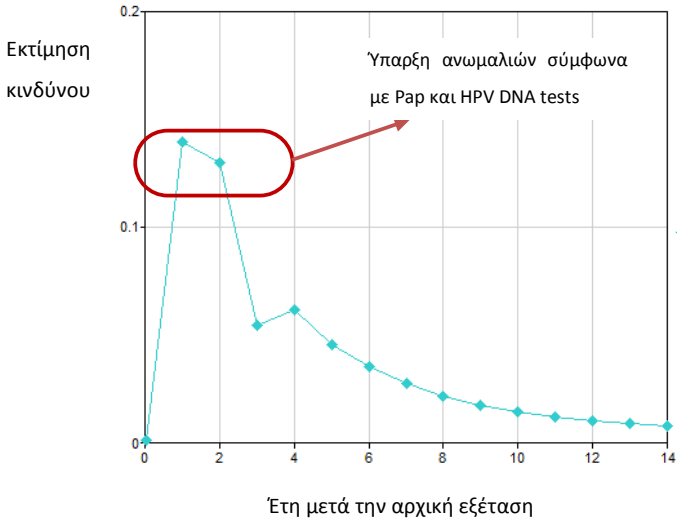
Το μοντέλο προληπτικού ελέγχου Pccsm (Pittsburgh Cervical Cancer Screening Model), που αναπτύχθηκε από τους A. Onissko et al., έχει ως βασικό χαρακτηριστικό το συνδυασμό δύο διαφορετικών πηγών, αυτή των εμπειρογνωμόνων και αυτή των νοσοκομείων, με την προς ανάλυση συνάρτηση να είναι η παρακολούθηση με την πάροδο του χρόνου και να βρεθεί έτσι ποια είναι η βέλτιστη κάθε φορά χρονική στιγμή ελέγχου. Περιλαμβάνει 19 μεταβλητές, ανάμεσα στις οποίες περιγράφονται κυτταρολογικά δεδομένα, αποτελέσματα τεχνικών ανίχνευσης, παραμέτρους του ιστορικού του ασθενούς αλλά και δημογραφικά δεδομένα, όπως ηλικία και γένος. Η παραμετροποίηση του μοντέλου έγινε μέσω δεδομένων που συλλέχθηκαν από φακέλους ασθενών με αποτελέσματα pap test από το Magee-Womens Hospital. Εξαιτίας του γεγονότος ότι 98% των περιστατικών της βάσης δεδομένων είχαν μόνο μια φορά μόλυνση, έγινε η σχετική υπόθεση για το σύνολο του μοντέλου.

Από το αρχικό πλήθος της βάσης δεδομένων (393.531 ασθενείς), το 10% των κυτταρολογικών περιπτώσεων είχε ακολουθήσει ιστοπαθολογική και εγχειρητική διαδικασία ενώ για το 19% των περιπτώσεων είχε πραγματοποιηθεί και HPV DNA test. Η ανάλυση έγινε για δείγμα 45930 ασθενών με περίοδο εξέτασης το διάστημα 04-10/08. Η ηλικία των εξεταζομένων ήταν από 12 έως 95 ετών, παρουσιάζοντας μέσο όρο τα 42,17 έτη και διασπορά 15.71.

Οι μεταβλητές του συστήματος είναι η μεταβλητή Adequacy που εκφράζει την επάρκεια του pap test και λαμβάνει τις τιμές Satisfactory, Satisfactory EC, Satisfactory No EC TZ και Unsatisfactory, η μεταβλητή Pap test type που εκφράζει τον τύπο του pap test

λαμβάνει τις τιμές Conventional Pap, Liquid-based Pap (TP) και Liquid-based Pap (TP) imaged καθώς και οι μεταβλητές Age, Hpv test και Cervix που εκφράζουν αντίστοιχα την ηλικιακή ομάδα, το αποτέλεσμα του Hpv test εφόσον έγινε και το είδος της νεοπλασίας. Τόξα που συνδέουν τις παραπάνω μεταβλητές χαρακτηρίζονται από αντίστοιχες τιμές, οι οποίες υποδεικνύουν τη χρονική μεταβολή από την κατάσταση στην αρχή του τόξου προς την κατάσταση του τέλους του. Έτσι, για παράδειγμα η τιμή 1 μεταξύ των μεταβλητών Hpv test και Cervix υποδηλώνει ότι για αυτή τη μετάβαση απαιτείται ένα χρονικό βήμα (για την εφαρμογή επιλέχθηκε ως βήμα το ένα έτος).

Ένα ισχυρό σημείο του συγκεκριμένου μοντέλου είναι ότι δεν επηρεάζεται από την έλλειψη στοιχείων σε μια χρονική σειρά, αφού είναι δυνατή η δυναμική προσθήκη καταστάσεων, στη θέση των ελλείψεων. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα της εξόδου του μοντέλου παρουσιάζεται στο ακόλουθο διάγραμμα, το οποίο ποσοτικοποιεί τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Η αιτία των υψηλών τιμών για τις περιπτώσεις t=1,2, ήταν η ύπαρξη ανωμαλιών σύμφωνα με τα αποτελέσματα των pap και HPV DNA tests [133].



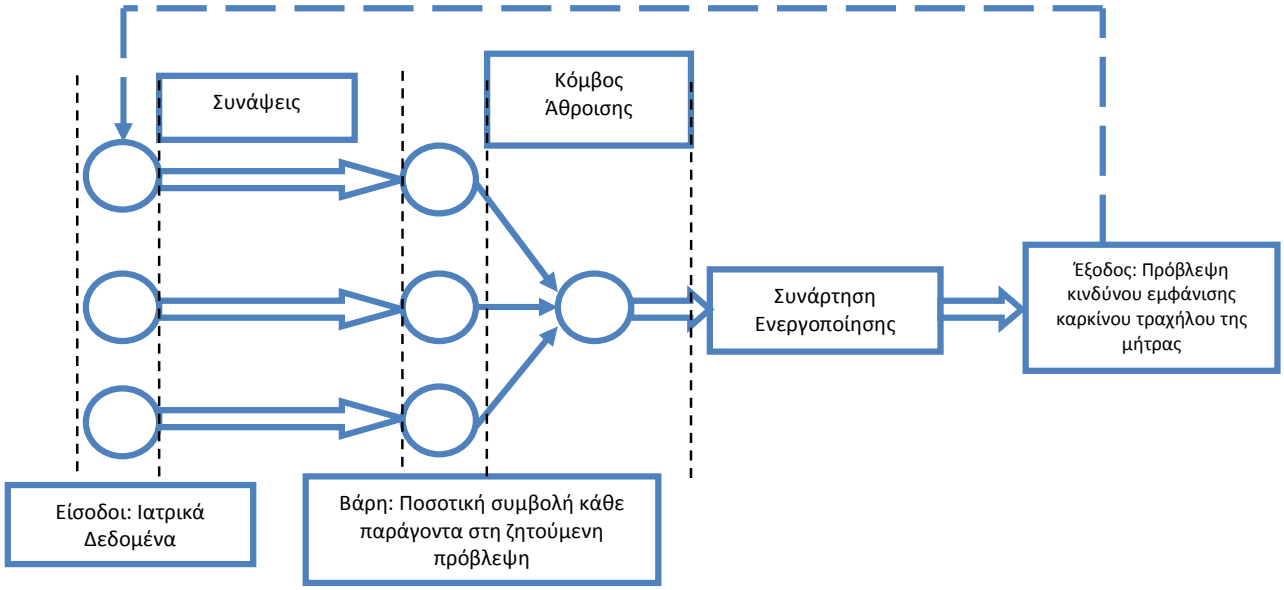
Διάγραμμα 12: Παράδειγμα εφαρμογής μοντέλου Pccsm [133]

4.2.1.6 Εφαρμογή Τεχνητών Νευρωνικών Δικτύων στο γυναικολογικό καρκίνο

Τα νευρωνικά δίκτυα είναι συστήματα επεξεργασίας της πληροφορίας, τα οποία βασίζονται στη λειτουργία του ανθρώπινου εγκεφάλου. Πρόκειται ουσιαστικά για μαθηματικά μοντέλα της ανθρώπινης εκμάθησης και τα διέπουν οι αρχές των βιολογικών

νευρωνικών δικτύων. Η συνολική διαδικασία λειτουργίας τους μπορεί να συνοψιστεί ως εξής: Η πληροφορία επεξεργάζεται στους νευρώνες, οι οποίοι στέλνουν ανάλογα με το αποτέλεσμα της επεξεργασίας, σήματα μέσω συνάψεων (κλάδων διασύνδεσης των νευρώνων και με βάση τα βάρη που έχουν αντιστοιχισθεί στις συγκεκριμένες συνάψεις. Το άθροισμα όλων αυτών των σημάτων εισάγεται στη συνάρτηση ενεργοποίησης του δικτύου, η έξοδος της οποίας αποτελεί και την έξοδο του δικτύου, όπως φαίνεται στο ακόλουθο διάγραμμα.

Το ζητούμενο είναι η εκπαίδευση του δικτύου, δηλαδή η τροποποίηση των παραμέτρων-βαρών του, έτσι ώστε χρησιμοποιώντας ένα σύνολο δεδομένων να πλησιάζεται σταδιακά η επιθυμητή συμπεριφορά [134].



Διάγραμμα 13: Τυπικό μοντέλο τεχνητού νευρώνα για ένα σύστημα πρόβλεψης κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας

Στην περίπτωση της εφαρμογής των νευρωνικών δικτύων για την ανάπτυξη ενός συστήματος CDSS, η εκπαίδευση του δικτύου γίνεται με βάση στοιχεία προηγούμενων περιστατικών. Η χρησιμότητά τους έγκειται στους τομείς της πρόβλεψης, της διάγνωσης αλλά και του follow up [135].

Ο αλγόριθμός τους βασίζεται στην κυκλική επεξεργασία των δειγμάτων εκπαίδευσης. Έπειτα από την εισαγωγή ενός μεγάλου αριθμού περιστατικών, το ζητούμενο

είναι να ελαχιστοποιηθεί το λάθος του συστήματος, παρουσιάζοντας μάλιστα τη δυνατότητα να προβλέψει την εξέλιξη περιπτώσεων που δεν έχουν εμφανιστεί στο παρελθόν, με την ευελιξία τους να βασίζεται σε ποιοτικές και ποσοτικές διαφορές [136]. Ανάμεσα στα πλεονεκτήματά τους συμπεριλαμβάνονται η απαίτηση λιγότερο τυπικής στατιστικής εκπαίδευσης, η χρήση μεταβλητών η επίδραση των οποίων δεν είναι γνωστή με ακρίβεια, η διαθεσιμότητα ποικίλων αλγορίθμων εκπαίδευσης καθώς και η δυνατότητα ανίχνευσης μη γραμμικών σχέσεων. Στα μειονεκτήματά τους συμπεριλαμβάνονται η εμπειρική φύση της ανάπτυξής τους, η αστάθειά τους όσον αφορά στη λειτουργία της πρόβλεψης αφού μικρή μεταβολή των δεδομένων εισόδου μπορεί να επηρεάσει την έξοδο του συστήματος, η μειωμένη αντίληψη της λειτουργίας των «κρυμμένων» επίπεδων (hidden layers) αλλά και η απαίτηση γνώσεων υπολογιστικών τεχνικών [137,138].

Η αποτελεσματικότητα της εφαρμογής των νευρωνικών δικτύων για την περίπτωση ιατρικών δεδομένων εμφάνισης και πρόβλεψης καρκίνου διαφόρων μορφών, έχει επισημανθεί από τους A. Smolen et al. (2006), με την επίτευξη υψηλότερης ευαισθησίας και ειδικότητας εφόσον συνδυαστούν με μεμονωμένες τεχνικές ανίχνευσης [139].

Η χρήση τεχνητού νευρωνικού δικτύου που εκπαιδεύτηκε με βάση παραμέτρων που είχαν εξαχθεί από βάσεις δεδομένων εικόνων (I. Claude, 2002), οδήγησε στην επιτυχή κατηγοριοποίηση της πλειονότητας των κολποσκοπικών αποτελεσμάτων, σύμφωνα με τις δεδομένες παραμέτρους [140]. Στην περίπτωση των CIN, η τεχνική αναγνώρισης μοτίβων (pattern recognition) μπορεί να βοηθήσει την κυτταρολογική και την κολποσκοπική διάγνωση, αλλά και ειδικότερα στην περίπτωση πολύπλοκων περιστατικών [135]. Στη συγκεκριμένη βέβαια περίπτωση πρόκειται για ανάλυση εικόνων κολποσκόπησης, με το ζητούμενο να αποτελεί η ανάπτυξη ενός νευρωνικού δικτύου για την ανάλυση των screening tests, δημιουργώντας έτσι ένα σύστημα CDSS που θα μπορούσε να βρει εφαρμογή στα πλαίσια του μαζικού προληπτικού ελέγχου, ανάγοντας τα οφέλη του όχι σε μεμονωμένες περιπτώσεις αλλά σε ευρύτερα πληθυσμιακά πλαίσια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

5.1 Συμπεράσματα

Ειδικότερα Συμπεράσματα

Χρήση HPV DNA test

Το HPV DNA test σε σχέση με το συμβατικό pap test, προσφέρει μεγαλύτερη ευαισθησία αλλά μικρότερη ειδικότητα στη διερεύνηση γυναικών της κατηγορίας υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Ο συνδυασμός τους επομένως μπορεί να δώσει ψηλά ποσοστά ευαισθησίας χωρίς να έχει αρνητικές επιπτώσεις στα ποσοστά της ειδικότητας. Η χρήση μάλιστα του HPV DNA test ενδείκνυται για τη διαλογή περιστατικών των οποίων η κολποσκοπική εξέταση έδειξε ατυπίες χωρίς να υφίστανται ορατές ανωμαλίες και η βιοψία έδωσε αρνητικά αποτελέσματα. Για αυτές τις περιπτώσεις, ένα αρνητικό HPV DNA test θα παρείχε πρόσθετη ασφάλεια στις εξεταζόμενες, ενώ ένα θετικό HPV DNA test θα επισήμανε αυξημένο κίνδυνο και θα οδηγούσε στην επανάληψη των εξετάσεων σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Χρήση p16 και mRNA test

Το p16 test παρουσιάζει ευαισθησία που αυξάνει ανάλογα με τη σοβαρότητα του περιστατικού, με τα ποσοστά του όμως να είναι υψηλά ακόμα και για τις χαμηλότερες κατηγορίες δυσπλασιών, κάτι που συμβαίνει και με το mRNA test. Συγκριτικά με το HPV DNA test υπερέχουν όσον αφορά στο μέτρο της ειδικότητας, εξαιτίας όμως του υψηλού τους κόστους δε συνιστάται η χρήση τους σε μαζική κλίμακα.

Σειρά χρήσης των τεχνικών ανίχνευσης

Σχετικά με τη χρήση των τεχνικών ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, συνιστάται πρώτα η χρήση εκείνου που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ευαισθησία και στη συνέχεια η χρήση εκείνου που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ειδικότητα για τα θετικά

αποτελέσματα του προηγούμενου (έτσι ένα δόκιμο για παράδειγμα σχήμα θα μπορούσε να είναι HPV DNA test ακολουθούμενο από κυτταρολογική εξέταση) [37].

Σημασία του ποιοτικού ελέγχου και της οργάνωσης προγραμμάτων πρόληψης

Η ευαισθησία της εξέτασης αυξάνεται όταν η λήψη διενεργείται μέσα στα πλαίσια οργανωμένων προγραμμάτων πρόληψης με ποιοτικό έλεγχο. Αναλογιζόμενοι λοιπόν τη σημασία που έχει το μέτρο της ευαισθησίας (όπως και τα άλλα στατιστικά μέτρα απόδοσης) σε μια διαγνωστική εξέταση, γίνεται εύκολα αντιληπτή η σημασία που έχει η οργάνωση και ή άρτια εφαρμογή των προγραμμάτων πρόληψης.

Γενικότερα Συμπεράσματα

Σημασία της επιδημιολογίας της νόσου

Το γεγονός ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί την τρίτη αιτία διάγνωσης καρκίνου και την τέταρτη αιτία θανάτου λόγω καρκίνου σε παγκόσμια κλίμακα στο γυναικείο πληθυσμό, καθιστά από μόνο του την ανάγκη ενασχόλησης με τη συγκεκριμένη νόσο επιτακτική και την πραγματοποίηση της προσπάθειας οργάνωσης και εφαρμογής των διαδικασιών πρόληψης στο μέγιστο δυνατό βαθμό.

Προληπτικός έλεγχος

Τα υψηλά ποσοστά εμφάνισης και θνησιμότητας λόγω καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε χώρες με χαμηλού επιπέδου ιατρικές υπηρεσίες, καταδεικνύει τη σημασία του μαζικού προληπτικού ελέγχου, έτσι ώστε να εντοπιστούν πρώιμα στάδια δυσπλασιών.

Πολυπλοκότητα της διάγνωσης

Η διαδικασία της διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας δεν αποτελεί μια στατική αλλά μια δυναμική διαδικασία, αφού εξαιτίας των διαφόρων κατηγοριών αλλοιώσεων και των διαφορετικών ιατρικών στοιχείων που χαρακτηρίζουν κάθε ασθενή, η διαχείριση του κάθε περιστατικού μπορεί να απαιτεί διαφορετικό κάθε φορά «μονοπάτι», με τη διαδικασία μάλιστα να χρειάζεται να επαναληφθεί και να επαναπροσδιοριστεί σε χρονικά διαστήματα, έτσι όπως αυτά έχουν εκτιμηθεί από τη διάγνωση που έχει προηγηθεί.

Σημασία του κόστους στη διαδικασία του screening

Σύμφωνα με την επισκόπηση των διαφόρων μελετών και μετα-αναλύσεων που προηγήθηκε, ιδανικός όσον αφορά στην απόδοσή του θα ήταν ένας συνδυασμός όσων περισσότερων τεχνικών ανίχνευσης γίνεται. Επειδή όμως πρόκειται για μια διαδικασία μαζικού προληπτικού ελέγχου, μια τέτοια επιλογή είναι απαγορευτική από πλευράς κόστους. Θα πρέπει επομένως να βρεθεί εκείνος ο συνδυασμός κάθε φορά που διατηρεί μια ισορροπία ανάμεσα στο κόστος και στην αποτελεσματικότητα της διαδικασίας.

Αναγκαιότητα των CDSS

Τα συστήματα υποστήριξης κλινικής απόφασης αποτελούν ουσιαστικά τη «γέφυρα» που θα ενώσει ιατρικά δεδομένα και απαιτήσεις με την τεχνολογία και τις δυνατότητες που αυτή προσφέρει. Μπορεί έτσι ένας κλινικός εξεταστής, βασισμένος στην ιατρική του γνώση και εμπειρία να εκμεταλλευτεί τα συστήματα αυτού του είδους, καθιστώντας το έργο του ευκολότερο και αποδοτικότερο.

5.2 Στοιχεία Μελλοντικής Έρευνας

Συνέχιση χρήσης του συμβατικού pap test

Η αντικατάσταση του συμβατικού pap test με την κυτταρολογία υγρής φάσης (για την οποία η επισκόπηση μελετών επέδειξε καλύτερη απόδοση συγκριτικά με τη συμβατική εκδοχή της, κάτι που στην Αγγλία και στη Δανία έχει πραγματοποιηθεί σε υψηλά ποσοστά [98]) αποτελεί αντικείμενο περαιτέρω μελέτης έτσι ώστε να αποδειχθεί καθολικά η διαγνωστική της ανωτερότητα και τα πλεονεκτήματά της, δικαιολογώντας το αντιστάθμισμα του υψηλότερου κόστους της.

Επέκταση των δυνατοτήτων των τεχνικών ανίχνευσης για όλους τους τύπους HPV

Όπως καταγράφηκε κατά την ανάλυση της τεχνικής NASBA, το διαθέσιμο εμπορικά κιτ ανίχνευσης με τη συγκεκριμένη μέθοδο NASBA ανιχνεύει πέντε τύπους από την ομάδα υψηλού κινδύνου (16,18, 31, 33 και 45 [77]). Ζητούμενο λοιπόν αποτελεί η επέκταση της μεθόδου και σε άλλους τύπους, χωρίς όμως απώλειες στην ευαισθησία και στην ειδικότητα

της εξέτασης, ένα ζητούμενο που πρέπει να επεκταθεί σε όλες τις τεχνικές ανίχνευσης καλύπτοντας τις υφιστάμενες ελλείψεις τους.

Ανάπτυξη ευφυών συστημάτων

Ένα βασικό ζητούμενο στα πλαίσια του αποδοτικότερου μαζικού προληπτικού ελέγχου είναι η ανάπτυξη ευφυών συστημάτων έτσι ώστε ο συνδυασμός των διεξαγόμενων screening tests να οδηγήσει σε συμπεράσματα που είναι δυνατό να γενικευτούν σε ευρύτερες πληθυσμιακές ομάδες. Τέτοιου είδους συστήματα μπορεί να είναι τα νευρωνικά δίκτυα τα οποία μέσω της εκπαίδευσής τους και της τεχνητής τους νοημοσύνης μπορούν να συμβάλουν αποτελεσματικά στον «αγώνα» ενάντια στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Βιβλιογραφία

[1] Χ. Γκεζερλής, Γ. Ιωάννου, Χ. Καυκάς, Παρουσίαση με τίτλο «Γυναικείο Αναπαραγωγικό Σύστημα», διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση
plaa-education.wdfiles.com

[2] Εκπαιδευτικό διαδικτυακό πρόγραμμα Eurocytology, Άρθρο με τίτλο «Κυτταρολογία τραχήλου της μήτρας διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση
http://www.eurocytology.eu/static/eurocytology/gre/cervical/LP1ContentAcont.html

[3] Άρθρο με τίτλο «Τι είναι ο τράχηλος της μήτρας», διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση
www.femme.gr/femme-
%CF%84%CF%81%CE%AC%CF%87%CE%B7%CE%BB%CE%BF%CF%82-
%CE%BC%CE%AE%CF%84%CF%81%CE%B1.htm,

[4] Γάλλος Μ., Άρθρο με τίτλο «HPV, Δυσπλασία Τραχήλου Μήτρας και Καρκίνος Τραχήλου Μήτρας», διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση
http://gynaikologos-manolis.pblogs.gr/2009/08/hpv-dysplasia-trahhloy-mhtras-kai-karkinos-trahhloy-mhtras.html , δημοσιευμένο 20/08/09

[5] Ε. Μπάμπας, Ιατρός Μαιευτήρας Γυναικολόγος, Διδακτορική Διατριβή με τίτλο «Δραστικότητα Κασπασών σε προκαρκινικές και καρκινικές καταστάσεις τραχήλου μήτρας ανθρώπου», Ιατρική Σχολή Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, 2009

[6] A. Jemal, F.Bray, M. Center, J.Ferlay, E. Ward, D Forman, “Global Cancer Statistics”, American Cancer Society, CA CANCER J CLIN 2011;61:69–90

[7] J. Ferlay, H.R. Shin, F. Bray, D. Forman, C.D. Mathers, D. Parkin, GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality

[8] T.P. Canavan, N.R. Doshi, “Cervical Cancer”, American Academy of Family Physicians, vol. 61 (5), pp. 1369-1376, March 2000,

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10735343

[9] Monograph on Human Papillomaviruses, http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/

[10] http://www.metapathogen.com/papillomavirus/

[11] Π. Καρακίτσος, Παρουσίαση με τίτλο «HPV, ένας ύπουλος ιός», Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

[12] National Cancer Institute, http://www.cancer.gov/cancertopics/types/cervical/.

[13] F. X. Bosch, A. Lorincz, N. Munoz, C. J. L. M. Meijer, K. V. Shah. "The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer", 2002

[14] P.J.F. Snijders, R.D.M. Steenbergen, D.A.M. Heideman, C.J.L.M. Meijer, "HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications", Journal of Pathology, vol. 208, pp. 152-164, 2006

[15] J.T. Schiller, P.M. Day, R.C. Kines, "Current understanding of the mechanism of HPV infection", Gynecologic Oncology, vol. 118, pp. S12-S17, April 2010

[16] http://en.wikipedia.org/wiki/Human_papillomavirus

[17] A. Chaturvedi, M.L. Gillison, "Human Papillomavirus and head and neck cancer", Epidemiology, pathogenesis and prevention of head and neck cancer, pp. 87-116, 2010

[18] http://en.wikipedia.org/wiki/Cell_cycle

[19] M.J. Conway, S. Alam, E.J. Ryndock et al., "Tissue-spanning redox gradient-dependent assembly of native human Papillomavirus type 16 virions", Journal of Virology, vol. 83 (20), pp. 10515-10526, 2009

[20] Μ. Ε. Κατσούλης, Συντονιστής Δ/ντης Μ/Γ Κλινικής Τζάνειου Νοσοκομείου Πειραιά, Παρουσίαση με τίτλο « Το HPV εμβόλιο στη νέα εποχή πρόληψης του τραχηλικού καρκίνου»

[21] R. Herrero, L.A. Brinton, W.C Reeves, M.M Brenes, F. Tenorio, R.C. Britton, "Invasive cervical cancer and smoking in Latin America", J Natl Cancer Inst 1989; 81:205-11.

[22] A.M. Simons, D.H. Phillips, D.V. Coleman, "Damage to DNA in cervical epithelium related to smoking tobacco", BMJ 1993; 306:1444-8.

[23] American Cancer Society, "What causes cancer of the cervix", http://www.cancer.org/docroot/CRI/content/CRI_2_2_2X_What_causes_cancer_of_the_cervix_Can_it_be_prevented_8.asp?sitearea=

[24] Cancer Research UK, "Cervical Cancer – UK incidence statistics", http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/types/cervix/incidence/

[25] M. Demay, Practical Principles of Cytopathology, American Society for Clinical Pathology Press, 2007

[26] P.J. DiSaia,W.T. Creasman, "Clinical Gynecologic Oncology" 2002; 2: 60-75 Mosby

[27] http://www.news-medical.net/health/Cervical-Cancer-Diagnosis.aspx

[28] http://www.bestrong.org.gr/el/cancer/typesofcancer/cervicalcancer/, τελευταία ανανέωση 24/04/12

[29] Kumar, Vinay, Abbas, Abul, Fausto, Nelson, Mitchell, Richard, Robbins Basic Pathology, Saunders Elsevier, 2007

[30] http://www.karkinos24.gr/index.php/symptomatakarkinou

[31] Medline Plus, “Cervical Cancer”, http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000893.htm

[32] R. Sankaranarayanan, L. Gaffikin, M. Jacob, J. Sellors, S. Robles, “A critical assessment of screening methods for cervical neoplasia”, International Journal of Gynecology and Obstetrics, vol. 89, pp. S4-S12, 2005

[33] J.C. Cage, C. Ferreccio, M. Gonzales, R. Arroyo, M. Huivin, S.C. Robles, “Follow-up care of women with an abnormal cytology in a low-resource setting”, Cancer Detection and Prevention, vol. 27 (6), pp. 466-471, 2003

[34] S. Luciani, J. Winkler, Cervical cancer prevention in Peru: Lessons learned from the TATI demonstration project, Pan American Health Organization, 2006

[35] L. Gaffikin, P.D. Blumenthal, M. Emerson, K. Limpaphayom, “Safety, acceptability, and feasibility of a single-visit approach to cervical-cancer prevention in rural Thailand: a demonstration project”. Lancet 2003;361(9360):814–20.

[36] P.D. Blumenthal, M. Lauterbach, J.W. Sellors, R. Sankaranarayanan, “Training for cervical cancer prevention programs in low-resource settings: focus on visual inspection with acetic acid and cryotherapy”. Int J Gynaecol Obstet 2005;89(Suppl. 2):S30–7.

[37] J.Cuzick, M. Arbyn, R. Sankaranarayanan, V. Tsu, G. Ronco, M.H. Mayrand, J. Dillner, C.J.L.M. Meijer, “Overview of Human Papillomavirus-Based and Other Novel Options for Cervical Cancer Screening in Developed and Developing Countries”, 2008

[38] http://www.nikosgioulekas.gr/equipment.shtml

[39] http://www.ecca.info/gr/cervical-cancer-prevention/cervical-screening/treatment.html

[40] Δ. Κυριακίδης, Ι. Θανασάς, «Θεραπεία Τραχηλικής Ενδοεπιθηλιακής Νεοπλασίας. Αποτελεσματικότητα και Ανεπιθύμητες Ενέργειες», Θέματα Μαιευτικής – Γυναικολογίας, Τεύχος 3, 2010

[41] Καπράνος Ν., «Μαζικός έλεγχος HPV και καρκίνος τραχήλου μήτρας», Τμήμα Μοριακής Ιστοπαθολογίας, Μαιευτικό και Χειρουργικό Κέντρο ΜΗΤΕΡΑ

[42] http://en.wikipedia.org/wiki/HPV_vaccine

[43] BBC news, "Semen may fuel cervical cancer'',
http://news.bbc.co.uk/2/hi/health/5303054.stm, August 2006

[44] Medical Research Council,
http://www.mrc.ac.uk/NewsViewsAndEvents/News/MRC002621

[45] R. Narimatsu, B. K. Patterson, "High-Throughput Cervical Cancer Screening Using Intracellular Human Papillomavirus E6 and E7 mRNA Quantification by Flow Cytometry", American Society for Clinical Pathology, Am J Clin Pathol 2005;123:716-723

[46] Α. Μορτάκης, Χειρούργος Γυναικολόγος, Άρθρο με τίτλο «Τεστ Παπανικολάου», διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση
http://www.mortakis.gr/%CE%86%CF%81%CE%B8%CF%81%CE%B1/%CE%93%CE%B5%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CE%AC-%CE%86%CF%81%CE%B8%CF%81%CE%B1/%CE%A4%CE%B5%CF%83%CF%84-%CE%A0%CE%B1%CF%80%CE%B1%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CE%BB%CE%AC%CE%BF%CF%85

[47] http://en.wikipedia.org/wiki/Cervical_cancer

[48] National Cancer Institute Workshop (NCIW): The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses, JAMA 262: 931-934, 1989

[49] http://www.matkarismiltiadis.gr/cms/?p=21&cat=9

[50] D. Solomon, V. Davey, R. Kurman, A. Moriarty, D. O'Connor, M. Prey, S. Raab, M. Sherman, D. Wilbur, T. Jr Wright, N. Young, Forum Group members Bethesda 2001

Workshop. The 2001 Bethesda System: technology of reporting results of cervical cytology, JAMA 287(16): 2114-9, 2002

[51] Koss L.G., Diagnostic Cytology and its Histopathologic Basis, 3rd ed., JB, Lippincott, Philadelphia 1979

[52] C. Malloy, J. Sherris, C. Herdman: "HPV DNA Testing: Technical and Programmatic Issues for Cervical Cancer Prevention in Low-Resource Settings", December 2000

[53] E. Paraskevaidis, M. Arbyn, A. Sotiriadis, E. Diakomanolis, P. Martin-Hirsch, G. Koliopoulos, G. Makrydimas, J. Tofoski, D.H. Roukos, "The role of HPV DNA testing in the follow-up period after treatment for CIN: a systematic review of the literature", Cancer Treatment Reviews, vol. 30, pp. 205-211, 2004

[54] F. Gardeil, O. McNally, J. Skinner, M.J. Turner, "Invasive cervical cancer after treatment for cervical intraepithelial neoplasia", The Lancet, vol. 349 (9069), p. 1909, June 1997

[55] J. Cuzick, P. Sasieni, P. Davies, "A systematic review of the role of human papillomavirus testing within a cervical screening programme", Health Technology Assessment 3(14):1–204, 1999

[56] T.C., Wright, L. Denny, L. Kuhn, "HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer", Journal of the American Medical Association 283(1):81–86, 2000

[57] T. Victor, A. Jordaan, R. Toit et al. "Laboratory experience and guidelines for avoiding false positive polymerase chain reaction results". European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry 31(8):531–535, 1993

[58] http://www.testpap.com/moriakes_eksetaseis/977/

[59] A.T. Lörincz, “Molecular methods for the detection of human papillomavirus Infection”, Obstetrics and Gynecology Clinics of North America 23(3):707–730, 1996

[60] Α. Σπάθης, «Μελέτη γονιδίων που εμπλέκονται σε μηχανισμούς νευροεκφύλισης στο γενετικό μοντέλο ντοπαμινεργικής απονεύρωσης μυός weaver και σε λεμφοκύτταρα παρκινσονικών ασθενών», Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, 2007

[61] Ν. Σπανάκης, Παρουσίαση με τίτλο «Μοριακές Τεχνικές Πραγματικού Χρόνου», 2009

[62] M.A. Duggan, M. Inoue, S.E. McGregor, et al. “A paired comparison of dot blot hybridization and PCR amplification for HPV testing of cervical scrapes interpreted as CIN 1”, European Journal of Gynaecological Oncology 15(3):178–187, 1994

[63] Χρανιώτη Α., Παρουσίαση με τίτλο «Μοριακή Ανίχνευση και Τυποποίηση του ιού HPV με τη χρήση των DNA μικροσυστοιχιών», Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Π.Γ.Ν «Αττικόν»

[64] Μ. Αλεπάκη, «Ενίσχυση και Ανίχνευση του E6/E7 mRNA πέντε καρκινογόνων τύπων του HPV (16,18,31,33,45) με την τεχνική NASBA», Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Π.Γ.Ν «Αττικόν»

[65] H. L. Smits, B. Gemen R. Schukkink, J. Velden, S. P. Hung, M.F. Jebbink, J. Schegget, “Application of the NASBA nucleic acid amplification method for the detection of human papillomavirus type 16 E&-E7 transcripts”, 1995

[66] Γ. Μπεθυμούτης, Η. Νικολαΐδου, Μ. Χατζηβασιλείου, «Η μοριακή διαγνωστική στη διερεύνηση της HPV λοίμωξης», Α΄ Κλινική Δερματικών και Αφροδίσιων Νόσων, Νοσοκομείο «Α.Συγγρός»

[67] Ν. Καπράνος, Δ. Ροντογιάννη, «Τεχνικές μοριακής ιστοπαθολογίας στην Ογκολογία», 2007

[68] K. Guschieri, N. Wentzensen, “Human Papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia”, Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, vol. 17 (10), pp. 2536-2545, October 2008
[69] M. Rahman, “Introduction to flow cytometry”, AbD Serotec, 2006

[70] http://en.wikipedia.org/wiki/Flow_cytometry

[71] Χ. Κοτταρίδη, Παρουσίαση με τίτλο «Ανίχνευση υπερέκφρασης mRNA των ογκογονιδίων Ε6/Ε7 του ιού HPV με Κυτταρομετρία Ροής», Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

[72] Λ. Καμπάς, Χ. Χαραλαμπίδης, Ρ.Μ. Βαλέρη, Δ. Σιουτοπούλου, Κ. Μπόγλου, Κ. Καπλάνης, Χ. Δεστούνη, «Ο ρόλος της έκφρασης της πρωτεΐνης L1 και του γονιδίου p16 στην πρόγνωση των ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας, Κυτταρολογικό Τμήμα Α.Ν.Θ. «Θεαγένειο», διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση, http://www.iatrikionline.gr/IB_119-120/4%20Traxhlos.pdf

[73] http://en.wikipedia.org/wiki/P16_%28gene%29

[74] http://incytepathology.wordpress.com/2011/02/23/p16/

[75] Coppleson M, Reid BL, Skladnev VN, Dalrymple JC: An electronic approach to the detection of precancer and cancer of the uterine cervix: a preliminary evaluation of the Polarprobe. Int J Gynecol Cancer, 4, 79-83, 1994.

[76] Θ. Αγοραστός, Ελληνική Εταιρία Έρευνας και Αντιμετώπισης του ιού των Θηλωμάτων Α' Μαιευτ.-Γυναικολογική Κλινική ΑΠΘ, Γεν. Νοσοκομείο «Παπαγεωργίου», Άρθρο με τίτλο «Περαιτέρω αντιμετώπιση ενός μη φυσιολογικού τεστ Παπανικολάου», διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση
www.hpv-info.gr/index.php?option=com_content&view=article&catid=40%3A2010-11-23-08-06-54&id=64%3A2010-11-23-10-56-42&Itemid=54

[77] Mould TAJ, Singer A: Adjuvant Tests to Cytology: Cervicography and the Polarprobe. In: Franco E, Monsonego J (eds) New Developments in Cervical Cancer Screening and Prevention, Blackwell Science, Oxford, pp 406-410, 1997

[78] http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7211987?dopt=Abstract

[79] S. Kanchanaraksa, Presentation with title "Evaluation of Diagnostic and Screening Tests: Validity and Reliability", Johns Hopkins University, 2008

[80] http://en.wikipedia.org/wiki/Sensitivity_%28tests%29

[81] http://en.wikipedia.org/wiki/Accuracy

[82] http://en.wikipedia.org/wiki/Prevalence

[83] Charmeg, "What is the accurate meaning of precision?", http://www.charmeg.gr/_docs/AN004_1.pdf

[84] www.chem.uoa.gr/courses/chemometrics/ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ-2.ppt

[85] http://en.wikipedia.org/wiki/Positive_predictive_value

[86] Ι. Ντζούφρας Παρουσίαση σημειώσεων στο μάθημα Βιοστατιστική ΙΙ, Μάθημα 6, Διαγνωστικοί Έλεγχοι, ΠΜΣ Επαγγελματική και Περιβαλλοντική Υγεία, Διαχείριση και Οικονομική Αποτίμηση, Ακ. Έτος 2006-2007, διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση http://stat-athens.aueb.gr/~jbn/courses/biostats2_uoa/pdf/06_diagnostic_tests.pdf

[87] http://en.wikipedia.org/wiki/Receiver-operator_characteristic

[88] M. Sullivan-Pepe, The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction, Oxford Statistical Science Series, 2003

[89] R. Sankaranarayanan, P. Basu, R.S. Wesley, C. Mahe, N. Keita, C.C Mbalawa, et al. "Accuracy of visual screening for cervical neoplasia: Results from an IARC multicentre study in India and Africa", Int J Cancer 2004;110(6):907–13

[90] L.O. Sarian, S.F Derchain, P. Naud, C. Roteli-Martins, A. Longatto-Filho, S. Tatti, et al. "Evaluation of visual inspection with acetic acid (VIA), Lugol's iodine (VILI), cervical cytology and HPV testing as cervical screening tools in Latin America. This report refers to partial results from the LAMS (Latin AMerican Screening) study. J Med Screen 2005;12(3):142–9.

[91] D.C. McCrory, D.B. Matchar, L. Bastian, S. Datta, V. Hasselblad, J. Hickey, E. Myers, K. Nanda, "Evaluation of cervical cytology", AHCPR Publication, 1999; No. 99-E10: 1-274. Rockville (MD), USA, AHCPR

[92] N. Bhatla, N. Moda, (September 2009), "The clinical utility of HPV DNA testing in cervical cancer screening Strategies", Department of Obstetrics & Gynecology, All India Institute of Medical Sciences, Indian J Med Res 130, pp 261-265

[93] S.L. Kulasingam, J.P. Hughes, N.B. Kiviat, C.Mao, N.S. Weiss, J.M. Kuypers, L.A. Koutsky, **"**Evaluation of human Papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities", Journal of the American Medical Association, vol.288, pp. 1749-1757, 2002

[94] J. Cuzick, C. Clavel, K.U. Petry, C.J Meijer, H. Hoyer, S. Ratnam, A. Szarewski, P. Birembaut, S. Kulasingam, P. Sasieni, & T. Iftner, "Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening", Int. J. Cancer, 2006; 119: 1095-1101

[95] P. E. Castle, A. G. Glass, B. B. Rush, D. R. Scott, N. Wentzensen, J. C. Gage, J. Buckland, G. Rydzak, A.T. Lorincz, and S. Wacholder, "Clinical Human Papillomavirus Detection Forecasts Cervical Cancer Risk in Women Over 18 Years of Follow-Up, J Clin Oncol 30, American Society of Clinical Oncology, 2012

[96] T. Ekalaksananan, C. Pientong, S. Sriamporn, B. Kongyingyoes, P. Pengsa, P. Kleebkaow, O. Kritpetcharat, D. M. Parkin, "Usefulness of combining testing for p16 protein and human papillomavirus (HPV) in cervical carcinoma screening", Gynecologic Oncology, Volume 103, Issue 1, October 2006, Pages 62-66, ISSN 0090-8258, 10.1016/j.ygyno.2006.01.033

[97] F.M. Carozzi, "Combined analysis of HPV DNA and $p16^{INK4a}$ expression to predict prognosis in ASCUS and LSIL PAP smears", Coll. Antropol., vol. 31 (2), pp. 103-106, 2007

[98] K. Denton, C. Bergeron, K. J. Denton, C. Bergeron, P. Klement, M.J. Trunk, T. Keller, R. Ridder, "The Sensitivity and Specificity of p16 Cytology vs HPV Testing for Detecting High-Grade Cervical Disease in the Triage of ASC-US and LSIL Pap Cytology Results" European CINtec Cytology Study Group, American Society for Clinical Pathology, 2010;134:12-21

[99] I. Tsoumpou, M. Arbyn, M. Kyrgiou, N. Wentzensen, G. Koliopoulos, P. Martin-Hirsch, V. Malamou-Mitsi, E. Paraskevaidis, "$p16^{INK4a}$ immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis", Cancer Treatment Reviews, vol. 35, pp. 210-220, 2009

[100] JL.Meyer, DW. Hanlon, BT Andersen, OF Rasmussen, K. Bisgaard, Evaluation of p16INK4a expression in ThinPrep cervical specimens with the CINtec p16INK4a assay: correlation with biopsy follow-up results, Cancer. 2007 Apr 25;111(2):83-92

[101] A. Trope, K. Sjoborg, A. Eskild, K. Guschieri, T. Eriksen, S. Thoresen, M. Steinbakk, V. Laurak, C.M. Jonassen, U. Westerhagen, M.B. Jacobsen, A.K. Lie, "Performance of human Papillomavirus DNA and mRNA testing strategies for women with and without cervical neoplasia", Journal of Clinical Microbiology, vol. 47 (8), pp. 2458-2464, August 2009

[102] M. Benevolo, A.Vocaturo, D. Caraceni, D. French, S. Rosini, R. Zappacosta, I. Terrenato, L. Ciccocioppo, A. Frega, P. G. Rossi, "Sensitivity, Specificity, and Clinical Value of Human Papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA Assay as a Triage Test for Cervical Cytology and HPV DNA Test, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, p.2643–2650, Vol. 49, No. 7, American Society for Microbiology, July 2011

[103] J. Coste, B. Cochand-Priollet, P. de Cremoux, C. Le Galès, I. Cartier, V. Molinié, S. Labbé, M.-C. Vacher-Lavenu, P. Vielh, "Cross sectional study of conventional cervical smear, monolayer cytology, and human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening", British Medical Journal, vol.326, p.733, April 2003

[104] M. Corkill, D. Knapp, M.L Hutchinson, "Improved Accuracy for Cervical Cytology with the Thin Prep Method and the Endocervical Brush-Spatula Collection Procedure. Journal of Lower Genital Tract Disease, 1998; 2 (1) : 12-16

[105] S.M. Moss, A. Gray, R. Legood, & E. Henstock, (2003). Evaluation of HPV/LBC. Cervical screening pilot studies. First report to the Department of Health on evaluation of LBC (December 2002). Institute of Cancer Research (Sutton); Institute of Health Sciences (Oxford): 1-96

[106] Scottish Cervical Screening Programme . "Steering group report on the feasibility of introducing liquid based cytology", 1-16. Scotland 2002

[107] Z. Li, M. Zhang, H. Li, "Improved Detection of Cervical Cancer and High Grade Neoplastic Lesions by a Combination of Conventional Cytology and DNA Automated Image Cytometer", Journal of Cancer Therapy, 2010, 1, 47-51

[108] H. De Vuyst, P. Claeys, S. Njiru, L. Muchiri, S. Steyaert, P. De Sutter, E. Van Marck, J. Bwayo, M. Temmerman, "Comparison of pap smear, visual inspection with acetic acid, human papillomavirus DNA-PCR testing and cervicography". International Journal of Gynecology and Obstetrics (2005) 89, 120-126

[109] S. Costa, G. Negri, M. Sideri, D. Santini, G. Martinelli, S. Venturoli, C. Pelusi, S. Syrjanen, K. Syrjanen, G. Pelusi, "Human papillomavirus (HPV) test and PAP smear as

predictors of outcome in conservatively treated adenocarcinoma in situ (AIS) of the uterine cervix", Gynecol Oncol. 2007 Jul;106(1):170-6. Epub 2007 May 4

[110] L.O. Sarian, S.F.M. Derchain, L.A.A. Andrade, J. Tambascia, S.S. Morais, K.J. Syrjanen, "HPV DNA test and PAP smear in detection of residual and recurrent disease following loop electrosurgical excision procedure of high-grade cervical intraepithelial neoplasia", Gynecologic Oncology, vol. 94, pp. 181-186, 2004

[111] M. Schiffman, P.E. Castle «Η κλινική χρησιμότητα του HPV DNA testing», 2006

[112] P. Naucler, W. Ryd, S. Tornberg, A. Strand, G. Wadell, K. Elfgren, T. Redberg, B. Strander, O. Forslund, B. Hansson, B. Hagmar, B. Johansson, E. Rylander , J. Dillner, "Efficacy of HPV DNA Testing With Cytology Triage and/or Repeat HPV DNA Testing in Primary Cervical Cancer Screening", J Natl. Cancer Inst 2009;101: 88 – 99

[113] M. H. Mayrand, E. D. Franco, I. Rodrigues, S.D. Walter, J. Hanley, A. Ferenczy, S. Ratnam, F. Coutlee, E. L. Franco, Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group, "Human Papillomavirus DNA versus Papanicolaou Screening Tests for Cervical Cancer", The New England, Journal of Medicine, october 18, 2007 vol. 357 no. 16

[114] G. Coquillard , B. Palao, B. K. Patterson, (2010) "Quantification of intracellular HPV E6/E7 mRNA expression increases the specificity and positive predictive value of cervical cancer screening compared to HPV DNA", Gynecologic Oncology 120 (2011) 89–93

[115] S. W. Sørbye, S. Fismen, T. Gutteberg, E. S. Mortensen, "Triage of Women with Minor Cervical Lesions: Data Suggesting a ''Test and Treat'' Approach for HPV E6/E7 mRNA Testing", September 13, 2010

[116] http://en.wikipedia.org/wiki/Clinical_decision_support_system

[117] K. Kawamoto, C. A. Houlihan, E. Andrew Balas, David F. Lobach, Improving clinical practice using clinical decision support systems: a systematic review of trials to

identify features critical to success, Division of Clinical Informatics, Department of Community and Family Medicine, 2 April 2005

[118] A. X. Garg (MD), N. K. J. Adhikari (MD), H. McDonald (MSc), M. P. Rosas-Arellano (MD, PhD), P. J. Devereaux (MD), J. Beyene (PhD), J. Sam (BHSc), R. B. Haynes (MD, PhD), Effects of Computerized Clinical Decision Support Systems on Practitioner Performance and Patient Outcomes, a systematic review, American Medical Association, 9 March 2005

[119] E.A Dupuis, H.F. White HF, D. Newman et al., " Tracking abnormal cervical cancer screening: evaluation of an EMR-based intervention. J Gen Intern Med 2010;25:575e80.

[120] K. Wagholikar, K. MacLaughlin, M. Henry, R. Greenes, R. Hankey, H. Liu, R. Chaudhry, ''Clinical decision support with automated text processing for cervical cancer screening'', JAMIA, pp. 1-7, 2012

[121] U. Siebert, G. Sroczynski, P. Hillemanns, ''The German Cervical Cancer Screening Model'', European Journal of Public Health, vol. 16, no. 2, pp. 185–192, 2006

[122] N. Kiviat, "Natural history of cervical neoplasia: overview and update", Am J Obstet Gynecol 1996;175:1099–104

[123] L. Koutsky, "Epidemiology of genital human papillomavirus infection", Am J Med 1997;102:3–8

[124] G.Y.F Ho, R. Bierman, L. Beardsley, "Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. N Engl J Med 1998;338:423–8

[125] E.R. Myers, D.C McCrory, K. Nanda et al., "Mathematical model for the natural history of human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis. Am J Epidemiol 2000;151:1158–71

[126] S. Goldie, L. Kuhn, L. Denny et al. “Policy Analysis of cervical cancer screening strategies in low-resource settings: clinical benefits and cost-effectiveness. JAMA 2001;285:3107–15

[127] J. Taylor, P.H. Bartels, M. Bibbo, G.L. Wied, Automated hierarchic decision structures for multiple category cell classification by TICAS. Acta Cytol 1978;22:261-267

[128] P. Karakitsos, A. Pouliakis, C. Meristoudis, N.Margari, D. Kassanos, M. Kyrgiou, ‘’A Preliminary Study of the Potential of Tree Classifiers in Triage of High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions’’, Analytical and Quantitative Cytology and Histology, vol. 33, no. 3, pp. 133–140, 2011

[129] Λουκά Χ., Διπλωματική εργασία με τίτλο «Δημιουργία τρισδιάστατου μοντέλου από φωτογραφία με χρήση γενετικού προγραμματισμού, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Τμήμα Πληροφορικής, Μάιος 2009

[130] L. A. Zadeh, “Fuzzy logic, neural networks, and soft computing,” Commun. ACM, vol. 37, pp. 77–84, 1994

[131] P. Mitra, S. Mitra, S. Pal, ‘’ Staging of Cervical Cancer with Soft Computing’’, IEEE TRANS. ON BIOM. ENG., vol. 47, no. 7, pp. 934-939, 2000

[132] Y. H. Pao, “Adaptive Pattern Recognition and Neural Networks”. Reading, MA: Addison-Wesley, 1989

[133] A. Onissko, M. Druzdzel, R. Austin, ‘’Application of Dynamic Bayesian Networks to Cervical Cancer Screening’’

[134] L. Fausett, Fundamentals of Neural Networks-Architectures, Algorithms and Applications, Prentice Hall, Saddle River, New Jersey, USA 1994

[135] C. Siristatidis, C. Chrelias, A. Pouliakis, E. Katsimanis, D. Kassanos, ‘’Artificial neural networks in gynaecological diseases: Current and potential future applications’’, Med Sci Monit, 2010

[136] K. Papik, B. Molnar, R. Schaefer et al., “Application of neural networks in medicine – a review”, Med Sci Monit, 1998; 4(3): 538–46

[137] F.E. Ahmed “Artificial neural networks for diagnosis and survival prediction in colon cancer” Molec Cancer, 2005; 4: 29–40

[138] G. Schwarzer, W. Vach, M. Schumacher, “On the misuses of artificial neural networks for prognostic and diagnostic classification in oncology”, Stat Med, 2000; 19: 541–61

[139] A. Smolen, A. Czekierdowski, N. Stachowicz, J. Kotarski, “Data mining techniques for the preoperative prediction of ovarian malignancy. Presented in Bridging the Gap: Transforming Knowledge into Action UICC World Cancer Congress, 2006; Jul 8–12; Washington DC, USA

[140] I. Claude, R. Winzenrieth, P. Pouletaut, J.C Boulanger, “Contour Features for Colposcopic Image Classification by Artificial Neural Networks. ICPR’02. 16th International Conference on Pattern Recognition Volume 1. 2002 Aug 11–15; Quıbec City, QC, Canada