



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Γ' ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθύντρια: Καθηγήτρια Σ. Καλανταρίδου



«Ο ρόλος της τεχνικής χαρτών με αυτόματη οργάνωση
(self organizing map) στη λήψη θεραπευτικής απόφασης
ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας»

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ευάγγελου Ε. Σαλαμαλέκη



ΑΘΗΝΑ 2019

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Πρόεδρος: Καθηγητής Πέτρος Π. Σφηκάκης

Γ' ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

Διευθύντρια: Καθηγήτρια Σ. Καλανταρίδου

Β' ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

Διευθυντής: Καθηγητής Ι. Παναγιωτίδης

ΑΘΗΝΑ 2019

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Ο ρόλος της τεχνικής χαρτών με αυτόματη οργάνωση (self organizing map) στη λήψη θεραπευτικής απόφασης ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας»

Ευάγγελος Ε. Σαλαμαλέκης

Ιατρός Κυτταρολόγος

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

- 1) Χαράλαμπος Χρέλιας, Αν. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας
(επιβλέπον μέλος ΔΕΠ)
- 2) Χαράλαμπος Συριστατίδης, Αν. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας
- 3) Ιωάννης Παναγιωτίδης, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής








Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1) Καλανταρίδου Σοφία, Καθηγήτρια Μαιευτικής-Γυναικολογίας
- 2) Παναγιωτίδης Ιωάννης, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής
- 3) Χρέλιας Χαράλαμπος, Αν. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας
- 4) Συριστατίδης Χαράλαμπος, Αν. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας
- 5) Φούκας Περικλής, Αν. Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής
- 6) Πανουλής Κωνσταντίνος, Αν. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας
- 7) Παναγόπουλος Περικλής, Επ. Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

ΠΡΟΟΔΟΣ ΟΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ

- Αρχική Αίτηση : 15/02/2011
- Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής : 30/06/2011
- Ορισμός Θέματος : 30/09/2011
- Κατάθεση Α' Προόδου : 26/06/2013
- Κατάθεση Β' Προόδου : 06/11/2014
- Αντικατάσταση Μέλους Τριμελούς Επιτροπής : 20/09/2017
- Κατάθεση Γ' Προόδου : 27/12/2018
- Ορισμός Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής : 04/07/2019

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΔΣΚΛΗΠΙΟΝ,
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΉΓΗΣΑΣΘ
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΝΟ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΜΙ
ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΜΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΨΕΙΝ.  ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ.  ΑΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ.  ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΛΗΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΨΙΟΣ ΤΗΣΔΕ.  ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΜΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΔΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ.  Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ΙΔΥΤΑ.  ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.



ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Επώνυμο: Σαλαμαλέκης
Όνομα: Ευάγγελος
Όνομα Πατρός: Εμμανουήλ
Ημερομηνία Γέννησης: 09/09/1972
Τόπος Γέννησης: Αθήνα
Οικογενειακή Κατάσταση: Έγγαμος με δύο τέκνα

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση:** Πειραματικό Λύκειο Βαρβακείου Σχολής
- Τριτοβάθμια Εκπαίδευση:** Ιατρική και Χειρουργική Σχολή Πανεπιστημίου Bari “Aldo Moro” Ιταλίας
- Πτυχιακή Εργασία:** Θέμα: «Σύγκριση έξι υπερηχογραφικών σημείων για την προγεννητική διάγνωση της δισχιδούς ράχης»
- Άδεια Άσκησης Επαγγέλματος Ιατρού:** 09/12/2010 (Αρ. Πρωτ.: 6784) για την περιφέρεια του Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών
- Μεταπτυχιακή Εκπαίδευση:** Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών Ειδίκευσης στην «Παθολογία της Κύησης» της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών στο Π.Γ.Ν. «Αττικόν» 24/04/2013 (Αρ. Πρωτ.: 2237)
- Μεταπτυχιακή Εργασία:** Θέμα: Κολποτραχηλικά κυτταρολογικά επιχρίσματα στην κύηση
- Διδακτορική Διατριβή:** Σε εξέλιξη
- Γνώση Ξένων Γλωσσών:**
1. Ιταλικά: άριστα
 2. Αγγλικά: άριστα
 3. Γαλλικά: επαρκώς

ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

09/06/2011 ~ 08/06/2013 Άσκηση στην **Παθολογική Ανατομική**
«417 Ν.Ι.Μ.Τ.Σ.»
Παθολογοανατομικό Εργαστήριο
Ειδικευόμενος Ιατρός

Απόφαση διορισμού του Υ.Υ.Κ.Α.:
Υ108/57567/23.5.2011

09/06/2013 ~ 08/09/2013 Παράταση σύμβασης στην **Παθολογική Ανατομική**
«417 Ν.Ι.Μ.Τ.Σ.»
Παθολογοανατομικό Εργαστήριο
Ειδικευόμενος Ιατρός

12/09/2013 ~ 11/09/2016 Άσκηση στην **Κυτταρολογία**
Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ –
ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ – ΠΟΛΥΚΛΙΝΙΚΗ»
Κυτταρολογικό Τμήμα
Ειδικευόμενος Ιατρός

Απόφαση διορισμού του Υ.Υ.Κ.Α.:
Υ108/67485/31.7.2013

12/09/2016 ~ 22/07/2018 Παράταση σύμβασης στην **Κυτταρολογία**
Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ –
ΟΦΘΑΛΜΙΑΤΡΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ – ΠΟΛΥΚΛΙΝΙΚΗ»
Κυτταρολογικό Τμήμα
Ειδικευόμενος Ιατρός

Τίτλος Ιατρικής Ειδικότητας Κυτταρολογίας: 20/01/2017 (*Αρ. Πρωτ.: 3428*)
Περιφέρεια Αττικής

23/07/2018 έως σήμερα Έμμισθη θέση
«Ιατρικό Αθηνών Ε.Α.Ε. – Κλινική Αμαρουσίου»
Κυτταρολογικό Τμήμα
Επιστημονικός Συνεργάτης

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Salamalekis E., Pouliakis A., Margari N., Kottaridi C., Spathis A., Karakitsou E., Gouloumi A.-R., Leventakou D., Chrelias G., Valasoulis G., Nasioutziki M., Kyrgiou M., Dinas K., Panayiotides I., Paraskevaïdis E., & Chrelias C. (2019). ***An Artificial Intelligence Approach for the Detection of Cervical Abnormalities: Application of the Self Organizing Map.*** International Journal of Reliable and Quality E-Healthcare (IJRQEH), 8(2), 15-35. doi: 10.4018/IJRQEH.2019040102

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- **14-16/07/2011** 9th ICICTH Samos: International Conference on Information Communication Technologies in Health
“On line cardiotocography technology in high risk pregnancies”
I. Grammatikakis, T. Marinou, E. Hintipas, Ev. Salamalekis, D. Kassanos
- **16/10/2011** Ημερίδα «Καρκίνος Τραχήλου Μήτρας», Άγιος Νικόλαος Λασιθίου, Κρήτη
«Ρόλος της μικροδορυφορικής αστάθειας (microsatellite instability) και της γενικευμένης υπομεθυλίωσης του DNA των τραχηλικών κυττάρων στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας»
I. Γραμματικάκης, X. Χρέλιας, Ευαγ. Σαλαμαλέκης, Π. Παναγόπουλος, Γ. Κολιόπουλος

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ – ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

- **10-11/04/1998** «7^ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Κλιμακτηρίου & Εμμηνόπαυσης», Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική ΕΚΠΑ
- **18-21/11/1998** 4th International Congress "The Young Woman at the Rise of the 21st Century: Gynecological and Reproductive Issues in Health and Disease", Athens
- **19/06/1999** Ημερίδα Καρδιοτοκογραφίας και Νεώτερων Τεχνικών στη Διάρκεια του Τοκετού, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική ΕΚΠΑ
- **10-13/09/1999** "5th Hellenic Meeting on Materno-Fetal Medicine and Obstetrics & Reproductive Sciences", Olympia, Greece
- **23/06/2001** Ημερίδα με θέμα: «Νεώτερες Τεχνικές Παρακολουθήσεως του Εμβρύου», Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική ΕΚΠΑ
- **24-25/11/2001** Συνέδριο με θέμα: «Υπερτασική Νόσος στην Κύηση», Γ' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική ΑΠΘ
- **05/02/2002** Διάλεξη με θέμα: «Αναλγησία κατά τον Τοκετό», Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική ΕΚΠΑ *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **09-10/02/2002** «Συμπόσιο Πολύδυμης Κύησης», Αθήνα
- **26/03/2002** Διάλεξη με θέμα: «Ο Ρόλος της Εκλυτικής Ορμόνης της Κορτικοτροπίνης στη Γυναικεία Αναπαραγωγή», Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική ΕΚΠΑ *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **23-24/10/2010** 7^ο Ετήσιο Συμπόσιο της Γ' Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής ΕΚΠΑ με θέμα: «Εμβρυομητρική Ιατρική», Π.Γ.Ν. «Αττικόν»
- **17-18/02/2012** Επιστημονική Διημερίδα της Ομάδας Γυναικολογικού Συστήματος της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής με θέμα: «Μια περιήγηση στο ενδομήτριο: Από τα ξέσματα στο παρασκεύασμα της υστερεκτομής» *(χορηγούνται 9 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*

- **25-26/05/2012** «Εθνικές Κατευθυντήριες Οδηγίες (Guidelines) στη Χειρουργική Ογκολογία του Μαστού», Αθήνα *(χορηγούνται 12 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **26/05/2012** «Ημερίδα για τις Περιγεννητικές Λοιμώξεις», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών
- **08-12/09/2012** “24th European Congress of Pathology”, Prague – CZ *(21 European CME Credits - ECMEC)*
- **05-06/10/2012** «Σεμινάριο Γυναικολογικού & Ουρολογικού Καρκίνου 2012», Ξενοδοχείο Hilton, Αθήνα *(χορηγούνται 9 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **20-21/10/2012** «15^η Ετήσια Δημερίδα – Μετεκπαιδευτικό Μάθημα Καρκίνος του Μαστού ~ Εξελίξεις», Αμφιθέατρο Ν.Ι.Μ.Τ.Σ. *(χορηγούνται 9 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **07-08/12/2012** Δημερίδα με θέμα: «Νεοπλασίες του αναπαραγωγικού συστήματος και του μαστού στη γυναίκα», Ξενοδοχείο Athenaeum Intercontinental *(χορηγούνται 10 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **25-26/04/2013** Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο με τίτλο: «Από το οπτικό μικροσκόπιο στο ηλεκτρονικό: Η συμβολή της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας στην παθολογοανατομική διάγνωση», Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ *(χορηγούνται 6 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **13/01/2014 – 16/06/2014** 7 τριώρα μαθήματα του Α' Εκπαιδευτικού Κύκλου της Ελληνικής Εταιρείας Κλινικής Κυτταρολογίας *(χορηγούνται 24 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **23-24/01/2014** Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο με τίτλο: «Ιστολογική Διάγνωση Όγκων Νεφρού», Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ *(χορηγούνται 8 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **03-04/04/2014** Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο με τίτλο: «Επιθηλιακά Νεοπλάσματα Σιελογόνων Αδένων: Κλινικοπαθολογοανατομική – Κυτταρολογική Προσέγγιση και Νεότερα Δεδομένα», Α' Εργαστήριο

Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ (χορηγούνται 9 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)

- **06/10/2014 – 22/06/2015** 20 τρίωρα μαθήματα του Β' Εκπαιδευτικού Κύκλου της Ελληνικής Εταιρείας Κλινικής Κυτταρολογίας
- **18-19/12/2015** Επιστημονική Διημερίδα με θέμα: «Διεπιστημονική προσέγγιση του καρκίνου του μαστού. Από τη θεωρία στην πράξη», Ξενοδοχείο Athens Hilton (χορηγούνται 8 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)
- **16/01/2016** Επιστημονική Ημερίδα με θέμα: «Η Κυτταρολογία χθες, σήμερα, αύριο. Από την Κλινική στη Μοριακή Κυτταρολογία», Συνεδριακό Κέντρο «Ν. Λούρος», ΜΗΤΕΡΑ (χορηγούνται 5 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)
- **12-13/02/2016** Seminar “Diagnostic Cytology by using the liquid-based cytology method ThinPrep”, Department of Cytopathology, University General Hospital Attikon, Athens
- **26-27/02/2016** Πανελλήνια Διημερίδα Ιστορίας της Ιατρικής «Η Ιστορία της Νευρολογίας από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα», Α' Νευρολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ
- **11/03/2017** Επιστημονική Ημερίδα με θέμα: «Ζέβρες και μονόκεροι στην Κυτταρολογία. Ενδιαφέροντα Περιστατικά», Συνεδριακό Κέντρο «Ν. Λούρος», ΜΗΤΕΡΑ (χορηγούνται 4 μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)
- **16-17/02/2018** «Μετεκπαιδευτικό Συνέδριο Θεραπευτικών Εξελίξεων στην Ογκολογία», Αμφιθέτρο Εκδηλώσεων ΙΑΣΩ
- **17/04/2018** Διάλεξη με τίτλο: «Εμβολή αμνιακού υγρού», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών (χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)
- **29/09/2018** Επιστημονική Εκπαιδευτική Εκδήλωση με τίτλο: «Θέματα Σύγχρονης Γυναικολογικής Κυτταρολογίας», Αμφιθέατρο Ν.Ι.Μ.Τ.Σ.
- **09/10/2018** Διάλεξη με τίτλο: «Καισαρική Τομή: Κλινικές Οδηγίες», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών (χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)

- **23/10/2018** Διάλεξη με τίτλο: «Σακχαρώδης Διαβήτης και Κύηση», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **06/11/2018** Διάλεξη με τίτλο: «Μέθοδοι εκτίμησης διαταραχών του πυελικού εδάφους», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **20/11/2018** Διάλεξη με τίτλο: «Επιπλοκές μονοχοριακών δίδυμων κυήσεων», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **23-25/11/2018** “Athens Medical Leadership and Innovation Conference II (AMLI II)”, Megaron Athens International Conference Center *(24 European CME Credits - ECMEC)*
- **22/01/2019** Διάλεξη με τίτλο: «Οσφυοϊσχιαλγία κατά την διάρκεια της κύησης», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **05/02/2019** Διάλεξη με τίτλο: «Κύηση και θρομβοφιλία», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **05/03/2019** Διάλεξη με τίτλο: «Κυτταρολογία: Καθημερινή πρακτική και ματιά στο μέλλον», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **19/03/2019** Διάλεξη με τίτλο: «Ενδοπεριτοναϊκή Υπέρθερμη Χημειοθεραπεία (HIPEC) στο γυναικολογικό καρκίνο. Προσέγγιση, αντιρρήσεις, μύθοι και πραγματικότητα», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **30/03/2019** Μετεκπαιδευτικό Μάθημα με θέμα: «Υγρά κοιλοτήτων», Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Κυτταρολογίας
- **02/04/2019** Διάλεξη με τίτλο: «Λιθίαση και εγκυμοσύνη», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*
- **16/04/2019** Διάλεξη με τίτλο: «Κύηση σε γυναίκες με προϋπάρχουσα νεφρική νόσο», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*

- **07/05/2019** Διάλεξη με τίτλο: «Διερεύνηση κληρονομικότητας στο γυναικολογικό καρκίνο», Αίθουσα Συνεδριάσεων Ιατρικού Αθηνών *(χορηγείται 1 μόριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης CME-CPD)*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στους ανθρώπους που συνέβαλαν στην περαίωση αυτής της ερευνητικής προσπάθειας. Στον κ. Χαράλαμπο Χρέλια, Αν. Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας και επιβλέποντα της διατριβής, για το ενδιαφέρον, τις υποδείξεις και τις πατρικές συμβουλές του, στον κ. Χαράλαμπο Συριστατίδη, Αν. Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας, για την υποστήριξη και τις οδηγίες του, στον κ. Ιωάννη Παναγιωτίδη, Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής για τη συμπαράσταση, την εποικοδομητική κριτική και την εμπιστοσύνη του.

Δεν υπάρχουν λόγια για να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ. Αβραάμ Πουλιάκη, Φυσικό Ηλεκτρονικό-Ραδιοηλεκτρολόγο, επιστημονικό συνεργάτη του Β' Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής και αγαπητό φίλο, για την καθοδήγηση, τον χρόνο που αφιέρωσε και την πολύτιμη και καθοριστική συμβολή του σε όλα τα στάδια της παρούσας μελέτης.

Θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω δύο δικούς μου ανθρώπους που ήταν στο πλευρό μου όποτε τους χρειάστηκα κατά τη διάρκεια αυτού του πονήματος. Την εξαδέλφη μου Αγγελική Τσιπούρα και τον συνάδελφο και καλό μου φίλο Ηλία Χιντιπά.

Μια μεγάλη αγκαλιά στα μέλη της οικογένειάς μου, στη σύζυγό μου και στα παιδιά μου για την αγάπη τους, τις φροντίδες τους και τις ώρες που με στερήθηκαν, στους γονείς μου και στα αδέρφια μου για την αγωνία τους στην αγωνία μου, για τη χαρά τους στη χαρά μου.



Ξεχωριστή αναφορά και με ιδιαίτερη συγκίνηση θα ήθελα να κάνω στον Πέτρο Καρακίτσο, Καθηγητή, Διευθυντή του Εργαστηρίου Διαγνωστικής Κυτταρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και μέλος της αρχικής Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής της παρούσας διατριβής, ο οποίος εδώ και δύο χρόνια δεν είναι πια κοντά μας. Ο Καθηγητής από την πρώτη στιγμή στάθηκε δίπλα μου ως καθοδηγητής και δάσκαλος, ανέχτηκε τα άγχη, τις καθυστερήσεις και τις αγωνίες μου και με διαρκείς συμβουλές και παροτρύνσεις έδειχνε την εκτίμησή του προς το πρόσωπό μου ως άνθρωπο και ως νέο ιατρό. Η υψηλή επιστημονική του κατάρτιση, οι πρωτοποριακές του ιδέες και η ακόρεστη όρεξη για δουλειά αποτελούσαν φωτεινό παράδειγμα και η αιφνίδια απώλειά του άφησε την Κυτταρολογία φτωχότερη. Η εργασία αυτή είναι αφιερωμένη στη μνήμη του.

Στον αγαπημένο μου γιο, Μάνο

Στη γλυκιά μου κόρη, Ιωάννα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λοίμωξη του κατώτερου γεννητικού συστήματος από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) αποτελεί μία από τις πλέον συχνές, σεξουαλικά μεταδιδόμενες, νόσους. Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, με βάση τα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, είναι τέταρτος σε συχνότητα στον γυναικείο πληθυσμό. Σύμφωνα με τα δεδομένα της παγκόσμιας βιβλιογραφίας, υπάρχει άμεση αιτιολογική συσχέτιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας με τους λεγόμενους ογκογόνους τύπους του HPV. Γονιδίωμα του HPV έχει τυποποιηθεί στο 99,7% των γυναικών με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας [Walboomers 1999] και πλέον θεωρείται αναγκαίος συμπαράγοντας για την ανάπτυξή του. Μολονότι έχουν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 150 στελέχη του ιού [Michelle 2004], πέντε κυρίως (16, 18, 31, 33, 45) ενοχοποιούνται για την ανάπτυξη των διηθητικών καρκινωμάτων του τραχήλου της μήτρας [Wright 2000]. Ειδικότερα, ο υπότυπος HPV 16 ανιχνεύεται περίπου στο 50-60%, ενώ ο HPV 18 στο 10-20% των περιπτώσεων διηθητικών καρκινωμάτων του τραχήλου της μήτρας [Wright 2000].

Σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα δεδομένα, η εμφάνιση ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων, στις οποίες επίσης ανιχνεύονται οι

διάφοροι τύποι του HPV, προηγείται της ανάπτυξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Είναι χαρακτηριστικό ότι οι γυναίκες με υψηλού κινδύνου τύπους του ιού έχουν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Παρόλα αυτά, σημαντικό ποσοστό των ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων συνήθως υποστρέφει ή δεν εξελίσσεται σε μεγαλύτερης βαρύτητας αλλοίωση. Μόνο σε ποσοστό μικρότερο από 10% των γυναικών με ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση του τραχήλου της μήτρας θα αναπτυχθεί καρκίνωμα, ελλείψει αποτελεσματικής θεραπείας [Doorbar 2006]. Ένας από τους σημαντικούς παράγοντες για την εξέλιξη αυτών των αλλοιώσεων σε υψηλού βαθμού αλλοιώσεις και καρκίνο είναι η ενσωμάτωση του HPV στο γονιδίωμα του ξενιστή [De Marco 2007]. Μολονότι σε ορισμένες μελέτες έχουν ανιχνευθεί μόνο επισωματικές μορφές του ιού σε τραχηλικές κακοήθειες [Matsukura 1989], έχει αποδειχθεί σε *in vitro* μελέτες ότι οι κυτταρικοί πληθυσμοί με ενσωματωμένο HPV στο γονιδίωμά τους αποκτούν επιλεκτικό πλεονέκτημα αύξησης έναντι αυτών με τον ιό στην επισωματική του μορφή [Jeon 1995].

Η κύρια λειτουργία της ενσωμάτωσης του ιού φαίνεται να είναι η σταθεροποίηση της μεταγραφής των ιικών πρωτεϊνών E6 και E7, οι οποίες αλληλεπιδρούν με πολλούς κυτταρικούς παράγοντες που

σχετίζονται με τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Σε αυτούς τους παράγοντες περιλαμβάνονται οι πρωτεΐνες MCM5 (mini chromosome maintenance 5) και CDC6 (cell division cycle 6), οι οποίες ορίζουν τη χρονική στιγμή έναρξης αντιγραφής της χρωματίνης [Herrero 2005]. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι παρούσες μόνο κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, ενώ δεν παρατηρούνται στα κύτταρα κατά την ηρεμία και τη διαφοροποίηση. Μελέτες έδειξαν αυξημένα επίπεδα mRNA της MCM5 και της CDC6 σε περιπτώσεις νεοπλασίας του τραχήλου [Clifford 2003]. Άλλος κυτταρικός παράγοντας που σχετίζεται με τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και επηρεάζεται από τις ιικές πρωτεΐνες είναι ο αναστολέας κυκλινοεξαρτώμενων κινασών, p16^{INK4a}. Στην πλειονότητα των καρκινωμάτων του τραχήλου, στα οποία έχει βρεθεί η ύπαρξη υπότυπου HPV υψηλού κινδύνου, παρατηρείται υπερπαραγωγή της πρωτεΐνης p16^{INK4a}, ενώ στο 25-57% των περιπτώσεων τραχηλικών καρκινωμάτων ο υποκινητής του γονιδίου είναι μεθυλιωμένος [Moore 2004].

Σκοπός της διατριβής ήταν η διερεύνηση της ικανότητας του Νευρωνικού Δικτύου τεχνικής χαρτών με αυτόματη οργάνωση (self organizing map) στη λήψη θεραπευτικής απόφασης ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας. Στην προκειμένη μελέτη επιχειρήθηκε ο διαχωρισμός μεταξύ καλοήθων και κακοήθων κολποτραχηλικών

αλλοιώσεων με τη βοήθεια βιοδεικτών σχετιζόμενων με την παρουσία υπότυπων του HPV, με την αναγνώριση της έκφρασης του mRNA των γονιδίων E6 και E7 των ογκογόνων τύπων του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων και με την έκφραση της πρωτεΐνης p16. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε πληθυσμό γυναικών από όλη την Ελλάδα.

Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

Ε Ι Σ Α Γ Ω Γ Η.....	19
Κατάλογος πινάκων	24
Κατάλογος εικόνων	25
Κατάλογος σχημάτων	26
Γ Ε Ν Ι Κ Ο Μ Ε Ρ Ο Σ.....	27
Εμβρυολογία.....	28
Ανατομία.....	31
Ιστολογία.....	34
Ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papilloma Virus).....	38
Κυτταρολογία τραχήλου μήτρας οφειλόμενη στην HPV-λοίμωξη.....	46
Παθολογική ανατομική τραχήλου μήτρας οφειλόμενη στην HPV-λοίμωξη.....	48
Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα.....	52
Ε Ι Δ Ι Κ Ο Μ Ε Ρ Ο Σ	58
Υλικό και Μέθοδος	59
Φορείς που συμμετείχαν και Βιοηθική	59
Συλλογή του δείγματος.....	59
Επεξεργασία του δείγματος.....	61
Χρώση πλακιδίων κατά Παπανικολάου.....	62
Κυτταρολογική διάγνωση	63
Μοριακές δοκιμασίες.....	64
Βιοψίες / Golden standard	66
Αρχική επεξεργασία των δεδομένων και μορφοποίηση.....	68
Τεχνικές τεχνητής νοημοσύνης και μοντελοποίηση SOM.....	71
Αποτελέσματα.....	77
Συζήτηση	92
Συμπεράσματα.....	98
Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η	99
SUMMARY.....	101
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	102

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1: Καρκίνοι που σχετίζονται με τον HPV στις γυναίκες.....	39
Πίνακας 2: Οι τύποι HPV 16 και 18 είναι οι συχνότεροι στην πρόκληση καρκίνου ..	40
Πίνακας 3: Λειτουργικές περιοχές του ιικού HPV γονιδιώματος.....	44
Πίνακας 4: Οι μεταβλητές που εισήχθησαν για επεξεργασία στο μοντέλο SOM, συμπεριλαμβανομένου του αποτελέσματος της κυτταρολογικής εξέτασης και διάφορες παράμετροι που σχετίζονται με τις μοριακές δοκιμασίες.....	69
Πίνακας 5: Οι δείκτες που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της απόδοσης του TNΔ. Η ευαισθησία και η ειδικότητα αποτελούν τους ευρύτερα χρησιμοποιούμενους δείκτες στην ιατρική.	74
Πίνακας 6: Συσχέτιση κυτταρολογικής και ιστολογικής διάγνωσης των περιστατικών που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη	78
Πίνακας 7: Αποτελέσματα του TNΔ SOM στην πρόγνωση αλλοιώσεων του τραχήλου μήτρας.....	91

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1:	Αιδοϊκή και κολπική νόσος που οφείλεται στον HPV.....	42
Εικόνα 2:	Το καψίδιο του HPV όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.....	43
Εικόνα 3:	Γενωμική οργάνωση του καψιδίου του HPV.....	43
Εικόνα 4:	Διαδικασία κοιλοκυττάρωσης των επιθηλιακών κυττάρων του τραχήλου από την ενεργό δράση και τον πολλαπλασιασμό του HPV ..	46
Εικόνα 5:	SOM με τους κόμβους να παραπέμπουν σε μία από τις δύο ιστολογικές κατηγορίες, \geq CIN2 (σύμβολο «+»), <CIN2 (σύμβολο «-») ή σε καμία κατηγορία (κενό).....	80
Εικόνα 6:	SOM με χρωματική κωδικοποίηση, σύμφωνα με το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης και με υπόβαθρο τη βαθμονόμηση των κόμβων, σύμφωνα με την ιστολογική διάγνωση: \geq CIN2 (+), <CIN2 (-)	82
Εικόνα 7:	Χάρτες SOM με χρωματική κωδικοποίηση στους κόμβους σύμφωνα με (από αριστερά προς τα δεξιά, από πάνω προς τα κάτω): την ύπαρξη ή όχι υψηλού κινδύνου HPV DNA, την ύπαρξη ή όχι χαμηλού κινδύνου HPV DNA, το συνολικό πλήθος των ανιχνευθέντων υπότυπων HPV, το πλήθος των ανιχνευθέντων υπότυπων HPV υψηλού κινδύνου και το πλήθος των ανιχνευθέντων υπότυπων HPV χαμηλού κινδύνου	84
Εικόνα 8:	Χάρτες SOM για τους 36 διαφορετικούς υπότυπους (καθέναν ξεχωριστά) που ανιχνεύει το τεστ CLART-2	86
Εικόνα 9:	Χάρτες SOM με βαθμονόμηση σύμφωνα με το ιστολογικό αποτέλεσμα και χρωματική κωδικοποίηση για το HPV mRNA, όπως εκτιμήθηκε με την τεχνική NASBA (πάνω αριστερά, αποτέλεσμα ανίχνευσης για όλους τους υπότυπους, εκφρασμένο σαν θετικό ή αρνητικό – υπόλοιπες εικόνες για κάθε υπότυπο ξεχωριστά)	88
Εικόνα 10:	Χάρτες SOM με βαθμονόμηση σύμφωνα με το ιστολογικό αποτέλεσμα και χρωματική κωδικοποίηση για το HPV mRNA, όπως εκτιμήθηκε με κυτταρομετρία ροής (αριστερά και στο κέντρο) και για την πρωτεΐνη p16 (δεξιά)	89

Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 1: HPV-τύποι που σχετίζονται με την ανάπτυξη καρκίνου τραχήλου μήτρας στην Ευρώπη	41
Σχήμα 2: Διαδικασία δημιουργίας συστήματος λήψης απόφασης	56

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εμβρυολογία

Η εμβρυϊκή ανάπτυξη του γεννητικού συστήματος είναι στενά συνδεδεμένη με την ανάπτυξη του ουροποιητικού συστήματος. Αυτό είναι αποτέλεσμα της κοινής εμβρυϊκής προέλευσης των δύο συστημάτων από το διάμεσο μεσόδερμα. Νωρίς στην εμβρυϊκή ζωή, οι εκκριτικοί πόροι και των δύο συστημάτων (μεσонеφρικοί πόροι και ουρητήρες) καταλήγουν σε κοινή κοιλότητα, την αμάρα. Η φυλετική διαφοροποίηση των γεννητικών οδών και των εξωτερικών γεννητικών οργάνων ολοκληρώνεται σε τρεις περιόδους: την εμβρυϊκή περίοδο, την περιγεννητική περίοδο και την ήβη.

Κατά την εμβρυϊκή περίοδο, μετά την έναρξη της διαφοροποίησης των γονάδων, αρχίζει η ουσιαστική φυλετική διαφοροποίηση στο επίπεδο της γεννητικής οδού, με την ανάπτυξη των γεννητικών πόρων: του Wolff (μεσонеφρικοί) και του Müller (παραμεσонеφρικοί). Τα εξωτερικά γεννητικά όργανα προέρχονται από τον ουρογεννητικό κόλπο, το γεννητικό φύμα, τις γεννητικές πτυχές και τα γεννητικά ογκώματα.

Στο θήλυ έμβρυο, οι πόροι του Müller, διπλοί και συμμετρικοί, ενώνονται κεντρικά για να σχηματίσουν τους ωαγωγούς, τη μήτρα και το άνω τμήμα του κόλπου. Οι πόροι του Müller αναπτύσσονται κατά

παρόμοιο τρόπο και στα δύο φύλα, μεταξύ 45^{ης} και 55^{ης} ημέρας της εμβρυϊκής ζωής. Το παρακείμενο του μεσονεφρικού πόρου κοιλωματικό επιθήλιο καταδύεται στο υποκείμενο μεσέγγυμα και δημιουργεί ένα βλάστημα από επιθηλιακά κύτταρα, που ακολουθεί πορεία από το κεφαλικό προς το ουραίο άκρο παράλληλη προς τον πόρο του Wolff, ο οποίος εκτείνεται ήδη μέχρι τον ουρογεννητικό κόλπο. Καθώς το επιθηλιακό βλάστημα αναπτύσσεται, δημιουργείται αυλός στο κέντρο της επιθηλιακής μάζας, με κεφαλο-ουραία κατεύθυνση ανάπτυξης. Ο παραμεσονεφρικός πόρος εκβάλλει προς τα πάνω, με χωνοειδές στόμιο, στο σπλαγχνικό κοίλωμα, ενώ προς τα κάτω διασταυρώνεται με τον πόρο του Wolff, φέρεται προς τη μέση γραμμή του εμβρύου και ενώνεται με τον αντιδιαμετρικό παραμεσονεφρικό πόρο, σχηματίζοντας ενιαίο σωλήνα, τον μητροκολεϊκό ή μητροκολπικό σωλήνα. Το ουραίο άκρο του σωλήνα είναι συμπαγές και εκτείνεται μέχρι τον ουρογεννητικό κόλπο, προβάλλει στο ραχιαίο τοίχωμα, ανάμεσα στα στόμια εκβολής των πόρων του Wolff και σχηματίζει το λοφίδιο του Müller.

Ο πόρος του Wolff ατροφεί και εξαφανίζεται, εκτός από ένα μικρό τμήμα στο κεφαλικό άκρο, που παραμένει ως επωοθήκιο και ένα άλλο τμήμα στο ουραίο άκρο, από το οποίο μπορεί να σχηματιστεί μικρή κύστη στο κατώτατο τμήμα του κολεού, γνωστή ως κύστη του Gartner.

Από τον ουρογεννητικό κόλπο σχηματίζονται μέρος της ουρήθρας, το κατώτερο τμήμα του κόλπου και ο πρόδρομος αυτού. Το γεννητικό φύμα σχηματίζει την κλειτορίδα. Οι γεννητικές πτυχές δεν ενώνονται όπως στο αρρεν έμβρυο, αλλά παραμένουν χωρισμένες και σχηματίζουν τα μικρά χείλη του αιδοίου, ενώ τα γεννητικά ογκώματα σχηματίζουν τα μεγάλα χείλη του αιδοίου. Ο ουρογεννητικός κόλπος, που παραμένει ανοικτός προς τα έξω και αφορίζεται από τις γεννητικές πτυχές, μετατρέπεται στον πρόδρομο του αιδοίου.

Το αρχικά συμπαγές άκρο του μητροκολπικού σωλήνα αποκτά αυλό στο τέλος του 3^{ου} μήνα. Η κοίλανση σταματά στο όριο σύνδεσης με τον ουρογεννητικό κόλπο. Μεταξύ των δύο κοιλοτήτων διατηρείται λεπτός υμένας, ο οποίος αργότερα διατιτραίνεται στην κεντρική μοίρα αυτού και αποτελεί τον παρθενικό υμένα.

Σχετική βιβλιογραφία: [Αγγελούλου 2006]

Ανατομία

Η μήτρα βρίσκεται μεταξύ ουροδόχου κύστης και ορθού, στον υποπεριτοναϊκό χώρο της ελάσσονος πυέλου. Είναι κοίλο, ινομυώδες όργανο σε σχήμα αποπλατυσμένου αχλαδιού και αποτελείται από τρία τμήματα: τον πυθμένα, το σώμα και τον τράχηλο. Ο πυθμένας βρίσκεται πάνω από τη νοητή γραμμή που ενώνει την εκβολή των δύο ωαγωγών. Το σώμα της μήτρας εμφανίζει πρόσθια και οπίσθια επιφάνεια και δύο πλάγια χείλη. Όριο μεταξύ σώματος και τραχήλου είναι μια στενή μοίρα μήκους 1εκ., ο ισθμός. Ο τράχηλος της μήτρας εμφανίζει υπερκολεϊκή μοίρα, που βρίσκεται πάνω από τον κολεό (κόλπο) και ενδοκολεϊκή μοίρα, που εισέχει στο άνω τμήμα του κολεού.

Ο αυλός του τραχήλου της μήτρας, ή αλλιώς τραχηλικός σωλήνας, εμφανίζει ένα έσω στόμιο, με το οποίο επικοινωνεί με την ενδομητρική κοιλότητα και ένα έξω στόμιο, το οποίο εκβάλλει στην ενδοκολεϊκή μοίρα του τραχήλου και στρέφεται προς το οπίσθιο τοίχωμα του κολεού. Στην άτοκη γυναίκα, το έξω στόμιο απλώς υποσημαίνεται, ενώ, μετά τον τοκετό, λαμβάνει σχήμα εγκάρσιας σχισμής.

Το κύριο στήριγμα της μήτρας είναι ο κολεός με το περίνεο. Ουσιαστική, όμως, στήριξη παρέχεται μέσω της καθήλωσης του τραχήλου της μήτρας με ινώδεις και ελαστικές καθεκτικές δεσμίδες, οι

οποίες περιέχουν και λίγες λείες μυϊκές ίνες. Αυτές οι καθεκτικές δεσμίδες προέρχονται από παχύνσεις του υποπεριτοναϊκού συνδετικού ιστού, ο οποίος υπάρχει στη βάση των πλατέων συνδέσμων και γύρω από τον τράχηλο της μήτρας και στο σύνολό του αποτελεί το παραμήτριο. Οι καθεκτικές δεσμίδες σχηματίζουν τον ηβοκυστικό σύνδεσμο, που φέρεται εκατέρωθεν της ουροδόχου κύστης προς το ηβικό οστό, τον εγκάρσιο σύνδεσμο, που φέρεται στα πλάγια τοιχώματα της ελάσσοнос πυέλου και τον ευθυμητρικό ή ιερομητρικό σύνδεσμο, που περιβάλλει το ορθό και φέρεται στο ιερό οστό.

Η αιμάτωση της μήτρας παρέχεται από τη μητριάια αρτηρία, η οποία αποτελεί τον μεγαλύτερο σπλαγχνικό κλάδο της έσω λαγόνιας αρτηρίας. Η μητριάια αρτηρία πορεύεται στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο και χιάζεται με τον ουρητήρα στη βάση του πλατέος συνδέσμου, αντίστοιχα με τον σύστοιχο πλάγιο θόλο του κολεού, όπου αποσχίζεται στους κλάδους της: α) τον ελικοειδή ανιόντα κύριο κλάδο, ο οποίος πορεύεται παράλληλα προς τα πλάγια χείλη της μήτρας, χορηγώντας κλάδους στο σώμα και, στη συνέχεια, αναστομώνεται με την ωοθηκική αρτηρία και β) τον κατιόντα κολεϊκό κλάδο για τον τράχηλο και το τοίχωμα του κολεού. Η ελίκωση των αγγείων επιτρέπει την κινητικότητα της μήτρας. Οι φλέβες σχηματίζουν ευρέα πλέγματα γύρω από το σώμα και τον τράχηλο της μήτρας και τον κολεό και

εκβάλλουν στην έσω λαγόνια φλέβα. Τα λεμφαγγεία εκβάλλουν στα λεμφογάγγλια που βρίσκονται κατά μήκος της κοινής λαγόνιας αρτηρίας και στα λεμφογάγγλια των τοιχωμάτων της πυέλου.

Η νεύρωση της μήτρας πραγματοποιείται μέσω απαγωγών και προσαγωγών ινών του αυτόνομου νευρικού συστήματος και, συγκεκριμένα, από κλάδους του μητροκολεϊκού πλέγματος. Το γάγγλιο του Frankenhäuser είναι το μεγαλύτερο από τα νευρικά γάγγλια του πλέγματος. Οι συμπαθητικές ίνες προέρχονται από τα κατώτερα θωρακικά και τα ανώτερα οσφυϊκά νευροτόμια (Θ10-01), ενώ οι παρασυμπαθητικές ίνες από τα ιερά νευροτόμια (I2-4).

Σχετική βιβλιογραφία: [Berek 1998], [Kahle 1985], [Snell 2009]

Ιστολογία

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η μήτρα διαιρείται σε τρία τμήματα: τον πυθμένα, το σώμα και τον τραχήλο. Ενώ ο πυθμένας και το σώμα έχουν την ίδια ιστολογική δομή, η δομή του τραχήλου είναι διαφορετική. Η εξωτερική επιφάνεια της ενδοκολεϊκής μοίρας του τραχήλου ονομάζεται εξωτράχηλος και καλύπτεται από μη κερατινοποιημένο, πολύστιβο, πλακώδες επιθήλιο, που συνέχεια με αυτό των κολπικών θόλων. Όπως και στο επιθήλιο του κόλπου, έτσι και στο εξωτραχηλικό επιθήλιο τα κύτταρα είναι πλούσια σε γλυκογόνο στην αναπαραγωγική ηλικία και υφίστανται κυκλικές μεταβολές στη διάρκεια του έμμηνου κύκλου, κάτω από την επίδραση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης. Πριν την εμμηναρχή και μετά την εμμηνόπαυση, το επιθήλιο έχει λιγότερες στιβάδες και είναι πολύ λεπτότερο, ενώ τα κύτταρά του περιέχουν λιγότερο γλυκογόνο και είναι σχετικώς μικρά.

Ο ενδοτραχηλικός σωλήνας επενδύεται από μονόστιβο, υψηλό κυλινδρικό, βλεννο-εκκριτικό επιθήλιο. Μέσα στο στρώμα του τραχήλου εκτείνονται πολυάριθμες βαθιές εγκολπώσεις του επιφανειακού επιθηλίου. Έτσι, παρατηρείται μία εκτεταμένη επιφάνεια για την παραγωγή της τραχηλικής βλέννης, η οποία γεμίζει τον

ενδοτραχηλικό αυλό. Πριν την εφηβεία και μετά την εμμηνόπαυση, το ποσό της τραχηλικής βλέννης ελαττώνεται σε μεγάλο βαθμό.

Η βλέννη, κατά τη διάρκεια της σεξουαλικής επαφής, συνεισφέρει στη λίπανση του κόλπου, αλλά συγχρόνως δρα και ως προστατευτικός φραγμός, εμποδίζοντας την είσοδο βακτηριδίων στην ενδομητρική κοιλότητα. Η μεταφορά της ενδοτραχηλικής βλέννης στον αυλό του κόλπου διευκολύνεται από τα λίγα κροσσωτά, κυλινδρικά, επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία βρίσκονται διασκορπισμένα ανάμεσα στα βλεννοεκκριτικά ενδοτραχηλικά κύτταρα, ειδικά στο εσωτερικό άκρο, κοντά στη συμβολή με το ενδομήτριο.

Η πλακώδης-κυλινδρική συμβολή του τραχήλου (ζώνη μετάπτωσης) αποτελεί το σημείο όπου το κυλινδρικό επιθήλιο του ενδοτραχηλικού σωλήνα συναντάται με το πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου. Αυτή η περιοχή του τραχηλικού επιθηλίου είναι η πιο πιθανή θέση ανάπτυξης διάφορων παθολογικών αλλοιώσεων.

Αρχικά στο έμβρυο, η συμβολή του πλακώδους και του κυλινδρικού επιθηλίου βρίσκεται στην περιοχή του έξω στομίου, αλλά η ακριβής θέση της, κατά τη γέννηση, φαίνεται ότι επηρεάζεται από την ενδομήτρια (in utero) δράση των ορμονών της μητέρας. Κατά την εφηβεία, η ορμονική επίδραση μπορεί να οδηγήσει στην επέκταση του

κυλινδρικού επιθηλίου προς τον εξωτράχηλο, με αποτέλεσμα το σχηματισμό του εκτροπίου ή της τραχηλικής διάβρωσης, γεγονός που ενισχύεται από την πρώτη εγκυμοσύνη.

Πριν την εφηβεία, το pH του κόλπου και του τραχήλου είναι αλκαλικό, αλλά στη συνέχεια, η βακτηριακή διάσπαση του γλυκογόνου του κολπικού και τραχηλικού πλακώδους επιθηλίου δημιουργεί ένα όξινο περιβάλλον με pH περίπου 3. Η έκθεση του ευαίσθητου κυλινδρικού επιθηλίου του εκτροπίου στο μετεφηβικό όξινο περιβάλλον του κόλπου επάγει την πλακώδη μετάπλαση και τη δημιουργία μιας ζώνης μετάπτωσης – αντί του σημείου συμβολής – του ενδοτραχηλικού κυλινδρικού προς το εξωτραχηλικό πλακώδες επιθήλιο. Για τον λόγο αυτό, η πλακώδης-κυλινδρική συμβολή έχει ποικίλο μέγεθος, η θέση της όμως είναι κοντά στο έξω στόμιο. Στις μεγαλύτερες γυναίκες είναι πιθανό το σημείο της συμβολής να βρεθεί μέσα στον ενδοτραχηλικό σωλήνα. Η ζώνη μετάπτωσης αποτελείται από νέο πλακώδες επιθήλιο, το οποίο εντοπίζεται στην περιοχή όπου πριν υπήρχε κυλινδρικό επιθήλιο.

Μια σχεδόν σταθερή συνέπεια της πλακώδους μετάπλασης κοντά στο έξω στόμιο είναι η απόφραξη του αυλού μερικών ενδοτραχηλικών αδένων, με επακόλουθο η βλέννη που παράγεται μέσα στις κρύπτες να μην μπορεί να απεκκριθεί. Η βλέννη συσσωρεύεται και συμπυκνώνεται

στις αποφραγμένες σχισμές, με συνέπεια τη διάταση και τη δημιουργία σφαιρικών κύστεων. Αυτοί οι κυστικοί σχηματισμοί καλύπτονται από πεπλατυσμένα, ενδοτραχηλικά, βλεννο-εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα και ονομάζονται θυλάκια του Naboth. Άλλη συνέπεια των επιθηλιακών μεταβολών είναι η ανάπτυξη αλλοιώσεων, οι οποίες σταδιακά μπορούν να οδηγήσουν σε καρκίνωμα.

Σχετική βιβλιογραφία: [Stevens 2008]

Ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papilloma Virus)

Έχει, πλέον, τεκμηριωθεί η ισχυρή αιτιολογική σχέση που υπάρχει μεταξύ του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) και της ανάπτυξης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Από επιδημιολογικής άποψης, η σχέση αυτή είναι μοναδική, αφού είναι η ισχυρότερη που έχει προσδιοριστεί ποτέ για αιτιολογικό παράγοντα καρκίνου και είναι ανεξάρτητη από την ομάδα του πληθυσμού που ελέγχεται, από το σχεδιασμό των μελετών και από την εφαρμοζόμενη μεθοδολογία δειγματοληψίας και ανίχνευσης του HPV.

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ένας από τους συχνότερους καρκίνους και, παρά τη δραματική μείωση της συχνότητάς του με την εφαρμογή του τεστ Παπανικολάου, παραμένει ο τέταρτος σε συχνότητα καρκίνος στις γυναίκες στην Ελλάδα και παγκοσμίως.

Υπολογίζεται ότι ετησίως θα αναπτύξουν καρκίνο τραχήλου μήτρας πάνω από 500.000 γυναίκες σε όλο τον κόσμο [Πίνακας 1]. Σημαντική για την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου είναι η χρονίως παραμένουσα λοίμωξη από ορισμένα στελέχη του HPV, τα οποία ονομάζονται υψηλού κινδύνου (hr-HPV). Μέχρι σήμερα, έχει πλήρως προσδιορισθεί η DNA-αλληλουχία 85 γονότυπων του HPV, ενώ

περισσότεροι από 150 νέοι τύποι έχουν μερικώς χαρακτηριστεί. Η πορεία της HPV-λοίμωξης είναι μακρά για να οδηγήσει στη δημιουργία υψηλόβαθμης δυσπλασίας και στη συνέχεια να διηθήσει τη βασική μεμβράνη του επιθηλίου, προκαλώντας κακοήθη νεοπλασία. Ο εκτιμώμενος χρόνος για τις διεργασίες αυτές είναι 10-15 χρόνια.

Πίνακας 1: Καρκίνοι που σχετίζονται με τον HPV στις γυναίκες



Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, στο 90-99% των καρκινωμάτων τραχήλου μήτρας ανιχνεύεται DNA των hr-HPV. Στους hr-HPV ανήκουν οι τύποι 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 και 68, οι οποίοι προκαλούν χαμηλού και υψηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές

αλλοιώσεις πλακώδους επιθηλίου (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion – LSIL και High-grade Squamous Intraepithelial Lesion – HSIL).

Ειδικότερα, ο τύπος 16 είναι ο συχνότερα ανιχνευόμενος τύπος σε τραχηλικούς καρκίνους (55-60%), ακολουθούμενος από τον τύπο 18 (10-15%) [Πίνακας 2 και Σχήμα 1], ενώ σπανιότερα (20% περίπου) ανιχνεύονται οι τύποι 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 και 68. Οι τύποι 6, 11, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 72, 73 και 81 χαρακτηρίζονται ως χαμηλού κινδύνου για ανάπτυξη κακοήθειας (Lr-HPV).

Πίνακας 2: Οι τύποι HPV 16 και 18 είναι οι συχνότεροι στην πρόκληση καρκίνου

	Συμμετοχή HPV στην πρόκληση καρκίνου	Παρουσία HPV +16/+18 στους HPV+ καρκίνους
Καρκίνος τραχήλου μήτρας	100%	70-75%
Καρκίνος πρωκτού	84%	> 80%
Καρκίνος κόλπου	70%	80-90%
Καρκίνος πέους	47%	> 80%
Καρκίνος αιδοίου	40%	> 90%
Καρκίνοι κεφαλής-τραχήλου:		
Καρκίνος στοματοφάρυγγα	28%	> 95%
Καρκίνος λάρυγγα	21%	> 95%
Καρκίνος στόματος	16%	> 95%

Sources : ¹De Vuyst Eur J Cancer 2009; ²De Vuyst Int J Cancer 2009; ³Miralles-Guri J Clin Pathol 2009; ⁴Kraemer Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003; ⁵von Krogh Eur J Dermatol 2001

Σχήμα 1: HPV-τύποι που σχετίζονται με την ανάπτυξη καρκίνου τραχήλου μήτρας στην Ευρώπη



Σε έναν μεγάλο αριθμό γυναικών, οι λοιμώξεις από χαμηλού κινδύνου υπότυπους του HPV είναι ασυμπτωματικές. Μπορεί, όμως, να προκαλέσουν ορατές αλλοιώσεις στον τράχηλο, το αιδοίο και τον πρωκτό. Οι βλάβες αυτές περιλαμβάνουν τα κονδυλώματα, τα οποία μπορεί να είναι επίπεδα, μονήρη ή συρρέοντα, μεγάλα ή μικρά και, σε σοβαρότερες περιπτώσεις, μπορεί να είναι εξωφυτικά [Εικόνα 1].

Εικόνα 1: Αιδοϊκή και κολπική νόσος που οφείλεται στον HPV

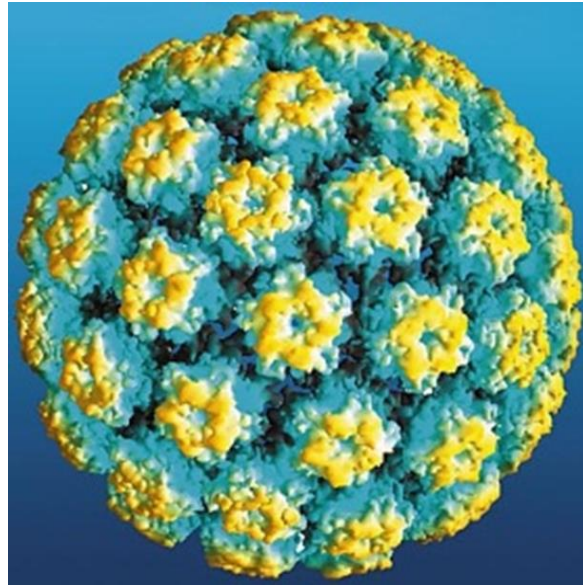
- Οι καρκίνοι του αιδοίου και του κόλπου είναι λιγότερο συχνοί από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, όμως ευθύνονται για το 6% των γυναικολογικών καρκίνων
- Σχεδόν όλες οι περιπτώσεις στις νέες γυναίκες είναι σχετιζόμενες με τον HPV
- Η θεραπεία των βλαβών VIN και VaIN μπορεί να είναι ακρωτηριαστική και να προκαλέσει άγχος, κατάθλιψη, σεξουαλική δυσλειτουργία και άσχημη εικόνα εαυτού
- Δεν υπάρχουν προγράμματα ανίχνευσης των αιδοϊκών και κολπικών κακοηθειών
- Οι βλάβες VIN_{2/3} και VaIN_{2/3} είναι πρόδρομα στάδια των HPV σχετιζόμενων διηθητικών καρκίνων σε αυτές τις περιοχές, και συνεπώς μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως τελικά σημεία στις κλινικές μελέτες ενός HPV εμβολίου



Jouma EA et al. Lancet 2007; 369: 1693-1702

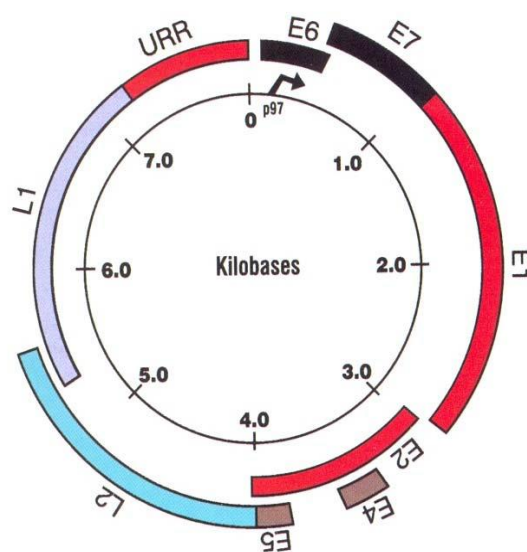
Οι ιοί των ανθρωπίνων θηλωμάτων είναι μικροί DNA-ιοί μήκους 8kb (8.000 νουκλεοτίδια) και διαμέτρου 52-55nm. Αποτελούνται από ομοιοπολικά κλειστό, κυκλικό, δίκλωνο DNA, το οποίο περιβάλλεται από εικοσαεδρικό πρωτεϊνικό καψίδιο με 72 καψομερίδια. Κάθε καψομερίδιο αποτελείται από τις δύο δομικές πρωτεΐνες του ιού, τη μείζονα (L1), με μοριακό βάρος 55kDa, που αποτελεί το 80% της συνολικής πρωτεϊνικής μάζας και την ελάσσονα (L2), με μοριακό βάρος 70kDa. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο εμφανίζεται η διάταξη των καψομεριδίων σε 12 πενταμερή και 60 εξαμερή σύνολα [Εικόνα 2].

Εικόνα 2: Το καψίδιο του HPV όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο



Το ικό γονιδίωμα διαιρείται λειτουργικά σε 3 περιοχές: την πρώιμη (early), που περιλαμβάνει τα γονίδια E1, E2, E4, E5, E6 και E7, την όψιμη (late), που περιλαμβάνει τα γονίδια L1 και L2 και τη μη κωδικοποιημένη ρυθμιστική περιοχή LCR ή URR (Long Control Region – LCR ή Upstream Regulatory Region – URR) [Εικόνα 3, Πίνακας 3].

Εικόνα 3: Γενωμική οργάνωση του καψιδίου του HPV



Πίνακας 3: Λειτουργικές περιοχές του ιικού HPV γονιδιώματος

Γονίδια	Λειτουργική δραστηριότητα
E1	Αντιγραφή του DNA, διατήρηση επισώματος, μεταγραφική καταστολή
E2	Αντιγραφή του DNA (με το E1), έλεγχος μεταγραφής
E4	Καθορισμός τροπισμού των διαφόρων HPV τύπων ως προς τα κύτταρα και τους ιστούς, αλληλεπίδραση με κυτταροκερατίνες, ωρίμανση ιών
E5	Ικανότητα μετασχηματισμού (πρώιμα στάδια εξαλλαγής), αλληλεπίδραση με τον EGF και την 16K της ATPάσης
E6 & E7	Ικανότητα μετασχηματισμού (κύριες πρωτεΐνες), δημιουργία συμπλόκων με τις κυτταρικές πρωτεΐνες p53 (E6) και pRb (E7), εξαλλαγή κυττάρων, διατήρηση κακοήθους φαινοτύπου, έλεγχος μεταγραφής
L1	Κύρια πρωτεΐνη του καψιδίου των ώριμων ιικών σωματιδίων
L2	Πρωτεΐνη του καψιδίου, σταθεροποίηση της δομής του καψιδίου

Ο HPV παρουσιάζει επιθηλιοτροπισμό, δηλαδή έχει την τάση να προσβάλλει τα κύτταρα του πολύστιβου πλακώδους επιθηλίου. Συγκεκριμένα, προσβάλλει τα κύτταρα της βασικής μεμβράνης, τα οποία εκτίθενται στον ιό ως αποτέλεσμα μικροτραυματισμών του επιθηλίου.

Στις καλοήθειες και προ-καρκινωμάτωδεις αλλοιώσεις από τον HPV, το DNA του ιού είναι ελεύθερο (εκτός χρωμοσωμιακού υλικού) σε κυκλική μορφή (επίσωμα). Σε επιμένουσες λοιμώξεις, ο ιικός γονότυπος ενσωματώνεται στο DNA του ξενιστή, οδηγώντας σε μη ελεγχόμενη

έκφραση των γονιδίων E6 και E7, τα πρωτεϊνικά προϊόντα των οποίων αδρανοποιούν τις πρωτεΐνες των ογκοκατασταλτικών γονιδίων p53 και pRb αντίστοιχα. Η ενσωμάτωση αυτή είναι περισσότερο έκδηλη στις περιπτώσεις λοιμώξεων με υψηλού κινδύνου ιούς που προκαλούν υψηλόβαθμες δυσπλασίες και, στη συνέχεια, τραχηλικό καρκίνο, αφού στα χαμηλού κινδύνου ιικά στελέχη η χημική συγγένεια των πρωτεϊνών E6 και E7 για τις πρωτεΐνες p53 και pRb είναι πολύ χαμηλή.

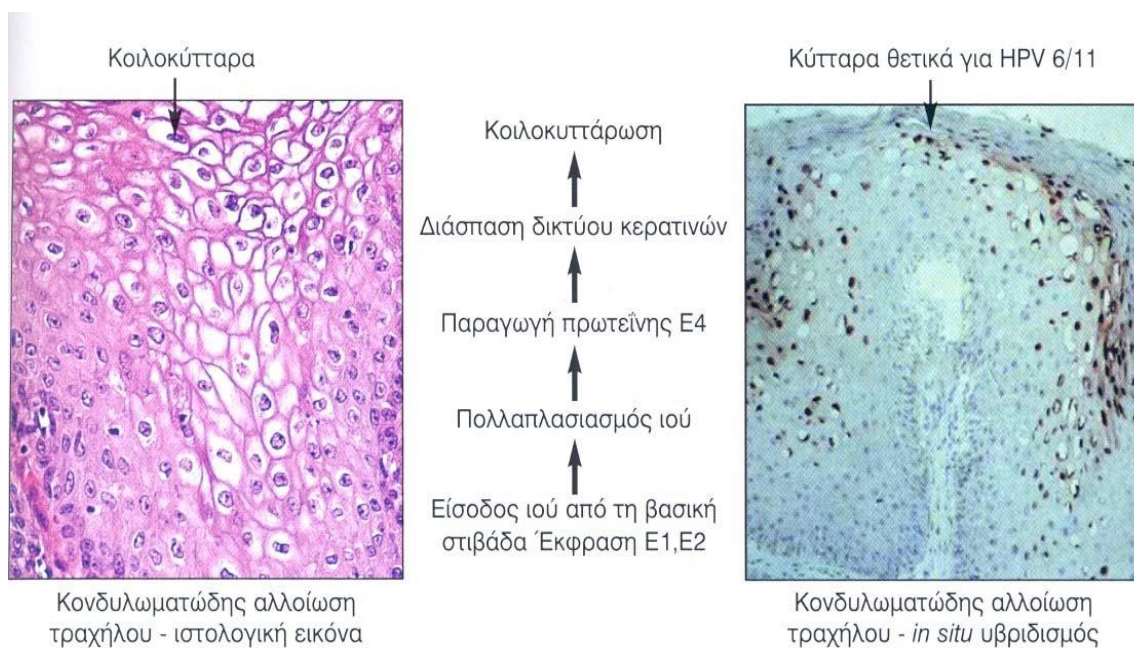
Το γονιδίωμα του HPV έχει όλες τις πληροφορίες για να αναδιπλασιαστεί και να συνθέσει τις πρωτεΐνες του. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι δομικές και λειτουργικές. Οι πρώτες είναι απαραίτητες για την αναπαραγωγή της ιικής κάψας και οι δεύτερες για τη σύνθεση και τον αναδιπλασιασμό του ιικού σωματιδίου. Ο HPV δεν μπορεί να πολλαπλασιαστεί εκτός των κυττάρων, λόγω απουσίας ριβοσωματίων και κυτταρικής πρωτεϊνικής σύνθεσης. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιεί τον γενετικό μηχανισμό του κυττάρου-ξενιστή, προκειμένου να πολλαπλασιαστεί.

Σχετική βιβλιογραφία: [Doorbar 2005], [Moody 2010], [Stanley 2007]

Κυτταρολογία τραχήλου μήτρας οφειλόμενη στην HPV-λοίμωξη

Τα επιθηλιακά κύτταρα του τραχήλου που προσβάλλονται από τον HPV, παρουσιάζουν αρχικά μια ιδιαίτερη μορφολογία, η οποία χαρακτηρίζεται από πυκνοχρωματικό πυρήνα και διαυγές κυτταρόπλασμα. Αυτή η εικόνα των επιθηλιακών κυττάρων είναι αποτέλεσμα της διάσπασης των κερατινών του κυτταροπλάσματος στα κύτταρα του πλακώδους επιθηλίου. Η διεργασία αυτή χαρακτηρίζεται ως κοιλοκυττάρωση, γνωστή επίσης και ως κοιλοκυτταρική ατυπία και αποτελεί απόδειξη πολλαπλασιασμού του HPV και έναρξη της ιικής λοίμωξης [Εικόνα 4].

Εικόνα 4: Διαδικασία κοιλοκυττάρωσης των επιθηλιακών κυττάρων του τραχήλου από την ενεργό δράση και τον πολλαπλασιασμό του HPV



Το κοιλοκύτταρο είναι ένα επιπολής ή διάμεσο, ώριμο, πλακώδες κύτταρο, το οποίο χαρακτηρίζεται από σαφώς περιγεγραμμένη περιπυρηνική, διαυγή περιοχή (άλω), πυκνό και ανώμαλα κερατινοποιημένο κυτταρόπλασμα και μεγάλο πυρήνα με κυματοειδή πυρηνική μεμβράνη και διαταραχή της χρωματίνης. Ενδέχεται να είναι διπύρρηνο ή πολυπύρρηνο.

Με βάση το Σύστημα Bethesda, οι αλλοιώσεις του πολύστιβου πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου που οφείλονται στον ιό HPV, ταξινομούνται στις εξής κατηγορίες:

ASC-US (Atypical squamous cells of undetermined significance ~ Άτυπα πλακώδη κύτταρα απροσδιόριστης σημασίας)

ASC-H (Atypical squamous cells – cannot exclude HSIL ~ Άτυπα πλακώδη κύτταρα – δεν μπορεί να αποκλειστεί η ύπαρξη υψηλόβαθμης πλακώδους ενδοεπιθηλιακής αλλοίωσης)

LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesion ~ Χαμηλόβαθμη πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση)

HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesion ~ Υψηλόβαθμη πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση)

SCC (Squamous cell carcinoma ~ Καρκίνωμα πλακώδους επιθηλίου)

Παθολογική ανατομική τραχήλου μήτρας οφειλόμενη στην HPV-λοίμωξη

Οι αλλοιώσεις που οφείλονται στην HPV-λοίμωξη εντοπίζονται συνηθέστερα στη ζώνη μετάπτωσης του κυλινδρικού επιθηλίου του ενδοτραχήλου σε πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο. Η ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία του τραχήλου της μήτρας αποτελεί μία σειρά ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων που ξεκινάει από ελάχιστη ατυπία, η οποία εξελίσσεται, μέσω εντονότερων ενδοεπιθηλιακών βλαβών, σε διήθητικό καρκίνωμα εκ πλακώδους επιθηλίου. Η δυσπλασία του τραχηλικού επιθηλίου δυνητικά μπορεί να καταλήξει σε κακοήθη εξαλλαγή. Το καρκίνωμα *in situ* αναφέρεται σε μία κακοήθη εξαλλαγή που προσβάλλει ολόκληρο το πάχος του πλακώδους επιθηλίου, ωστόσο παραμένει περιορισμένη σε αυτό, χωρίς διήθηση του υποκείμενου στρώματος. Ο όρος «τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN)» δίνει έμφαση στο γεγονός ότι η δυσπλασία και το καρκίνωμα *in situ* αποτελούν σταθμούς στην εξέλιξη μίας νόσου, παρά ξεχωριστές οντότητες.

CIN1 (ήπια δυσπλασία): Οι εντονότερες αλλοιώσεις παρατηρούνται στο κατώτερο τριτημόριο του επιθηλίου. Τα κύτταρα με άτυπους πυρήνες μεταναστεύουν προς την επιφάνεια, απ' όπου αποπίπτουν.

Έτσι τα κύτταρα αυτά ανιχνεύονται στα επιχρίσματα του τεστ Παπανικολάου.

CIN2 (μέτρια δυσπλασία): Οι περισσότερες κυτταρικές αλλοιώσεις παρατηρούνται στο κατώτερο και μεσαίο τριτημόριο του επιθηλίου.

CIN3 (σοβαρή δυσπλασία ή καρκίνωμα in situ): Τα παθολογικά κύτταρα καταλαμβάνουν διάχυτα περισσότερο από τα 2/3 του επιθηλίου (σοβαρή δυσπλασία), ή εμφανίζονται ως καρκίνωμα in situ που προσβάλλει όλες τις στιβάδες. Η κυτταρική διαφοροποίηση είναι ελάχιστη σε ασθενείς με CIN3.

Το μικροδιηθητικό καρκίνωμα εκ πλακώδους επιθηλίου αποτελεί ένα πρώιμο στάδιο στο φάσμα του καρκίνου του τραχήλου και χαρακτηρίζεται από ελάχιστη διήθηση του στρώματος από νεοπλασματικά κύτταρα. Σχεδόν το 7% των βιοψιών που αφαιρούνται για καρκίνωμα in situ, εμφανίζουν εστίες μικροδιηθητικού καρκίνου. Μικρές αθροίσεις κυττάρων μέσα στο στρώμα εμφανίζουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- Διήθηση σε βάθος <3mm κάτω από τη βασική μεμβράνη
- Απουσία αγγειακής διήθησης
- Απουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων

Το διηθητικό καρκίνωμα εκ πλακώδους επιθηλίου (ακανθοκυτταρικό) εμφανίζεται μακροσκοπικά ως μία κοκκιώδης, διαβρωμένη αλλοίωση χωρίς σαφή όρια ή ως μία οζώδης εξωφυτική μάζα. Κατά τη μικροσκοπική εξέταση, η πλειονότητα των όγκων αποτελείται από συμπαγείς αθροίσεις (φωλιές) μεγάλων καρκινικών κυττάρων, τα οποία διαφοροποιούνται προς πλακώδη. Κατά τόπους υπάρχουν μεμονωμένα καρκινικά κύτταρα που εμφανίζουν κερατινοποίηση. Οι περισσότεροι από τους υπόλοιπους όγκους εμφανίζουν φωλιές κερατινοποιημένων κυττάρων, τα οποία είναι οργανωμένα σε συγκεντρικούς, στροβιλοειδείς σχηματισμούς, στο κέντρο των οποίων διακρίνεται κερατίνη.

Η σταδιοποίηση του καρκίνου του τραχήλου βασίζεται στην κλινική και στην παθολογοανατομική εκτίμηση. Ο καρκίνος του τραχήλου σταδίου **I** περιορίζεται αυστηρά και μόνο στον τράχηλο. Ο καρκίνος σταδίου **II** εκτείνεται εκτός τραχήλου, χωρίς να φτάνει το πυελικό τοίχωμα. Είναι δυνατόν να διηθεί τον κόλπο, όχι όμως το κατώτερο τριτημόριο αυτού. Ο καρκίνος σταδίου **III** μπορεί να εκτείνεται στο πυελικό τοίχωμα και να διηθεί το κατώτερο τριτημόριο του κόλπου, ενώ καρκίνος σταδίου **IV** σημαίνει διήθηση πέραν του γεννητικού συστήματος, οπότε το νεόπλασμα δύναται να

καταλαμβάνει τα γειτονικά όργανα, όπως τον βλεννογόνο της ουροδόχου κύστης ή του ορθού.

Η διήθηση των παρα-αορτικών λεμφαδένων συνεπάγεται πάντοτε κακή πρόγνωση, ενώ ο βαθμός διαφοροποίησης του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος είναι επίσης σημαντικός προγνωστικός παράγοντας.

Σχετική βιβλιογραφία: [Rubin 2010], [Underwood 2012]

Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, διάφορες τεχνικές τεχνητής νοημοσύνης και, πιο συγκεκριμένα, νευρωνικών δικτύων έχουν χρησιμοποιηθεί για την επίλυση προβλημάτων ταξινόμησης στη διαγνωστική κυτταρολογία. Αρκετοί ερευνητές θεωρούν πως τα νευρωνικά δίκτυα είναι δυνατόν να αυξήσουν τη διαγνωστική ακρίβεια και την ταχύτητα της διάγνωσης. Ειδικότερα, κατά τη διαδικασία της αναλυτικής και ποσοτικής κυτταρολογικής προσέγγισης είναι δυνατόν να προκύψουν ποικίλα τεχνικά προβλήματα.

Σύμφωνα με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας, σε κάθε πρόβλημα ταξινόμησης, ειδικότερα με τη βοήθεια υπολογιστών, υπάρχουν τρία σημαντικά βήματα προκειμένου να επιτευχθεί η κατάταξη:

- **Βήμα 1^ο: Καθορισμός του προβλήματος.** Σε αυτό το βήμα, καθορίζεται ποιο είναι το πρόβλημα ταξινόμησης. Συχνά, το πρόβλημα είναι να εντοπίσουμε σε ποιες κατηγορίες ανήκουν συγκεκριμένα αντικείμενα – κυτταρικοί πυρήνες στην περίπτωσή μας. Συνεπώς, σε αυτή την ειδικότερη περίπτωση είναι απαραίτητο να καθοριστούν και οι διακριτές κατηγορίες, στις οποίες κατατάσσονται οι διαφορετικοί πυρήνες.

- **Βήμα 2^ο: Καθορισμός των χαρακτηριστικών (features).** Μετά τον καθορισμό των κατηγοριών, απαραίτητο βήμα είναι ο καθορισμός εκείνων των χαρακτηριστικών που θα χρησιμοποιηθούν για την ταξινόμηση. Είναι επιθυμητό, σε κάθε περίπτωση, αυτά τα χαρακτηριστικά να είναι μετρημένα με αντικειμενικό τρόπο και, ειδικότερα, να μπορούν να εκφραστούν με τη μορφή αριθμητικών στοιχείων. Συχνά, σε αυτό το στάδιο είναι επιθυμητό να εντοπιστούν εκείνα τα χαρακτηριστικά που διαφοροποιούνται από τη μια κατηγορία στην άλλη. Τέτοια χαρακτηριστικά είναι δυνατόν να μην είναι διαχωρίσιμα από τις ανθρώπινες αισθήσεις (sub-visual). Προκειμένου να εντοπιστούν τέτοια χαρακτηριστικά, πραγματοποιούνται στο ερευνητικό πρωτόκολλο μετρήσεις μιας πληθώρας χαρακτηριστικών, πολλά από τα οποία πιθανόν να αποδειχτεί στην μετέπειτα επεξεργασία πως δεν είναι σημαντικά.
- **Βήμα 3^ο: Επιλογή της μεθόδου ταξινόμησης, εφαρμογή των ταξινομητών και αξιολόγησή τους.** Υπάρχει μια πληθώρα ταξινομητών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Αυτοί συμπεριλαμβάνουν νευρωνικά δίκτυα, στατιστικούς ταξινομητές και εν γένει διάφορα μαθηματικά μοντέλα, εκ των οποίων όλα παρουσιάζουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα σε διαφορετικό

βαθμό το κάθε ένα. Η επιλογή της μεθόδου ταξινόμησης είναι συνάρτηση της φύσης του προβλήματος, αλλά και του ερευνητικού πρωτοκόλλου. Σε αυτό το στάδιο, συνήθως χωρίζουμε τα δεδομένα σε δύο ομάδες: η πρώτη (ονομάζεται και σύνολο ή ομάδα προπαρασκευής ή σύνολο/ομάδα προπαρασκευής) χρησιμοποιείται για την παραγωγή του ταξινομητή ή του μοντέλου ταξινόμησης (εναλλακτικά, στην περίπτωση των νευρωνικών δικτύων για την προπαρασκευή/εκπαίδευσή τους) και η δεύτερη ομάδα (σύνολο ή ομάδα δοκιμών ή σύνολο/ομάδα ελέγχου) χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των ταξινομητών, όσον αφορά στις επιδόσεις τους.

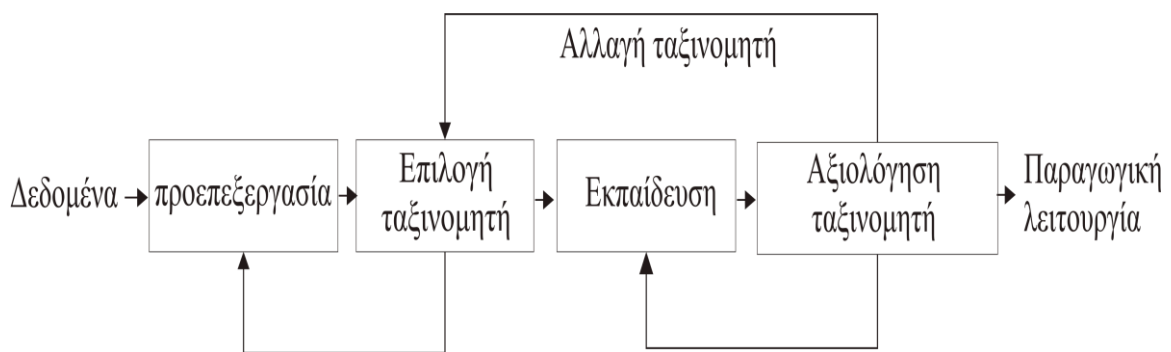
Συχνά παρουσιάζονται εξαιρέσεις στα προηγούμενα βήματα. Ως παράδειγμα είναι η περίπτωση που οι κατηγορίες είναι ήδη γνωστές, ενώ είναι διαθέσιμα δεδομένα, συνοδευόμενα και από μετρήσεις, παρόλα αυτά δεν είναι γνωστή η κατηγορία στην οποία ανήκουν. Σε αυτή την περίπτωση, η επιλογή που έχουμε είναι η εφαρμογή του τρίτου βήματος και η χρήση μιας από τις τεχνικές που δεν είναι εποπτευόμενες (unsupervised), π.χ. νευρωνικά δίκτυα τύπου Self Organizing Maps. Τέτοιου είδους νευρωνικά δίκτυα έχουν την ικανότητα να εντοπίζουν τις ομάδες στις οποίες ανήκουν τα δεδομένα και να τις απεικονίζουν σε δισδιάστατους χάρτες (πίνακες). Στη

συνέχεια, είναι ευθύνη του εκπαιδευτή του δικτύου να βαθμονομήσει τις ομάδες που εντοπίστηκαν.

Τα βήματα για τη δημιουργία ενός συστήματος λήψης απόφασης παρουσιάζονται στο Σχήμα 2. Τα δεδομένα υφίστανται αρχικά μια προεπεξεργασία, η οποία συνήθως αποτελείται από την αφαίρεση των δεδομένων που δεν είναι ολοκληρωμένα, την κανονικοποίησή τους, ώστε όλα τα χαρακτηριστικά να θεωρούνται πως είναι ισοδύναμα κατά την ταξινόμηση και τον χωρισμό τους στο σύνολο προπαρασκευής και ελέγχου. Ακολουθεί η επιλογή του ταξινομητή, η οποία είναι συνάρτηση του προβλήματος που απαιτείται να επιλυθεί, π.χ. δίκτυα του τύπου οπισθοδρομικής διάδοσης του σφάλματος είναι ιδανικά για την προσέγγιση συνεχών συναρτήσεων, ενώ δίκτυα του τύπου LVQ είναι προτιμότερα για την επίλυση προβλημάτων clustering/ομαδοποίησης. Ανάλογα με τον επιλεγμένο ταξινομητή, είναι δυνατόν να απαιτηθεί και νέα προ-επεξεργασία κυρίως στο στάδιο την κανονικοποίησης, π.χ. στα νευρωνικά δίκτυα οπισθοδρομικής διάδοσης του σφάλματος, η μέγιστη και ελάχιστη τιμή των δεδομένων εξαρτάται από την επιλεγμένη σιγμοειδή συνάρτηση. Το επόμενο βήμα είναι η προπαρασκευή του ταξινομητή με τη βοήθεια του συνόλου προπαρασκευής και, στη συνέχεια, η αξιολόγηση του ταξινομητή με τη βοήθεια του συνόλου δοκιμών.

Σε περίπτωση που δεν επιτυγχάνονται ικανοποιητικά αποτελέσματα, είναι δυνατόν να επαναληφθεί η προπαρασκευή με ταυτόχρονη αλλαγή των παραμέτρων του ταξινομητή (συντονισμός) ή ακόμα και με αλλαγή του ίδιου του ταξινομητή. Μετά από τις απαραίτητες επαναλήψεις μέχρι να επιτευχθούν ικανοποιητικά αποτελέσματα και τον τελικό συντονισμό του ταξινομητή, το σύστημα λήψης απόφασης έχει πλέον εκπαιδευτεί και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μια παραγωγική λειτουργία.

Σχήμα 2: Διαδικασία δημιουργίας συστήματος λήψης απόφασης



Στην ειδικότερη περίπτωση των ιστολογικών και κυτταρολογικών προβλημάτων, οι κατηγορίες είναι προκαθορισμένες από τις νόσους ή καταστάσεις που επιθυμούμε να διαχωρίσουμε σε συνάρτηση με το κάθε όργανο του ανθρώπινου σώματος.

Σχετική βιβλιογραφία: [Astion 1992], [Cochand-Priollet 2006], [Dawson 1991], [Dytch 1990], [Karakitsos 1996], [Karakitsos 1997], [Karakitsos

1998], [Karakitsos 1999], [Karakitsos 2000], [Karakitsos 2002],
[Karakitsos 2004], [Karakitsos 2005], [Kohonen 1995], [Koutroumbas
2006], [Mahony 2005], [Markopoulos 1997], [Megalopoulou 2006],
[Moallemi 1991], [Pantazopoulos 1998], [Rosenthal 1994], [Truong
1995], [Wolberg 1990].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Φορείς που συμμετείχαν και Βιοηθική

Ήταν μία πολυκεντρική μελέτη, στην οποία συμμετείχαν τα εξής ιατρικά τμήματα: η Γ' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, το Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας και το Β' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (όλα ευρισκόμενα στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν»), η Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και η Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Η μελέτη εγκρίθηκε από τα συμβούλια δεοντολογίας των Πανεπιστημιακών Νοσοκομείων και οι συμμετέχουσες γυναίκες υπέγραψαν έντυπο συγκατάθεσης (ICON), για να επιτρέψουν τη χρήση των επιδημιολογικών δεδομένων και των δεδομένων από τις διαγνωστικές και επικουρικές δοκιμασίες.

Συλλογή του δείγματος

Η συλλογή του δείγματος πραγματοποιήθηκε, ως επί το πλείστον, με τη χρήση συσκευής τύπου Broom και, σε ορισμένες περιπτώσεις, με

ξύλινη σπάτουλα του Ayre σε συνδυασμό με ενδοτραχηλική ψήκτρα. Στην πρώτη περίπτωση, η συσκευή τοποθετήθηκε στο έξω τραχηλικό στόμιο και περιστράφηκε επί της περιφέρειας του τραχηλικού στομίου 5 φορές επί 360°. Στην περίπτωση της κλασικής συσκευής, η σπάτουλα τοποθετήθηκε με τη μακρύτερη κεφαλή εντός του έξω τραχηλικού στομίου και περιστράφηκε κατά 360°, ενώ ακολούθησε η εισαγωγή της ψήκτρας εντός του ενδοτραχήλου και η περιστροφή της κατά 180°.

Σε κάθε περίπτωση, ακολούθησε έκπλυση της συσκευής λήψης στο μονιμοποιητικό υλικό του φιαλιδίου. Για το σύστημα ThinPrep TP2000®, το συντηρητικό υλικό μονιμοποίησης και μεταφοράς των κυττάρων του τραχηλικού δείγματος στο φιαλίδιο συλλογής PreservCyt® είναι το Cytolyt®, το οποίο βασίζεται στη μεθανόλη και περιέχει επίσης βλεννολυτικούς και αιμολυτικούς παράγοντες. Για τη συσκευή Broom, η συσκευή εμβυθίστηκε στο φιαλίδιο πιεστικά, ώστε να ανοίξουν οι ίνες επί του πυθμένα και περιστράφηκε με αντίθετη φορά από τη φορά λήψης. Στη συνέχεια, επιστρώθηκε και το όποιο υλικό παρέμεινε στη συσκευή επί των τοιχωμάτων του φιαλιδίου. Ακολούθησε το κλείσιμο του πώματος και επιπλέον ελαφρά ανάδευση του φιαλιδίου, με μέριμνα να φτάσει το υγρό έως το πώμα και να παρασύρει κάθε κύτταρο. Η σπάτουλα και η ψήκτρα εμβυθίστηκαν στο υλικό του φιαλιδίου διαδοχικά και περιστράφηκαν κυκλικά. Μετά το

κλείσιμο του πώματος, το φιαλίδιο αναδεύτηκε ελαφρά. Τα φιαλίδια μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας για περαιτέρω επεξεργασία.

Επεξεργασία του δείγματος

Το φιαλίδιο μεταφέρθηκε σε αναδευτήρα και ακολούθησε φυγοκέντρηση. Η διαδικασία επαναλήφθηκε δύο (2) φορές. Από το ίζημα των κυττάρων ελήφθη ικανή ποσότητα κυττάρων για την εξαγωγή DNA, RNA και πρωτεϊνών. Το υλικό μεταφέρθηκε σε συντηρητικό υγρό PreservCyt® (Cytoc, Η.Π.Α.), το οποίο βασίζεται στη μεθανόλη και χρησιμοποιεί μια απλή διαδικασία προετοιμασίας του υλικού με ελεγχόμενη μεταφορά μέσω μεμβράνης, χωρίς άλλα απαιτούμενα στάδια προετοιμασίας.

Το φιαλίδιο PreservCyt® μεταφέρθηκε σε κατάλληλο επεξεργαστή (TP2000, Cytoc, Η.Π.Α.), στον οποίο πραγματοποιήθηκε αυτοματοποιημένη επίστρωση πλακιδίου ThinPrep®. Με τη βοήθεια ειδικού λογισμικού του επεξεργαστή επιτυγχάνεται η ρύθμιση της διέλευσης των κυττάρων μέσω φίλτρου και η επίστρωση των κυττάρων του δείγματος σε λεπτή, μονοεπίπεδη στιβάδα, στην ειδική αντικειμενοφόρο πλάκα.

Χρώση πλακιδίων κατά Παπανικολάου

Στα πλακίδια που παρασκευάστηκαν με τη ThinPrep® τεχνική, ακολούθησε χρώση κατά Παπανικολάου για να τεθεί η κυτταρολογική διάγνωση. Τα στάδια που ακολουθήθηκαν ήταν:

1. Ενυδάτωση των πλακιδίων για 10 δευτερόλεπτα 10 φορές σε αιθανόλη 80°, 70°, 60° με απεσταγμένο νερό (dH₂O)
2. Χρώση με αιματοξυλίνη Harris (Merck, Γερμανία) για 5 λεπτά
3. Έκπλυση με τρεχούμενο νερό βρύσης για 5 λεπτά
4. Έκπλυση με 10 εμβαπτίσεις σε απεσταγμένο νερό dH₂O
5. Διαφοροποίηση με 0,25% v/v αραιωμένου HCl 37,5% με 3 εμβαπτίσεις των 10 δευτερολέπτων
6. Έκπλυση με 10 εμβαπτίσεις σε απεσταγμένο νερό dH₂O
7. Αφυδάτωση των πλακιδίων με 10 εμβαπτίσεις των 10 δευτερολέπτων σε αιθανόλη 50°, 70°, 80° και 96°
8. Χρώση με Orange-G (Merck, Γερμανία) για 5 λεπτά
9. Έκπλυση με 95° αιθανόλη εις διπλούν
10. Χρώση με EA50 (Merck, Γερμανία) για 5 λεπτά

11. Αφυδάτωση των πλακιδίων με 10 εμβαπτίσεις των 10 δευτερολέπτων σε αιθανόλη 50°, 70°, 80°, 96°, 100°, μίγμα 100% αιθανόλης με ξυλόλη σε αναλογία 1:1 v/v και ξυλόλη εις διπλούν.

Η κάλυψη των πλακιδίων έγινε με οργανικό μέσο DPX (1-3-δισαιθυλ-8-φαινυλο-ξανθίνη) (BHD, Ην. Βασίλειο).

Κυτταρολογική διάγνωση

Όλες οι κυτταρολογικές και επικουρικές εξετάσεις βασίστηκαν σε υλικό κυτταρολογίας υγρής φάσης (ThinPrep - LBC), που ελήφθη πριν από την κολποσκοπική εξέταση. Τα επιχρίσματα παρασκευάστηκαν για κυτταρολογική εξέταση και το υπόλοιπο υλικό στο φιαλίδιο του ThinPrep χρησιμοποιήθηκε για επιπρόσθετη αξιολόγηση βιοδεικτών, σχετιζόμενων με τον κύκλο ζωής του HPV.

Η κυτταρολογική διάγνωση ετέθη από έμπειρο κυτταρολόγο στα πλακίδια που εχρώσθησαν κατά Παπανικολάου. Τα κυτταρολογικά ευρήματα για κάθε γυναίκα διατυπώθηκαν σύμφωνα με το αναθεωρημένο σύστημα ταξινόμησης Bethesda (TBS2001) όσον αφορά την καταλληλότητα και την επάρκεια του δείγματος, τη γενική κατηγοριοποίηση και ερμηνεία του επιχρίσματος και την αναφορά του τελικού αποτελέσματος [Henry 2003], [Smith 2002].

Μοριακές δοκιμασίες

Σχετικά με τους βιοδείκτες, που σχετίζονται με τον κύκλο ζωής του HPV, χρησιμοποιήθηκαν:

1. Το κιτ CLART® HUMAN PAPILLOMAVIRUS 2 (GENOMICA) για την τυποποίηση HPV DNA, με ταυτόχρονη ανίχνευση 36 διαφορετικών γονότυπων του HPV με PCR ενίσχυση τμήματος DNA εντός της υψηλά διατηρημένης περιοχής L1 του ιού [Gomez-Roman 2009].
2. Δοκιμασία NASBA (NucliSENS EasyQ® HPV v1.0) για την ταυτοποίηση του mRNA των γονιδίων E6/E7 των τύπων HPV 16, 18, 31, 33 και 45 [Tyagi 1998].
3. Το κιτ PermiFlow® (Invirion Diagnostics, LLC, Oak Brook, IL) για την αναγνώριση της έκφρασης του mRNA των γονιδίων E6/E7 των HPV ιών υψηλού κινδύνου με τη χρήση κυτταρομετρίας ροής [Narimatsu 2005].
4. Το κυτταρολογικό κιτ CINtec® για την ανίχνευση της ανοσοκυτταροχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p16 [Klaes 2002].

Κάθε βιοδείκτης είναι σημαντικός για συγκεκριμένους λόγους. Το HPV DNA test ανιχνεύει την παρουσία του ιού HPV και η χρησιμοποιούμενη δοκιμασία αναγνωρίζει την παρουσία 35 διαφορετικών υπότυπων HPV, είτε είναι εξαιρετικά ογκογόνοι (π.χ. 16, 18, 31, 33 και 45 μεταξύ άλλων), είτε είναι χαμηλού κινδύνου. Ιδιαίτερα

οι υπότυποι 16 και 18 θεωρούνται οι δύο πιο ογκογόνοι ιοί και είναι υπεύθυνοι για τη μεγάλη πλειοψηφία των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας. Ωστόσο, η HPV-λοίμωξη δεν προκαλεί αναγκαία καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, αφού στην πλειονότητα των περιπτώσεων υποστρέφει από τους μηχανισμούς άμυνας του ανθρώπινου οργανισμού. Μια επίμονη λοίμωξη, σε συνδυασμό με έκπτωση του ανοσοποιητικού συστήματος, επιτρέπει στο ιικό DNA να ενσωματωθεί στο DNA του ξενιστή προκειμένου να πολλαπλασιαστεί και στην περίπτωση αυτή η λοίμωξη γίνεται επικίνδυνη. Αυτή η κατάσταση αναγνωρίζεται από δύο άλλες μοριακές μεθόδους: τη δοκιμασία NASBA, η οποία ανιχνεύει την ενσωμάτωση πέντε εκ των πιο επικίνδυνων υπότυπων υψηλού κινδύνου (16, 18, 31, 33 και 45) και τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής (PermiFlow), η οποία ανιχνεύει την ενσωμάτωση 15 υπότυπων υψηλού κινδύνου. Η δεύτερη μέθοδος δεν μπορεί να ταυτοποιήσει αυτούς τους 15 υπότυπους υψηλού κινδύνου. Αντίθετα, η μεθοδολογία NASBA αναγνωρίζει κάθε υπότυπο, αλλά περιορίζεται μόνο σε πέντε από αυτούς. Εν τέλει, η p16 είναι μία πρωτεΐνη που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και δρα ως παράγοντας που καταστέλλει την ογκογένεση, συμβάλλοντας στην πρόληψη μεγάλου αριθμού καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Η πρωτεΐνη p16

χρησιμοποιείται συνήθως ως βιοδείκτης για τη βελτίωση της ιστολογικής διάγνωσης των περιπτώσεων CIN3 και μπορεί να εφαρμοστεί σε κυτταρολογικό υλικό, όπως σε αυτή τη μελέτη.

Βιοψίες / Golden standard

Το ιστολογικό υλικό ελήφθη κατά τη διάρκεια της κολποσκόπησης ή/και κατά τη διάρκεια της θεραπείας με κωνοειδή εκτομή. Τα ιστολογικά δείγματα που ελήφθησαν, μονιμοποιήθηκαν και παρασκευάστηκαν σύμφωνα με τα καθιερωμένα ιστοπαθολογικά πρωτόκολλα. Η ιστολογική διάγνωση είναι το golden standard και χρησιμοποιήθηκε στοχευμένα για κάθε γυναίκα. Οι κολποσκοπικά κατευθυνόμενες βιοψίες (punch biopsies) πραγματοποιήθηκαν από έμπειρους κολποσκόπους (με εκπαίδευση για περισσότερα από δέκα χρόνια) ως μέρος του πρωτοκόλλου μελέτης. Το σύστημα ταξινόμησης τριών βαθμίδων της τραχηλικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας (CIN) χρησιμοποιήθηκε για την αναφορά της ιστολογικής διάγνωσης. Κλινικά αρνητικές περιπτώσεις συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Αυτές ορίστηκαν ως κλινικά αρνητικές εφόσον η κυτταρολογία, η κολποσκόπηση και το HPV DNA test ήταν αρνητικά. Παρά την έλλειψη ιστολογικών βιοψιών για λόγους βιοηθικής, αυτές οι γυναίκες συμπεριλήφθηκαν και κατατάχθηκαν σε κατηγορία μικρότερη του CIN2.

Στις περιπτώσεις στις οποίες βάσει πρωτοκόλλου (όπως ήδη αναφέρθηκε) κρίθηκε απαραίτητο, ελήφθησαν κολποσκοπικά κατευθυνόμενες βιοψίες (punch biopsies). Το υλικό που ελήφθη από τις λαβίδες βιοψίας, τοποθετήθηκε σε φιαλίδια με τη χρήση φορμόλης ως μονιμοποιητικού μέσου και μεταφέρθηκε στο Β' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Στόχος μας ήταν να ταξινομήσουμε κάθε γυναίκα σε μία από τις ακόλουθες κατηγορίες:

- α) <CIN2, συμπεριλαμβανομένων των ιστολογικά αρνητικών και των CIN1 (συμπεριλαμβανομένων των HPV και των ύποπτων για HPV) περιπτώσεων, καθώς και των κλινικά αρνητικών περιπτώσεων
- β) ≥CIN2, όπου συμπεριλαμβάνονται οι ιστολογικές κατηγορίες CIN2, CIN3, Πλακώδες καρκίνωμα και Αδενοκαρκίνωμα.

Αρχική επεξεργασία των δεδομένων και μορφοποίηση

Για κάθε περιστατικό (γυναίκα που συμμετείχε στη μελέτη) δημιουργήθηκε ένα διάνυσμα (σειρά αριθμών) πλέον των 50 μεταβλητών [Πίνακας 4]. Αυτό συμπεριλάμβανε το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης, που εκφράστηκε σύμφωνα με το σύστημα Bethesda. Τα αποτελέσματα της εξέτασης του HPV DNA εκφράστηκαν ως 35 μεμονωμένες τιμές (θετικές ή αρνητικές), μία για κάθε γονότυπο HPV DNA. Επιπρόσθετα, σε σχέση με τους υπότυπους που εντοπίστηκαν, διερευνήθηκαν άλλες πέντε μεταβλητές: ο συνολικός αριθμός υπότυπων HPV καθώς και, σε δύο ξεχωριστές μεταβλητές, ο αριθμός υπότυπων υψηλού κινδύνου και ο αριθμός των υπότυπων χαμηλού κινδύνου που ανιχνεύτηκαν. Για την τυποποίηση HPV mRNA με δοκιμασία NASBA χρησιμοποιήθηκε το αποτέλεσμα για κάθε τύπο HPV (16, 18, 31, 33 και 45), καθώς και το αποτέλεσμα της τυποποίησης του NASBA mRNA, το οποίο εκφράστηκε ως θετικό ή αρνητικό. Το αποτέλεσμα της κυτταρομετρίας ροής PermiFlow αξιολογήθηκε με δύο μεθόδους: είτε ως ποσοστό είτε ως θετικό ή αρνητικό (η κατώτερη τιμή – cut-off – για να θεωρηθεί ένα αποτέλεσμα θετικό με βάση την κυτταρομετρία ροής ήταν 1,5%). Επιπλέον, συμπεριλήφθηκε το αποτέλεσμα της ανοσοκυτταροχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης p16 (όπως αυτό εκφράζεται σαν θετικό ή αρνητικό).

Πίνακας 4: Οι μεταβλητές που εισήχθησαν για επεξεργασία στο μοντέλο SOM. Συμπεριλαμβάνουν το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης και διάφορες παραμέτρους που σχετίζονται με τις μοριακές δοκιμασίες.

Όνομα μεταβλητής	Περιγραφή	Εύρος τιμών
BETHESDA_VALUE	Το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης εκφράστηκε σύμφωνα με το σύστημα Bethesda 2009 και χαρτογραφήθηκε με αριθμητικές τιμές	WNL → 1, ASCUS → 2, LGSIL → 3, ASC-H → 4, HGSIL → 5, SCC → 6, ADENO-CA → 6 <u>Σημείωση:</u> το SCC και το ADENO-CA χαρτογραφήθηκαν με την ίδια αριθμητική τιμή
HPV DNA Arrays 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	Η παρουσία μεμονωμένων υπότυπων HPV, σύμφωνα με το HPV DNA test (HPV typing)	0 αν ο συγκεκριμένος υπότυπος δεν ανευρίσκεται 1 αν ο συγκεκριμένος υπότυπος ανευρίσκεται <κενό> αν δεν υπάρχει αποτέλεσμα
HR	Θετικό αν ένας ή περισσότεροι υψηλού κινδύνου υπότυποι ανευρεθούν κατά τη διάρκεια της τυποποίησης του HPV	ΘΕΤΙΚΟ, ΑΡΝΗΤΙΚΟ ή ΑΠΟΝ
LR	Θετικό αν ένας ή περισσότεροι χαμηλού κινδύνου υπότυποι ανευρεθούν κατά τη διάρκεια της τυποποίησης του HPV	ΘΕΤΙΚΟ, ΑΡΝΗΤΙΚΟ ή ΑΠΟΝ

No_HR	Ο αριθμός υψηλού κινδύνου υπότυπων που ανευρέθησαν κατά τη διάρκεια της τυποποίησης του HPV	Ακέραιος αριθμός ή ΑΠΟΝ
No_LR	Ο αριθμός χαμηλού κινδύνου υπότυπων που ανευρέθησαν κατά τη διάρκεια της τυποποίησης του HPV	Ακέραιος αριθμός ή ΑΠΟΝ
No_Subtypes	Ο ολικός αριθμός υπότυπων που ανευρέθησαν κατά τη διάρκεια της τυποποίησης του HPV	Ακέραιος αριθμός ή ΑΠΟΝ
NASBA	Το αποτέλεσμα της αναγνώρισης του HPV mRNA, ως θετικό ή αρνητικό (σύμφωνα με την μέθοδο NASBA)	0 εάν είναι αρνητικό, 1 εάν είναι θετικό, <κενό> εάν δεν υπάρχει αποτέλεσμα
N16, N18, N31, N33, N45	Το ειδικό αποτέλεσμα του E6/E7 mRNA test για τον συγκεκριμένο υπότυπο HPV	0 εάν είναι αρνητικό, 1 εάν είναι θετικό, <κενό> εάν δεν υπάρχει αποτέλεσμα
FLOW	Το αποτέλεσμα της αναγνώρισης της έκφρασης του E6/E7 mRNA των υψηλού κινδύνου υπότυπων HPV με τη χρήση της FLOW FISH κυτταρομετρίας ροής	0 εάν είναι αρνητικό (<1,5%), 1 εάν είναι θετικό (>1,5%), <κενό> εάν δεν υπάρχει αποτέλεσμα
FLOW_PERCENTAGE	Το αποτέλεσμα της αναγνώρισης της έκφρασης του E6/E7 mRNA των υψηλού κινδύνου υπότυπων HPV με τη χρήση της FLOW FISH κυτταρομετρίας ροής, ως ποσοστό	Ένας αριθμός ή <κενό> εάν δεν υπάρχει αποτέλεσμα

p16	Το αποτέλεσμα της ανοσοκυτταροχημικής εξέτασης της p16	0 εάν είναι αρνητικό, 1 εάν είναι θετικό, <κενό> εάν δεν υπάρχει αποτέλεσμα
-----	--------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------

Τεχνικές τεχνητής νοημοσύνης και μοντελοποίηση SOM

Ο αυτο-οργανούμενος χάρτης (SOM), ο οποίος συχνά αναφέρεται ως αυτορρυθμιζόμενος χάρτης χαρακτηριστικών (SOFM), είναι ένας τύπος τεχνητού νευρωνικού δικτύου (ΤΝΔ - Artificial Neural Network - ANN) που δεν επιβλέπεται κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης (Kohonen 1982) και εφαρμόζεται ευρέως σε προβλήματα ομαδοποίησης (clustering) και εξόρυξης δεδομένων (data mining). Το SOM παράγει χαρακτηριστικές απεικονίσεις (συνήθως δύο διαστάσεων) των δεδομένων που εισάγονται προς επεξεργασία (δηλαδή τα χαρακτηριστικά εισόδου - διανύσματα εισόδου) των δειγμάτων εκπαίδευσης. Αυτή η δισδιάστατη αναπαράσταση ονομάζεται χάρτης και, επομένως, το SOM εκτελεί κάποιου είδους μείωση των διαστάσεων των δεδομένων. Στο πρόβλημα που διαχειριστήκαμε στη συγκεκριμένη έρευνα, οι διαστάσεις μειώθηκαν από 36 (όσες και οι μεταβλητές/ χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν) σε δύο. Τα δίκτυα SOM διαφέρουν από τα υπόλοιπα ΤΝΔ λόγω των χαρτών, επειδή εφαρμόζουν ανταγωνιστική μάθηση (competitive learning) και, επιπλέον, επειδή δεν

επιτηρούνται (δηλαδή, η κατηγορία στην οποία ανήκουν τα δεδομένα δεν χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης). Αντίθετα, άλλες μεθοδολογίες εκπαίδευσης, δηλαδή οι εποπτευόμενες τεχνικές – όπως ο αλγόριθμος οπισθοδρομικής διάδοσης του σφάλματος – χρησιμοποιούν την πραγματική κατηγορία, δηλαδή την ιστολογική κατηγοριοποίηση σε αυτήν τη μελέτη για την εκπαίδευση του ΤΝΔ.

Η απεικόνιση SOM είναι εξαιρετικά χρήσιμη, καθώς δημιουργεί απεικονίσεις με χαμηλές διαστάσεις σε δεδομένα υψηλών διαστάσεων. Έτσι, τα σημαντικά χαρακτηριστικά είναι εύκολα αναγνωρίσιμα με την επισκόπηση των χαρτών. Τα ΤΝΔ τύπου SOM προτάθηκαν τη δεκαετία του 1980 από τον Teuvo Kohonen και γι' αυτό μερικές φορές καλούνται χάρτες Kohonen ή δίκτυα Kohonen (Kohonen 1988 & 2001). Τα SOMs είναι εξαιρετικά ευέλικτα ΤΝΔ, καθώς αντιπροσωπεύουν αφαιρετικά μοντέλα βιολογικών νευρωνικών συστημάτων.

Το SOM είναι μια μέθοδος αυτόματης ανάλυσης δεδομένων, η οποία σχετίζεται στενά με την κλασική διανυσματική κβαντοποίηση (Learning Vector Quantization) (Kohonen 1988). Τα SOM αντιπροσωπεύουν τα παρεχόμενα δεδομένα εισόδου (σε αυτήν τη μελέτη, οι μετρήσεις) [Πίνακας 6] με αυτοματοποιημένο τρόπο, χρησιμοποιώντας κόμβους σε ένα πλέγμα (ονομάζεται χάρτης και είναι δύο διαστάσεων σε αυτήν τη μελέτη), με τρόπο που οι κόμβοι

γειτνιάζουν με άλλους κόμβους που αντιπροσωπεύουν παρόμοια δεδομένα. Οι κόμβοι που αντιπροσωπεύουν παρόμοια δεδομένα είναι γειτονικά στο πλέγμα, ενώ λιγότερο όμοια δεδομένα βρίσκονται απομακρυσμένα στον χάρτη. Αυτή η τοπογραφική οργάνωση στους χάρτες καθιστά δυνατή την οπτική κατανόηση των σχέσεων των δεδομένων εισόδου, ειδικά όταν πρόκειται για περίπτωση πολλών διαστάσεων (σε αυτήν τη μελέτη υπάρχουν περίπου 50 διαφορετικές παράμετροι) [Πίνακας 4]. Κατά τη διάρκεια της φάσης εκπαίδευσης, οι κόμβοι του χάρτη ρυθμίζονται κατά τέτοιο τρόπο, ώστε παρόμοιες παράμετροι να συγκεντρώνονται σύμφωνα με τις κατηγορίες στις οποίες ανήκουν (σε αυτήν τη μελέτη, σύμφωνα με το golden standard ιστολογίας: \geq CIN2 ή $<$ CIN2). Η διαδικασία αυτή ονομάζεται calibration και δεν θεωρείται μέρος της φάσης εκπαίδευσης. Η αντιστοίχιση των κόμβων σε κατηγορίες συνήθως εκτελείται με μέθοδο πλειοψηφίας, π.χ. στην περίπτωσή μας, ένας κόμβος έχει εκχωρηθεί στην κατηγορία \geq CIN2 (σημειώνεται με ένα σύμβολο «+») όταν η πλειονότητα των μετρήσεων που αντιστοιχούν σε αυτόν τον κόμβο ανήκουν στην κατηγορία \geq CIN2. Το τελευταίο βήμα είναι η λειτουργία SOM για την ταξινόμηση δεδομένων. Για τον σκοπό αυτό, ένα άγνωστο περιστατικό (όπως αντιπροσωπεύεται με τη μορφή διανύσματος) τροφοδοτείται στον χάρτη και, στη συνέχεια, ταξινομείται σύμφωνα με τον κόμβο που

είναι παρόμοιος. Η ομοιότητα υπολογίζεται χρησιμοποιώντας μία μέτρηση όπως η Ευκλείδεια απόσταση (Kohonen 2013). Τέλος, η αξιολόγηση της επίδοσης της τεχνικής αυτής καθορίζεται με βάση κλασικές μεθόδους, όπως αναλύονται στον επόμενο πίνακα [Πίνακας 5].

Πίνακας 5: Οι δείκτες που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της απόδοσης του ΤΝΔ. Η ευαισθησία και η ειδικότητα αποτελούν τους ευρύτερα χρησιμοποιούμενους δείκτες στην ιατρική.

Δείκτης Απόδοσης	Εξίσωση	Περιγραφή
Αληθώς Θετικό (TP)	Καμία, είναι ο αριθμός των περιστατικών	Το περιστατικό θεωρείται ως TP εάν αναγνωρίζεται ως Θετικό από την εφαρμοζόμενη μέθοδο και είναι πράγματι Θετικό
Αληθώς Αρνητικό (TN)	Καμία, είναι ο αριθμός των περιστατικών	Το περιστατικό θεωρείται ως TN εάν αναγνωρίζεται ως Αρνητικό από την εφαρμοζόμενη μέθοδο και είναι πράγματι Αρνητικό
Ψευδώς Θετικό (FP)	Καμία, είναι ο αριθμός των περιστατικών	Το περιστατικό θεωρείται ως FP εάν αναγνωρίζεται ως Θετικό από την εφαρμοζόμενη μέθοδο και είναι πράγματι Αρνητικό
Ψευδώς Αρνητικό (FN)	Καμία, είναι ο αριθμός των περιστατικών	Το περιστατικό θεωρείται ως FN εάν αναγνωρίζεται ως Αρνητικό από την εφαρμοζόμενη μέθοδο και είναι πράγματι Θετικό

Ευαισθησία ή Ποσοστό Αληθώς Θετικών (TPR)	Ευαισθησία = $TP/P = TP/(TP+FN)$	Μετράει το ποσοστό των Θετικών που είναι σωστά αναγνωρισμένα ως Θετικά
Ειδικότητα ή Ποσοστό Αληθώς Αρνητικών (TNR)	Ειδικότητα = $TN/N = TN/(TN+FP)$	Μετράει το ποσοστό των Αρνητικών που είναι σωστά αναγνωρισμένα ως Αρνητικά
Θετική Προγνωστική Αξία (PPV)	$PPV = TP/(TP+FP)$	Το ποσοστό των Θετικών Αποτελεσμάτων που είναι πράγματι Θετικά
Αρνητική Προγνωστική Αξία (NPV)	$NPV = TN/(TN+FN)$	Το ποσοστό των Αρνητικών Αποτελεσμάτων που είναι πράγματι Αρνητικά
Ψευδώς Θετικό Ποσοστό (FPR) ή fall-out ή Ποσοστό false alarm	$FPR = FP/N = FP/(TN+FP)$ $= 1 - \text{Ειδικότητα} = 1 - \text{TNR}$	Η αναλογία μεταξύ του αριθμού των αρνητικών ευρημάτων που έχουν λανθασμένα κατηγοριοποιηθεί ως Θετικά (Ψευδώς Θετικά) και του ολικού αριθμού των πραγματικών Αρνητικών ευρημάτων. Η πιθανότητα της λανθασμένης εκτίμησης μιας περίπτωσης ως Θετική. Είναι το αποτέλεσμα που δείχνει ότι μια δεδομένη κατάσταση υπάρχει, ενώ στην πραγματικότητα δεν υπάρχει.
Ψευδώς Αρνητικό Ποσοστό (FNR)	$FNR = FN/P = FN/(TP+FN)$ $= 1 - \text{Ευαισθησία} = 1 - \text{TPR}$	Η αναλογία μεταξύ του αριθμού των Θετικών ευρημάτων που έχουν λανθασμένα κατηγοριοποιηθεί ως Αρνητικά (Ψευδώς Αρνητικά) και του ολικού αριθμού των πραγματικών Θετικών ευρημάτων. Η πιθανότητα της λανθασμένης εκτίμησης μιας περίπτωσης ως Αρνητική.

<p>Συνολική Ακρίβεια ή Ακρίβεια (OA)</p>	<p>OA = $(TP+TN)/(TP+TN+FP+FN)$ = $(TP+TN)/(P+N)$</p>	<p>Μέτρηση που υποδηλώνει το ποσοστό επιτυχίας μίας μεθόδου.</p>
------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------

Αποτελέσματα

Συνολικά, υπήρχαν διαθέσιμα στοιχεία από 1258 γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη. Η συσχέτιση του κυτταρολογικού αποτελέσματος με την ιστολογική διάγνωση αναλύεται στον επόμενο πίνακα [Πίνακας 6].

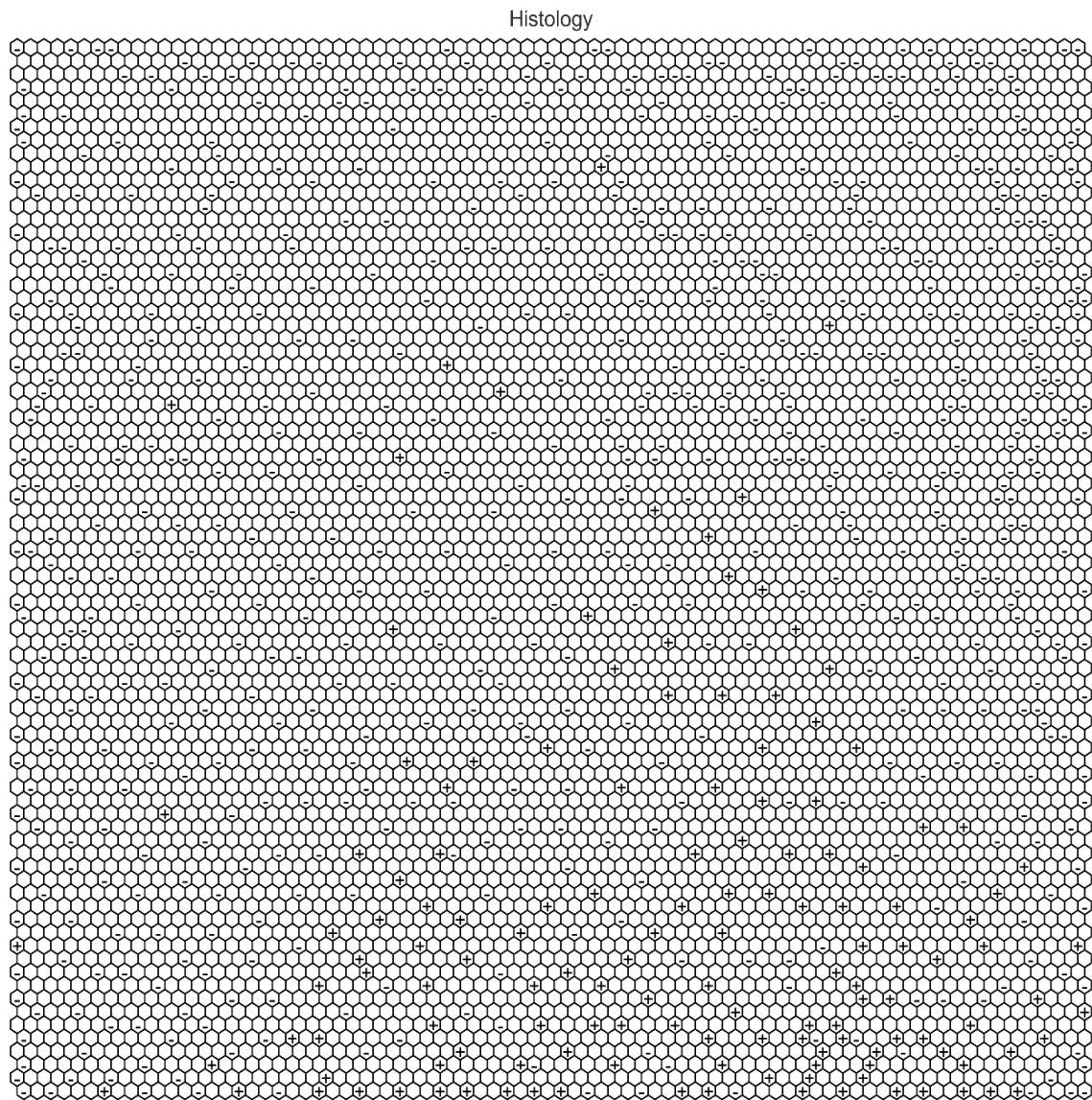
Πίνακας 6: Συσχέτιση κυτταρολογικής και ιστολογικής διάγνωσης των περιστατικών που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη

		Αποτέλεσμα ιστολογικής εξέτασης									
		ADENO-CA	SCC	CIN-3	CIN-2	CIN-1	HPV	HPV-SUSPECT	NEGATIVE	CN*	ΣΥΝΟΛΟ
Κυτταρολογική διάγνωση κατά BETHESDA	ADENO-CA	6	1	0	0	0	0	0*	0	0	7
	SCC	1	6	0	0	0	0	0	0	0	7
	HGSIL	0	8	45	42	15	2	0	7	0	119
	ASC-H	0	1	1	2	0	2	0	3	0	9
	LGSIL	1	0	7	17	64	46	12	24	0	171
	ASCUS	1	0	3	9	29	26	6	18	0	92
	WNL	0	0	1	3	16	8	4	36	785	853
ΣΥΝΟΛΟ	9	16	57	73	124	84	22	88	785	1258	

* CN - Clinically Negative: Περιστατικά που θεωρήθηκαν ιστολογικώς αρνητικά, παρότι δεν υπήρχε αποτέλεσμα βιοψίας. Αυτά τα περιστατικά είχαν αρνητικά αποτελέσματα κυτταρολογικής εξέτασης και τυποποίησης HPV για κάποιον από τους υπότυπους υψηλού κινδύνου.

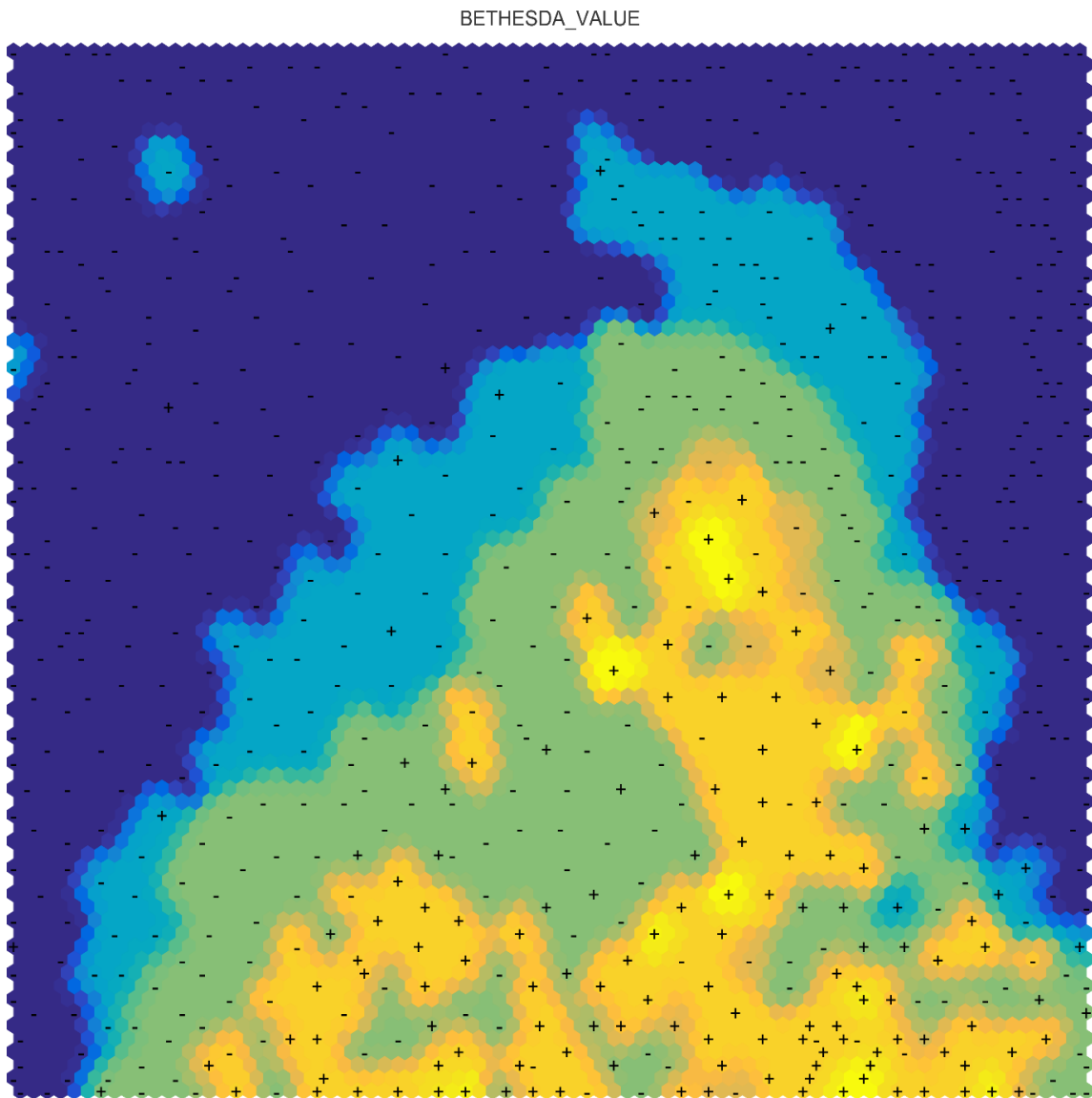
Το ΤΝΔ της μελέτης είχε διαστάσεις 80x80 (συνολικά 640 κόμβοι/νευρώνες) και χρησιμοποιήθηκε μία εξαγωνική δομή. Όπως ήδη αναφέρθηκε – και δεδομένου ότι το δίκτυο είναι μη επιβλεπόμενο – μετά την εκπαίδευση οι κόμβοι βαθμονομήθηκαν, ώστε να ανήκουν σε μία από τις δύο ιστολογικές κατηγορίες ($<CIN2$ και $\geq CIN2$, στην πρώτη κατηγορία χρησιμοποιήθηκε το σύμβολο «-» και στη δεύτερη το σύμβολο «+»). Επιπλέον, ορισμένοι κόμβοι δεν αποδόθηκαν σε κάποια κατηγορία. Όπως ήδη αναφέρθηκε, η βαθμονόμηση των κόμβων έγινε με διαδικασία «ψηφοφορίας» (voting ή majority logic). Η μορφή του χάρτη, μετά τη βαθμονόμηση, παρουσιάζεται στο επόμενο σχήμα [Εικόνα 5], στο οποίο οι κόμβοι που αποδόθηκαν στην κατηγορία $\geq CIN2$ (+) είναι συγκεντρωμένοι κυρίως κάτω και δεξιά.

Εικόνα 5: *SOM* με τους κόμβους να παραπέμπουν σε μία από τις δύο ιστολογικές κατηγορίες, \geq CIN2 (σύμβολο «+»), $<$ CIN2 (σύμβολο «-») ή σε καμία κατηγορία (κενό)



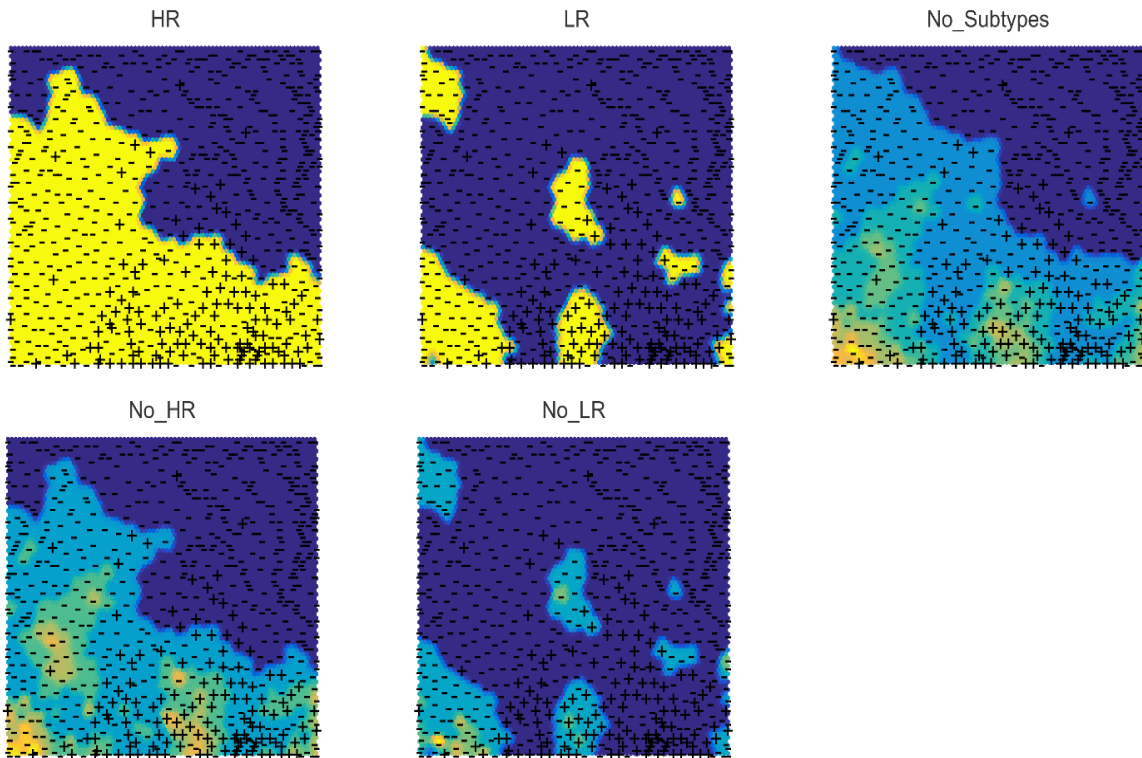
Το αποτέλεσμα την κυτταρολογικής εξέτασης, όταν υπερτίθεται (παρουσιάζεται ταυτόχρονα) στον βαθμονομημένο χάρτη SOM [Εικόνα 5], απεικονίζεται στη συνέχεια [Εικόνα 6]. Σε αυτόν το χάρτη, το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης έχει αποδοθεί με αριθμητικές τιμές, ξεκινώντας από 1 για τα αρνητικά αποτελέσματα και αυξάνεται όσο αυξάνει ο βαθμός κακοήθειας (βλ. Πίνακας 4 με τις τιμές που χρησιμοποιήθηκαν για την αντιστοίχιση της κυτταρολογικής διάγνωσης σε αριθμούς). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε και χρωματική κωδικοποίηση: μπλε χρώμα για τα περιστατικά που είναι κυτταρολογικώς αρνητικά, πράσινο για τις χαμηλόβαθμες αλλοιώσεις (LGSIL) και κίτρινο, πορτοκαλί και κόκκινο χρώμα για τις υψηλόβαθμες αλλοιώσεις (ASC-H, HGSIL) και τους καρκίνους (δεδομένου ότι τα περιστατικά με καρκίνο ήταν ελάχιστα, δεν απεικονίζονται στο χάρτη). Με βάση τη συγκεκριμένη απεικόνιση, είναι σαφές ότι τα περιστατικά που είναι κυτταρολογικά σε υψηλότερο βαθμό, είναι συγκεντρωμένα κάτω δεξιά, όπου ταυτόχρονα ο χάρτης είναι βαθμονομημένος σύμφωνα με το ιστολογικό αποτέλεσμα σαν \geq CIN2 (σύμβολο «+»).

Εικόνα 6: SOM με χρωματική κωδικοποίηση, σύμφωνα με το αποτέλεσμα της κυτταρολογικής εξέτασης και με υπόβαθρο τη βαθμονόμηση των κόμβων, σύμφωνα με την ιστολογική διάγνωση: \geq CIN2 (+), $<$ CIN2 (-)



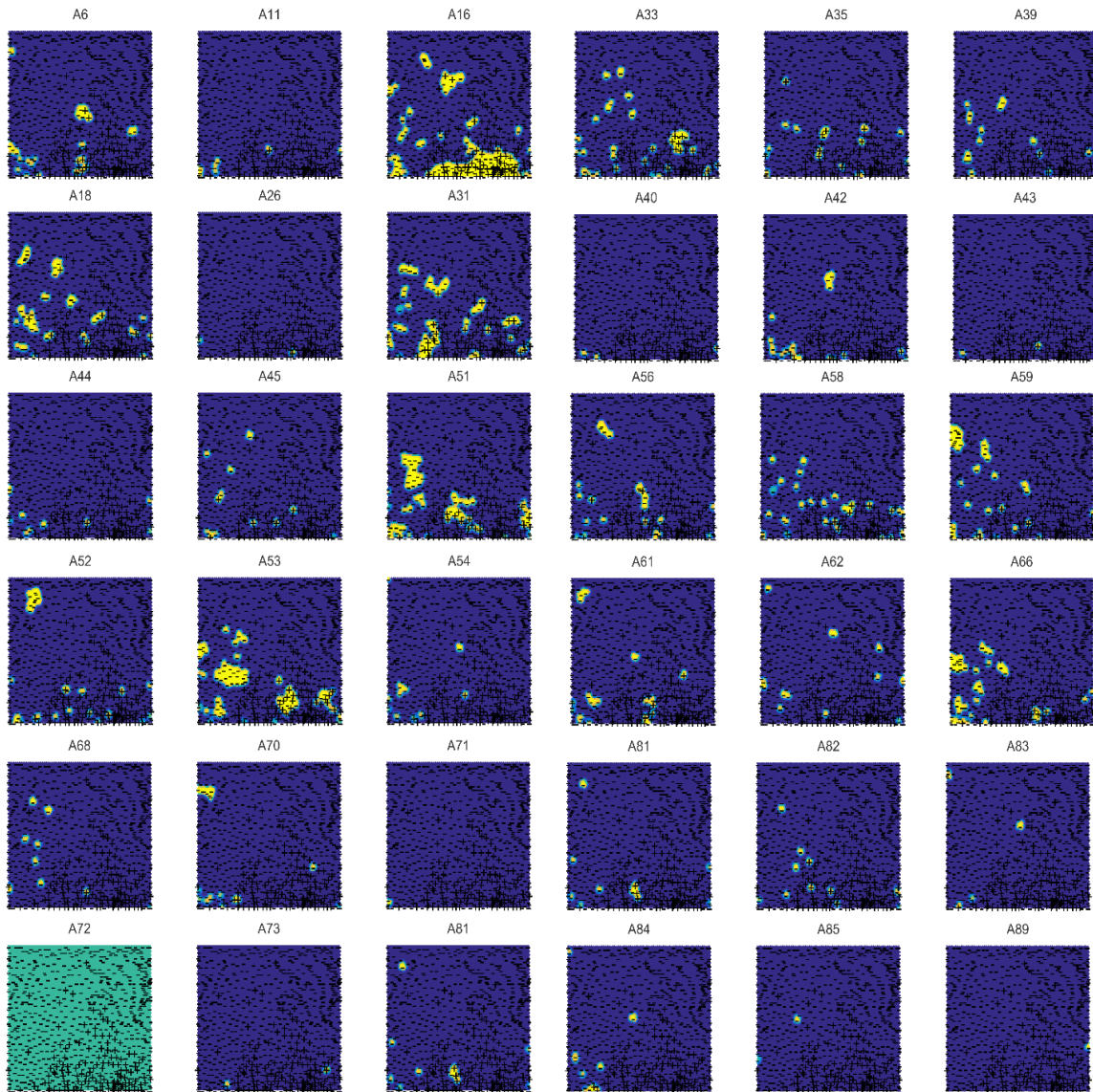
Στην Εικόνα 7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της τυποποίησης HPV, ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι υπότυπων υψηλού κινδύνου (HR – high risk), χαμηλού κινδύνου (LR – low risk), αλλά και αντίστοιχα με το πλήθος των υπότυπων που ανιχνεύθηκαν. Από αυτούς τους τοπογραφικούς χάρτες, είναι προφανές πως η ύπαρξη υπότυπων υψηλού κινδύνου (με κίτρινο χρώμα) είναι ισχυρά συσχετισμένη με ιστολογικό αποτέλεσμα \geq CIN2, αφού καταλαμβάνουν την ίδια περιοχή στον χάρτη (κάτω δεξιά), αλλά δεν έχουμε παρόμοια αντιστοίχιση με τους υπότυπους χαμηλού κινδύνου, ούτε και με το πλήθος των υπότυπων χαμηλού κινδύνου, ενώ κάποια αντιστοίχιση φαίνεται να υπάρχει με το πλήθος υπότυπων υψηλού κινδύνου, καθώς και με το συνολικό πλήθος υπότυπων. Από τον χάρτη με τους υπότυπους χαμηλού κινδύνου φαίνεται καθαρά μια περιοχή συσχετισμένη με ιστολογικό αποτέλεσμα \geq CIN2, γεγονός που πιθανώς να προΐδεάζει για υπότυπους που τώρα θεωρούνται χαμηλού κινδύνου, αλλά στην πραγματικότητα να πρόκειται για υψηλού κινδύνου. Το συγκεκριμένο αντικείμενο δεν είναι μέρος της μελέτης, αλλά πιθανόν να χρήζει επιπλέον διερεύνησης στο μέλλον.

Εικόνα 7: Χάρτες SOM με χρωματική κωδικοποίηση στους κόμβους, σύμφωνα με (από αριστερά προς τα δεξιά, από πάνω προς τα κάτω): την ύπαρξη ή όχι υψηλού κινδύνου HPV DNA, την ύπαρξη ή όχι χαμηλού κινδύνου HPV DNA, το συνολικό πλήθος των ανιχνευθέντων υπότυπων HPV, το πλήθος των ανιχνευθέντων υπότυπων HPV υψηλού κινδύνου και το πλήθος των ανιχνευθέντων υπότυπων HPV χαμηλού κινδύνου



Στην επόμενη εικόνα [Εικόνα 8] παρουσιάζονται οι χάρτες για καθέναν διαφορετικό υπότυπο, τον οποίο τυποποιεί η τεχνική που εφαρμόστηκε (CLART-2). Από τις οπτικές αναπαραστάσεις, είναι σαφές πως οι περισσότεροι υπότυποι δεν σχετίζονται με υψηλόβαθμες αλλοιώσεις, ενώ φαίνεται πως υπάρχει κάποιου βαθμού συσχέτιση με τους υπότυπους που είναι ήδη γνωστό ότι σχετίζονται με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Συγκεκριμένα, ο υπότυπος 16 συνυπάρχει σε σημαντικό βαθμό με αλλοιώσεις \geq CIN2, ενώ οι υπότυποι 18, 31, 33, 35, 45, 51, 53 και 85 φαίνεται να έχουν μια μικρότερη συσχέτιση και, συνεπώς, να χρήζουν πιο εμπειριστατωμένης διερεύνησης. Τέλος, η μορφή του χάρτη για τον υπότυπο 72 οφείλεται στο γεγονός ότι δεν ανιχνεύθηκε κανένα τέτοιο περιστατικό στη μελέτη μας.

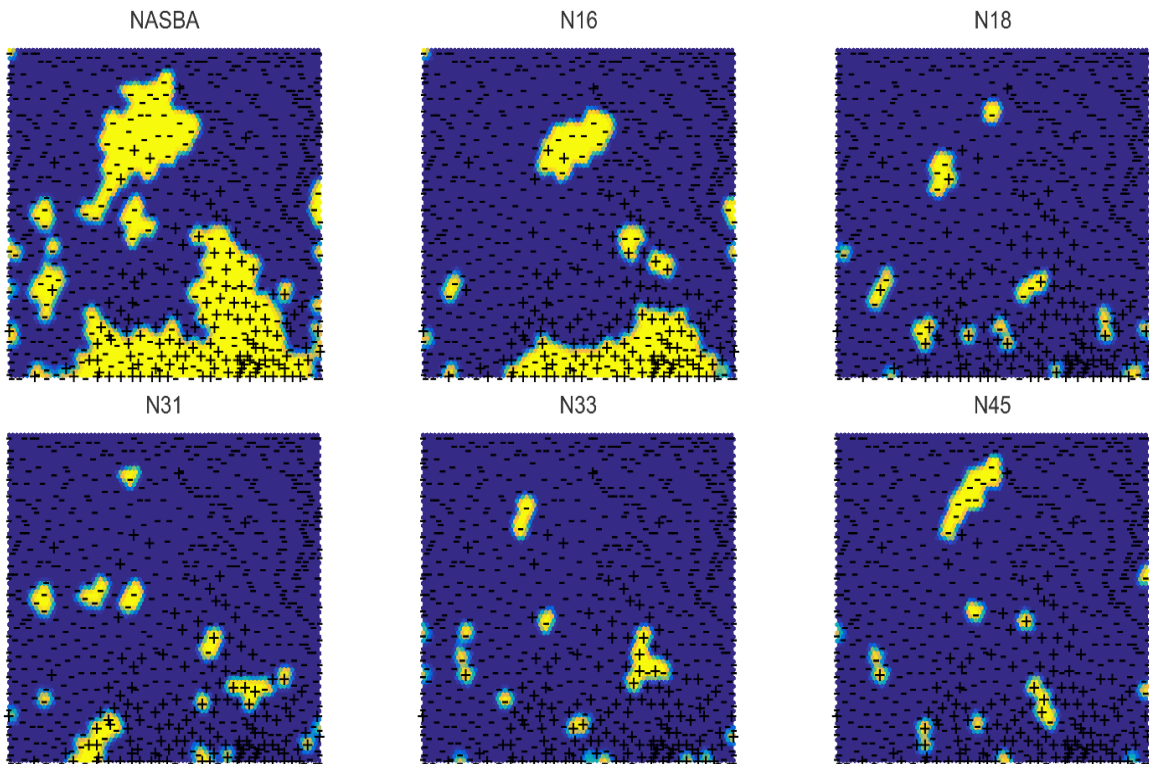
Εικόνα 8: Χάρτες SOM για τους 36 διαφορετικούς υπότυπους (καθέναν ξεχωριστά) που ανιχνεύει το τεστ CLART-2



Οι τελευταίοι χάρτες της ανάλυσης αφορούν στην ανίχνευση HPV mRNA, όπως αυτή πραγματοποιήθηκε με τη δοκιμασία NASBA [Εικόνα 9] και με κυτταρομετρία ροής [Εικόνα 10 αριστερά και στη μέση], καθώς και στην ύπαρξη της πρωτεΐνης p16 [Εικόνα 10 δεξιά],

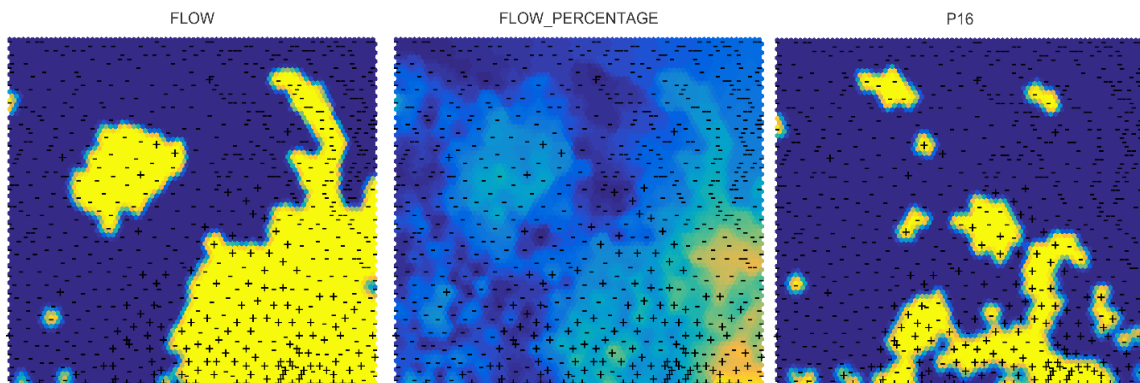
Όπως είναι αναμενόμενο, η τεχνική NASBA έχει παρόμοια αποτελέσματα με την τυποποίηση DNA του HPV. Μάλιστα, κάνοντας σύγκριση με την Εικόνα 8 για τον HPV-16 DNA, οι δύο χάρτες έχουν παρόμοια τοπογραφική διάταξη. Αυτό το γεγονός είναι σε συνάφεια με τη βιβλιογραφία, η οποία και καταδεικνύει τον HPV-16 ως τον πλέον ογκογόνο υπότυπο.

Εικόνα 9: Χάρτες SOM με βαθμονόμηση σύμφωνα με το ιστολογικό αποτέλεσμα και χρωματική κωδικοποίηση για το HPV mRNA, όπως εκτιμήθηκε με την τεχνική NASBA (πάνω αριστερά, αποτέλεσμα ανίχνευσης για όλους τους υπότυπους, εκφρασμένο σαν θετικό ή αρνητικό – υπόλοιπες εικόνες για κάθε υπότυπο ξεχωριστά)



Παρόμοια αποτελέσματα έχουμε για την κυτταρομετρία ροής, η οποία ανιχνεύει την ύπαρξη υπότυπων υψηλού κινδύνου, αλλά και για την πρωτεΐνη p16, όπου φαίνεται πως η θετικότητα στην πρωτεΐνη σχετίζεται με την ύπαρξη υψηλόβαθμων αλλοιώσεων. Η αριθμητική έκφραση για το HPV mRNA, όπως αυτή προκύπτει από την κυτταρομετρία ροής, χρήζει επιπλέον διερεύνησης.

Εικόνα 10: Χάρτες SOM με βαθμονόμηση σύμφωνα με το ιστολογικό αποτέλεσμα και χρωματική κωδικοποίηση για το HPV mRNA, όπως εκτιμήθηκε με κυτταρομετρία ροής (αριστερά και στο κέντρο) και για την πρωτεΐνη p16 (δεξιά)



Αφού ολοκληρώθηκε η εκπαίδευση του TND SOM και στη συνέχεια βαθμονομήθηκε, το επόμενο βήμα ήταν η ανάλυση της απόδοσής του. Για τον σκοπό αυτό, οι 1258 περιπτώσεις που υπήρχαν διαθέσιμες [Πίνακας 6], τροφοδοτήθηκαν στο δίκτυο και ταξινομήθηκαν ως $<CIN2$ ή $\geq CIN2$.

Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον επόμενο πίνακα [Πίνακας 7]. Πιο συγκεκριμένα, το TND SOM ταξινόμησε ορθά 149 από τις 155 περιπτώσεις γυναικών με αλλοιώσεις $\geq CIN2$ και 1101 από τις 1103 περιπτώσεις $<CIN2$. Οι δείκτες απόδοσης (όπως υπολογίστηκαν με βάση τις μαθηματικές συναρτήσεις) [Πίνακας 5] του τελικού συστήματος ήταν: Ευαισθησία = 96,13%, Ειδικότητα = 99,82%, Προγνωστική αξία θετικού αποτελέσματος = 98,68%, Προγνωστική αξία αρνητικού αποτελέσματος = 99,46%, Ρυθμός ψευδώς θετικών = 0,18%, Ρυθμός ψευδώς αρνητικών = 3,87% και Συνολική Ακρίβεια = 99,36%. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν μια εξαιρετικά υψηλή απόδοση του TND SOM στην ταξινόμηση των αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα του TNA SOM στην πρόγνωση των αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας

	Ιστολογική κατηγορία με βάση το TNA SOM		
Πραγματική ιστολογική κατηγορία	< CIN 2	≥ CIN 2	Σύνολο
< CIN 2	1101	2	1103
≥ CIN 2	6	149	155
Σύνολο	1107	151	1258

Συζήτηση

Το τεστ Παπανικολάου [Diamantis 2014], [Papanicolaou 1941] θεωρείται ως η πιο επιτυχημένη εξέταση για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας [Nauth 2007], εάν εφαρμοστεί κατ' εξακολούθηση. Τα τελευταία χρόνια, υπάρχουν πολλές επιλογές για την εφαρμογή βιοδεικτών στην ταξινόμηση των παθολογικών τεστ Παπανικολάου [Arbyn 2004], [Arbyn 2009], [Kelesidis 2011], [Koliopoulos 2012], [Kottaridi 2011], [Nasioutziki 2011], [Roelens 2012], [Spathis 2011], [Tsoumprou 2011], [Valasoulis 2011] και θεωρούνται, μερικές φορές, ως εναλλακτικές ή συμπληρωματικές προς το τεστ Παπανικολάου. Ωστόσο, αυτές οι νέες τεχνικές που βασίζονται σε βιοδείκτες έχουν είτε υψηλή ευαισθησία είτε υψηλή ειδικότητα, αλλά όχι υψηλή αξιολόγηση και στους δύο δείκτες απόδοσης μιας δοκιμασίας ταυτόχρονα.

Σύμφωνα με τη γνώση του συγγραφέα, αυτή είναι η πρώτη φορά που χρησιμοποιείται μία μη επιβλεπόμενη μέθοδος τεχνητής νοημοσύνης για να συνδυάσει μια τέτοια πληθώρα εξετάσεων, προκειμένου να βελτιωθεί η διάγνωση των τραχηλικών αλλοιώσεων. Σήμερα, η εφαρμογή βοηθητικών δοκιμών (τεστ) για τη βελτίωση των τραχηλικών ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων είναι ένα πολύ σημαντικό θέμα έρευνας. Στο παρελθόν, παρόμοιες καινοτόμες προσεγγίσεις έχουν

παρουσιαστεί στη βιβλιογραφία [Bountris 2014], [Karakitsos 2012], καθώς και σε προηγούμενη δημοσιευμένη μελέτη [Karakitsos 2011]. Τα μοντέλα CART εφαρμόστηκαν χρησιμοποιώντας δεδομένα που είχαν έγκυρα αποτελέσματα για όλα τα διαθέσιμα τεστ δοκιμών. Μια τέτοια προσέγγιση έχει το μειονέκτημα της μείωσης του όγκου των δεδομένων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν, καθώς είναι πολύ συνηθισμένο μερικές βοηθητικές δοκιμές να μην μπορούν πάντα να έχουν έγκυρο αποτέλεσμα και επιπλέον δεν αποτυπώνουν την πραγματική κατάσταση (δηλαδή παράλειψη τιμών). Σε δύο άλλες δημοσιευμένες αναφορές [Bountris 2014], [Karakitsos 2012], εφαρμόστηκαν επιβλεπόμενα νευρωνικά δίκτυα για την επίλυση του ίδιου προβλήματος, παρουσιάζοντας το ίδιο μειονέκτημα. Σε μία επόμενη μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν CARTs για την αντιμετώπιση περιπτώσεων με ελλιπή δεδομένα, ούτως ώστε να αυξηθεί η ισχύς της μελέτης [Pouliakis 2015]. Η καινοτομία αυτής της προσέγγισης σχετίζεται με το γεγονός ότι κατά τη χρήση των CARTs είναι δυνατόν να δημιουργηθούν αλγόριθμοι κατανοητοί από τον άνθρωπο και για κάθε τμήμα του αλγόριθμου να είναι γνωστός ο κίνδυνος κακοήθειας. Επιπλέον, η πληροφορία μπορεί να εξαχθεί με τη μορφή αλγόριθμων ταξινόμησης, που θα μπορούσαν να είναι χρήσιμοι για τους υπεύθυνους λήψης αποφάσεων.

Στον τομέα σύγκρισης επιδόσεων, η τεχνική SOM είχε ευαισθησία 96,13% και ειδικότητα 99,82%. Σε μία από τις πρώτες προσπάθειες να εφαρμοστούν CARTs σε αυτό το πρόβλημα ταξινόμησης [Karakitsos 2011], βασιζόμενη σε 808 περιπτώσεις και χρησιμοποιώντας περιστατικά \geq CIN2 ως cut-off, η ευαισθησία ήταν 84,75% και η ειδικότητα 91,40%. Στην παρούσα μελέτη, ο αριθμός των περιπτώσεων ήταν υψηλότερος (N = 1258). Η επόμενη προσέγγιση [Karakitsos 2012] βασίστηκε στο ίδιο σύνολο δεδομένων. Ωστόσο, εφαρμόστηκε μια τεχνική AI (δηλαδή ο ποσοτικός προσδιορισμός εκμάθησης) και παράγαγε παρόμοια ευαισθησία (85,16%) και αυξημένη ειδικότητα (98,01%) σε σύγκριση με το CART. Η δεύτερη προσέγγιση της ίδιας ερευνητικής ομάδας το 2014, χρησιμοποίησε ένα Σύστημα Υποστήριξης Κλινικής Απόφασης (BSS) [Bountris 2014], που βασίστηκε και πάλι σε ANNs, το οποίο έδειξε αυξημένη ευαισθησία 89,4% και υψηλή ειδικότητα 97,1%, χρησιμοποιώντας δεδομένα από πολύ λιγότερες περιπτώσεις (N = 740), λόγω του ότι δεν ήταν δυνατή η εφαρμογή της τεχνικής όταν υπήρχαν ελλιπείς τιμές. Ιδιαίτερα, σε αυτή την έκθεση η ειδικότητα είναι υψηλότερη από την ευαισθησία, όπως στην υπόθεση SOM και σε όλες τις άλλες προσπάθειες που αναφέρθηκαν. Η πρώτη προσέγγιση στην εφαρμογή τεχνικών με ελλιπή στοιχεία το 2015 [Pouliakis 2015], στο ίδιο σύνολο δεδομένων με το SOM, είχε

ευαισθησία 83,28% και ειδικότητα 94,26%, απόδοση συγκρίσιμη με το πρώτο μοντέλο CART. Στο συγκεκριμένο άρθρο παρουσιάζονται οι συγκρίσεις της χρήσης κάθε μεμονωμένης μεθόδου (κυτταρολογία και βιοδείκτες). Όπως αναμενόταν, καμία μέθοδος από μόνη της δεν θα μπορούσε να παράξει ταυτόχρονα ισορροπημένη ευαισθησία και ειδικότητα. Για παράδειγμα, η κυτταρολογία από μόνη της, χρησιμοποιώντας τις περιπτώσεις ASC-US ως cut-off, είχε ευαισθησία 97,76% και ειδικότητα 59,79%. Ομοίως, περιπτώσεις τυποποίησης του HPV DNA είχαν θετικότητα 87,71% και 70,49% αντίστοιχα. Από τις μεθόδους που βασίστηκαν σε μεμονωμένους βιοδείκτες, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον εντοπίστηκε στην κυτταρομετρία ροής, η οποία είχε ευαισθησία 88,19% και ειδικότητα 79,60%. Στην τελική προσέγγιση της ανωτέρω ερευνητικής ομάδας [Kyrgiou 2016], η ευαισθησία πρόβλεψης περιπτώσεων CIN2 ή χειρότερου βαθμού ήταν 93,0% και η ειδικότητα 99,2%. Σε σύγκριση με την τελευταία προσπάθεια, το SOM είχε βελτιωμένη ευαισθησία (96,13%). Παρατηρήθηκε ότι οι συγκρίσεις με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητικών ομάδων δεν είναι απλές, καθώς δεν χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιοι βιοδείκτες. Οι συνδυαστικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται, ως επί το πλείστον περιλαμβάνουν το τεστ Παπανικολάου με τυποποίηση HPV DNA ή τυποποίηση HPV mRNA ή ανεξάρτητους βιοδείκτες. Για παράδειγμα, σε μία μελέτη του 2014

αναφέρθηκε ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα μεμονωμένα του Cobas HPV test, όταν εφαρμόστηκε στην ανίχνευση βιοψίας επιβεβαιωμένων τραχηλικών βλαβών CIN2/3, ήταν 71,7% και 25,0% αντίστοιχα [Zhou 2014]. Η μελέτη αυτή βασίστηκε σε 30.000 περιπτώσεις.

Στην παρούσα μελέτη, προτείνουμε μία νέα μεθοδολογία που συνδυάζει τα αποτελέσματα πολλών τεχνικών βασισμένων σε βιοδείκτες, καθώς και το αποτέλεσμα του τεστ Παπανικολάου, προκειμένου να αξιοποιηθούν τα καλύτερα χαρακτηριστικά κάθε δοκιμής. Τα αποτελέσματα, όσον αφορά την απόδοση του συστήματος, ήταν πολύ ικανοποιητικά και ενθαρρυντικά, καθώς η τελική ευαισθησία και ειδικότητα είναι υψηλότερες σε σχέση με την απόδοση κάθε μεμονωμένης μεθόδου.

Ένα από τα μειονεκτήματα της προτεινόμενης προσέγγισης είναι το γεγονός ότι το σύνολο των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε για την κατάρτιση του SOM, καθώς δεν ακολουθήσαμε την παραδοσιακή προσέγγιση, δηλαδή τη διάσπαση των δεδομένων σε ομάδες εκπαίδευσης και δοκιμών ή ομάδες εκπαίδευσης, δοκιμών και αξιολόγησης. Ωστόσο, η μη επιβλεπόμενη φύση των SOMs δικαιολογεί αυτή την απόφαση, καθώς η πραγματική ιστολογική κατηγορία στην οποία ανήκουν οι περιπτώσεις (και είναι ο στόχος ταξινόμησης) δεν χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της φάσης εκπαίδευσης. Αντίθετα, η

ιστολογική κατηγορία χρησιμοποιείται μετά τη φάση της εκπαίδευσης, προκειμένου να εντοπιστούν οι τιμές των κόμβων SOM (δηλαδή, για να επισημανθεί κάθε κόμβος ως $<CIN2$ ή $\geq CIN2$). Το πραγματικό μειονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι το υψηλό κόστος εκτέλεσης του πλήρους συνόλου εξετάσεων (π.χ. τεστ Παπανικολάου, τυποποίηση HPV DNA, τυποποίηση HPV mRNA με NASBA και κυτταρομετρία ροής και χρώση p16). Ωστόσο, καθώς η τεχνολογία εξελίσσεται, δεν είναι απίθανο να υπάρξουν οικονομικά αποδοτικές δοκιμασίες που να ανέχονται τη χρήση ενός τέτοιου συστήματος. Επιπλέον, οι τοπογραφικές δυνατότητες του SOM ανέδειξαν ότι δεν είναι όλα τα τεστ σημαντικά. Για παράδειγμα, μόνο μερικοί από τους υπότυπους HPV, όπως αυτοί βρέθηκαν με τις τεχνικές CLART-2, δείχνουν συσχέτιση με την ιστολογική εξέταση. Επιπλέον, η τυποποίηση HPV mRNA, ειδικά για τον υπότυπο HPV16, παρήγαγε έναν παρόμοιο χάρτη με την τυποποίηση HPV DNA. Επομένως, άλλες μοριακές δοκιμασίες που να ανιχνεύουν λιγότερους υπότυπους HPV, μπορεί να είναι πιο αποδοτικές ως προς το κόστος.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, η εφαρμογή της τεχνικής μη εποπτευόμενης τεχνητής νοημοσύνης με τη βοήθεια των αυτο-οργανούμενων χαρτών (SOM) έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα και μπορεί να είναι χρήσιμη για τη βελτίωση της διαχείρισης των γυναικών με υψηλού βαθμού τραχηλικές ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις (CIN2+). Έτσι, θα μπορούσε να χρησιμεύσει:

- α) ως οδηγός για εξατομικευμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις,
- β) για τη μείωση των περιπτώσεων που οδηγούνται άσκοπα για κολποσκόπηση και για τη μείωση του φόρτου των κλινικών κολποσκόπησης,
- γ) για τη μείωση των περιττών θεραπειών,
- δ) για την ταυτοποίηση υψηλότερου ποσοστού γυναικών που κινδυνεύουν από προκαρκινικές αλλοιώσεις ή καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σήμερα, υπάρχουν πολυάριθμες τεχνικές που ανιχνεύουν HPV DNA ή mRNA και θεωρούνται είτε ανταγωνιστικές είτε επικουρικές ως προς το τεστ Παπανικολάου για τον έλεγχο των κολποτραχηλικών επιχρισμάτων. Ωστόσο, καμία τεχνική δεν είναι τέλεια, επειδή η αύξηση της ευαισθησίας συνεπάγεται ταυτόχρονη μείωση της ειδικότητας. Για την επίλυση αυτού του προβλήματος έχουν εφαρμοστεί στο παρελθόν διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιούν αποτελέσματα από πολλές εξετάσεις ταυτόχρονα, όπως δέντρα ταξινόμησης και παλινδρόμησης (Classification and Regression Trees – CARTs) και εποπτευόμενα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα. Σε αυτή την εργασία χρησιμοποιήθηκαν 1258 περιπτώσεις με αποτελέσματα από τεστ Παπανικολάου, HPV DNA, HPV mRNA και p16, προκειμένου να αξιολογηθούν οι επιδόσεις του αυτο-οργανούμενου χάρτη (Self Organizing Map – SOM). Το SOM είναι ένα τεχνητό νευρωνικό δίκτυο που παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις άλλες μεθοδολογίες, καθώς δεν είναι επιβλεπόμενο (δηλαδή δεν χρειάζεται να γνωρίζουμε σε ποια ομάδα ανήκουν τα περιστατικά κατά την εκπαίδευσή του), μπορεί να διαχειριστεί ελλιπή δεδομένα (κάτι πολύ συνηθισμένο σε πραγματικές μελέτες) και παράγει τοπογραφικούς χάρτες (έτσι, με εύκολο τρόπο γίνονται συσχετίσεις των σημαντικών παραμέτρων στη διάγνωση). Τα

αποτελέσματα της εφαρμογής της τεχνικής αυτής ήταν ενθαρρυντικά και οδήγησαν σε πολύ υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα στη διάκριση των αλλοιώσεων <CIN2 από ≥CIN2, όπως αυτές αξιολογήθηκαν με ιστολογική εξέταση (όπου ήταν εφικτό). Επιπλέον, οι παραγόμενοι χάρτες μπορούν να βοηθήσουν στον εντοπισμό των σημαντικών δοκιμασιών (tests) για τη διάκριση μεταξύ περιστατικών <CIN2 από ≥CIN2.

SUMMARY

Nowadays, numerous techniques detecting HPV DNA or mRNA, are viewed as competitors or ancillary techniques to test Papanicolaou. However, no technique is perfect, because sensitivity increases at the cost of specificity. Various methods have been applied to resolve this issue, by using many examination results, such as classification and regression trees and supervised artificial neural networks. In this study, 1258 cases with results from test Pap, HPV DNA, HPV mRNA and p16, were used to evaluate the performance of the Self Organizing Map (SOM), an artificial neural network having three advantages: it is unsupervised, it can tolerate missing data and produces topographical maps. The results of the SOM application were encouraging and led to very high sensitivity and specificity for the discrimination of <CIN2 from \geq CIN2 lesions, as these were evaluated histologically (wherever that was possible). Additionally, the produced maps can be helpful in order to detect the important tests for such discrimination.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Αγγελοπούλου Ρ. Εμβρυολογία (2006). Ιατρικές Εκδόσεις «Π. Χ. Πασχαλίδης».

Aral SO, Holmes KK. Social and behavioral determinants of epidemiology of STDs: industrialized and developing countries. In: Holmes KK, Mardh PA, Sparling PF, eds. Sexually transmitted diseases. New-York: McGraw-Hill, 1999:39-76.

Arbyn M, Buntinx F, Van Ranst M, Paraskevaïdis E, Martin-Hirsch P, Dillner J (2004). Virologic versus cytologic triage of women with equivocal Pap smears: a meta-analysis of the accuracy to detect high-grade intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst*, 96(4), 280-293.

Arbyn M, Martin-Hirsch P, Buntinx F, Van Ranst M, Paraskevaïdis E, Dillner J (2009). Triage of women with equivocal or low-grade cervical cytology results: a meta-analysis of the HPV test positivity rate. *J Cell Mol Med*, 13(4), 648-659. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00631.x

Astion ML, Wilding P. Application of Neural Networks to the Interpretation of Laboratory Data in Cancer Diagnosis. *Clin. Chem.* 1992-38(2):34:38.

Astion ML, Wilding P. The Application of Back Propagation Neural Networks to Problems in Pathology and Laboratory medicine *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1992-116:995:1001.

Benevolo M, Vocaturo A, Caraceni D, French D, Rosini S, Zappacosta R, Terrenato I, Ciccocioppo L, Frega A, Giorgi Rossi P (2011). Sensitivity, specificity, and clinical value of human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA assay as a triage test for cervical cytology and HPV DNA test. *J Clin Microbiol*, 49(7), 2643-2650. doi: 10.1128/JCM.02570-10

Berek JS, Adashi EY, Hillard PA. Novak's Γυναικολογία (1998). Ιατρικές Εκδόσεις «Π. Χ. Πασχαλίδης».

Bountris P, Haritou M, Pouliakis A, Margari N, Kyrgiou M, Spathis A, Pappas A, Panayiotides I, Paraskevaïdis E, Karakitsos P, Koutsouris D (2014). An intelligent clinical decision support system for patient-

specific predictions to improve cervical intraepithelial neoplasia detection. *Biomed Res Int*, 2014, 341483. doi: 10.1155/2014/341483

Breiman L, Friedman J, Stone CJ, Olshen RA (1984). *Classification and regression trees*. Belmont, Calif.: Wadsworth International Group.

Carozzi FM (2007). Combined analysis of HPV DNA and p16^{INK4a} expression to predict prognosis in ASCUS and LSIL pap smears. *Coll Antropol*, 31 Suppl 2, 103-106.

Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005 Sep 17-23;366(9490):991-8.

Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003 Jan 13;88(1):63-73.

Cochand-Priollet B, Koutroumbas K, Megalopoulou TM, Pouliakis A, Sivolapenko G, Karakitsos P (2006). Discriminating benign from malignant thyroid lesions using artificial intelligence and statistical selection of morphometric features. *Oncol Rep*, 15 Spec no., 1023-1026.

Coquillard G, Palao B, Patterson BK (2011). Quantification of intracellular HPV E6/E7 mRNA expression increases the specificity and positive predictive value of cervical cancer screening compared to HPV DNA. *Gynecol Oncol*, 120(1), 89-93. doi: 10.1016/j.ygyno.2010.09.013

Cruz JA, Wishart DS (2006). Applications of machine learning in cancer prediction and prognosis. *Cancer Inform*, 2, 59-77.

Cuschieri K, Wentzensen N (2008). Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17(10), 2536-2545. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0306

Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, Dillner J, Meijer CJ (2008). Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and

developing countries. *Vaccine*, 26 Suppl 10, K29-41. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.019

Dawson AE, Austin RJ, Weinberg DS. Nuclear Grading of Breast Carcinoma by Image Analysis. *A.J.C.P.* 1991-95(4)S29:S37.

De Marco L, Gillio-Tos A, Bonello L, Ghisetti V, Ronco G, Merletti F. Detection of human papillomavirus type 16 integration in pre-neoplastic lesions and confirmation by DIPS-PCR and sequencing, *Journal of Clinical Virology* 2007;38, p.7-13.

Denton KJ, Bergeron C, Klement P, Trunk MJ, Keller T, Ridder R (2010). The sensitivity and specificity of p16(INK4a) cytology vs HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results. *Am J Clin Pathol*, 134(1), 12-21. doi: 10.1309/AJCP3CD9YKYFJDQL

Diamantis A, Magiorkinis E, Koutselini H (2014). 50 years after the death of George Nicholas Papanicolaou (1883-1962): evaluation of his scientific work. *Acta Med Hist Adriat*, 12(1), 181-188.

Doorbar J (2005). The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 32: S7-S15.

Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical Science* 2006;110, p.525-541.

Dytch HE, Wied GL. Artificial neural networks and their use in quantitative pathology. *Analyt Quant Cytol Histol* 1990-12: 379-393.

Gomez-Roman JJ, Echevarria C, Salas S, Gonzalez-Moran MA, Perez-Mies B, Garcia-Higuera I, Nicolas Martinez M, Val-Bernal JF (2009). A type-specific study of human papillomavirus prevalence in cervicovaginal samples in three different Spanish regions. *APMIS*, 117(1), 22-27. doi: 10.1111/j.1600-0463.2008.00009.x

Hassan SS, Ruusuvuori P, Latonen L, Huttunen H (2015). Flow Cytometry-Based Classification in Cancer Research: A View on Feature Selection. *Cancer Inform*, 14(Suppl 5), 75-85. doi: 10.4137/CIN.S30795

Henry MR (2003). The Bethesda System 2001: an update of new terminology for gynecologic cytology. *Clin Lab Med*, 23(3), 585-603.

Herrero R, Castle PE, Schiffman M, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis* 2005 Jun 1;191(11):1796-807.

Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D (2011). Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 61(2), 69-90. doi: 10.3322/caac.20107

Jeon S, Allen-Hoffman BL, Lambert PF. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J. Virol.* 1995;69, p2989-97.

Kahle W, Leonhardt H, Platzer W. Εγχειρίδιο Ανατομικής του Ανθρώπου με Έγχρωμο Άτλαντα (1985). Ιατρικές Εκδόσεις «Λίτσας».

Karakitsos P, Botsoli-Stergiou E, Pouliakis A, Tzivras M, Archimandritis A, Lioffi A, Kyrkou K (1997). Comparative study of artificial neural networks in the discrimination between benign from malignant gastric cells. *Anal Quant Cytol Histol*, 19(2), 145-152.

Karakitsos P, Botsoli-Stergiou E, Pouliakis A, Tzivras M, Archimandritis A, Lioffi AI, Kyrkou K (1996). Potential of the back propagation neural network in the discrimination of benign from malignant gastric cells. *Anal Quant Cytol Histol*, 18(3), 245-250.

Karakitsos P, Chrelias C, Pouliakis A, Koliopoulos G, Spathis A, Kyrgiou M, Meristoudis C, Chranioti A, Kottaridi C, Valasoulis G, Panayiotides I, Paraskevaidis E (2012). Identification of women for referral to colposcopy by neural networks: a preliminary study based on LBC and molecular biomarkers. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 303192. doi: 10.1155/2012/303192

Karakitsos P, Cochand-Priollet B, Guillausseau PJ, Pouliakis A (1996). Potential of the back propagation neural network in the morphologic examination of thyroid lesions. *Anal Quant Cytol Histol*, 18(6), 494-500.

Karakitsos P, Cochand-Priollet B, Pouliakis A, Guillausseau PJ, Ioakim-Lioffi A. Learning Vector Quantizer in the Investigation of Thyroid Lesions. *Anal Quant Cytol Histol*. 1999 June, 21(3):201-208.

Karakitsos P, Kyroudes A, Pouliakis A, Botsoli-Stergiou E, Voulgaris Z, Kittas C (2002). Potential of the learning vector quantizer in the cell classification of endometrial lesions in postmenopausal women. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 24(1), 30-38.

Karakitsos P, Lioffi A, Pouliakis A, Botsoli-Stergiou E, Tzivras M, Archimandritis A, Kyrkou K. A Comparative Study of three variations of the Learning Vector Quantizer in the Discrimination between Benign from Malignant Gastric Cells. *Cytopathology* 1998 Apr; 9(2): 114-125.

Karakitsos P, Megalopoulou TM, Pouliakis A, Tzivras M, Archimandritis A, Kyroudes A (2004). Application of discriminant analysis and quantitative cytologic examination to gastric lesions. *Anal Quant Cytol Histol*, 26(6), 314-322.

Karakitsos P, Pouliakis A, Kordalis G, Georgoulakis J, Kittas C, Kyroudes A. Potential of Radial Basis Function Neural Networks in Discriminating Benign from Malignant Lesions of the Lower Urinary Tract. *Anal Quant Cytol Histol*. 2005 Feb, 27(1):35-42.

Karakitsos P, Pouliakis A, Koutroumbas K, Botsoli-Stergiou E, Tzivras M, Archimandritis A, Ioakim-Lioffi A. Neural Network Application in the Discrimination of Benign from Malignant Gastric Cells. *Anal Quant Cytol Histol*. 2000 Feb, 22(1):63-69.

Karakitsos P, Pouliakis A, Meristoudis C, Margari N, Kassanos D, Kyrgiou M, Panayiotides JG, Paraskevaidis E (2011). A preliminary study of the potential of tree classifiers in triage of high-grade squamous intraepithelial lesions. *Anal Quant Cytol Histol*, 33(3), 132-140.

Kelesidis T, Aish L, Steller MA, Aish IS, Shen J, Foukas P, Panayiotides J, Petrikos G, Karakitsos P, Tsiodras S (2011). Human papillomavirus (HPV) detection using in situ hybridization in histologic samples: correlations with cytologic changes and polymerase chain reaction HPV detection. *Am J Clin Pathol*, 136(1), 119-127. doi: 10.1309/AJCP03HUQYZMWATP

Klaes R, Benner A, Friedrich T, Ridder R, Herrington S, Jenkins D, Kurman RJ, Schmidt D, Stoler M, von Knebel Doeberitz M (2002). p^{16INK4a} immunohistochemistry improves interobserver agreement in the

diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*, 26(11), 1389-1399.

Kohonen T (1982). Self-organized formation of topologically correct feature maps. *Biol Cybern*, 43(1), 59-69. doi: 10.1007/bf00337288

Kohonen T (1988). *Self-organization and associative memory* (2nd ed.). Berlin ; New York: Springer-Verlag.

Kohonen T (2001). *Self-organizing maps* (3rd ed.). Berlin ; New York: Springer.

Kohonen T (2013). Essentials of the self-organizing map. *Neural Networks*, 37, 52-65. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2012.09.018>

Kohonen T, Hynninen J, Kangas J, Laaksonen J. SOM_PAK: The Self-Organizing Map Program Package Version 3.1. Helsinki University of Technology, SOM programming team of the Helsinki university of technology, Laboratory of computer and information science, Rakentajanaukio, Finland, 1995 URL: <http://www.cis.hut.fi/research/>

Koliopoulos G, Chrelias C, Pappas A, Makridima S, Kountouris E, Alepaki M, Spathis A, Stathopoulou V, Panayiotides I, Panagopoulos P, Karakitsos P, Kassanos D (2012). The diagnostic accuracy of two methods for E6&7 mRNA detection in women with minor cytological abnormalities. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 91(7), 794-801. doi: 10.1111/j.1600-0412.2012.01414.x

Kottaridi C, Tsiodras S, Spathis A, Chranioti A, Pappas A, Kassanos D, Panayiotides I, Karakitsos P (2011). Clinical performance of human papillomavirus E6, E7 mRNA flow cytometric assay compared to human papillomavirus DNA typing. *Anal Quant Cytol Histol*, 33(6), 305-310.

Kourou K, Exarchos TP, Exarchos KP, Karamouzis MV, Fotiadis DI (2015). Machine learning applications in cancer prognosis and prediction. *Comput Struct Biotechnol J*, 13, 8-17. doi: 10.1016/j.csbj.2014.11.005

Koutroumbas K, Pouliakis A, Megalopoulou TM, Georgoulakis J, Giachnaki AE, Karakitsos P. Discrimination of Benign from Malignant Breast Lesions Using Statistical Classifiers. *Lecture Notes in Computer*

Science, Volume 3955, Apr 2006, Pages 543 - 546, doi: 10.1007/11752912_64, URL http://dx.doi.org/10.1007/11752912_64

Kyrgiou M, Pouliakis A, Panayiotides JG, Margari N, Bountris P, Valasoulis G, Paraskevaidi M, Bilirakis E, Nasioutziki M, Loufopoulos A, Haritou M, Koutsouris DD, Karakitsos P, Paraskevaidis E (2016). Personalised management of women with cervical abnormalities using a clinical decision support scoring system. *Gynecol Oncol*, 141(1), 29-35. doi: 10.1016/j.ygyno.2015.12.032

Leyden WA, Manos MM, Geiger AM, Weinmann S, Mouchawar J, Bischoff K, Yood MU, Gilbert J, Taplin SH (2005). Cervical cancer in women with comprehensive health care access: attributable factors in the screening process. *J Natl Cancer Inst*, 97(9), 675-683. doi: 10.1093/jnci/dji115

Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of Human Papillomaviruses in Differentiating Epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, p. 362-372.

Mahony A, Golden A. Exploring Genomes with the Self Organizing Map. *Ercim News*, N.60, January 2005, p.p. 39-40. <http://www.ercim.org>

Marchevsky AM, Tsou JA, Laird-Offringa IA (2004). Classification of individual lung cancer cell lines based on DNA methylation markers: use of linear discriminant analysis and artificial neural networks. *Journal of Molecular Diagnostics*, 6(1), 28-36.

Markopoulos Ch, Karakitsos P, Botsoli-Stergiou E, Pouliakis A, Gogas J, Ioakim-Liossi A, Kyrkou K. Application of back propagation to the diagnosis of breast lesions by fine needle aspiration. *The Breast* 1997, 6: 293-298.

Markopoulos C, Karakitsos P, Botsoli-Stergiou E, Pouliakis A, Ioakim-Liossi A, Kyrkou K, Gogas J (1997). Application of the learning vector quantizer to the classification of breast lesions. *Anal Quant Cytol Histol*, 19(5), 453-460.

Mathew A, George PS (2009). Trends in incidence and mortality rates of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of cervix--worldwide. *Asian Pac J Cancer Prev*, 10(4), 645-650.

Matsukura T, Koi S, Sugase M. Both episomal and integrated forms of human papillomavirus type 16 are involved in invasive cancers. *Virology* 1989;172, p63-72.

Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, Ratnam S, Coutlee F, Franco EL (2007). Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*, 357(16), 1579-1588. doi: 10.1056/NEJMoa071430

McHugh ES, Shinn AP, Kay JW (2000). Discrimination of the notifiable pathogen *Gyrodactylus salaris* from *G. thymalli* (Monogenea) using statistical classifiers applied to morphometric data. *Parasitology*, 121 (Pt 3), 315-323.

Megalopoulou TM, Koutroumbas K, Pouliakis A, Sivolapenko G, Karakitsos P (2006). The potential of feature selection by statistical techniques and the use of statistical classifiers in the discrimination of benign from malignant gastric lesions. *Oncol Rep*, 15 Spec no., 1033-1036.

Moallemi C. Classifying cells for cancer diagnosis using neural networks. *IEEE Expert* 1991-6:8-12.

Moody MA, et al. (2010). Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 10: 550-560.

Moore MA, Tajima K. Cervical cancer in the asian pacific-epidemiology, screening and treatment. *Asian Pac J Cancer Prev* 2004 Oct-Dec;5(4):349-61.

Narimatsu R, Patterson BK (2005). High-throughput cervical cancer screening using intracellular human papillomavirus E6 and E7 mRNA quantification by flow cytometry. *Am J Clin Pathol*, 123(5), 716-723.

Nasioutziki M, Daniilidis A, Dinas K, Kyrgiou M, Valasoulis G, Loufopoulos PD, Paraskevaidis E, Loufopoulos A, Karakitsos P (2011). The evaluation of p16^{INK4a} immunoexpression/immunostaining and human papillomavirus DNA test in cervical liquid-based cytological

samples. *Int J Gynecol Cancer*, 21(1), 79-85. doi: 10.1097/IGC.0b013e3182009eea

Naucler P, Ryd W, Tornberg S, Strand A, Wadell G, Elfgren K, Radberg T, Strander B, Forslund O, Hansson BG, Hagmar B, Johansson B, Rylander E, Dillner J (2009). Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *J Natl Cancer Inst*, 101(2), 88-99. doi: 10.1093/jnci/djn444

Nauth HF (2007). *Gynecological cytology*. Stuttgart ; New York: Thieme.

Pantazopoulos D, Karakitsos P, Ioakim-Liossi A, Pouliakis A, Botsoli-Stergiou E, Dimopoulos C (1998). Back propagation neural network in the discrimination of benign from malignant lower urinary tract lesions. *J Urol*, 159(5), 1619-1623. doi: S0022-5347(01)63435-9 [pii] 10.1097/00005392-199805000-00057

Pantazopoulos D, Karakitsos P, Ioakim-Liossi A, Pouliakis A, Dimopoulos K. Comparing Neural Networks in the Discrimination of Benign from Malignant Low Urinary Tract Lesions. *British Journal of Urology* 1998 Apr;81(4):574-9.

Pantazopoulos D, Karakitsos P, Pouliakis A, Ioakim-Liossi A, Dimopoulos MA. Static Cytometry and Neural Networks in the Discrimination of Low Urinary system Lesions. *Urology*. 1998 Jun, 51(6): 946-950.

Papanicolaou G, Traut H (1941). The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. *The American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 42, 193–206.

Perroti R, Pouliakis A, Margari N, Panopoulou E, Karakitsou E, Iliopoulou D, Panayiotides IG, Koutsouris DD (2018). CytoNet, A Versatile Web-Based System for Accessing Advisory Cytology Services: Application of Artificial Intelligence. *International Journal of Reliable and Quality E-Healthcare (IJRQEH)*, 7(3), 37-56. doi: 10.4018/IJRQEH.2018070103

Pitoglou S (2018). Machine Learning in Healthcare, Introduction and Real World Application Considerations. *International Journal of Reliable*

and Quality E-Healthcare (IJRQEH), 7(2), 27-36. doi: 10.4018/IJRQEH.2018040102

Pouliakis A, Karakitsou E, Chrelias C, Pappas A, Panayiotides I, Valasoulis G, Kyrgiou M, Paraskevaidis E, Karakitsos P (2015). The Application of Classification and Regression Trees for the Triage of Women for Referral to Colposcopy and the Estimation of Risk for Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Study Based on 1625 Cases with Incomplete Data from Molecular Tests. *Biomed Res Int*, 2015, 914740. doi: 10.1155/2015/914740

Pouliakis A, Karakitsou E, Margari N, Bountris P, Haritou M, Panayiotides J, Koutsouris D, Karakitsos P (2016). Artificial Neural Networks as Decision Support Tools in Cytopathology: Past, Present, and Future. *Biomedical Engineering and Computational Biology*, 7(5406-BECB-Artificial-Neural-Networks-as-Decision-Support-Tools-in-Cytopathology:.pdf), 1-18. doi: 10.4137/BECB.S31601

Pouliakis A, Margari N, Karakitsou E, Alamanou E, Koureas N, Chrelias G, Sioulas V, Pappas A, Chrelias C, Terzakis EG, Damaskou V, Panayiotides IG, Karakitsos P (2018). Artificial Intelligence for the Identification of Endometrial Malignancies: Application of the Learning Vector Quantizer. *International Journal of Reliable and Quality E-Healthcare (IJRQEH)*, 7(2), 37-50. doi: 10.4018/IJRQEH.2018040103

Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, Wentzensen N, Bergeron C, Arbyn M (2012). p16^{INK4a} immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cytopathol*, 120(5), 294-307. doi: 10.1002/cncy.21205

Rosenthal DL, Mango LJ. Applications of Neural Networks for Interactive Diagnosis of Anatomic Pathology Specimens. pp. 173-184. In *Compendium on the Computerized Cytology and Histology Laboratory* ed. Wied G. L. et al. ToC, Chicago, Illinois USA 1994.

Rubin E. Βασική Παθολογική Ανατομική (2010). Ιατρικές Εκδόσεις «Π. Χ. Πασχαλίδης»

Sá JPM de (2007). Applied statistics : using SPSS, Statistica, MATLAB, and R (2nd ed.). Berlin ; New York: Springer.

Saiti F, Naini AA, Shoorehdeli MA, Teshnehlab M (2009, 11-13 June 2009). Thyroid Disease Diagnosis Based on Genetic Algorithms Using PNN and SVM. Paper presented at the Bioinformatics and Biomedical Engineering , 2009. ICBBE 2009. 3rd International Conference on.

Schmitt FC, Longatto-Filho A, Valent A, Vielh P (2008). Molecular techniques in cytopathology practice. *J Clin Pathol*, 61(3), 258-267. doi: jcp.2006.044347 [pii] 10.1136/jcp.2006.044347

Simões PW, Izumi NB, Casagrande RS, Venson R, Veronezi CD, Moretti GP, Rocha EL de, Cechinel C, Ceretta LB, Comunello E, Martins PJ, Casagrande RA, Snoeyer ML, Manenti SA (2014). Classification of Images Acquired with Colposcopy Using Artificial Neural Networks. *Cancer Inform*, 13 (4470-CIN-Classification-of-Images-Acquired-with-Colposcopy-Using-Artificial-Neu.pdf), 119-124. doi: 10.4137/CIN.S17948

Smith JH (2002). Bethesda 2001. *Cytopathology*, 13(1), 4-10.

Smits HL, van Gemen B, Schukkink R, van der Velden J, Tjong AHSP, Jebbink MF, ter Schegget J (1995). Application of the NASBA nucleic acid amplification method for the detection of human papillomavirus type 16 E6-E7 transcripts. *J Virol Methods*, 54(1), 75-81.

Snell RS. Κλινική Ανατομική (2009). Ιατρικές Εκδόσεις «Λίτσας».

Sorbye SW, Fismen S, Gutteberg T, Mortensen ES (2010). Triage of women with minor cervical lesions: data suggesting a "test and treat" approach for HPV E6/E7 mRNA testing. *PLoS One*, 5(9), e12724. doi: 10.1371/journal.pone.0012724

Spathis A, Aga E, Alepaki M, Chranioti A, Meristoudis C, Panayiotides I, Kassanos D, Karakitsos P (2011). Promoter methylation of p16^{INK4a}, hMLH1, and MGMT in liquid-based cervical cytology samples compared with clinicopathological findings and HPV presence. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 2011, 927861. doi: 10.1155/2011/927861

Spathis A, Kottaridi C, Chranioti A, Meristoudis C, Chrelias C, Panayiotides IG, Paraskevaïdis E, Karakitsos P (2012). mRNA and DNA detection of human papillomaviruses in women of all ages attending two colposcopy clinics. *PLoS One*, 7(11), e49205. doi: 10.1371/journal.pone.0049205

Stanley MA, et al. (2007). HPV: from infection to cancer. *Biochemical Society Transactions* 35: 1456-1460.

Stevens A, Lowe JS. *Ιστολογία του Ανθρώπου* (2008). Ιατρικές Εκδόσεις «Π. Χ. Πασχαλίδης».

Trope A, Sjoborg K, Eskild A, Cuschieri K, Eriksen T, Thoresen S, Steinbakk M, Laurak V, Jonassen CM, Westerhagen U, Jacobsen MB, Lie AK (2009). Performance of human papillomavirus DNA and mRNA testing strategies for women with and without cervical neoplasia. *J Clin Microbiol*, 47(8), 2458-2464. doi: 10.1128/JCM.01863-08

Truong H, Morimoto R, Walts A, Marchevsky A. Neural Networks as an Aid in the Diagnosis of Lymphocyte-Rich Effusions. *Anal Quant Cytol Histol* 1995-17(1):48:54.

Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, Wentzensen N, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Malamou-Mitsi V, Paraskevaïdis E (2009). p16^{INK4a} immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*, 35(3), 210-220. doi: 10.1016/j.ctrv.2008.10.005

Tsoumpou I, Valasoulis G, Founta C, Kyrgiou M, Nasioutziki M, Daponte A, Koliopoulos G, Malamou-Mitsi V, Karakitsos P, Paraskevaïdis E (2011). High-risk human papillomavirus DNA test and p16^{INK4a} in the triage of LSIL: a prospective diagnostic study. *Gynecol Oncol*, 121(1), 49-53. doi: 10.1016/j.ygyno.2010.12.002

Tyagi S, Bratu DP, Kramer FR (1998). Multicolor molecular beacons for allele discrimination. *Nat Biotechnol*, 16(1), 49-53. doi: 10.1038/nbt0198-49

Tzivras M, Megalopoulou TM, Pouliakis A, Giahnaki AE, Karaitianos IG, Archondakis S, Georgoulakis J, Karakitsos P (2008). The potential of tree

classifiers on the cytological examination of gastric lesions. Archives of the Balkan Medical Union, 43(4), 239-244.

Underwood JCE, Cross SS. Γενική και Συστηματική Παθολογική Ανατομική (2012). Επιστημονικές Εκδόσεις «Παρισιάνου».

Valasoulis G, Tsoumpou I, Founta C, Kyrgiou M, Dalkalitsis N, Nasioutziki M, Kassanos D, Paraskevaïdis E, Karakitsos P (2011). The role of p16^{INK4a} immunostaining in the risk assessment of women with LSIL cytology: a prospective pragmatic study. Eur J Gynaecol Oncol, 32(2), 150-152.

Vesanto J, Himberg J, Alhoniemi E, Parhankangas J (2000). SOM Toolbox for Matlab 5. <http://www.cis.hut.fi/somtoolbox/package/papers/techrep.pdf>

Vilhena J, Vicente H, Martins MR, Grañeda J, Caldeira F, Gusmão R, Neves J, Neves J (2017). An Artificial Intelligence Approach to Thrombophilia Risk. International Journal of Reliable and Quality E-Healthcare (IJRQEH), 6(2), 49-69. doi: 10.4018/IJRQEH.2017040105

Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJF, Peto J, Meijer CJL, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J. Pathol. 1999;189, 12-19.

Wolberg WH, Mangasarian OL. Computer-aided diagnosis of breast aspirates via expert systems. Analyt Quant Cytol Histol 1990-12: 314-320.

Wright TC, Goldie SJ, Cain JM, Howett MK. Screening for cervical cancer. Science 2000; 290: 1651.

Yabroff KR, Lawrence WF, King JC, et al. Geographic disparities in cervical cancer mortality: what are the roles of risk factor prevalence, screening, and use of recommended treatment? J Rural Health 2005 Spring;21(2):149-57.

Zhou H, Mody R, Luna E, Armylagos D, Schwartz M, Mody D, Ge Y (2014). The Sensitivity of the Cobas HPV Test in Detecting Biopsy-confirmed CIN2/3 Cervical Lesions: Analysis of 33,857 Cases with

Cytology and HPV Co-testing. Journal of the American Society of
Cytopathology, 3(5), S3. doi: 10.1016/j.jasc.2014.09.007