



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

**Στατιστική Ανάλυση Ιατρικών Δεδομένων για τη Μέτρηση  
της Απόδοσης Νέων Τεχνικών Ανίχνευσης Καρκίνου  
Τραχήλου της Μήτρας με Σκοπό τον Εγκυρότερο  
Προληπτικό Πληθυσμιακό Έλεγχο της Νόσου**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Νικόλαος Σ. Μαυρόπουλος

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

Αθήνα, Οκτώβριος 2010





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

**Στατιστική Ανάλυση Ιατρικών Δεδομένων για τη Μέτρηση  
της Απόδοσης Νέων Τεχνικών Ανίχνευσης Καρκίνου  
Τραχήλου της Μήτρας με Σκοπό τον Εγκυρότερο  
Προληπτικό Πληθυσμιακό Έλεγχο της Νόσου**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Νικόλαος Σ. Μαυρόπουλος

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

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 25<sup>η</sup> Οκτωβρίου 2010.

.....  
Δ.-Δ. Κουτσούρης  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

.....  
Κ. Νικήτα  
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

.....  
Π. Τσανάκας  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Οκτώβριος 2010

.....  
Νικόλαος Σ. Μαυρόπουλος

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

Copyright © Νικόλαος Σ. Μαυρόπουλος, 2010.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

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

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

*«Δεν καταλαβαίνω το λόγο για τον οποίο συχνά  
γινόμαστε τόσο νοσταλγικοί. Ό,τι έγινε, έγινε!  
Το να κοιτάμε συνέχεια πίσω, αντιγράφοντας το  
παρελθόν, δεν οδηγεί σε κάτι πραγματικά δημιουργικό.  
Η ζωή είναι πολύ μικρή για να τη χαραμίζουμε.  
Κάνε κάτι δικό σου, ξεκίνα κάτι καινούριο!»*

***John Lennon (1968)***



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι ένας από τους πλέον θανατηφόρους καρκίνους των γυναικών και οφείλεται κυρίως στη λοίμωξη από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV). Έχουν αναγνωριστεί συγκεκριμένοι τύποι του HPV που είναι υπεύθυνοι (άλλοι περισσότερο και άλλοι λιγότερο) για την πρόκληση των διαφόρων μορφών τραχηλικής δυσπλασίας.

Από την πρώτη στιγμή που αναγνωρίστηκε η βασική αιτία των αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας, έγινε προσπάθεια για εξεύρεση τεχνικών έγκαιρης και έγκυρης ανίχνευσής τους με σκοπό τον αποτελεσματικότερο προληπτικό πληθυσμιακό έλεγχο της νόσου. Το 1943, ο Γεώργιος Παπανικολάου ανέπτυξε το γνωστό PAP test που αποτελεί ακόμα και σήμερα το πιο διαδεδομένο και αποδοτικό test για τη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Παρ' όλα αυτά, το PAP test παρουσιάζει ένα αρκετά σημαντικό ποσοστό λανθασμένης πρόβλεψης που μπορεί είτε να οδηγήσει την ασθενή σε ανούσιες εξετάσεις και θεραπείες λόγω υπερτίμησης της πραγματικής κατάστασής της είτε να την καθυστερήσει λανθασμένα λόγω υποτίμησης της πραγματικής δυσπλασίας.

Προς αυτή την κατεύθυνση, αναπτύχθηκαν τα τελευταία χρόνια κάποιες νέες τεχνικές ανίχνευσης των τραχηλικών αλλοιώσεων, που έρχονται να βοηθήσουν τον ιατρό να αναγνωρίσει και να διορθώσει τις λανθασμένες προβλέψεις του PAP test. Οι πιο σημαντικές τεχνικές, που ερευνώνται σήμερα σε ολόκληρο τον ερευνητικό κόσμο, είναι το HPV DNA test, το NASBA mRNA test, το p16 test και η κυτταρομετρία φθορισμού. Οι τεχνικές αυτές προσπαθούν να ανιχνεύσουν την πορεία της έκφρασης του γενετικού υλικού του τύπου του ιού HPV που μπορεί να φέρει μια γυναίκα. Συνεπώς, παρουσιάζουν ιδιαίτερη χρησιμότητα όταν συνδυάζονται με το αποτέλεσμα του PAP test για την ανίχνευση συγκεκριμένων μορφών δυσπλασιών (χαμηλού ή υψηλού βαθμού δυσπλασία ή και καρκίνου).

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της απόδοσης των τεχνικών ανίχνευσης καρκίνου τραχήλου της μήτρας που χρησιμοποιούνται σήμερα από τους ιατρούς για τον προληπτικό πληθυσμιακό έλεγχο της νόσου. Για το σκοπό αυτό εφαρμόστηκαν κλασσικές μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης κατηγορικών δεδομένων σε ένα δείγμα 500 γυναικών. Τα δεδομένα του δείγματος αποτελούνται από τα αποτελέσματα των εξετάσεων των πέντε τεχνικών ανίχνευσης που προαναφέρθηκαν και τα οποία

συγκεντρώθηκαν από τις βάσεις δεδομένων του Αττικού Νοσοκομείου και του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Τα αποτελέσματα αυτά συγκρίθηκαν με την ιστολογική βιοψία που πάρθηκε από τις γυναίκες και η οποία αποτέλεσε το “gold standard” για τη μελέτη της απόδοσης των τεχνικών. Υπολογίσθηκαν στατιστικά μέτρα απόδοσης, όπως η ευαισθησία και η ειδικότητα, και εκπονήθηκαν στατιστικοί έλεγχοι υποθέσεων, όπως το Pearson’s  $X^2$  και το McNemar’s test. Στη συνέχεια, εξήχθησαν κάποια πολύ σημαντικά συμπεράσματα σχετικά με τον τρόπο που τα επιμέρους διαγνωστικά tests βοηθούν στην βελτίωση της αποδοτικής πρόγνωσης του PAP test. Τα συμπεράσματα αυτά μπορεί να βοηθήσουν στη μελλοντική δημιουργία ενός πρωτοκόλλου για την κατάλληλη ιατρική διαλογή, δηλαδή την κατάλληλη αντιμετώπιση των αποτελεσμάτων των διαγνωστικών tests μιας ασθενούς.

**Λέξεις-κλειδιά:** Καρκίνος τραχήλου μήτρας, Ιός ανθρώπινων θηλωμάτων, PAP test, Προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος, HPV DNA test, NASBA mRNA test, p16 test, Κυτταρομετρία φθορισμού, Στατιστική ανάλυση κατηγορικών δεδομένων, Στατιστικά μέτρα απόδοσης, Στατιστικοί έλεγχοι υποθέσεων, Ιατρική διαλογή.



## *ABSTRACT*

Cervical cancer is one of the most common and fatal cancer among women and it is mainly due to infection by Human Papillomavirus (HPV). Many different types of HPV have been identified as responsible (some more and others less) for the development of various cervical lesions.

From the first moment that the root cause of cervical neoplasia was identified, there has been a worldwide effort to find screening tests which can detect cervical cancer early and valid. In 1943, George Papanicolaou developed the well-known PAP test which is the most widespread and effective screening test of cervical cancer. However, PAP test demonstrates a significant percentage of wrong predictions that may either lead the patient to meaningless tests and treatments because of overestimation of her actual health status or reassure her falsely because of underestimation of her actual cervical lesion.

In this direction, new detection techniques of cervical lesions have been developed, which support the clinicians recognize and correct the wrong predictions of PAP test. The most important techniques that are surveyed throughout the entire research communities are HPV DNA test, NASBA mRNA, p16 test and Flow Cytometry. These techniques try to detect the route of the gene expression of HPV in cervical cells. Therefore, they prove to be very useful when their results are combined with PAP's result, in order to detect specific grades of cervical lesions (low or high grade or even cancer).

In this study, we applied classical methods of statistical analysis of categorical data to a sample of 500 women. The data of the sample consist of the results of the five screening tests and were collected from the medical databases of the Attiko Hospital and the Hospital of Ioannina, both in Greece. These results were compared to the histological biopsy which was taken by the women and which was used as the "gold standard" of our survey. We calculated statistical measures of accuracy (such as sensitivity and specificity) and applied statistical hypothesis tests (such as Pearson's  $X^2$  and McNemar's test). Then, we reached some very important conclusions regarding the way that the screening tests can support clinicians in the improvement of the diagnostic accuracy of PAP test. These conclusions can be extremely useful for the development of a triage protocol, which combines the results of the different detection techniques so that clinicians can decide better the treatment options of each special case.

**Key-words:** Cervical cancer, HPV, PAP test, Screening, HPV DNA test, NASBA mRNA test, p16 test, Flow Cytometry, Statistical analysis of categorical data, Statistical measures of accuracy, Statistical hypothesis tests, Triage.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βιοϊατρικής Τεχνολογίας της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, σε συνεργασία με το Αττικό Νοσοκομείο και το Νοσοκομείο Ιωαννίνων.

Για την πραγματοποίησή της θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου προς τον επιβλέποντα καθηγητή, κ. Δημήτριο Κουτσούρη, που μου έδωσε τη δυνατότητα να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον και σύγχρονο θέμα καθώς επίσης και για τη συνολική υποστήριξή του. Τη Δρα. Μαρία Χαρίτου για τις πολύ χρήσιμες συμβουλές της κατά την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο Δρα. Παναγιώτη Μπούντρη, για την αδιάκοπη καθοδήγησή του και την καταλυτική του συνεργασία σε όλα τα προβλήματα που συνάντησα. Χωρίς την ουσιαστική αλλά και ψυχολογική του στήριξη, η εργασία αυτή δεν θα μπορούσε να είχε υλοποιηθεί τόσο αποτελεσματικά. Επίσης, ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής κυρία Κωνσταντίνα Νικήτα και κύριο Παναγιώτη Τσανάκα, καθηγητές της Σχολής των Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών. Θερμές ευχαριστίες στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Πέτρο Καρακίτσο (Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών), για την παραχώρηση των ιατρικών δεδομένων και τη βοήθειά του στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους που έβαλαν έστω και ένα μικρό λιθαράκι στην περάτωση της διπλωματικής εργασίας.

Θέμα της διπλωματικής εργασίας είναι η στατιστική ανάλυση ιατρικών δεδομένων για τη μέτρηση της απόδοσης νέων τεχνικών ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας με σκοπό τον εγκυρότερο προληπτικό πληθυσμιακό έλεγχο της νόσου. Στόχος της εργασίας είναι η εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την συνδυαστική χρήση των νέων τεχνικών ανίχνευσης (HPV DNA, NASBA mRNA, p16, Flow Cytometry) ώστε να αναγνωρίζονται οι λανθασμένες προβλέψεις του υπάρχοντος PAP test.

Στο πρώτο κεφάλαιο, παρουσιάζεται το ιατρικό πρόβλημα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) και στις τεχνικές ανίχνευσής του. Στο δεύτερο κεφάλαιο, επεξηγούνται οι μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης κατηγορικών δεδομένων που χρησιμοποιήσαμε στην έρευνά μας.

Στο τρίτο και στο τέταρτο κεφάλαιο, παρουσιάζονται εκτενώς όλες οι αναλύσεις που κάναμε πάνω στα δεδομένα του δείγματος των γυναικών, τα συμπεράσματα που προέκυψαν κατά τη στατιστική ανάλυση καθώς και οι προτάσεις μας για μελλοντική έρευνα πάνω στο ίδιο θέμα.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	7
ABSTRACT .....	9
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ-ΣΧΗΜΑΤΩΝ .....	17
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	19
1. Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΜΗΤΡΑΣ ΚΑΙ Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ .....	23
1.1 Ανατομία τραχήλου μήτρας.....	23
1.2 Καρκίνος τραχήλου μήτρας.....	29
1.2.1 Επιδημιολογία .....	30
1.2.2 Αιτιολογία .....	32
1.2.2.1 Συσχέτιση ιού HPV με καρκίνο τραχήλου μήτρας.....	32
1.2.2.2 Κύκλος ζωής και δράση ιού HPV .....	34
1.2.2.3 Αντίδραση ανοσοποιητικού συστήματος στον ιό HPV .....	37
1.2.2.4 Άλλοι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου τραχήλου .....	38
1.2.3 Ταξινόμηση προκαρκινικών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας.....	39
1.2.4 Σταδιοποίηση και ιστολογικοί τύποι καρκίνου τραχήλου μήτρας.....	40
1.2.5 Συμπτώματα .....	41
1.2.6 Διάγνωση.....	42
1.2.7 Πρόληψη .....	45
1.2.8 Θεραπεία .....	47
1.3 Προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος και ανίχνευση καρκίνου τραχήλου μήτρας	48
1.3.1 PAP test.....	49
1.3.2 Νέες τεχνικές ανίχνευσης καρκίνου τραχήλου μήτρας.....	52
1.3.2.1 HPV DNA test.....	52
1.3.2.2 mRNA test.....	54

1.3.2.3 p16 test .....	55
1.3.2.4 Flow Cytometry test .....	56
1.3.3 Πρόβλημα βελτιστοποίησης της απόδοσης των τεχνικών ανίχνευσης καρκίνου τραχήλου μήτρας.....	57
1.3.3.1 Σύγχρονες διεθνώς εμπειριστατωμένες μελέτες .....	58
1.3.3.2 Γενικό πλάνο της διπλωματικής εργασίας .....	61
2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ .....	63
2.1 Είδη δεδομένων.....	63
2.1.1 Κατηγορικά Δεδομένα .....	63
2.1.2 Ονομαστικά δεδομένα.....	64
2.1.3 Διατάξιμα δεδομένα .....	64
2.1.4 Δεδομένα διαστηματικής κλίμακας.....	65
2.1.5 Δεδομένα κλίμακας λόγου .....	66
2.1.6 Συνεχή και διακριτά δεδομένα.....	66
2.2 Είδη στατιστικών ερευνών .....	67
2.3 Στατιστικά μέτρα απόδοσης.....	68
2.3.1 Ευαισθησία και ειδικότητα .....	68
2.3.2 Ορθότητα και ακρίβεια .....	72
2.3.3 Θετική και αρνητική προγνωστική αξία .....	73
2.3.4 Θετικός και αρνητικός διαγνωστικός λόγος πιθανοφανειών .....	74
2.3.5 Σχετικός κίνδυνος και αναλογία πιθανοτήτων .....	76
2.3.6 Χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας.....	79
2.4 Έλεγχος υποθέσεων και στατιστική σημαντικότητα .....	82
2.5 Στατιστικοί έλεγχοι υποθέσεων κατηγορικών δεδομένων.....	84
2.5.1 Έλεγχοι ανεξαρτησίας $\chi^2$ .....	86
2.5.1.1 Έλεγχοι ανεξαρτησίας για ονομαστικά δεδομένα.....	86
2.5.1.2 Έλεγχοι ανεξαρτησίας για διατάξιμα δεδομένα.....	92

2.5.1.3 Έλεγχοι ανεξαρτησίας για μικρά δείγματα .....	96
2.5.1.4 Στατιστικά μέτρα συσχέτισης .....	96
2.5.2 Έλεγχοι καλής προσαρμογής $\chi^2$ .....	98
2.6 Στατιστικά μέτρα συμφωνίας .....	99
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ .....	101
3.1 Μεθοδολογία .....	101
3.2 Αποτελέσματα .....	105
3.2.1 PAP test .....	105
3.2.1.1 Δυαδικό PAP test .....	105
3.2.1.2 Πολυκατηγορικό PAP test .....	107
3.2.2 HPV DNA test .....	110
3.2.2.1 Δυαδικό HPV DNA test .....	110
3.2.2.2 Πολυκατηγορικό HPV DNA test .....	112
3.2.2.3 HPV DNA test ανά HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου .....	117
3.2.3 NASBA mRNA test .....	130
3.2.3.1 Δυαδικό NASBA mRNA test .....	130
3.2.3.2 NASBA mRNA test ανά HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου .....	133
3.2.4 p16 test .....	146
3.2.5 Flow Cytometry test .....	149
3.2.6 Κολποσκόπηση .....	151
3.2.6.1 Δυαδική κολποσκόπηση .....	151
3.2.6.2 Πολυκατηγορική κολποσκόπηση .....	154
3.2.7 Συνδυασμός των screening tests .....	156
3.2.7.1 Αλλοίωση εντός φυσιολογικών ορίων .....	156
3.2.7.2 ASCUS .....	158
3.2.7.3 LSIL .....	160

3.2.7.4 HSIL .....	161
3.2.7.5 Συμπεράσματα και παρατηρήσεις του συνδυασμού των screening tests...	163
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	167
4.1 Γενικά συμπεράσματα της στατιστικής ανάλυσης.....	167
4.2 Μελλοντική Έρευνα.....	169
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	172



## *ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ-ΣΧΗΜΑΤΩΝ*

<b>Εικόνα 1.1:</b> Όργανα γυναικείου γεννητικού συστήματος.....	23
<b>Εικόνα 1.2:</b> Τομή της μήτρας και του τραχήλου της.....	24
<b>Εικόνα 1.3:</b> Μήτρα, τράχηλος και κολεός.....	25
<b>Εικόνα 1.4:</b> Σχήμα τραχηλικού στομίου πριν την εγκυμοσύνη, μετά από την εγκυμοσύνη και μετά την εμμηνόπαυση.....	25
<b>Εικόνα 1.5:</b> Το κυλινδρικό επιθήλιο του ενδοτραχηλικού σωλήνα.....	26
<b>Εικόνα 1.6:</b> Τα επίπεδα του πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου.....	27
<b>Εικόνα 1.7:</b> Εξέλιξη μεταπλασίας κυλινδρικού ενδοτραχήλου σε πλακώδες επιθήλιο.....	28
<b>Εικόνα 1.8:</b> Ιστολογικά στάδια μεταπλασίας τραχήλου.....	29
<b>Εικόνα 1.9:</b> Κανονικοποιημένη ως προς την ηλικία παγκόσμια συχνότητα θνησιμότητας καρκίνου του τραχήλου ανά χώρα ανά 100.000 κατοίκους το 2004.....	30
<b>Εικόνα 1.10:</b> Συχνότητα καρκίνου τραχήλου στις ευρωπαϊκές χώρες 1960-2000.....	31
<b>Εικόνα 1.11:</b> Πλήθος καρκίνων ανά έτος λόγω HPV παγκοσμίως.....	32
<b>Εικόνα 1.12:</b> Δομή του γονιδιώματος του ιού HPV.....	35
<b>Εικόνα 1.13:</b> Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου μέσω ρυθμιστικών πρωτεϊνών σε φυσιολογικό κύτταρο.....	37
<b>Εικόνα 1.14:</b> Στάδια ανάπτυξης πλακώδους καρκίνου τραχήλου σε αρχικά φυσιολογικό επιθήλιο.....	39
<b>Εικόνα 1.15:</b> Αναλυτική σταδιοποίηση καρκίνου τραχήλου μήτρας κατά FIGO.....	40
<b>Εικόνα 1.16:</b> Κολποσκόπιο.....	44
<b>Εικόνα 1.17:</b> Γεώργιος Παπανικολάου (1883-1962).....	49
<b>Εικόνα 1.18:</b> Δειγματοληψία τραχήλου.....	50

<b>Εικόνα 1.19:</b> Η βασική αρχή λειτουργίας του Flow Cytometry.....	56
<b>Εικόνα 2.1:</b> Σχέση ορθότητας και ακρίβειας.....	72
<b>Εικόνα 2.2:</b> Χαρακτηριστικά σημεία μιας καμπύλης ROC.....	80
<b>Εικόνα 2.3:</b> Παραδείγματα $\chi^2$ -κατανομής ως προς τους βαθμούς ελευθερίας.....	87
<b>Εικόνα 3.1:</b> ROC curve των HPV DNA τύπων πολύ υψηλού κινδύνου.....	130
<b>Εικόνα 3.2:</b> ROC curve των HPV DNA και mRNA τύπων πολύ υψηλού κινδύνου.....	146

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.1:</b> Εμφάνιση HPV ανά ηλικία γυναικών στην Αμερική (2004).....	33
<b>Πίνακας 1.2:</b> Απόδοση mRNA test για ανίχνευση CIN2,3 και διηθητικού καρκίνου.....	59
<b>Πίνακας 1.3:</b> Ανίχνευση της p16 στις διάφορες αλλοιώσεις του τραχήλου.....	60
<b>Πίνακας 1.4:</b> Ανίχνευση της p16 στα διάφορα στάδια τραχηλικής αλλοίωσης.....	60
<b>Πίνακας 1.5:</b> Σύγκριση απόδοσης του Flow Cytometry (E6/E7 mRNA) και του HPV DNA test (Hybrid Capture II).....	61
<b>Πίνακας 2.1:</b> Σύγκριση case-control και cohort studies.....	67
<b>Πίνακας 2.2:</b> Γενικός πίνακας συνάφειας ενός δυαδικού διαγνωστικού test.....	70
<b>Πίνακας 2.3:</b> Συνοπτικός πίνακας στατιστικών μέτρων ορθότητας.....	76
<b>Πίνακας 2.4:</b> Πίνακας μέτρων σύγκρισης των fractions των A,B tests.....	79
<b>Πίνακας 2.5:</b> Πίνακας συνάφειας για υπολογισμό ελέγχων ανεξαρτησίας $\chi^2$ .....	90
<b>Πίνακας 2.6:</b> Πίνακας για υπολογισμό τυποποιημένων υπολοίπων.....	91
<b>Πίνακας 2.7:</b> Πίνακας συνάφειας για υπολογισμό του $M^2$ .....	93
<b>Πίνακας 2.8:</b> Ερμηνεία τιμών του Cohen's kappa value.....	99
<b>Πίνακας 3.1:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικού PAP test.....	105
<b>Πίνακας 3.2:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικού PAP test στις κατηγορίες της βιοψίας.....	106
<b>Πίνακας 3.3:</b> Κατανομή των ASCUS στις κατηγορίες της βιοψίας.....	108
<b>Πίνακας 3.4:</b> Πίνακας συνάφειας πολυκατηγορικού PAP test (χωρίς ASCUS).....	108
<b>Πίνακας 3.5:</b> Πίνακας συνάφειας πολυκατηγορικού PAP test (με ASCUS).....	109
<b>Πίνακας 3.6:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικού HPV DNA test.....	110
<b>Πίνακας 3.7:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικού HPV DNA test στις κατηγορίες της βιοψίας.....	111

<b>Πίνακας 3.8:</b> Πίνακας συνάφειας HPV DNA test τριών κατηγοριών.....	113
<b>Πίνακας 3.9:</b> Πίνακας συνάφειας HPV DNA test τεσσάρων κατηγοριών.....	115
<b>Πίνακας 3.10:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 16.....	117
<b>Πίνακας 3.11:</b> Πίνακας συνάφειας του HPV 16 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	118
<b>Πίνακας 3.12:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 18.....	119
<b>Πίνακας 3.13:</b> Πίνακας συνάφειας του HPV 18 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	120
<b>Πίνακας 3.14:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 31.....	121
<b>Πίνακας 3.15:</b> Πίνακας συνάφειας του HPV 31 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	122
<b>Πίνακας 3.16:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 33.....	123
<b>Πίνακας 3.17:</b> Πίνακας συνάφειας του HPV 33 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	124
<b>Πίνακας 3.18:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 45.....	124
<b>Πίνακας 3.19:</b> Πίνακας συνάφειας του HPV 45 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	125
<b>Πίνακας 3.20:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 53.....	126
<b>Πίνακας 3.21:</b> Πίνακας συνάφειας του HPV 53 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	127
<b>Πίνακας 3.22:</b> Σύγκριση HPV τύπων πολύ υψηλού κινδύνου με αναλογία πιθανοτήτων.....	129
<b>Πίνακας 3.23:</b> TPF και FPF ανά εξεταζόμενο HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου.....	130
<b>Πίνακας 3.24:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικού NASBA mRNA test.....	131
<b>Πίνακας 3.25:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικού NASBA mRNA test στις κατηγορίες της βιοψίας.....	132
<b>Πίνακας 3.26:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του N16.....	134
<b>Πίνακας 3.27:</b> Πίνακας συνάφειας του N16 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	135
<b>Πίνακας 3.28:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του N18.....	136
<b>Πίνακας 3.29:</b> Πίνακας συνάφειας του N18 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	137
<b>Πίνακας 3.30:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του N31.....	138

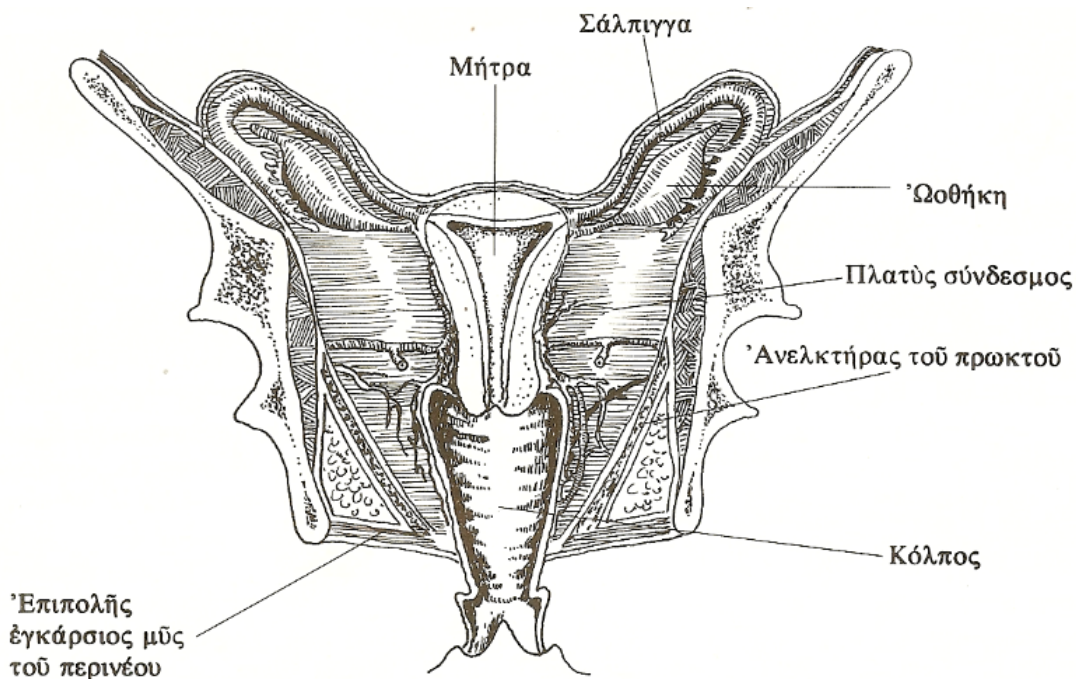
<b>Πίνακας 3.31:</b> Πίνακας συνάφειας του N31 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	139
<b>Πίνακας 3.32:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του N33.....	139
<b>Πίνακας 3.33:</b> Πίνακας συνάφειας του N33 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	141
<b>Πίνακας 3.34:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του N45.....	141
<b>Πίνακας 3.35:</b> Πίνακας συνάφειας του N45 στις κατηγορίες της βιοψίας.....	142
<b>Πίνακας 3.36:</b> Σύγκριση mRNA των HPV τύπων πολύ υψηλού κινδύνου με αναλογία πιθανοτήτων.....	144
<b>Πίνακας 3.37:</b> TPF και FPF ανά εξεταζόμενο HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου.....	145
<b>Πίνακας 3.38:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του p16 test.....	147
<b>Πίνακας 3.39:</b> Πίνακας συνάφειας του p16 test στις κατηγορίες της βιοψίας.....	148
<b>Πίνακας 3.40:</b> Δυαδικός πίνακας συνάφειας του Flow Cytometry test.....	149
<b>Πίνακας 3.41:</b> Πίνακας συνάφειας του Flow Cytometry test στις κατηγορίες της βιοψίας.....	150
<b>Πίνακας 3.42:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικής κολποσκόπησης.....	152
<b>Πίνακας 3.43:</b> Πίνακας συνάφειας δυαδικής κολποσκόπησης στις κατηγορίες της βιοψίας.....	153
<b>Πίνακας 3.44:</b> Πίνακας συνάφειας πολυκατηγορικής κολποσκόπησης στις κατηγορίες της βιοψίας.....	154



# 1. Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΜΗΤΡΑΣ ΚΑΙ Η ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ

## 1.1 Ανατομία τραχήλου μήτρας

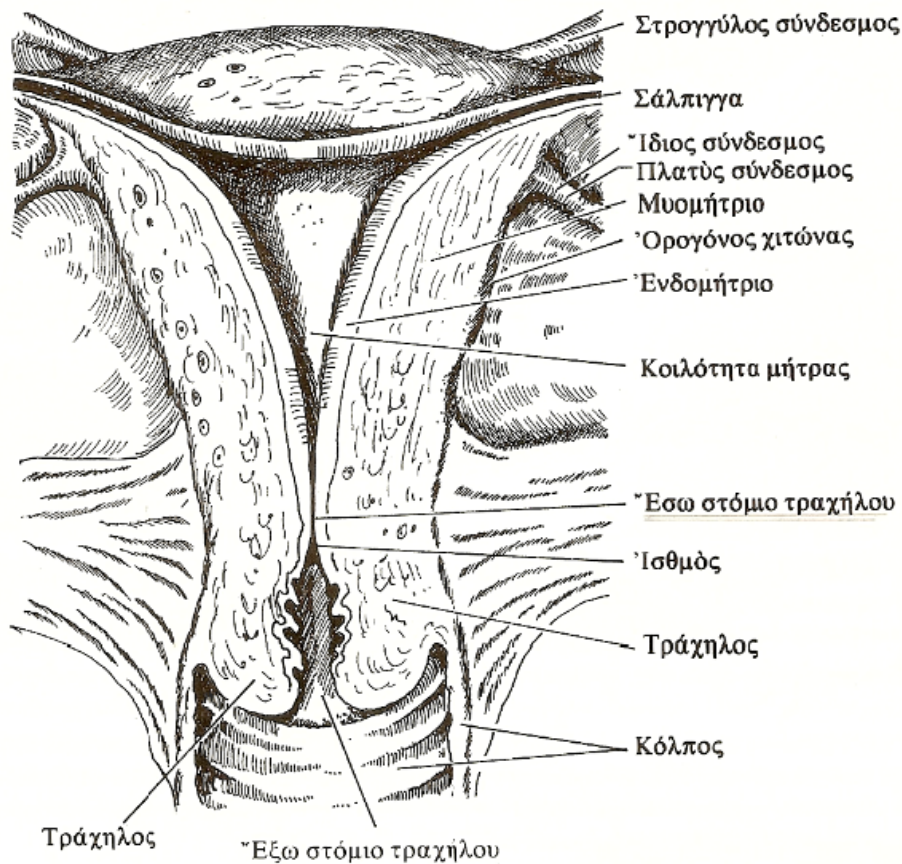
Τα όργανα του γυναικείου γεννητικού συστήματος βρίσκονται στην πύελο και συμπεριλαμβάνουν τις ωοθήκες, τις σάλπιγγες, την μήτρα, τον τράχηλο της μήτρας και τον κολεό ή κόλπο (Εικόνα 1.1) [1]. Οι ωοθήκες είναι ζεύγος οργάνων τοποθετημένες εκατέρωθεν της μήτρας και προσκείμενες στα πλευρικά τοιχώματα της πύελου. Είναι υπεύθυνες για την ωογένεση και την κυκλική απελευθέρωση του ωαρίου στη γυναίκα μετά την εφηβεία. Οι ωαγωγοί (σάλπιγγες) είναι δύο ινομυώδεις σωλήνες μήκους 10cm, που οδηγούν το ωάριο από την επιφάνεια της ωοθήκης στην κοιλότητα της μήτρας [3].



Εικόνα 1.1: Όργανα γυναικείου γεννητικού συστήματος.

Η **μήτρα** είναι ένα κοίλο μυώδες όργανο με παχιά τοιχώματα που βρίσκεται μέσα στη μικρή πύελο ανάμεσα στην ουροδόχο κύστη και το ορθό έντερο. Έχει σχήμα αποπλατυσμένου αχλαδιού και ο επιμήκης άξονάς της συμπίπτει με τον άξονα εισόδου της λεκάνης (Εικόνα 1.2). Στην άτοκη γυναίκα έχει μήκος περίπου 7cm , πλάτος 5cm και

πάχος τοιχώματος 3cm. Στο πάνω τμήμα της μήτρας είναι ο πυθμένας όπου υπάρχουν δύο στόμια με τα οποία η μητρική κοιλότητα έρχεται σε επικοινωνία με τους αυλούς των δύο σαλπίγγων. Το μεγαλύτερο κεντρικό της τμήμα ονομάζεται σώμα της μήτρας. Το κατώτερο στενό τμήμα ονομάζεται τράχηλος μήτρας, ο οποίος οδηγεί στον κολεό [1]. Ο **κολεός** (κόλπος) είναι ένας ινομυώδης σωλήνας που έχει μήκος περίπου 7cm και εκτείνεται από τον πρόδρομο μέχρι τον τράχηλο. Επικοινωνεί με το σώμα της μήτρας μέσω του ενδοτραχήλου και προς τα κάτω με το εξωτερικό περιβάλλον [3].



*Εικόνα 1.2: Τομή της μήτρας και του τραχήλου της.*

Ο **τράχηλος** είναι το λεπτό κατώτερο τμήμα της μήτρας του οποίου το κάτω τμήμα εισέχει στο άνω τμήμα του κολεού (Εικόνα 1.3). Είναι ινομυώδες όργανο που καλύπτεται από βλέννη και έχει μήκος 3cm και διάμετρο 2.5cm. Έχει κυλινδρικό σχήμα που αλλάζει στην εγκυμοσύνη και μετά την εμμηνόπαυση. Βρίσκεται ανάμεσα στο σώμα της μήτρας και τον κολεό. Το τμήμα του τραχήλου που εισέχει στο άνω τμήμα του κολεού καλύπτεται από πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο το οποίο βρίσκεται σε συνέχεια με το πλακώδες επιθήλιο του κολεού [2,3].





**Εικόνα 1.3:** Μήτρα, τράχηλος και κολεός.

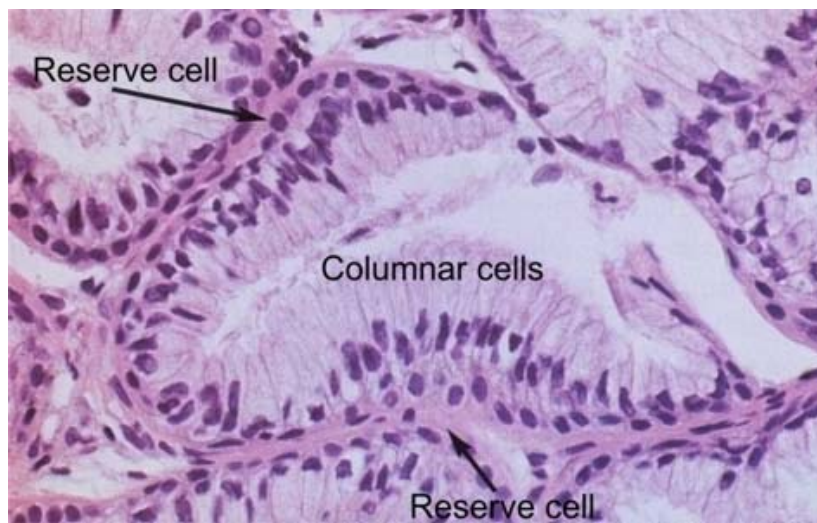
Ο τράχηλος διασχίζεται εσωτερικά από τον **ενδοτραχηλικό σωλήνα** που καλύπτεται από αδενικό επιθήλιο και ο οποίος προς τα πάνω βρίσκεται σε συνέχεια με το σώμα της μήτρας, στον ισθμό. Προς τα κάτω βρίσκεται σε συνέχεια με τον κόλπο, στο τραχηλικό στόμιο (*Εικόνα 1.2*). Το σχήμα του τραχηλικού στομίου ποικίλλει. Στην άτοκο γυναίκα είναι μικρό και κυκλικό. Μετά την εγκυμοσύνη μοιάζει με σχισμή. Μετά την εμμηνόπαυση μπορεί να είναι τόσο στενό όσο η αιχμή καρφίτσας (*Εικόνα 1.4*) [3].



**Εικόνα 1.4:** Σχήμα τραχηλικού στομίου πριν την εγκυμοσύνη, μετά από την εγκυμοσύνη και μετά την εμμηνόπαυση.

Η επιφάνεια του αυλού του ενδοτραχηλικού σωλήνα καλύπτεται από μία στιβάδα κυλινδρικών κυττάρων. Το **κυλινδρικό επιθήλιο** του ενδοτραχηλικού σωλήνα αποτελείται από κυλινδρικά κύτταρα πασσαλοειδούς διάταξης. Ο πυρήνας των κυλινδρικών κυττάρων

βρίσκεται συνήθως στη βάση του κυττάρου, αλλά όταν τα κύτταρα εκκρίνουν βλέννη ο πυρήνας μπορεί να βρίσκεται ψηλότερα της βάσης ή στη μέση του κυττάρου. Τρεις τύποι κυττάρων αναγνωρίζονται: τα εκκριτικά κυλινδρικά, τα κροσσωτά κυλινδρικά και τα εφεδρικά κύτταρα (Εικόνα 1.5). Τα εκκριτικά κύτταρα παράγουν όξινη και ουδέτερη βλέννη με την ποσότητα να ποικίλλει κατά την διάρκεια του κύκλου της εμμήνου ροής. Τα κροσσωτά κύτταρα είναι περισσότερα στην ενδομητρική-ενδοτραχηλική συμβολή και κύρια λειτουργία τους είναι να μεταφέρουν τη βλέννη κατά μήκος της βλενώδους μεμβράνης. Τα εφεδρικά κύτταρα είναι μικρά αδιαφοροποίητα πολυδύναμα κύτταρα που εντοπίζονται ανάμεσα στα κυλινδρικά κύτταρα και είναι περισσότερο εμφανή κατά τη μεταπλαστική διαδικασία [3].



*Εικόνα 1.5: Το κυλινδρικό επιθήλιο του ενδοτραχηλικού σωλήνα.*

Ο **εξωτράχηλος** εκτείνεται από την αδενοπλακώδη συμβολή ως τις καμάρες του κόλπου και καλύπτεται από μη κερατινοποιούμενο πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο που είναι ορμονοευαίσθητο [3]. Το πρότυπο πλακώδες επιθήλιο που καλύπτει τον εξωτράχηλο έχει πάχος 0,5mm και παρέχει ένα προστατευτικό κάλυμμα στο κολπικό τμήμα του τραχήλου. Βρίσκεται σε συνέχεια με το πλακώδες επιθήλιο του κόλπου [4].

Το **πλακώδες επιθήλιο** του εξωτραχήλου χωρίζεται από το υπόστρωμα και την ινομυώδη στιβάδα του τραχήλου με ένα λεπτό δίκτυο ινών που αποτελούν την βασική μεμβράνη. Το επιθήλιο στηρίζεται πάνω στο συνδετικό ιστό του τραχήλου που λέγεται **στρώμα**. Το στρώμα αποτελείται κυρίως από κολλαγόνες ίνες και είναι πυκνότερο στον εξωτράχηλο και χαλαρό γύρω από τους ενδοτραχηλικούς αδένες. Στον πυθμένα του επιθηλίου προβάλλει το στρώμα οδοντωτά σε ορισμένες θέσεις, σχηματίζοντας θηλές που έχουν φορά προς την επιφάνεια του επιθηλίου, φθάνουν έως το ένα τρίτο του πάχους του

και φέρουν τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία μέσα στο επιθήλιο. Η **βασική στιβάδα** είναι ένας στίχος κυλινδρικών κυττάρων διαμέτρου 12μm με κύρια λειτουργία την αναγέννηση του επιθηλίου. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η διαδικασία της αναγέννησης του επιθηλίου περιορίζεται στη βασική στιβάδα. Οι υπόλοιπες στιβάδες αντανakλούν τα διαφορετικά στάδια της ωρίμανσης των επιθηλιακών κυττάρων. Η **διάμεση ή παραβασική στιβάδα** αποτελείται από ώριμα πλακώδη κύτταρα που έχουν περισσότερο κυτταρόπλασμα και φαίνονται λίγο μεγαλύτερα από αυτά της βασικής στιβάδας. Η **επιπολής στιβάδα** αποτελείται από αρκετούς στίχους χαλαρά συνδεδεμένων κυττάρων που είναι πλατύτερα και λεπτότερα από αυτά της διάμεσης στιβάδας. Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο των επιπολής στιβάδων αποκαλύπτει ένα δίκτυο από πλακώδη κύτταρα τα οποία σχηματίζουν μωσαϊκό (Εικόνα 1.6) [3,16].



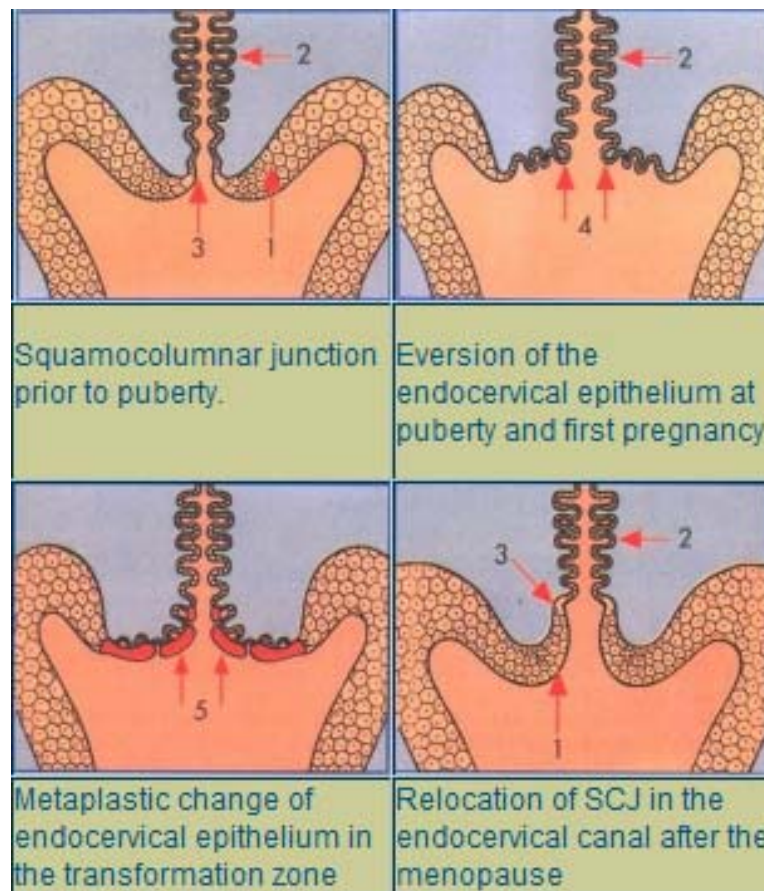
*Εικόνα 1.6: Τα επίπεδα του πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου.*

Η **αδενοπλακώδης συμβολή (ΑΠΣ)** βρίσκεται στο σημείο όπου το κυλινδρικό επιθήλιο συναντά το πλακώδες επιθήλιο. Η θέση αυτή ποικίλει κατά τη διάρκεια της ζωής ως αποτέλεσμα των μεταπλαστικών αλλαγών στο κυλινδρικό επιθήλιο του τραχήλου. Πριν την εφηβεία, η ΑΠΣ συνήθως βρίσκεται στο έξω στόμιο του τραχήλου. Μετά την εγκυμοσύνη συνήθως βρίσκεται στον εξωτράχηλο. Μετά την εμμηνόπαυση συνήθως βρίσκεται μέσα στον ενδοτραχηλικό σωλήνα [3].

Η **ζώνη μετάπλασης** είναι η περιοχή των μεταπλαστικών αλλαγών στον τράχηλο. Είναι σημαντική από την άποψη ότι τα κύτταρα της ζώνης μετάπλασης είναι εξαιρετικά ευπαθή στα καρκινογόνα και οι περισσότερες νεοπλασίες ξεκινούν στην περιοχή αυτή [3].

**Μεταπλασία** είναι η διαδικασία κατά την οποία ένας τύπος επιθηλίου, που είναι πλήρως διαφοροποιημένος, μετατρέπεται σε άλλο τύπο επιθηλίου. Πρόκειται συνήθως για μία προσαρμοστική αλλαγή η οποία συμβαίνει ως αντίδραση σε έναν μακροχρόνιο ερεθισμό ή ως αντίδραση σε ορμονικό ερέθισμα. Συνήθως είναι αναστρέψιμη και θεωρητικά ένα μετατρέπόμενο επιθήλιο θα πρέπει να επιστρέψει στην αρχική του μορφή όταν απομακρυνθεί το ερέθισμα, αλλά αυτό δεν γίνεται πάντα [3,17].

Στον τράχηλο της μήτρας, οι μεταπλαστικές αλλαγές περιλαμβάνουν μετατροπή του αδενικού επιθηλίου του ενδοτραχήλου σε πλακώδες επιθήλιο. Κατά την διάρκεια της εφηβείας και της πρώτης κύησης, ο τράχηλος αυξάνεται σε όγκο ως αντίδραση στις ορμονικές αλλαγές. Το ενδοτραχηλικό επιθήλιο στρέφεται προς τον εξωτράχηλο και έτσι εκτίθεται στο όξινο pH του κόλπου. Αυτό αποτελεί ερέθισμα για **μεταπλασία του κυλινδρικού επιθηλίου**. Η διαδικασία της μεταπλασίας είναι ανομοιογενής αφού αρχίζει μέσα στις κρύπτες και στις κορυφές των ενδοτραχηλικών θηλών που σταδιακά ενοποιούνται και βαθμιαία ολόκληρο το ανεστραμμένο ενδοτραχηλικό επιθήλιο μπορεί να αντικατασταθεί από πλακώδες επιθήλιο (*Εικόνα 1.7*) [3,18].



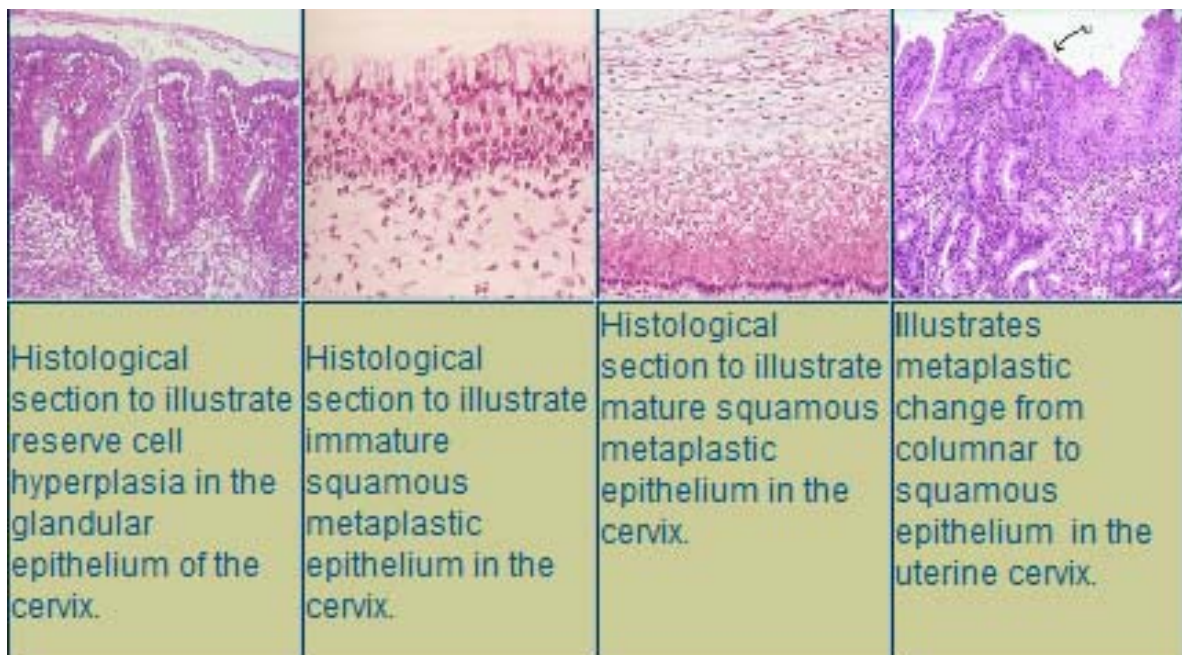
*Εικόνα 1.7: Εξέλιξη μεταπλασίας κυλινδρικού ενδοτραχήλου σε πλακώδες επιθήλιο.*

Τρία **ιστολογικά στάδια** έχουν αναγνωρισθεί (Εικόνα 1.8) [3]:

Στάδιο 1: Υπερπλασία των εφεδρικών κυττάρων – τα εφεδρικά κύτταρα του ενδοτραχηλικού επιθηλίου αρχίζουν να διαιρούνται.

Στάδιο 2: Ανώριμη πλακώδης μεταπλασία - τα εφεδρικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται για να σχηματίσουν μία στιβάδα από πολλούς στίχους αδιαφοροποίητων κυττάρων. Συχνά παρατηρείται μία επιφανειακή στιβάδα από βλεννοεκκριτικά κύτταρα.

Στάδιο 3: Ωριμη πλακώδης μεταπλασία – τα αδιαφοροποίητα κύτταρα έχουν διαφοροποιηθεί σε ώριμο πλακώδες επιθήλιο που σχεδόν δεν ξεχωρίζει από το γνήσιο πλακώδες επιθήλιο.



*Εικόνα 1.8: Ιστολογικά στάδια μεταπλασίας τραχήλου.*

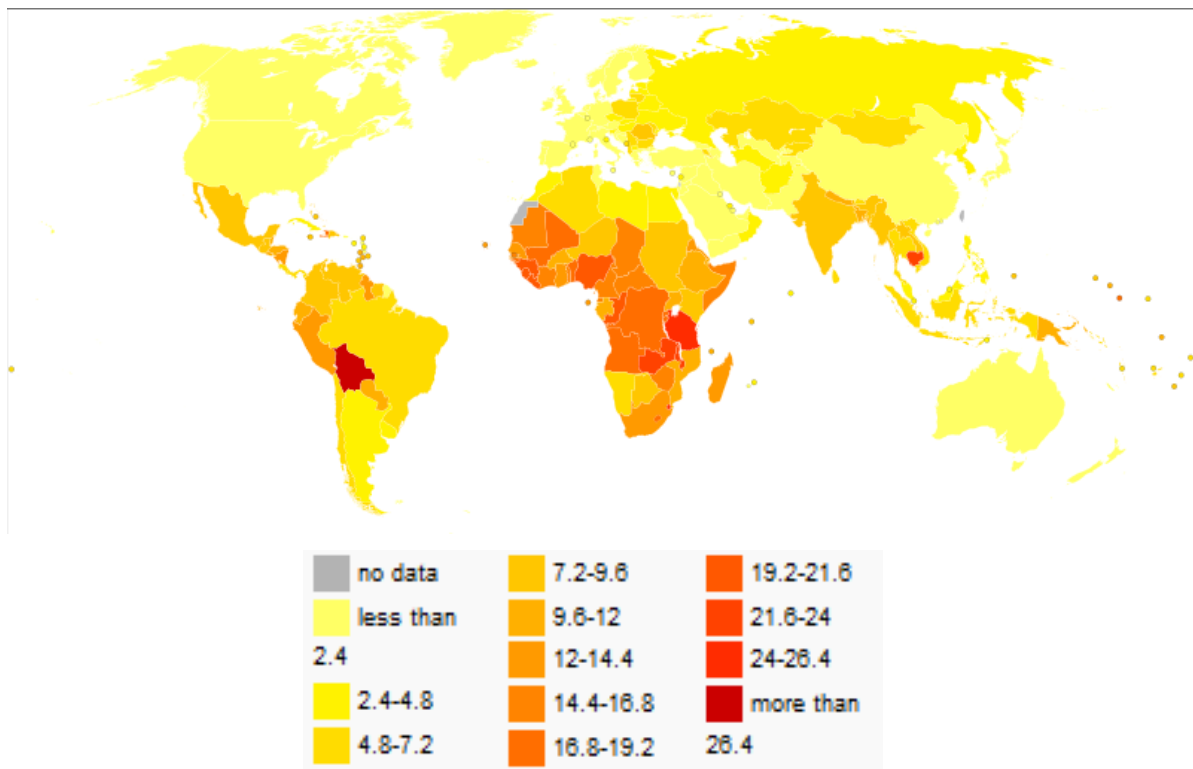
## 1.2 Καρκίνος τραχήλου μήτρας

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η ζώνη μετάπλασης είναι η περιοχή των μεταπλαστικών αλλαγών στον τράχηλο και είναι ιδιαίτερως σημαντική καθώς εκεί εμφανίζονται οι περισσότερες νεοπλασίες του τραχήλου. Πιο συγκεκριμένα, τα ανώριμα μεταπλαστικά επιθηλιακά κύτταρα είναι ευπαθή στα καρκινογόνα γι' αυτό και τα περισσότερα καρκινώματα του τραχήλου αναπτύσσονται εκεί [4,5].

### 1.2.1 Επιδημιολογία

**Παγκοσμίως**, ο καρκίνος τραχήλου της μήτρας είναι ο πέμπτος πιο θανατηφόρος καρκίνος των γυναικών [6]. Προσβάλλει περίπου 16 στις 100.000 γυναίκες το χρόνο και σκοτώνει 9 στις 100.000 γυναίκες το χρόνο [7]. Υπολογίζεται ότι υπάρχουν 473.000 περιπτώσεις του καρκίνου του τραχήλου και 253.500 θάνατοι ετησίως [14].

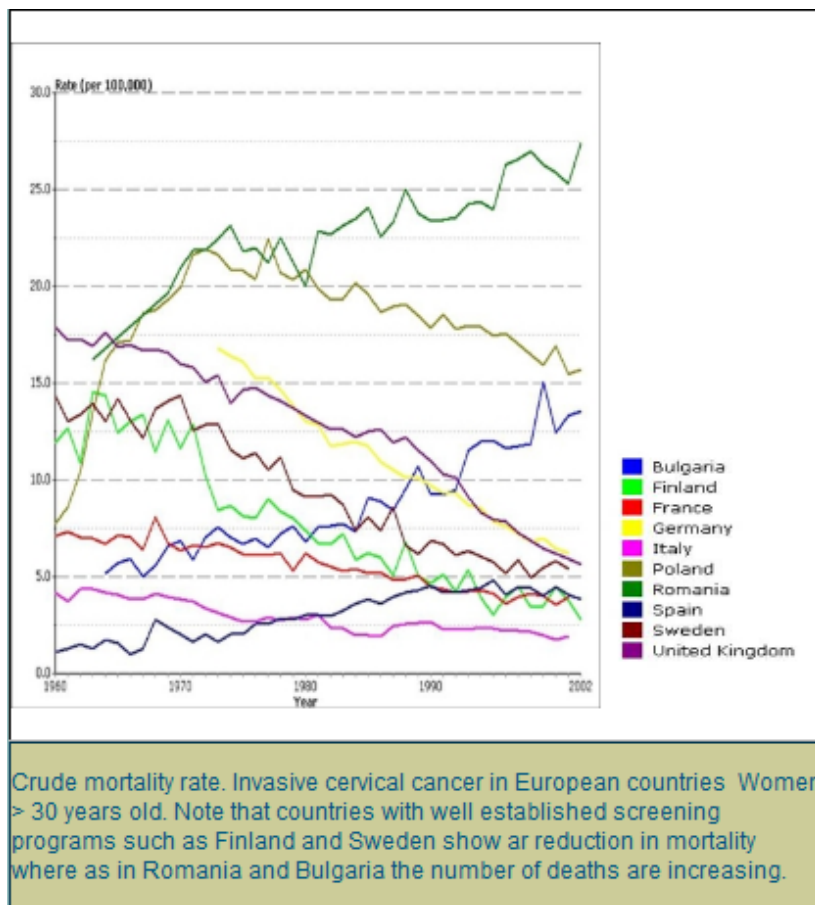
Η τιμή της επίπτωσης ποικίλλει **από χώρα σε χώρα** (Εικόνα 1.9), ενώ το 80% των περιπτώσεων συμβαίνει στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες [8]. Η αιτία για αυτό βρίσκεται στις κοινωνικοοικονομικές συνθήκες που επικρατούν σε αυτές τις χώρες όπου η δυνατότητα οικογενειακού προγραμματισμού, η μαιευτική και γυναικολογική δημόσια υγεία είναι μηδαμινή και προληπτικά προγράμματα για τον καρκίνο του τραχήλου ουσιαστικά δεν υπάρχουν. Η Αφρική, η Κεντρική Αμερική, η Νότια Αμερική και η Καραϊβική έχουν την μεγαλύτερη επίπτωση. Οι χαμηλότερες τιμές βρίσκονται στην Φινλανδία, τις Ηνωμένες Πολιτείες, τον Καναδά, την Αυστραλία, τη Μεγάλη Βρετανία και την Ολλανδία. Ο συστηματικός προληπτικός έλεγχος (screening) των γυναικών που βρίσκονται στις ομάδες υψηλού κινδύνου, έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στην χαμηλή επίπτωση του καρκίνου του τραχήλου σε αυτές τις χώρες [3].



**Εικόνα 1.9:** Κανονικοποιημένη ως προς την ηλικία παγκόσμια συχνότητα θνησιμότητας καρκίνου του τραχήλου ανά χώρα ανά 100.000 κατοίκους το 2004.

Στις **Ηνωμένες Πολιτείες**, αποτελεί μόλις τον όγδοο συχνότερο καρκίνο των γυναικών. Μεταξύ των γυναικολογικών καρκίνων κατατάσσεται πίσω από τον καρκίνο του ενδομητρίου και των ωθηκών [5]. Η συχνότητα και η θνησιμότητα στις ΗΠΑ είναι περίπου το ήμισυ αυτών για τον υπόλοιπο κόσμο που οφείλεται κυρίως στην επιτυχία του προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου με το PAP test [9]. Η συχνότητα εμφάνισης νέων κρουσμάτων στις ΗΠΑ ήταν 7 ανά 100.000 γυναίκες το 2004 [10].

Στο **Ηνωμένο Βασίλειο**, η επίπτωση ήταν 8,5 ανά 100.000 γυναίκες ανά έτος το 2006. Είναι ο δωδέκατος συχνότερος καρκίνος στις γυναίκες (2% των γυναικείων καρκίνων) και ο δεύτερος πιο κοινός καρκίνος στις κάτω από 35 χρόνων γυναίκες [5]. Η θνησιμότητα ήταν 2,4 στις 100.000 γυναίκες ανά έτος το 2007 [11].



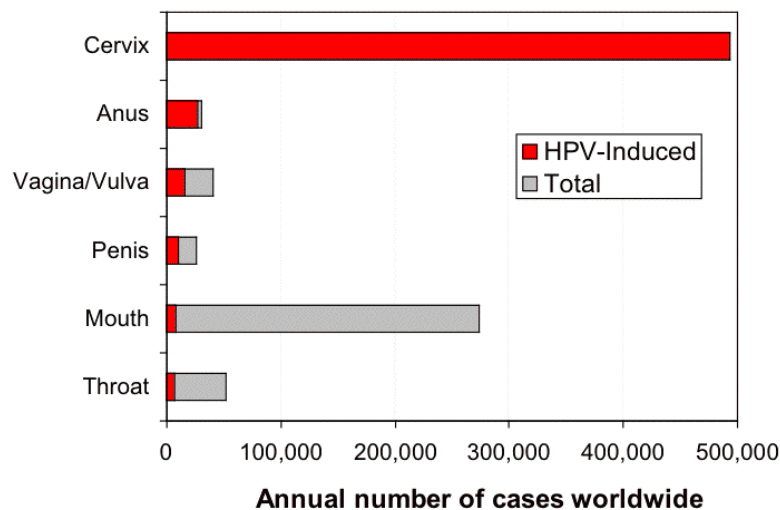
**Εικόνα 1.10:** Συχνότητα καρκίνου τραχήλου στις ευρωπαϊκές χώρες 1960-2000.

Στον **Καναδά**, το 2008 1300 γυναίκες διαγνώστηκαν με καρκίνο τραχήλου και 380 πέθαναν. Στην **Αυστραλία**, υπήρξαν 734 περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου το 2005. Οι γυναίκες που διαγιγνώσκονται με καρκίνο τραχήλου μειώνονται κατά μέσο όρο 5% κάθε χρόνο μετά από το πρόγραμμα πληθυσμιακού ελέγχου που ξεκίνησε το 1991 [12,13].

## 1.2.2 Αιτιολογία

### 1.2.2.1 Συσχέτιση ιού HPV με καρκίνο τραχήλου μήτρας

Ο καρκίνος του τραχήλου οφείλεται κυρίως στη λοίμωξη από τον **ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papillomavirus ή HPV)**. Ο HPV είναι μέλος της οικογένειας των ιών των θηλωμάτων που μπορούν να μολύνουν τον άνθρωπο. Ο ιός HPV προκαλεί τη δημιουργία λοιμώξεων μόνο στο στρωματοποιημένο επιθήλιο που μπορεί να οδηγήσουν σε καρκίνο του τραχήλου, του αιδοίου, του κόλπου και του πρωκτού σε γυναίκες ή καρκίνο του πρωκτού και του πέους στους άνδρες (*Εικόνα 1.11*) [34].



*Εικόνα 1.11: Πλήθος καρκίνων ανά έτος λόγω HPV παγκοσμίως.*

Στις Ηνωμένες Πολιτείες κάθε χρόνο υπάρχουν περισσότερα από 6,2 εκατομμύρια νέες **HPV λοιμώξεις** σε άνδρες και γυναίκες. Γι' αυτό ο HPV είναι γνωστός ως το «**κοινό κρυολόγημα**» των σεξουαλικά μεταδιδόμενων λοιμώξεων. Είναι πολύ συνηθισμένος και επηρεάζει περίπου το 80% του συνόλου των σεξουαλικά ενεργών ατόμων, είτε έχουν συμπτώματα είτε όχι. Οι περισσότερες HPV λοιμώξεις σε νέες γυναίκες είναι προσωρινές, δεν παρουσιάζουν συμπτώματα και έχουν μικρή μακροπρόθεσμη σημασία αφού ο οργανισμός «καθαρίζεται» από τον ιό όσο περνάνε τα χρόνια (*Πίνακας 1.1*) [5]. Το 70% των λοιμώξεων έχουν φύγει σε ένα χρόνο και το 90% σε δύο χρόνια [36]. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με οριστικό «καθάρισμα» της HPV λοίμωξης από το ανοσοποιητικό σύστημα είτε με βύθισή της σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα. Ο HPV πιθανότατα θα παραμείνει στα κύτταρα του μολυσμένου ατόμου για αόριστο χρονικό διάστημα. Τις περισσότερες



φορές βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση αλλά σε περίπτωση εξασθένησης του ανοσοποιητικού συστήματος μπορεί να παρουσιάσει κάποια συμπτώματα [37].

**Πίνακας 1.1:** Εμφάνιση HPV ανά ηλικία γυναικών στην Αμερική (2004).

Age (years)	Prevalence (%)
14 to 19	24.5%
20 to 24	44.8%
25 to 29	27.4%
30 to 39	27.5%
40 to 49	25.2%
50 to 59	19.6%
<b>14 to 59</b>	<b>26.8%</b>

Η σύνδεση του ιού με τον καρκίνο του τραχήλου οφείλεται στο ότι προκαλεί αλλοιώσεις στα κύτταρα του τραχήλου. Όταν η λοίμωξη εξακολουθεί να υφίσταται (5%-10% των αρχικά μολυσμένων γυναικών) τότε υπάρχει υψηλός κίνδυνος ανάπτυξης **τραχηλικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας** (cervical intraepithelial neoplasia), που αποτελεί το προκαρκινικό στάδιο του τραχήλου και μπορεί να οδηγήσει σε **διηθητικό καρκίνο** [5]. Η διαδικασία αυτή διαρκεί συνήθως 15-20 χρόνια οπότε παρέχει πολλές ευκαιρίες για την ανίχνευση και την αντιμετώπιση των προκαρκινικών αλλοιώσεων [37]. Οι γυναίκες που έχουν πολλούς σεξουαλικούς συντρόφους (ή έχουν σεξουαλικές σχέσεις με άνδρες που είχαν πολλές συντρόφους) έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο [25,26].

Έχουν αναγνωρισθεί περισσότεροι από 150 **τύποι του HPV** (κάποιοι αναφέρουν πάνω από 200 υποτύπους) [27,28]. Από αυτούς, δεκαπέντε έχουν χαρακτηριστεί ως υψηλού κινδύνου τύποι (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73,82), τρεις ως πιθανοί υψηλού κινδύνου (26,53,66) και δώδεκα ως χαμηλού κινδύνου (6,11,40,42,43,44,54,61,70, 72,81,CP6108) [29]. Εμμένουσα λοίμωξη (*persistent infection*) για 10 ή περισσότερα χρόνια με υψηλού κινδύνου τύπους HPV μπορεί να εξελιχθεί σε προκαρκινικές αλλοιώσεις τραχήλου ή ακόμα και σε διηθητικό καρκίνο [35]. Οι τύποι 16 και 18 προκαλούν το 70% των περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου. Μαζί με τον τύπο 31 είναι

οι πρωταρχικοί παράγοντες κινδύνου για καρκίνο του τραχήλου [30]. Πρέπει να σημειωθεί ότι ακόμα και οι χαμηλού κινδύνου τύποι μπορεί να προκαλέσουν καρκίνο [5].

Τα **κονδυλώματα** προκαλούνται από διάφορα στελέχη του HPV που συνήθως δεν σχετίζονται με τον καρκίνο του τραχήλου. Ωστόσο, είναι δυνατόν να έχουμε πολλαπλά στελέχη ταυτόχρονα, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που μπορούν να προκαλέσουν καρκίνο του τραχήλου αλλά και εκείνων που προκαλούν κονδυλώματα [5].

Το **ιατρικώς αποδεκτό πρότυπο**, που έχει εγκριθεί από την Αμερικανική Κοινωνία Καρκίνου (*American Cancer Society*), είναι ότι η ασθενής πρέπει να έχει μολυνθεί από τον HPV για να αναπτύξει καρκίνο τραχήλου. Συνεπώς, θεωρείται ως μια σεξουαλικά μεταδιδόμενη ασθένεια. Παρ' όλα αυτά, οι περισσότερες γυναίκες που έχουν μολυνθεί με υψηλού κινδύνου HPV δεν αναπτύσσουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας [31]. Η χρήση των προφυλακτικών μειώνει αλλά δεν εμποδίζει πάντα την μετάδοση. Ομοίως, ο HPV μπορεί να μεταδοθεί με την επαφή του δέρματος με μολυσμένες περιοχές.

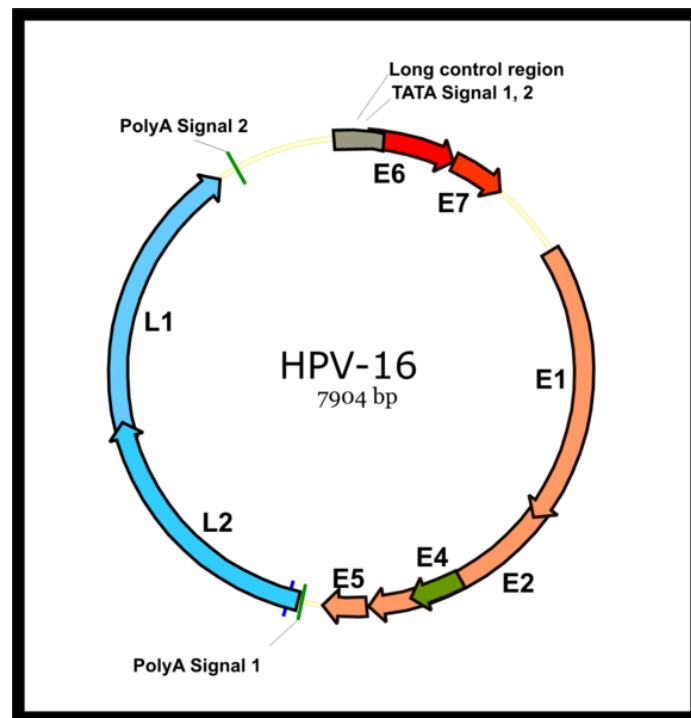
Στους **άνδρες** δεν υπάρχει διαθέσιμο τεστ ελέγχου του HPV αν και πιστεύεται ότι ο HPV αναπτύσσεται επιλεκτικά στη βάλανο του πέους. Ως ένα είδος πρόληψης συνιστάται ο καθαρισμός του χώρου αυτού [5]. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν κάποιες μελέτες [32,33] οι οποίες υποστηρίζουν ότι οι άνδρες που έχουν κάνει περιτομή έχουν λιγότερες πιθανότητες να μολυνθούν από τον HPV. Όμως, δεν υπάρχει κάποια αδιαπραγμάτευτη απόδειξη και δεν έχει αναγνωριστεί από τις διεθνείς αντικαρκινικές οργανώσεις.

#### 1.2.2.2 Κύκλος ζωής και δράση ιού HPV

Ο **κύκλος ζωής του ιού HPV** είναι απαραίτητος για να γίνει κατανοητή η δράση του. Η **λοίμωξη HPV** περιορίζεται στα βασικά κύτταρα (*basal cells*) του στρωματοποιημένου επιθηλίου που είναι ο μοναδικός ιστός στον οποίο αναπαράγονται τα basal cells. Ο ιός μολύνει τα κύτταρα των επιθηλιακών ιστών (συνήθως στη ζώνη μετάπλασης) μέσω μικρών εκδορών ή άλλων επιθηλιακών τραυμάτων που εκθέτουν τομείς της βασικής μεμβράνης [38]. Ύστερα, το γονιδίωμα του ιού μεταφέρεται στον πυρήνα του ξενιστή και αντιγράφεται μαζί με το υπόλοιπο «υγιές» γονιδίωμα του ξενιστή. Μάλιστα, μεταγράφεται και μεταφράζεται κανονικά καθώς το κύτταρο-ξενιστής διαιρείται και διαφοροποιείται στα πάνω στρώματα του επιθηλίου. Έτσι, οι HPV τύποι υψηλού κινδύνου έχουν την ικανότητα να διαιωνίζουν τα βασικά κύτταρα, δηλαδή να επεκτείνουν

την διάρκεια ζωής τους. Η λοιμώδης διαδικασία είναι αργή, αφού απαιτούνται 12-24 ώρες για την έναρξη της μεταγραφής. Θεωρείται ότι τα εμπλεκόμενα αντισώματα παίζουν σημαντικό ρόλο στην εξουδετέρωση, παρόλο που οι ιϊκοί παράγοντες (*virions*) συνεχίζουν να διαμένουν στη βασική μεμβράνη και στην επιφάνεια των κυττάρων [37].

Οι E6 και E7 είναι οι πρωτεΐνες του HPV που συνδέονται με τον καρκίνο αφού αναστέλλουν τη λειτουργία των γονιδίων καταστολής όγκων που συμπεριλαμβάνονται στα μεταβολικά μονοπάτια των πρωτεϊνών p53 [40] και pRb (*ρετινοβλάστωμα*) [44]. Το **γονιδίωμα του HPV** (Εικόνα 1.12) αποτελείται από έξι πρώιμες πρωτεΐνες (*early proteins*) που παράγονται πριν την αντιγραφή του ιού (E1, E2, E3, E4, E6 και E7) και δύο όψιμες πρωτεΐνες (*late proteins*) που παράγονται μετά την αντιγραφή του ιού (L1 και L2) [39].



Εικόνα 1.12: Δομή του γονιδιώματος του ιού HPV.

Μόλις το κύτταρο-ξενιστής προσβληθεί, εκφράζονται (πρώτα) οι **E1 και E2 πρωτεΐνες**. Τα υψηλά επίπεδα της E2 αρχικά καταστέλλουν την παραγωγή των E6/E7. Όταν όμως το γονιδίωμα του HPV ενσωματώνεται στο ξενιστή, η δράση της E2 αναστέλλεται. Συνεπώς, αναστέλλεται και η καταστολή των E6/E7 πρωτεϊνών (ευνοείται η παραγωγή των E6/E7). Στη συνέχεια, οι ενεργοποιημένες **E6/E7 πρωτεΐνες** αδρανοποιούν δύο άλλες βασικές πρωτεΐνες καταστολής όγκων. Πιο συγκεκριμένα, η E6 αναστέλλει την

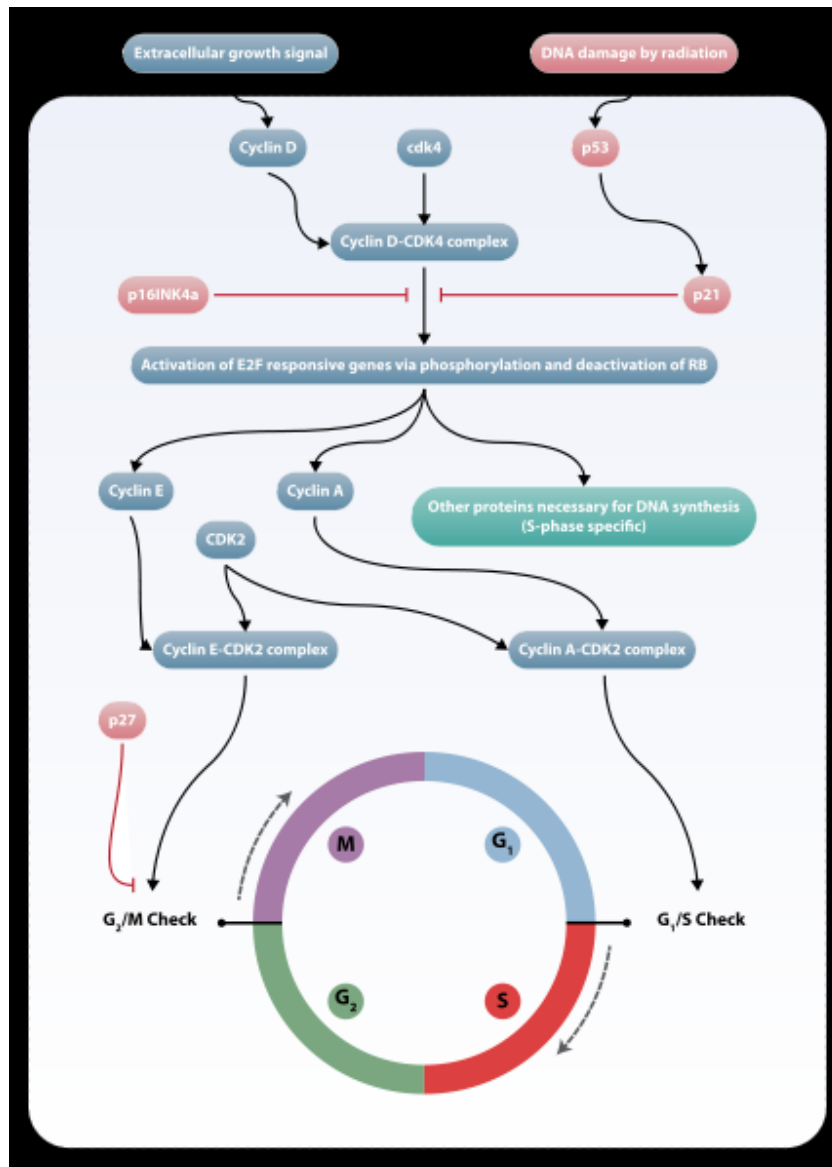
p53 και η E7 την pRb [40]. Τα ογκογονίδια E6 και E7 του ιού [41] ευθύνονται για την τροποποίηση του κυτταρικού κύκλου έτσι ώστε να διατηρηθεί το κύτταρο-ξενιστής σε μια κατάσταση που είναι ευνοϊκή για την αναπαραγωγή του ιϊκού γονιδιώματος [37].

Η **E6 πρωτεΐνη** του HPV σε συνεργασία με την αντίστοιχη πρωτεΐνη του κυττάρου-ξενιστή (που σχετίζεται αποκλειστικά με την E6) επεμβαίνει ρυθμιστικά στην ογκοκατασταλτική p53 πρωτεΐνη και οδηγεί στην πρωτεοσωμική αποσύνθεσή της. Σε ένα φυσιολογικό κύτταρο (που δεν έχει μολυνθεί από τον HPV), η πρωτεΐνη p53 αποτρέπει την κυτταρική ανάπτυξη και οδηγεί το κύτταρο σε απόπτωση αν διαπιστώσει βλάβη στο DNA (*Εικόνα 1.13*). Όταν όμως υπάρχει η E6 πρωτεΐνη του HPV, η p53 δεν μπορεί να εμποδίσει τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων και ευνοείται η περαιτέρω αντιγραφή, μεταγραφή και μετάφραση του HPV στα μολυσμένα κύτταρα [37,43].

Η **E7 πρωτεΐνη** του HPV ενεργεί ως πρωταρχική πρωτεΐνη μετασχηματισμού (*transforming protein*). Όταν δεν υπάρχει η πρωτεΐνη E7 (σε φυσιολογικό κύτταρο που δεν έχει μολυνθεί), τότε το ρετινοβλάστωμα pRb συνδέεται με το μεταγραφικό παράγοντα E2F και τον αποτρέπει από το να προχωρήσει τον κυτταρικό κύκλο στις επόμενες φάσεις του που περιλαμβάνουν τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου, μέχρι το κύτταρο να είναι όντως έτοιμο να διαιρεθεί (*Εικόνα 1.13*). Στην περίπτωση όμως που υπάρχει η E7 πρωτεΐνη του ιού HPV, τότε αυτή συνδέεται με την πρωτεΐνη ρετινοβλάστωμα (pRb) και δεν επιτρέπει στο μεταγραφικό παράγοντα E2F να συνδεθεί με την pRb. Έτσι, απελευθερώνεται ο μεταγραφικός παράγοντας E2F, ο οποίος στη συνέχεια επιτρέπει τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των μολυσμένων κυττάρων [37,43].

Στα ανώτερα στρώματα του επιθηλίου, τα όψιμα γονίδια **L1/L2** μεταγράφονται και μεταφράζονται σε δομικές πρωτεΐνες που ενθυλακώνουν το γονιδίωμα του ιού σε ένα καψίδιο για να το προστατεύσουν. Μόλις το γονιδίωμα του ιού ενθυλακωθεί, το καψίδιο υποβάλλεται σε μια ωρίμανση χημικής οξειδοαναγωγής που σταθεροποιεί τα ιϊκά σωματίδια και αυξάνει την εξειδικευμένη μολυσματικότητά τους [42].

Όταν ένας HPV εισέρχεται σε ένα κύτταρο, το μολύνει και μπορεί να μεταδοθεί. Μπορεί να χρειαστεί να περάσουν αρκετοί μήνες ή και χρόνια για να αναπτυχθούν και να ανιχνευθούν **πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις (Squamous Intraepithelial Lesions ή SIL)**. Ο χρόνος (*latency period*) που μεσολαμβάνει από την πραγματική λοίμωξη μέχρι την κλινική ανίχνευση της ασθένειας καθιστά δύσκολο για κάποιο άτομο που έχει μολυνθεί να καθορίσει ποιος ή ποια σύντροφος ήταν η πηγή της μόλυνσης [37].



Εικόνα 1.13: Ρύθμιση κυτταρικού κύκλου μέσω ρυθμιστικών πρωτεϊνών σε φυσιολογικό κύτταρο.

### 1.2.2.3 Αντίδραση ανοσοποιητικού συστήματος στον ιό HPV

Η πλειονότητα των λοιμώξεων από τον HPV είναι **παροδικές** και μη ανιχνεύσιμες κλινικά. Αυτό υποδεικνύει ότι το ανοσολογικό σύστημα του ασθενούς είναι ικανό να ελέγξει και να αντιμετωπίσει την λοίμωξη. Όμως, αν και η λοίμωξη προκαλεί ανοσολογική αντίδραση, ο **HPV είναι ένας δύσκολος στόχος για το ανοσοποιητικό σύστημα** και η αντίδραση είναι γενικά αδύναμη. Αρκετοί μηχανισμοί εμπλέκονται που συμβάλλουν στην ανοσολογική διαφυγή του HPV. Οι σημαντικότεροι είναι οι παρακάτω τρεις [3]:

1) Ο HPV δεν προκαλεί λύση κυττάρων, αντίθετα για παράδειγμα με τον ιό του έρπη. Προκαλεί κυτταρικό πολλαπλασιασμό παρά κυτταρική καταστροφή, γι' αυτό και δεν προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση.

2) Το γεγονός ότι ο HPV επηρεάζει μόνο επιθηλιακά κύτταρα διευκολύνει την διαφυγή του από το ανοσοποιητικό σύστημα. Ολόκληρα σωματίδια του ιού βρίσκονται μόνο σε τελικώς διαφοροποιημένα πλακώδη κύτταρα (στις επιφανειακές στιβάδες του γεννητικού επιθηλίου) τα οποία βρίσκονται αρκετά μακριά από τα λεμφοκυτταρικά βλαστικά κέντρα στον υποβλεννογόνο που σχετίζονται με την παραγωγή της ανοσολογικής αντίδρασης.

3) Ο HPV αποφεύγει την αναγνώριση από το ενδογενές αμυντικό σύστημα μπλοκάροντας την παραγωγή ιντερφερόνης για να διασφαλίσει την αναπαραγωγή του. Αυτό το κατορθώνει με την παραγωγή των πρωτεϊνών E6/E7 που δεσμεύουν και αδρανοποιούν ενώσεις στο κύκλωμα της ιντερφερόνης.

Η γνώση για την ανοσολογική αντίδραση στον HPV είναι σημαντική για την **παραγωγή καταλλήλων εμβολίων** ενάντια στον ιό. Ένα ιδανικό εμβόλιο θα πρέπει να παρέχει και αντισώματα και κυτταρική ανοσία. Μελέτες έχουν δείξει ότι η πρωτεΐνη της κάψουλας L1 είναι σημαντική από αυτήν την άποψη [3]. Πρόκειται για μελέτες σε σκύλους και κουνέλια που έχουν εμβολιαστεί με L1 σωματίδια του ιού του θηλώματος κι έχουν δείξει ότι τα ζώα αυτά παράγουν αντισώματα που τα προστατεύουν από την λοίμωξη [47]. Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την πρόληψη της λοίμωξης μέσω εμβολίων υπάρχουν στο αντίστοιχο υποκεφάλαιο της πρόληψης 1.2.7.

#### *1.2.2.4 Άλλοι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου τραχήλου*

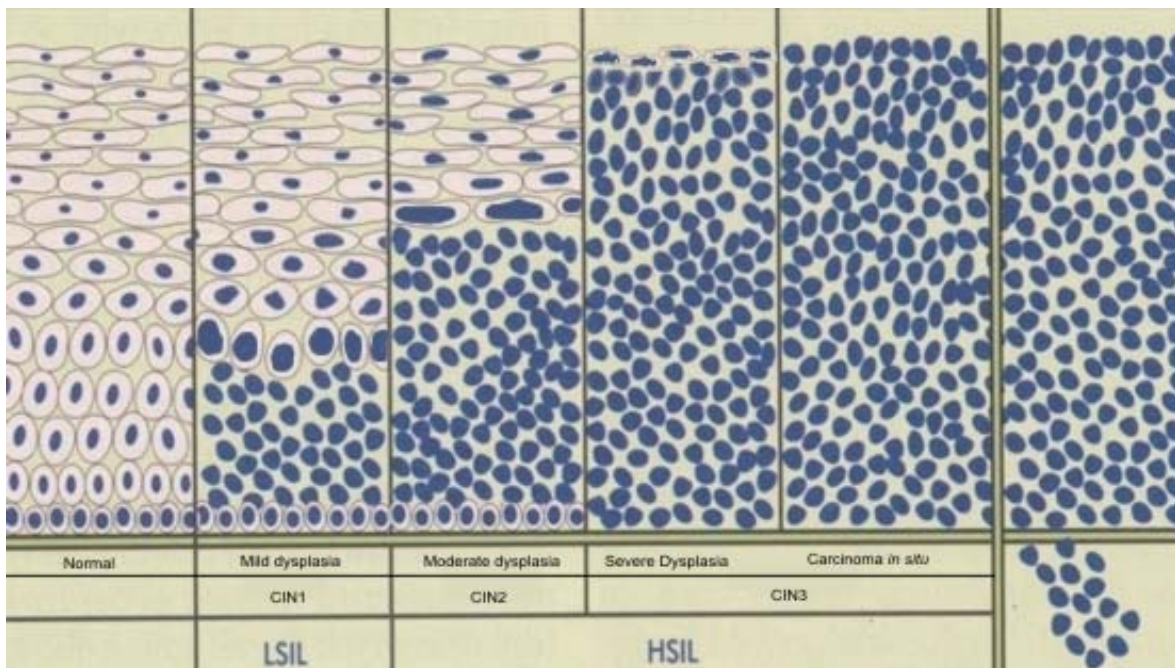
Εκτός από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων, η Αμερικανική Αντικαρκινική Εταιρεία προβλέπει τον ακόλουθο κατάλογο των **συμπαράγοντων κινδύνου** για τον καρκίνο τραχήλου: κάπνισμα, λοίμωξη από τον ιό HIV, μόλυνση από χλαμύδια, διαταραχές σχετιζόμενες με το άγχος, παράγοντες διαίτας, ορμονική αντισύλληψη, πολλαπλές κυήσεις, έκθεση στο ορμονικό φάρμακο diethylstilbestrol (DES) καθώς και οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του τραχήλου της μήτρας [25].

### 1.2.3 Ταξινόμηση προκαρκινικών αλλοιώσεων τραχήλου μήτρας

Η ονομασία και η **ταξινόμηση** των προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας έχει αλλάξει πολλές φορές κατά το 20<sup>ο</sup> αιώνα.

Το σύστημα ταξινόμησης του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας [45,46] ήταν περιγραφικό της αλλοίωσης, χαρακτηρίζοντάς την ως **ήπια, μέτρια ή σοβαρή δυσπλασία** (ανάλογα με το πάχος του τραχηλικού επιθηλίου που καταλαμβάνεται από νεοπλασματικά κύτταρα) ή **καρκίνωμα in situ-CIS** (αλλοιώσεις στις οποίες όλο το πάχος του επιθηλίου έχει αντικατασταθεί από αδιαφοροποίητα νεοπλασματικά κύτταρα).

Ο όρος **τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (Cervical Intraepithelial Neoplasia ή CIN)** αναπτύχθηκε αργότερα για να δώσει έμφαση στο φάσμα των ανωμαλιών των αλλοιώσεων και για να βοηθήσει στην τυποποίηση της θεραπείας [46]. Κατατάσσει την ήπια δυσπλασία ως CIN1, τη μέτρια δυσπλασία ως CIN2 και τη σοβαρή δυσπλασία και το καρκίνωμα in situ ως CIN3. Πιο πρόσφατα, οι CIN2 και CIN3 αλλοιώσεις έχουν συνδυαστεί σε CIN2/3 [5]. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ο καρκίνος περνά κατά σειρά από όλα τα στάδια (CIN1,2,3) αν και υπάρχουν αναφορές για καρκίνους που αναπτύχθηκαν κατευθείαν από μία CIN1 αλλοίωση. Στη χαρακτηριστική *Εικόνα 1.14* φαίνεται η σταδιοποίηση των αλλοιώσεων από ένα φυσιολογικό επιθήλιο σε διηθητικό καρκίνο μέσω των ενδιάμεσων σταδίων CIN 1,2,3 [3].



*Εικόνα 1.14: Στάδια ανάπτυξης πλακώδους καρκίνου τραχήλου σε αρχικά φυσιολογικό επιθήλιο.*

Η πιο πρόσφατη κατάταξη είναι η Bethesda που κατατάσσει όλες τις αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας σε 2 ομάδες: Χαμηλού βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση (*Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion* ή **LSIL**) και υψηλού βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση (*High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion* ή **HSIL**). Η LSIL αντιστοιχεί στην CIN1 και η HSIL περιλαμβάνει τις CIN2 και CIN3 [46].

#### 1.2.4 Σταδιοποίηση και ιστολογικοί τύποι καρκίνου τραχήλου μήτρας

Ο καρκίνος τραχήλου της μήτρας θεωρείται μια πολυσταδιακή νόσος. Έχουν περιγραφεί **πέντε κλινικά στάδια** του καρκίνου του τραχήλου από την Παγκόσμια Ομοσπονδία Μαιευτικής και Γυναικολογίας (FIGO) (*Εικόνα 1.15*) [3].

Το στάδιο 0 και το στάδιο I αποτελούν τα **προκλινικά στάδια** του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Σε αυτά τα στάδια ο προληπτικός έλεγχος (*screening*) του κολποτραχηλικού επιχρίσματος και η κολποσκόπηση παίζουν σημαντικό ρόλο στην διάγνωση δεδομένου ότι οι γυναίκες με καρκίνο σταδίου 0 και I είναι ασυμπτωματικές και ο καρκίνος δεν μπορεί να εντοπιστεί με γυμνό μάτι [3].

Τα στάδια II,III,IV σχετίζονται με διάφορα συμπτώματα (όπως μετεμμηνοπαυσιακή αιμορραγία) και αποτελούν τη **δηθητική φάση**. Η σταδιοποίηση της FIGO χρησιμοποιείται ευρέως από τους κλινικούς για το σχεδιασμό θεραπείας [3].

Stage	FIGO: Description
0	Preinvasive carcinoma (CIN3 or carcinoma <i>in situ</i> )
I	Cervical carcinoma confined to uterus (extension to corpus disregarded)
Ia	Invasive carcinoma diagnosed <b>only</b> by microscopy
Ia1	Stromal invasion <3mm depth and <7mm horizontal spread
Ia2	Stromal invasion >3mm but >5mm and <7mm horizontal spread
IB	Clinically visible lesion confined to cervix or microscopic lesion >1A2
IB1	Clinically visible lesion <4cm in greatest dimension
IB2	Clinically visible lesion >4cm in greatest dimension
II	Tumour invades beyond uterus but not to pelvic wall or lower third of vagina
IIA	Without parametrial invasion
IIB	With parametrial invasion
III	Tumour extends to pelvic wall and/or involves lower third of vagina and /or causes hydronephrosis or non functioning kidney
IIIA	Tumour involves lower third of vagina but no extension to pelvic wall
IIIB	Tumour extends to pelvic wall and /or causes hydronephrosis or non functioning kidney
IVA	Tumour invades mucosa of bladder or rectum and / or extends beyond true pelvis
IVB	Distant metastasis

*Εικόνα 1.15: Αναλυτική σταδιοποίηση καρκίνου τραχήλου μήτρας κατά FIGO.*



Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (*WHO*) αναγνωρίζει **δύο κύριους ιστολογικούς τύπους διηθητικού καρκίνου**: τα πλακώδη καρκινώματα και τα αδenoκαρκινώματα.

Τα **πλακώδη καρκινώματα** (85% των περιπτώσεων) διακρίνονται σε κερατινοποιούμενα και μη κερατινοποιούμενα. Τα κερατινοποιούμενα μπορεί να είναι υψηλής ή μέτριας διαφοροποίησης και αποτελούνται από μεγάλα καρκινικά κύτταρα. Τα μη κερατινοποιούμενα (χαμηλής διαφοροποίησης) μπορεί να αποτελούνται από μεγάλο ή μικρού τύπου κύτταρα [3].

Τα **αδenoκαρκινώματα** (10-12% των περιπτώσεων) είναι λιγότερο συχνά. Αν και ο κάθε τύπος είναι ξεχωριστή ιστολογική οντότητα, δεν είναι σπάνιο το φαινόμενο δύο ή περισσότεροι τύποι αδenoκαρκινώματος να είναι παρόντες σε έναν όγκο. Η συχνή συνύπαρξη αδενικού και πλακώδους καρκινώματος υπονοεί την πιθανή κοινή προέλευση από τα εφεδρικά κύτταρα του τραχήλου και κοινή αιτιοπαθογένεια. Ο πιο συχνός τύπος αδenoκαρκινώματος στον τράχηλο είναι το βλενώδες ενδοτραχηλικό αδenoκαρκίνωμα. Αναγνωρίζονται τρεις βαθμοί ενδοτραχηλικού καρκινώματος – υψηλής, μέτριας και χαμηλής διαφοροποίησης – που εξαρτώνται από τον βαθμό ομοιότητας του καρκινικού κυττάρου με το φυσιολογικό αδενικό κύτταρο του ενδοτραχηλικού επιθηλίου [3].

**Άλλοι τύποι** καρκινώματος (αδenoπλακώδες, αδenoκυστικό, μεταστατικό) αποτελούν το υπόλοιπο 3-5% όλων των περιπτώσεων [3].

### **1.2.5 Συμπτώματα**

Τα πρώτα στάδια του καρκίνου του τραχήλου μπορεί να είναι τελείως ασυμπτωματικά [22,23]. Η κολπική αιμορραγία, η αιμορραγία επαφής ή (σπανίως) μια κολπική μάζα μπορεί να υποδεικνύει την παρουσία κακοήθειας. Επίσης, ο μέτριος πόνος κατά τη σεξουαλική επαφή ή κάποιο κολπικό έκκριμα είναι συμπτώματα του καρκίνου του τραχήλου. Σε προχωρημένο στάδιο της ασθένειας, μπορεί να παρατηρηθούν μεταστάσεις στην κοιλιά, στους πνεύμονες ή αλλού. Τα συμπτώματα του προχωρημένου καρκίνου του τραχήλου μπορεί να περιλαμβάνουν: απώλεια όρεξης, απώλεια βάρους, κόπωση, πυελικό άλγος, οσφυαλγία, πόνος στα κάτω άκρα, πρησμένο πόδι, βαριά αιμορραγία από τον κόλπο, απώλεια ούρων [24] και κατάγματα οστών [5].

### 1.2.6 Διάγνωση

Η **έγκαιρη** και **έγκυρη διάγνωση** του καρκίνου του τραχήλου είναι πολύ σημαντική. Όσο νωρίτερα ανιχνευθούν οι τραχηλικές αλλοιώσεις τόσο μεγαλύτερες είναι οι πιθανότητες επιτυχούς θεραπείας. Διαφορετικά, αν ο καρκίνος αναπτυχθεί σε προχωρημένα στάδια τότε η αντιμετώπιση του γίνεται ολοένα και πιο δύσκολη.

Σε αυτό το σημείο, καλό είναι να διαχωριστούν οι έννοιες της **διάγνωσης** (diagnosis) και του προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου (**screening**). Η διάγνωση (που αναλύεται εδώ) αφορά την καθημερινή κλινική πράξη εξακρίβωσης της ανίχνευσης του καρκίνου. Η διάγνωση περιλαμβάνει κλασσικές μεθόδους όπως η οπτική μακροσκοπική εξέταση του τραχήλου και η βιοψία μέσω κολποσκόπησης [3]. Ο προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος είναι η συστηματική παρακολούθηση των γυναικών ως ένα είδος δευτερογενούς πρόληψης της ασθένειας και αναλύεται εκτενώς στο υποκεφάλαιο 1.3.

Εκείνο που πρέπει επίσης να τονιστεί είναι η έννοια της **ιατρικής διαλογής** (**triage**). Το triage αναφέρεται στη ξεχωριστή αντιμετώπιση της καθεμίας ασθενούς ανάλογα με τα αποτελέσματα των ιατρικών εξετάσεων της (σχετικά με τραχηλικές αλλοιώσεις) αλλά και με τα προσωπικά της στοιχεία. Στα προσωπικά στοιχεία περιλαμβάνονται πληροφορίες όπως: ηλικία (ο οργανισμός συνήθως «καθαρίζει» από τον HPV μέχρι τα 30), οικογενειακή κατάσταση (αν έχει παιδιά ή αν θέλει να κάνει), ιατρικό ιστορικό (πιθανή ύπαρξη καρκίνου σε συγγενή της), ψυχολογικοί παράγοντες (άγχος, θέληση για ιστολογική βιοψία ή θεραπεία) κ.ο.κ. Έτσι, σχηματίζεται ένας προσωπικός ιατρικός φάκελος για κάθε γυναίκα, ο οποίος μαζί με τα ιατρικά tests ανίχνευσης αλλοιώσεων δίνει τη δυνατότητα στον ιατρό να πάρει την απόφαση για το τι να πράξει στην καθεμία περίπτωση (επανεξέταση σε λίγους μήνες ή άμεση θεραπεία). Σύγχρονες έρευνες προσανατολίζονται στην εύρεση **πρωτοκόλλων** για το triage τραχηλικών αλλοιώσεων, ιδιαίτερα για τις αλλοιώσεις υψηλού κινδύνου (HSIL).

#### Οπτική εξέταση του τραχήλου της μήτρας

Μια διαδεδομένη μέθοδος διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου είναι η **οπτική μακροσκοπική εξέταση** (*visual inspection*) με γυμνό μάτι. Η οπτική εξέταση του τραχήλου χρησιμοποιεί οξικό οξύ ή ιώδιο Lugol για να επισημανθούν οι προκαρκινικές αλλοιώσεις ώστε να γίνονται ορατές με «γυμνό μάτι». Έτσι, μεταθέτει τον προσδιορισμό των προκαρκινικών σταδίων από το εργαστήριο στην κλινική. Οι διαδικασίες αυτές

εξαλείφουν την ανάγκη για εργαστήρια και μεταφορά των δειγμάτων, απαιτούν πολύ μικρό εξοπλισμό και παρέχει στις γυναίκες άμεσα αποτελέσματα. Μια σειρά ιατρικών επαγγελματιών (ιατροί, νοσοκόμες ή μαίες) μπορεί να εκτελέσει αποτελεσματικά τη διαδικασία, υπό την προϋπόθεση ότι λαμβάνουν επαρκή κατάρτιση και επίβλεψη [5].

Ως test προληπτικού πληθυσμιακού ελέγχου (*screening test*), η οπτική εξέταση έχει **απόδοση** ίση ή καλύτερη από την απόδοση της τραχηλικής κυτταρολογίας (*PAP test*) στον ακριβή εντοπισμό των προκαρκινικών αλλοιώσεων [54]. Αυτό έχει αποδειχθεί σε διάφορες μελέτες, όπου εκπαιδευόμενοι ιατροί εντόπισαν ορθά 45% μέχρι και 79% των γυναικών με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου [55]. Συγκριτικά, η ευαισθησία (*sensitivity*) της κυτταρολογίας έχει αποδειχθεί ότι είναι μεταξύ 47 και 62%. Θα πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι η κυτταρολογία παρέχει μεγαλύτερη ειδικότητα (*specificity*) από την οπτική εξέταση. Όπως η κυτταρολογική εξέταση, ένας από τους περιορισμούς της οπτικής εξέτασης είναι ότι τα αποτελέσματα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την υποκειμενικότητα της ερμηνείας του ατόμου. Αυτό σημαίνει ότι η αρχική εκπαίδευση και ο συνεχής ποιοτικός έλεγχος είναι πρωταρχικής σημασίας [5].

Η οπτική εξέταση μπορεί να προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με το PAP test σε **χώρες χαμηλών πόρων** (*low resource countries*), ιδίως όσον αφορά την αύξηση της κάλυψης του screening και τη βελτίωση της παρακολούθησης μετά τη θεραπεία. Λόγω της ανάγκης για μικρότερο εξειδικευμένο προσωπικό, λιγότερες υποδομές, εκπαίδευση και εξοπλισμό, μπορεί να προσφέρει screening του καρκίνου του τραχήλου στις απομακρυσμένες περιοχές. Επιπλέον, δίνεται δυνατότητα για ταυτόχρονη διάγνωση και θεραπεία κατά τη διάρκεια της ίδιας επίσκεψης. Έτσι, μειώνεται ο αριθμός των γυναικών που μπορεί να χάσει τη θεραπεία διότι δεν είναι σε θέση να επιστρέψει στην κλινική για δεύτερη φορά. Σε μία σχετική έρευνα στο Περού, μόνο το 9% των γυναικών που συμμετείχαν σε πρόγραμμα μίας επίσκεψης (ταυτόχρονη διάγνωση και θεραπεία) διαγνώστηκαν θετικές και απέτυχαν να λάβουν θεραπεία την ίδια μέρα. Συγκριτικά, το 44% των γυναικών που συμμετείχαν σε πρόγραμμα πολλαπλής επίσκεψης έχασαν τη θεραπεία [56]. Η οπτική εξέταση έχει επιτυχημένα συνδυαστεί με κρυοθεραπεία, μια σχετικά απλή και φθηνή μέθοδος αντιμετώπισης των τραχηλικών αλλοιώσεων [57].

### Βιοψία μέσω κολποσκόπησης

Παρόλο που το PAP test είναι ένα αποτελεσματικό screening test, η **επιβεβαίωση** της ανίχνευσης του καρκίνου ή προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου απαιτεί μια

βιοψία του τραχήλου της μήτρας. Αυτό γίνεται συχνά με **κολποσκόπηση**. Περαιτέρω διαγνωστικές διαδικασίες είναι η loop electrical excision procedure (*LEEP*) και η κωνοειδής εκτομή (*conization*), στην οποία το εσωτερικό τοίχωμα του τραχήλου αφαιρείται για να εξεταστεί παθολογικά. Αυτά πραγματοποιούνται όταν η βιοψία επιβεβαιώνει τη σοβαρή τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία [5].

Το **κολποσκόπιο** (Εικόνα 1.16) είναι ένα όργανο που επιτρέπει την εξέταση του τραχήλου της μήτρας, του κόλπου και του αιδοίου σε μεγέθυνση. Αποτελείται από ένα μικροσκόπιο που τοποθετείται σε μια κινητή βάση που έχει μια πηγή φωτός και μια μηχανή μαγνητοσκόπησης. Χρησιμοποιείται ευρέως από γυναικολόγους ως διαγνωστικό εργαλείο για τον διηθητικό καρκίνο του τραχήλου και για να συμπληρώσει την κυτταρολογική εξέταση για την ανίχνευση του προδιηθητικού καρκίνου του τραχήλου [3].



*Εικόνα 1.16: Κολποσκόπιο.*

Πρέπει να αναφερθεί ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας στα προδιηθητικά στάδιά του, σπάνια ανιχνεύεται με γυμνό μάτι και η κυτταρολογική διάγνωση του CIN είναι στην καλύτερη περίπτωση μια πιθανή διάγνωση. Η **ενίσχυση** που διατίθεται από το κολποσκόπιο διευρύνει το οπτικό πεδίο μέχρι 40 φορές. Οι ενισχυμένες εικόνες του τραχήλου επιτρέπουν σε αυτόν που εκτελεί την κολποσκόπηση να κάνει τα εξής:

- 1) Να προσδιορίσει τις ανώμαλες περιοχές στο τραχηλικό επιθήλιο και στα υποεπιθηλιακά αγγεία, οι οποίες δεν είναι ορατές με τον κανονικό έλεγχο.
- 2) Να εντοπίσει ακριβώς τις αλλοιώσεις και να καθορίσει τα όριά τους.
- 3) Να εντοπίσει τις περιοχές-στόχους για βιοψία.
- 4) Να πραγματοποιήσει λήψη βιοψίας για ιστολογική εξέταση και να λάβει διάγνωση.
- 5) Να αποκλείσει την διήθηση.
- 6) Να καθορίσει το κατάλληλο σχήμα θεραπείας για καθεμία γυναίκα.
- 7) Να επιβεβαιώσει τα κυτταρολογικά ευρήματα.

Κατά τη **διαδικασία** της κολποσκόπησης, η ασθενής τοποθετείται σε τροποποιημένη γυναικολογική θέση και ο τράχηλος εκτίθεται χρησιμοποιώντας ένα δίλοβο κάτοπτρο. Λαμβάνεται ένα επαναληπτικό κολποτραχηλικό επίχρισμα, προσέχοντας να περιοριστεί η αιμορραγία που μπορεί στη συνέχεια να παρεμποδίσει το οπτικό πεδίο. Ο τράχηλος ύστερα σφουγγίζεται με απορροφητικό βαμβάκι (εμποτισμένο σε φυσιολογικό ορό) και επιθεωρείται. Ένα αραιό διάλυμα οξικού οξέος (3%-5%) εφαρμόζεται και αφήνεται για περίπου πέντε δευτερόλεπτα. Το οξικό οξύ καθιστά το ανώμαλο επιθήλιο ορατό στο γυμνό μάτι. Οι ανώμαλες περιοχές εμφανίζονται στον εξωτράχηλο ως άσπρες αισθητά καθορισμένες (*acetowhite*). Η επίδραση του αραιού οξικού οξέος στο επιθήλιο επιτυγχάνεται με την πήξη της πυρηνικής πρωτεΐνης. Λόγω της υψηλής πυκνότητας της πυρηνικής πρωτεΐνης στις περιοχές CIN και των τοπικών αλλαγών του αγγειακού δικτύου, οι περιοχές εμφανίζονται λιγότερο διαφανείς από ότι το γύρω φυσιολογικό επιθήλιο [3].

Πριν από την εισαγωγή της κολποσκόπησης, οι γυναίκες που είχαν προβληματικά ή ύποπτα κολποτραχηλικά επιχρίσματα, συχνά **αντιμετωπίζονταν** με υστερεκτομή ή κωνοειδή εκτομή. Από τότε που η κολποσκόπηση έγινε το πρώτο βήμα (**gold standard**) στις εξετάσεις ρουτίνας στην έρευνα των γυναικών με προβληματικά κολποτραχηλικά επιχρίσματα, η ανάγκη για χειρουργική επέμβαση υπαγορεύθηκε από την έκταση, τη θέση, τον τύπο της αλλοίωσης και από την επιθυμία της ασθενούς. Προς το παρόν, η κολποσκόπηση συνιστάται συνήθως για τις γυναίκες που έχουν επίχρισμα υψηλού βαθμού κακοήθειας (CIN2 ή 3) κι όχι για επίχρισμα χαμηλού βαθμού αλλοίωσης, αφού αυτές οι αλλοιώσεις είναι συχνά παροδικές. Εντούτοις εάν ένα επαναληπτικό επίχρισμα δείχνει ότι η αλλοίωση έχει παραμείνει για 6 μήνες ή περισσότερο, ενδείκνυται η κολποσκόπηση [3].

Πρέπει να λαμβάνεται πάντα υπόψη ότι ούτε η κυτταρολογία ούτε η κολποσκόπηση δεν παρέχουν **οριστική διάγνωση** για την ύπαρξη νεοπλασματικών τραχηλικών αλλοιώσεων λόγω υποκειμενικότητας του εξεταστή. Τα στοιχεία που υποδεικνύουν CIN αλλοίωση σε ένα PAP test ή σε μια κολποσκόπηση παρέχουν πιθανή διάγνωση. Μια οριστική διάγνωση CIN αλλοίωσης μπορεί να παρασχεθεί μόνο από τη βιοψία ιστού και την επίδειξη των ιστολογικών αλλοιώσεων του CIN στον τράχηλο.

### **1.2.7 Πρόληψη**

Η **πρωτογενής πρόληψη** από τον HPV είναι πολύ σημαντική και μπορεί να αποτρέψει τη μελλοντική λοίμωξη μιας γυναίκας από αυτόν. Περιλαμβάνει διάφορους

τρόπους (που αναλύονται εδώ) όπως εμβολιασμός, χρήση προφυλακτικού, αποφυγή καπνίσματος και κατανάλωση φρούτων και λαχανικών. Η **δευτερογενής πρόληψη** αφορά τον συστηματικό προληπτικό πληθυσμιακό έλεγχο (*screening*) των γυναικών και αναπτύσσεται λόγω σημαντικότητας εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 1.3.

Ο πιο αποτελεσματικός τρόπος πρωτογενούς πρόληψης είναι ο **εμβολιασμός**. Το *Gardasil* είναι ένα καινούριο εμβόλιο κατά του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Το εμβόλιο σχεδιάστηκε για την προστασία της λοίμωξης από τον HPV των γεννητικών οργάνων (τύποι 6, 11, 16 και 18). Σε κλινικές δοκιμές μεγάλης κλίμακας, γυναίκες ηλικίας 16-23 ετών, οι οποίες δεν είχαν HPV λοίμωξη πριν από την δοκιμή, παρέμειναν ελεύθερες από HPV λοίμωξη των παραπάνω τύπων μετά από πέντε χρόνια και καμία δεν ανέπτυξε προκαρκινικές ή καρκινικές αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας. Το εμβόλιο εγκρίθηκε για κλινική χρήση από την Αμερικανική Υπηρεσία Διατροφής και Φαρμάκων, το 2006. Λίγους μήνες αργότερα, η Ευρωπαϊκή Ιατρική Υπηρεσία χορήγησε άδεια χρήσης του εμβολίου σε 25 χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης [3].

Δεδομένου ότι η λοίμωξη με τους ιούς του ανθρώπινου θηλώματος είναι κοινή σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσος, ενδείκνυται τα κορίτσια να εμβολιάζονται πριν ξεκινήσουν την σεξουαλική δραστηριότητα. Μάλιστα, η Αμερικανική Συμβουλευτική Επιτροπή σε Πρακτικές Ανοσοποίησης πρότεινε να χορηγείται στην παιδική ηλικία των 11-12 ετών. Οι **αντιδράσεις** των συστημάτων υγείας και διαφόρων οργανώσεων στο νέο εμβόλιο είναι ποικίλες. Στις ΗΠΑ, 20 πολιτείες σχεδίασαν νομοθεσία που υποστηρίζει τον υποχρεωτικό εμβολιασμό των κοριτσιών 10-12 ετών [48]. Αυτή αντιμετώπισε την ισχυρή αντιπαράθεση των εργαζομένων στα συστήματα υγείας, πολιτικών και γυναικείων οργανώσεων, που θεώρησαν ότι έτσι καταστρατηγούνται τα δικαιώματα των γονέων. Άλλοι εναντιώθηκαν στον εμβολιασμό των εφήβων απέναντι σε μία σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσο με τον ισχυρισμό ότι θα προκαλέσει σεξουαλικό εκτραχηλισμό [3].

Το ηθικό ζήτημα που προκύπτει από την χορήγηση του καινούριου εμβολίου είναι μόνο ένα από τα προβλήματα γύρω από το *Gardasil*. Οι γυναικολόγοι και οι εργαζόμενοι στα συστήματα υγείας προβληματίζονται ότι το εμβόλιο δεν έχει μελετηθεί αρκετά ώστε να γνωρίζουμε τυχόν μακροπρόθεσμες επιπλοκές και τη διάρκεια της προστασίας ενάντια στον ιό. Οι Merck and Co που κατασκεύασαν το εμβόλιο παραδέχονται ότι το εμβόλιο παρέχει προστασία μόνο στο 70% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας, και ότι ένα εμβόλιο το οποίο μπορεί να παρέχει προστασία ενάντια σε όλους τους τύπους των HPV που σχετίζονται με τον καρκίνο του τραχήλου αποτελεί μεγάλη πρόκληση. Αν και οι

Merck and Co έχουν ξεκαθαρίσει ότι οι γυναίκες που εμβολιάζονται θα πρέπει να συνεχίσουν να εξετάζονται κανονικά με τεστ Παπανικολάου, υπάρχει η ανησυχία ότι μετά από τον εμβολιασμό οι γυναίκες θα αποκτήσουν μία ψευδή αίσθηση ασφάλειας και δεν θα προσέρχονται τακτικά ή καθόλου για έλεγχο [48].

Ένας άλλος τρόπος πρόληψης είναι η χρήση προφυλακτικού. Τα **προφυλακτικά** προσφέρουν κάποια προστασία έναντι του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας [49]. Ως γνωστόν, τα προφυλακτικά παρέχουν προστασία έναντι άλλων σεξουαλικά μεταδιδόμενων ασθενειών, όπως ο ιός HIV και τα χλαμύδια. Μπορεί επίσης να είναι χρήσιμα στην αντιμετώπιση δυνητικά προκαρκινικών αλλοιώσεων στον τράχηλο. Η έκθεση στο σπέρμα φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο προκαρκινικών αλλαγών. Μελέτες δείχνουν ότι μια ουσία στο σπέρμα μπορεί να επιταχύνει την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου [50,51]. Συνεπώς, η χρήση προφυλακτικού αποτρέπει τη δράση αυτή [5].

Τέλος, συνιστάται η αποφυγή του καπνίσματος γιατί τα καρκινογόνα του καπνού διπλασιάζουν την πιθανότητα για ανάπτυξη καρκίνου τραχήλου [52] και συνιστάται η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών [53].

### **1.2.8 Θεραπεία**

Η κλινική σταδιοποίηση του διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι σημαντική καθώς καθορίζει την θεραπευτική αγωγή του ασθενούς. Καρκίνος που έχει εντοπιστεί στο στάδιο 0 (**προδιηθητικό στάδιο**) απαιτεί μόνο τοπική εξαίρεση του καρκινικού επιθηλίου με διαθερμία ή λέιζερ [3].

Οι καρκίνοι **σταδίου I** συνήθως θεραπεύονται με ριζική υστερεκτομή με ή χωρίς διατήρηση των ωοθηκών, απόφαση που εξαρτάται από την ηλικία του ασθενούς. Εντούτοις, σε γυναίκες με πρώιμο στάδιο καρκίνου τραχήλου, η τραχηλεκτομή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία διατήρησης της γονιμότητας. Η ριζική τραχηλεκτομή είναι μία χειρουργική επέμβαση κατά την οποία ο τράχηλος, το ανώτερο τμήμα του κόλπου, ο παραμητρικός ιστός (ιστός στο χαμηλότερο τμήμα της μήτρας) και οι πυελικοί λεμφαδένες εξαιρούνται. Το σώμα της μήτρας και οι ωοθήκες δεν εξαιρούνται και έτσι η δυνατότητα απόκτησης παιδιών παραμένει. Αυτό γίνεται σε πρώιμο στάδιο του καρκίνου. Σκοπός είναι η διατήρηση της γονιμότητας. Αυτή η θεραπεία έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια από ογκολόγους γυναικολογίας σε ειδικευμένα κέντρα σε όλο τον κόσμο. Γίνεται διακολπικά και μέσω μικρών χειρουργικών τομών στην κοιλιά, χρησιμοποιώντας λαπαροσκόπιο [3,5].

Η καθιερωμένη θεραπεία για καρκίνο του τραχήλου **προχωρημένου σταδίου**, είναι η ριζική υστερεκτομή ή/και η πυελική ακτινοθεραπεία. Περισσότερο εξαπλωμένος καρκίνος ίσως απαιτεί ακτινοθεραπεία ή/και χημειοθεραπεία. Το κλινικό στάδιο τη στιγμή της διάγνωσης επηρεάζει το προσδόκιμο επιβίωσης της ασθενούς [3,5].

Η **πρόγνωση** (πρόβλεψη εξέλιξης θεραπείας και προσδόκιμο επιβίωσης) είναι πολύ καλή σε γυναίκες με καρκίνο σε πρώιμο στάδιο (Στάδιο 0 ή Στάδιο I) αλλά είναι φτωχή σε γυναίκες με προχωρημένο καρκίνο. Μάλιστα, η πρόγνωση σε ασθενείς σε Στάδιο 0 (προδιηθητικό στάδιο) είναι εξαιρετική με πολύ μικρό κίνδυνο υποτροπής (< 1%). Υπάρχουν κάποιες αποδείξεις ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι περισσότερο επιθετικός σε νεαρές γυναίκες παρά σε γυναίκες μεγαλύτερες των 40 ετών [3].

### *1.3 Προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος και ανίχνευση καρκίνου τραχήλου μήτρας*

Η ανίχνευση των προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας και η διάγνωση του καρκίνου πρέπει να είναι έγκαιρη και έγκυρη. Η σημασία της έγκαιρης ανίχνευσης έγκειται στο γεγονός ότι όσο νωρίτερα ανιχνευθούν οι τραχηλικές αλλοιώσεις, τόσο μεγαλύτερες είναι οι πιθανότητες επιτυχούς αντιμετώπισης. Διαφορετικά, αν ο καρκίνος αναπτυχθεί σε προχωρημένα στάδια τότε η αντιμετώπιση του γίνεται ολοένα και πιο δύσκολη. Γι' αυτό το λόγο, ο **συστηματικός προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος (screening)** των γυναικών είναι πολύ διαδεδομένος τα τελευταία χρόνια σε όλο τον κόσμο. Πρόκειται για τη συστηματική παρακολούθηση όλων των γυναικών ως ένα είδος δευτερογενούς πρόληψης της ασθένειας. Έτσι, υπάρχει η δυνατότητα έγκαιρης ανίχνευσης των αλλοιώσεων πριν καν παρουσιαστούν τα συμπτώματα της νόσου.

Όπως κάθε ιατρική εξέταση, τα screening tests δεν είναι τέλεια. Το αποτέλεσμά τους μπορεί να είναι εσφαλμένα θετικό για εκείνους χωρίς νόσο (**ψευδή θετικά**) ή εσφαλμένα αρνητικό για κάποιους με νόσο (**ψευδή αρνητικά**). Τα βασικά μειονεκτήματα των screening tests είναι τα εξής [58]:

- 1) κόστος και χρήση ιατρικών πόρων για την πλειοψηφία των ανθρώπων που δεν χρειάζονται θεραπεία.
- 2) Δυσμενείς επιπτώσεις στο άτομο που υποβάλλεται (π.χ. άγχος, δυσφορία).
- 3) Άγχος που προκαλείται από ένα ψευδώς θετικό αποτέλεσμα εξέτασης.



- 4) Περιττή διερεύνηση και αντιμετώπιση των ψευδών θετικών αποτελεσμάτων.
- 5) Άγχος που προκαλείται από την παράταση της γνώσης μιας ασθένειας χωρίς καμία βελτίωση στην έκβασή της.
- 6) Μια λανθασμένη αίσθηση ασφάλειας που προκαλείται από τα ψευδή αρνητικά αποτελέσματα που ενδέχεται να καθυστερήσουν την τελική διάγνωση.

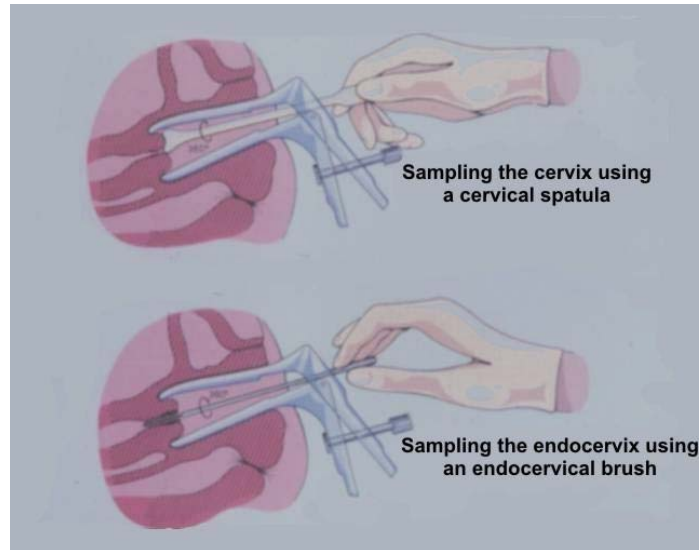
Η πιο διαδεδομένη μέθοδος που χρησιμοποιείται για την **ανίχνευση** του τύπου της αλλοίωσης του τραχήλου της μήτρας είναι το PAP test. Πρόσφατα, όπως παρουσιάστηκε εκτενώς στο υποκεφάλαιο 1.2.2, έχει αποδειχθεί ότι ορισμένοι τύποι του ιού HPV είναι ογκογόνοι. Γι' αυτό το λόγο, τελευταία έχουν αναπτυχθεί νέες τεχνικές για τον εντοπισμό των συγκεκριμένων επικίνδυνων τύπων, με σκοπό την υποβοήθηση των γιατρών στη λήψη έγκυρης απόφασης (δηλαδή στη διενέργεια ορθής ιατρικής διαλογής – *triage*).

### **1.3.1 PAP test**

Το τεστ Παπανικολάου (*PAP test*) εφαρμόστηκε και αναπτύχθηκε από τον ιατρό **Γεώργιο Παπανικολάου** (*Εικόνα 1.17*), έναν Αμερικανό ανατόμο Ελληνικής καταγωγής που ερευνούσε την επίδραση των ωοθηκικών ορμονών στο επιθήλιο του γυναικείου γεννητικού συστήματος. Το 1926 ανέφερε ότι καρκινικά κύτταρα μπορούσαν να παρατηρηθούν στις κολπικές εκκρίσεις από γυναίκες με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Το 1943 δημοσίευσε το άρθρο «Διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας από το κολπικό επίχρισμα» (Παπανικολάου & Traut 1943). Οι παρατηρήσεις του σύντομα επιβεβαιώθηκαν και από άλλους (Ayre 1944, Meigs et al 1945) [3].



*Εικόνα 1.17: Γεώργιος Παπανικολάου (1883-1962).*



*Εικόνα 1.18: Δειγματοληψία τραχήλου.*

Το τεστ Παπανικολάου χρησιμοποιείται παγκοσμίως ως screening test για την ανίχνευση του προδιηθητικού καρκίνου του τραχήλου. Η **συμβατική διαδικασία** περιλαμβάνει απλά την απομάκρυνση ενός δείγματος επιθηλιακών κυττάρων από την επιφάνεια του τραχήλου χρησιμοποιώντας σπάτουλα ή ψήκτρα (Εικόνα 1.18). Τελευταία, αντί για τη συμβατική μέθοδο, εφαρμόζεται **κυτταρολογία υγρής φάσης (LBC)** για την προετοιμασία του επιχρίσματος [3]. Η LBC έχει το πλεονέκτημα ότι είναι κατάλληλη για επιπρόσθετα HPV test και ότι μειώνει τα ανεπαρκή δείγματα από το 4,1% στο 2,6% [5]. Σύμφωνα με αυτήν, το δείγμα μεταφέρεται σε ένα φιαλίδιο με συντηρητικό υγρό όπου τα κύτταρα διασκορπίζονται. Ένα υποπολλαπλάσιο του διαθέσιμου υλικού επιλέγεται για την επεξεργασία, κατά την οποία τα κύτταρα χωρίζονται με φυγοκέντρηση ή φιλτράρισμα. Τα κύτταρα μεταφέρονται σε γυάλινη επιφάνεια και στέλνονται στο κυτταρολογικό εργαστήριο, όπου προετοιμάζονται με ειδικές χρώσεις για την μικροσκοπική εξέταση. Η αρχική μικροσκόπηση γίνεται από κυτταροτεχνολόγο που έχει εκπαιδευτεί για να ανιχνεύει άτυπα κύτταρα ανάμεσα σε χιλιάδες φυσιολογικά στο επίχρισμα. Οι γυναίκες με προβληματικά επιχρίσματα παραπέμπονται για περαιτέρω έρευνα και θεραπεία. Η ανίχνευση καρκίνου που βρίσκεται στο προδιηθητικό στάδιο έχει σώσει πολλές ζωές [3].

Στην πλειοψηφία των επιχρισμάτων, η **διάκριση** μεταξύ των καλοηθών επιθηλιακών κυττάρων και των νεοπλασματικών κυττάρων μπορεί να γίνει από έναν έμπειρο κυτταρολόγο και τα επιχρίσματα μπορούν να ταξινομηθούν ως «LSIL» ή «HSIL» σύμφωνα με το Bethesda. Εντούτοις σε ένα μικρό ποσοστό των περιπτώσεων μπορεί να υπάρξει αμφιβολία ως προς το εάν τα επιθηλιακά κύτταρα είναι καλοήθη ή

νεοπλασματικά. Σύμφωνα με το Bethesda, τέτοια επιχρίσματα ταξινομούνται στην κατηγορία που περιέχει “άτυπα πλακώδη κύτταρα απροσδιορίστου σημασίας” (*atypical squamous cells of undetermined significance* ή **ASCUS**). Μελέτες κατά την παρακολούθηση των γυναικών με ASCUS έχουν δείξει ότι αποτελούν μια ομάδα με ποικιλία ευρημάτων. Στο 50-60% καμία σημαντική ανωμαλία δεν βρίσκεται, ενώ μέχρι και 20% των περιπτώσεων έχει CIN2 ή CIN3. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι οι γυναίκες με επίχρισμα ASCUS πρέπει να παρακολουθούνται προσεκτικά [3].

Ο **πρωταρχικός στόχος** του PAP test (ως screening test) είναι να προστατέψει από την ανάπτυξη διηθητικού καρκίνου του τραχήλου ανιχνεύοντας προκαρκινικές αλλοιώσεις στο επιθήλιο του τραχήλου. Πρόκειται για μία ευαίσθητη μέθοδο. Οι γυναίκες των αρχικών σταδίων αλλοίωσης συχνά δεν γνωρίζουν την ύπαρξη της νόσου γιατί είναι ελεύθερες συμπτωμάτων. Επίσης, η διάγνωση και η θεραπεία του διηθητικού καρκίνου (σε αρχικά στάδια) βελτιώνει σημαντικά την πρόγνωση της ασθενούς [3].

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι (όπως όλες οι διαγνωστικές εξετάσεις) το PAP test δεν είναι 100% αποτελεσματικό στην ανίχνευση των ανωμαλιών του τραχήλου. Γι' αυτό το λόγο, γίνεται προσπάθεια για εισαγωγή εναλλακτικών τεχνικών συμπληρωματικών του PAP test. Το PAP test **αποτυγχάνει** να εμπεριέχει άτυπα κύτταρα μίας ιστολογικά αποδεδειγμένης αλλοίωσης εξαιτίας τριών λόγων. Ο πρώτος είναι οι βιολογικές ιδιότητες του όγκου αφού μελέτες έχουν δείξει ότι μικρές CIN αλλοιώσεις (διαμέτρου < 0.5cm) και αλλοιώσεις που είναι ψηλά στον ενδοτραχηλικό σωλήνα είναι πιθανό να ξεφύγουν. Τακτικός έλεγχος με κολποτραχηλικά επιχρίσματα ανά 3-5 χρόνια ελαχιστοποιεί αυτήν την πιθανότητα. Ο δεύτερος είναι η αποτυχημένη δειγματοληψία επιχρίσματος, ιδιαίτερα αν αυτή δεν γίνει από τη ζώνη μετάπλασης. Ο τρίτος λόγος είναι η αποτυχία του κυτταρολογικού ελέγχου (ψευδώς αρνητικά) λόγω υποκειμενικότητας του εξεταστή. Τέλος, η αξιολόγηση της επάρκειας των δειγμάτων από τον εξεταστή είναι πολύ σημαντική. Το συμβατικό επίχρισμα μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητικό για αξιολόγηση εάν έχει ένα κατ' εκτίμηση ελάχιστο 8000 καλά συντηρημένων πλακωδών επιθηλιακών κυττάρων, ενώ η κυτταρολογία υγρής φάσης απαιτεί ένα ελάχιστο 5000 κυττάρων [3].

Αν και η πιο σημαντική χρήση του PAP test είναι το screening, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως **διαγνωστική εξέταση** του καρκίνου του τραχήλου για να επιβεβαιώσει την παρουσία διηθητικού καρκίνου σε συμπτωματικές γυναίκες. Όταν χρησιμοποιείται με αυτόν τον τρόπο, τα ευρήματα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή. Μελέτες έχουν δείξει ότι το επίχρισμα μπορεί να είναι αρνητικό ακόμη και σε παρουσία

προχωρημένου διηθητικού καρκίνου. Αυτό συμβαίνει γιατί το αίμα, τα φλεγμονώδη κύτταρα και το νεκρωμένο υλικό από τη θέση του καρκίνου συχνά καλύπτουν τα άτυπα κύτταρα που υπάρχουν στο επίχρισμα. Γι' αυτό σε μία συμπτωματική ασθενή με αρνητικό PAP test, θα πρέπει να επιβεβαιώνεται η παρουσία ή η απουσία της κακοήθειας με κολποσκόπηση και βιοψία. Το PAP test χρησιμοποιείται συχνά και για **παρακολούθηση (follow-up)** γυναικών που έχουν θεραπευτεί για CIN ή διηθητικό καρκίνο. Είναι μία ευαίσθητη μέθοδος ανίχνευσης υποτροπής της νόσου σε τέτοιες περιπτώσεις [3].

### **1.3.2 Νέες τεχνικές ανίχνευσης καρκίνου τραχήλου μήτρας**

#### **1.3.2.1 HPV DNA test**

Προηγουμένως, παρουσιάστηκε η ανίχνευση αλλοιώσεων στα κυτταρολογικά επίχρισματα. Εντούτοις η κολποσκόπηση, η ιστολογική βιοψία και η κυτταρολογία δεν επιτρέπουν την τυποποίηση του HPV ή την ανίχνευση της ενσωμάτωσης του ιού.

Η **DNA ανάλυση** έχει γίνει η μέθοδος επιλογής εξαιτίας των περιορισμών των άλλων διαγνωστικών μεθόδων. Οι πιο ικανοποιητικές εξετάσεις για HPV ανιχνεύουν το DNA του ιού. Γίνονται αναλύσεις που στοχεύουν σε συγκεκριμένες περιοχές του γεννητικού υλικού για να γίνει διαχωρισμός μεταξύ των διαφόρων τύπων HPV. Η εξέταση Hybrid Capture παρέχει το προφίλ ενός αριθμού διαφορετικών τύπων HPV, οι οποίοι μπορούν να αναλυθούν περαιτέρω χρησιμοποιώντας την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Η PCR χρησιμοποιείται για να αναγνωρίζει ειδικούς τύπους HPV. Η **Hybrid Capture 2** χρησιμοποιείται ως βοήθημα στον κυτταρολογικό προληπτικό έλεγχο γυναικών ηλικίας 30 ετών και πάνω. Είναι παραδεκτό ότι η PCR και η HC2 ανιχνεύουν αξιόπιστα τους υψηλού κινδύνου και άλλους τύπους HPV σε κλινικά δείγματα [3].

Η Hybrid Capture 2 χρησιμοποιείται κυρίως ως **screening test**. Μία πρώτη προσέγγιση προτείνει **συνδυασμό του HPV DNA test και της κυτταρολογικής εξέτασης** για τον ιατρικό έλεγχο των γυναικών άνω των 30 ετών. Αυτή η συνδυασμένη προσέγγιση έχει στόχο την παροχή μεγαλύτερης προστασίας. Γυναίκες που είναι αρνητικές και στις δύο εξετάσεις θα μπορούσαν διπλά να διαβεβαιωθούν ότι είναι ελεύθερες νόσου. Το αυξημένο κόστος της διπλής εξέτασης αντισταθμίζεται με έλεγχο σε μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα. Μια δεύτερη προσέγγιση αφορά γυναίκες που ελέγχονται αρχικά για HPV

DNA, ενώ η κυτταρολογία χρησιμοποιείται για να ελεγχθούν οι γυναίκες με HPV DNA θετικό. Οι γυναίκες παραπέμπονται για αξιολόγηση μόνο αν και τα δύο τεστ είναι θετικά.

Το μεγαλύτερο **πρόβλημα** της HPV DNA εξέτασης είναι η χαμηλή ειδικότητά της για να ελέγξει την ύπαρξη CIN ή καρκίνου. Δεν υπάρχει ακόμη ξεκάθαρη άποψη για το πως θα αντιμετωπίζονται οι γυναίκες με θετικό HPV DNA και αρνητική κυτταρολογική εξέταση. Συνίσταται αυξημένη επίβλεψη, εφόσον είναι πιθανό ότι αυτές οι γυναίκες μπορεί να έχουν αρκετές πιθανότητες να αναπτύξουν CIN. Μια μελέτη βρήκε ότι το 15% από 2000 γυναίκες με θετικό HPV DNA και αρνητική κυτταρολογική εξέταση ανέπτυξαν σημαντικό βαθμό τραχηλική αλλοίωση μέσα σε πέντε χρόνια [3]. Αυξάνοντας την ειδικότητα ίσως ελαχιστοποιηθούν και τα ψευδή θετικά αποτελέσματα.

Το HPV DNA χρησιμοποιείται επίσης ως **βοηθητικό μέσο της κυτταρολογίας**. Ένα από τα προβλήματα της κυτταρολογίας του τραχήλου (*PAP test*) είναι η αντιμετώπιση των γυναικών με ASCUS ή LSIL. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι γυναίκες, των οποίων το επίχρισμα έχει δώσει ASCUS αλλοιώσεις, μπορεί να έχουν περισσότερο προχωρημένη αλλοίωση (CIN2 ή 3). Μια μελέτη βρήκε ότι το HPV DNA δεν ήταν αξιόπιστο για την αντιμετώπιση των γυναικών με LSIL. Η Αμερικανική Κοινότητα της Κολποσκόπησης και της Παθολογίας του τραχήλου της μήτρας (ASCCP) πρότεινε όλες οι γυναίκες με LSIL να αντιμετωπίζονται με κολποσκόπηση παρά με HPV DNA [3].

Η HPV DNA εξέταση χρησιμοποιείται επίσης ως **μέθοδος παρακολούθησης** μετά από θεραπεία [63]. Οι γυναίκες οι οποίες έχουν διαγνωστεί με CIN2 ή 3 και έχουν υποβληθεί σε χειρουργική θεραπεία ή κωνοειδή εκτομή, πρέπει να παρακολουθούνται στενά για τουλάχιστον πέντε χρόνια μετά την θεραπεία. Αν και πάνω από 90% των γυναικών θεραπεύεται, υπάρχει ο κίνδυνος της υποτροπής ή της ανάπτυξης διηθητικού καρκινώματος στο 5% - 19% των περιπτώσεων [59]. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η παρακολούθηση περιλαμβάνει και κολποσκόπηση και κυτταρολογική διερεύνηση.

Εν κατακλείδι, αν και το HPV DNA test είναι μία ευαίσθητη μέθοδος διερεύνησης των CIN τραχηλικών αλλοιώσεων, δεν είναι αρκετά ειδικό για να αποτελέσει μία πρακτική μέθοδο ελέγχου. Η **σημασία ενός θετικού HPV DNA test** σε απουσία νόσου δεν είναι ακόμη γνωστή και μπορεί να προκαλέσει περιττή ανησυχία σε γυναίκες με φυσιολογικούς τραχήλους που «φιλοξενούν» τον ιό. Ο ρόλος του HPV DNA για την περαιτέρω αντιμετώπιση των ASCUS ή LSIL είναι επίσης αμφισβητούμενος όπως και ο ρόλος του στην παρακολούθηση γυναικών που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία για CIN2/3 [3].

### 1.3.2.2 mRNA test

Σήμερα είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί με τον πλέον αξιόπιστο τρόπο η διερεύνηση των ενσωματωμένων τύπων του ιού HPV με τη βοήθεια τεχνολογίας NASBA ή τεχνικών RT-PCR. Αυτό επιτυγχάνεται με τη μελέτη της **έκφρασης του mRNA των E6 και E7** θέσεων των τύπων υψηλού κινδύνου του HPV (περισσότερα σχετικά με τον κύκλο ζωής του HPV και τη δράση του στο υποκεφάλαιο 1.2.2.2).

Η μελέτη αυτή είναι πολύ χρήσιμη στην κλινική πράξη επειδή οι E6/E7 σχετίζονται άμεσα με την εξέλιξη των προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου. Πιο συγκεκριμένα, η **σημαντικότητα** του mRNA test φαίνεται από το γεγονός ότι η περαιτέρω μεταγραφή και μετάφραση των ογκογονιδίων του HPV οδηγεί με μεγαλύτερη πιθανότητα σε αυξημένη ογκογονική δραστηριότητα και κατ' επέκταση στην εξέλιξη της τραχηλικής νεοπλασίας (CIN). Μάλιστα, σε πολλές μελέτες έχει εξακριβωθεί ότι το mRNA test δίνει περισσότερα θετικά αποτελέσματα σε αλλοιώσεις CIN3 ή σοβαρότερες παρά σε αλλοιώσεις CIN2 [60,61]. Σε περίπτωση που το mRNA test δώσει λιγότερα θετικά από το HPV DNA test του ίδιου δείγματος, αυτό σημαίνει είτε ότι ορισμένοι φορείς HPV δεν εκφράστηκαν είτε ότι εκφράστηκαν αλλά σε αρκετά χαμηλό βαθμό.

Στην περίπτωση του mRNA test, σημαντικό ρόλο παίζει η **επιλογή των τύπων HPV** των οποίων την έκφραση ανιχνεύει. Η απάντηση μπορεί να μοιάζει εύκολη αλλά δεν είναι. Σίγουρα, η αύξηση του αριθμού των τύπων που ανιχνεύει, θα δώσει περισσότερα θετικά αποτελέσματα, δηλαδή θα αυξήσει την ευαισθησία (περισσότερα αληθώς θετικά) του test. Όμως, η αύξηση των ανιχνεύσιμων τύπων θα οδηγήσει και σε μείωση της ειδικότητας του test αφού θα έχει περισσότερα ψευδή θετικά αποτελέσματα [60,61].

Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι το mRNA test σε συνδυασμό με το HPV DNA test μπορεί να αποτελέσει μια πολύ καλή επιλογή για **προταρχικό screening** γυναικών. Αν και τα δύο test είναι θετικά τότε η ασθενής υποβάλλεται σε βιοψία για επιβεβαίωση. Αν μόνο το HPV DNA είναι θετικό τότε η ασθενής επανεξετάζεται μετά από 6 μήνες και αν αυτό παραμείνει θετικό τότε γίνεται κολποσκόπηση για επιβεβαίωση [60].

### 1.3.2.3 p16 test

Το **p16** είναι μια ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη που παράγουν τα φυσιολογικά κύτταρα για να σταματούν τον κυτταρικό κύκλο πριν τη φάση της σύνθεσης και της περαιτέρω διαίρεσής του [65]. Αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς βιολογικούς δείκτες (biomarkers) των κυττάρων που είναι μολυσμένα από HPV τύπο υψηλού κινδύνου. Πιο συγκεκριμένα, η υπερέκφραση (overexpression) του p16 μπορεί να υποδείξει την εξέλιξη των προκαρκινικών αλλοιώσεων [64].

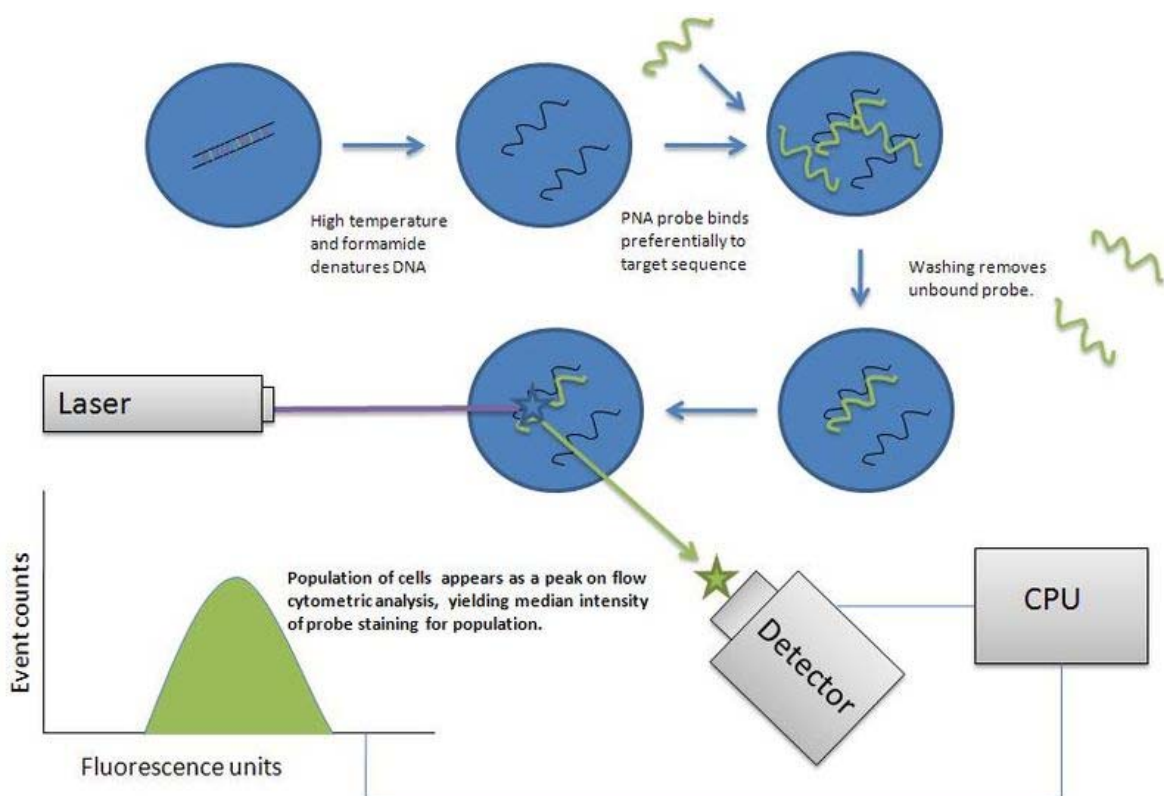
Η **δράση** της p16 πρωτεΐνης είναι ογκοκατασταλτική. Στα φυσιολογικά κύτταρα, υπάρχει ένα σημείο αναμονής (*restriction point*) στο τέλος της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου, στο οποίο λαμβάνεται η απόφαση για το αν το κύτταρο είναι έτοιμο να προχωρήσει στις επόμενες φάσεις του [66]. Η p16 επεμβαίνει ρυθμιστικά και αποτρέπει τη σύνδεση των πρωτεϊνών cyclin-dependent kinases (*CDKs*) με τις κυκλίνες (*cyclins*). Όταν επιτευχθεί μια τέτοια σύνδεση CDK/cyclin (συγκεκριμένα είναι σύνδεση της CDK4 ή 6 με την cyclin D) τότε ενεργοποιείται η εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου στις επόμενες φάσεις του. Εν προκειμένω, ενεργοποιούνται οι παράγοντες μεταγραφής του DNA με απώτερο στόχο την περαιτέρω διαίρεση του κυττάρου [67].

Στα κύτταρα που έχουν υποστεί **HPV-λοίμωξη** παρατηρείται αυξημένη έκφραση κυκλινών, οι οποίες ανταγωνίζονται την p16. Προσπαθούν δηλαδή να συνδεθούν με τις CDKs ώστε να ευνοηθεί η συνέχιση του κυτταρικού κύκλου. Στη συνέχεια, η σύνδεση CDK4-6/cyclinD φωσφορυλιώνει (απενεργοποιεί με χημικό τρόπο) το ρετινοβλάστωμα pRb. Έτσι, απελευθερώνεται ο μεταγραφικός παράγοντας E2F που επιτρέπει τη μετάβαση από τη G1 φάση του κυτταρικού κύκλου στην S (*φάση σύνθεσης*). Με αυτόν τον τρόπο γίνεται δυνατή η ανεξέλεγκτη κυτταρική ανάπτυξη που οδηγεί σε καρκίνο [65].

Μια μελέτη [64] απέδειξε ότι όταν το p16 συνοδεύει το HPV DNA test τότε αποτελεί ιδιαίτερα χρήσιμο βιολογικό δείκτη της **εξέλιξης των LSIL αλλοιώσεων σε HSIL**. Ειδικότερα, οι ασθενείς με ASCUS ή LSIL αλλοίωση και ύπαρξη HPV τύπου υψηλού κινδύνου που έδωσαν θετικό p16 είχαν πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν HSIL απ' ότι εκείνοι με αρνητικό p16.

#### 1.3.2.4 Flow Cytometry test

Η φασματομετρική κυτταρομετρία ροής φθορισμού (flow cytometry) είναι μια ακόμα τεχνική υψηλής απόδοσης που τελευταία χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των τραχηλικών αλλοιώσεων. Πιο συγκεκριμένα, το flow cytometry βοηθά στην ανίχνευση της έκφρασης του mRNA των E6/E7 ογκογονικών περιοχών των HPV τύπων υψηλού κινδύνου. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρησιμοποίηση ιχνηθετών του HPV (HPV Oncotect, Invirion Diagnostics). Το αποτέλεσμα του test εκφράζεται σε ποσοστό φθορίζοντων κυττάρων τα οποία υπερεκφράζουν τις ογκοπρωτεΐνες. Αν το ποσοστό αυτό υπερβαίνει το 1,5% τότε λαμβάνεται θετικό, αλλιώς λαμβάνεται αρνητικό [68].



Εικόνα 1.19: Η βασική αρχή λειτουργίας του Flow Cytometry.

Η βασική αρχή λειτουργίας (Εικόνα 1.19) της κυτταρομετρίας ροής βασίζεται σε μία δέσμη λέιζερ ενός μεμονωμένου μήκους κύματος που κατευθύνεται διαμέσου μιας υδροδυναμικά συγκλίνουσας ροής υγρού. Ένας αριθμός ανιχνευτών περιβάλλουν το σημείο όπου η δέσμη του φωτός διαπερνάει τη ροή του υγρού: ένας σε ευθυγράμμιση με τη δέσμη φωτός και κάποιοι άλλοι κάθετοι σε αυτήν. Κάθε σωματίδιο μεταξύ 0.2 και 150 μικρομέτρων, αιωρούμενο στο υγρό που περνά διαμέσου της δέσμης, σκεδάζει το φως



προς κάποια κατεύθυνση. Παράλληλα τα φθορίζοντα χημικά που βρίσκονται στο σωματίδιο ή στην επιφάνειά του μπορούν να διεγερθούν και να εκπέμψουν φως άλλου μήκους κύματος από αυτό της πηγής. Ο συνδυασμός σκεδασμένου και φθορίζοντος φωτός παραλαμβάνεται από τους ανιχνευτές και καθιστά δυνατή την αποκόμιση πληροφοριών σχετικών με τη φυσική και χημική δομή κάθε σωματιδίου. Η εμπρόσθια σκέδαση (FSC) σχετίζεται με τον όγκο του κυττάρου και η πλάγια σκέδαση (SSC) εξαρτάται από την εσωτερική πολυπλοκότητα του σωματιδίου (π.χ. σχήμα του πυρήνα) [69].

Οι σύγχρονες συσκευές κυτταρομετρίας ροής έχουν τη δυνατότητα ανάλυσης μερικών χιλιάδων σωματιδίων το δευτερόλεπτο. Μια τέτοια **συσκευή** μοιάζει με ένα μικροσκόπιο με τη διαφορά ότι παρέχει δεδομένα για τα χαρακτηριστικά ενός μεγάλου αριθμού κυττάρων σε λίγο χρόνο. Μια συσκευή κυτταρομετρίας ροής αποτελείται από: μία ροή υγρού περιβλήματος (μεταφέρει και διευθετεί τα κύτταρα ώστε να περνούν ένα-ένα από τη δέσμη του λέιζερ), ένα οπτικό σύστημα που παράγει φωτεινά σήματα, έναν ανιχνευτή με σύστημα τροποποίησης σήματος από αναλογικό σε ψηφιακό, ένα σύστημα ενίσχυσης και έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή για την ανάλυση των σημάτων [69].

Στον καρκίνο του τραχήλου, το flow cytometry ενδείκνυται ως **screening συμπληρωματικό** του κυτταρολογικού PAP test ενώ τελευταίες μελέτες δείχνουν ότι ίσως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμα και ως πρωτεύων screening test. Μάλιστα, παρουσιάζει πολύ υψηλή απόδοση όταν χρησιμοποιείται ως δευτερεύων βιολογικός δείκτης για ασθενείς με θετικό HPV DNA test [68].

### ***1.3.3 Πρόβλημα βελτιστοποίησης της απόδοσης των τεχνικών ανίχνευσης καρκίνου τραχήλου μήτρας***

Σε αυτό το υποκεφάλαιο, γίνεται αναφορά και σύγκριση της **απόδοσης** των screening tests που χρησιμοποιούνται στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, σύμφωνα με διεθνώς εμπειριστατωμένες μελέτες. Επίσης, παρουσιάζεται το γενικό πλάνο της δικής μας στατιστικής μελέτης καθώς και τι έρχεται να προσθέσει στην ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία του πληθυσμιακού ελέγχου του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Γενικά, ο **στόχος** του screening είναι να προσδιορίσει μια ασθένεια νωρίς, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα άμεσης παρέμβασης και την ελπίδα να μειώσει την θνησιμότητα. Παρόλο που το screening μπορεί να οδηγήσει σε πρόωμη διάγνωση, δεν έχουν όλα τα

screening tests τη δυνατότητα να ωφελούν το άτομο που υποβάλλεται. Υπάρχει πάντα η πιθανότητα για υπερδιάγνωση (*overdiagnosis*) ή για εσφαλμένη διάγνωση. Επίσης, συχνά δημιουργείται μια ψευδή αίσθηση ασφάλειας. Για τους παραπάνω λόγους, ένα screening test πρέπει να έχει καλή **εξειδίκευση** (ποσοστό αληθώς αρνητικών αποτελεσμάτων του test στο σύνολο των πραγματικών αρνητικών αποτελεσμάτων) σε συνδυασμό με αποδεκτή **ευαισθησία** (ποσοστό αληθώς θετικών αποτελεσμάτων του test στο σύνολο των πραγματικών θετικών αποτελεσμάτων) [58]. Περισσότερα περί ευαισθησίας, ειδικότητας και των άλλων στατιστικών μέτρων της απόδοσης των ιατρικών τεστ αναφέρονται στο Κεφάλαιο 2 της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας.

### 1.3.3.1 Σύγχρονες διεθνώς εμπειριστατωμένες μελέτες

#### PAP test

Σύμφωνα με μελέτες [5], το **PAP test** έδωσε παρόμοια αποτελέσματα στη συμβατική εκδοχή του και στην κυτταρολογία υγρής φάσης. Ιδιαίτερη σημασία έχει η υψηλή ειδικότητά του.

Ειδικότερα, η απόδοση της **συμβατικής κυτταρολογίας PAP test** έδωσε [70]:

- *ευαισθησία*=72%
- *ειδικότητα*=94%

Αντίστοιχες μελέτες της ακρίβειας της **κυτταρολογίας υγρής φάσης** έδωσαν:

- *ευαισθησία*= από 61% [71] έως 66% [70]
- *ειδικότητα*= από 82% [71] έως 91% [70].

#### HPV DNA test

Μελέτες ως προς την ακρίβεια του **HPV DNA test** υπολόγισαν:

- *ευαισθησία* = από 88% έως 91% (για την ανίχνευση CIN3 και πάνω) [71] και έως 97% (για την ανίχνευση CIN2+) [72]
- *ειδικότητα* = από 73% έως 79% (για την ανίχνευση CIN3 και πάνω) [71] και έως 93% (για την ανίχνευση CIN2+) [72]
- *αρνητική προγνωστική αξία* = από 97% έως 100% [3].

Παρατηρούμε λοιπόν ότι σε σχέση με την κυτταρολογία PAP test, το HPV DNA test προσφέρει καλύτερη ευαισθησία αλλά και χειρότερη ειδικότητα στη διερεύνηση γυναικών της κατηγορίας υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου.

Ένα αρνητικό HPV DNA test έχει υψηλή αρνητική προγνωστική αξία (ικανότητα επιβεβαίωσης αρνητικού αποτελέσματος), δηλαδή η πιθανότητα μίας γυναίκας να έχει καρκίνο ήταν πολύ χαμηλή. Τα αντίστοιχα αποτελέσματα για τη θετική προγνωστική αξία διαφέρουν κατά πολύ από μελέτη σε μελέτη και απαιτούν μεγαλύτερη διερεύνηση.

Μια άλλη μελέτη [73] απέδειξε ότι η ευαισθησία του PAP test μαζί με το HPV DNA test είναι μεγαλύτερη από την ευαισθησία του καθενός test ξεχωριστά, ιδιαίτερα για γυναίκες άνω των 30 ετών. Αντίθετα, βρήκε ότι η ειδικότητα του συνδυασμού των δύο tests ήταν μικρότερη από την ειδικότητα του καθενός ξεχωριστά.

#### mRNA test

Σε μια μετα-ανάλυση των Cuschieri, Wentzensen (*Πίνακας 1.2*) [75], συνοψίζονται άλλες σημαντικές μελέτες και παρουσιάζεται η υψηλή απόδοση του mRNA test στην ανίχνευση των E6/E7 σε αλλοιώσεις CIN2,3 και σε διηθητικό καρκίνο τραχήλου.

**Πίνακας 1.2:** Απόδοση mRNA test για ανίχνευση CIN2,3 και διηθητικού καρκίνου.

#### **Detection rate of E6/E7 transcripts in CIN2/3 and cervical cancers**

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

Μια άλλη μελέτη της απόδοσης του mRNA test έδωσε τα εξής αποτελέσματα [74]:

- *ευαισθησία* = 64% σε γυναίκες με CIN2+ αλλοίωση
- *ειδικότητα* = 97% σε γυναίκες με φυσιολογική κυτταρολογική.

## p16 test

Η μετα-ανάλυση των Cuschieri, Wentzensen (Πίνακας 1.3) [75] αναφέρεται και στην απόδοση του p16 test βάσει αποτελεσμάτων άλλων έγκυρων μελετών.

**Πίνακας 1.3:** Ανίχνευση της p16 στις διάφορες αλλοιώσεις του τραχήλου.

p16 staining in immunohistochemistry					
Author	Nondysplastic*	CIN1	CIN2	CIN3	Invasive CA
Sano, 1998 (44)	0/15 (0%)	8/15 (53%)	16/17 (94%)	27/27 (100%)	38/39 (97%)
Klaes, 2001 (45)	1/111 (1%)	29/47 (61%)	32/32 (100%)	60/60 (100%)	58/60 (97%)
Klaes, 2002 (49)	7/58 (12%)	15/17 (88%)	10/10 (100%)	43/43 (100%)	46/46 (100%)
Agoff, 2003 (51)	30/247 (12%)	43/76 (57%)	60/80 (75%)	103/113 (91%)	47/53 (89%)
Wang, 2004 (56) †	12/179 (7%)	27/75 (36%)	12/19 (63%)	19/19 (100%)	
Hu, 2005 (54) †, §		20/45 (44%)	43/46 (93%)	51/51 (100%)	
Benevolo, 2006 (52) †	0/17 (0%)	17/54 (31%)	9/10 (90%)	11/11 (100%)	8/8 (100%)
Ishikawa, 2006 (55) †	0/7 (0%)	13/53 (25%)	32/40 (80%)	45/48 (94%)	16/16 (100%)
Focchi, 2007(53) †	0/114 (0%)	80/88 (91%)	33/33 (100%)	32/32 (100%)	44/47 (94%)
Total	50/748 (7%)	252/470 (54%)	247/287 (86%)	391/404 (96%)	257/269 (96%)

\*Includes normal, reactive, inflammation, hyperplasia, atypical, equivocal.

† Population-based study.

‡ Criteria modified from Horn et al. (49).

§ Adolescents.

Η μεγάλη χρησιμότητα του p16 ως συνοδευτικό του HPV DNA test φαίνεται και στη μετα-ανάλυση των Παρασκευαΐδη, Κολιόπουλου (Πίνακας 1.4) [76], όπου παρουσιάζεται η ανίχνευση της p16 στα διάφορα στάδια τραχηλικής αλλοίωσης.

**Πίνακας 1.4:** Ανίχνευση της p16 στα διάφορα στάδια τραχηλικής αλλοίωσης.

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

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

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

### Flow Cytometry test

Η μελέτη των Narimatsu και Patterson (Πίνακας 1.5) [77] για την ανίχνευση μέσω flow cytometry έδωσε τα εξής αποτελέσματα για HSIL αλλοιώσεις:

- ευαισθησία = 83,3%
- ειδικότητα = 91,3%

Μάλιστα, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 1.5, το flow cytometry έδωσε υψηλότερη ευαισθησία αλλά και ειδικότητα από το HPV DNA test (Hybrid Capture II).

**Πίνακας 1.5:** Σύγκριση απόδοσης του Flow Cytometry (E6/E7 mRNA) και του HPV DNA test (Hybrid Capture II).

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

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

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

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

### 1.3.3.2 Γενικό πλάνο της διπλωματικής εργασίας

Ο σκοπός της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας είναι να εξετάσουμε κατά πόσο ο συνδυασμός νέων τεχνικών ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας συμπληρώνει αποδοτικά το PAP test. Μ' αυτόν τον τρόπο, θέλουμε να βοηθήσουμε τους ιατρούς να πάρουν μια έγκυρη απόφαση για το πώς θα αντιμετωπίσουν καθεμία ασθενή (*triage*). Η διαφορά της συγκεκριμένης ανάλυσης από άλλες μελέτες είναι ότι συνδυάζονται τέσσερα νέα screening tests (HPV DNA, mRNA, p16 και Flow Cytometry) και όχι μόνο ένα ή δύο.

Προς αυτήν την κατεύθυνση, εφαρμόσαμε μια **εκτεταμένη στατιστική ανάλυση** σε μια βάση δεδομένων ενός δείγματος 500 γυναικών από το Αττικό Νοσοκομείο και από το Νοσοκομείο Ιωαννίνων. Σαν reference test (για εξακρίβωση της ορθότητας των αποτελεσμάτων) χρησιμοποιήθηκε η ιστολογική βιοψία. Το κυτταρολογικό επίχρισμα λήφθηκε σε LBC μορφή. Η κολποσκόπηση δεν λήφθηκε υπόψη λόγω έντονου υποκειμενικού στοιχείου. Σύμφωνα με τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, έχουμε τυποποίηση 35 HPV τύπων (υψηλού και χαμηλού κινδύνου), ανίχνευση του mRNA των τύπων 16,18,31,33,45, ανίχνευση της πρωτεΐνης p16 που υπερεκφράζεται στον καρκίνο του τραχήλου και κυτταρομετρία ροής για ανίχνευση του mRNA των HPV τύπων υψηλού κινδύνου. Η θεωρία της στατιστικής ανάλυσης που μας χρειάστηκε παρουσιάζεται στο Κεφάλαιο 2 και η στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήσαμε παρουσιάζεται στο Κεφάλαιο 3.

## 2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΤΗΓΟΡΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Για να επεξεργαστούμε τα ιατρικά δεδομένα, έπρεπε να εφαρμόσουμε μια εκτενή στατιστική ανάλυση. Εδώ, παρουσιάζονται όλες οι μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης που μας απασχόλησαν. Ασχοληθήκαμε με **μη παραμετρική στατιστική ανάλυση** γιατί δεν μας αφορά ο προκαθορισμένος υπολογισμός παραμέτρων του πληθυσμού (πχ ο μέσος όρος ή η τυπική απόκλιση) και με μεθόδους **κατηγορικής ανάλυσης** διότι τα δεδομένα μας είναι αποτελέσματα των screening tests που υπάγονται σε κατηγορίες [114].

### 2.1 Είδη δεδομένων

Ο καθορισμός των τιμών μιας συνάρτησης (**ποσοτική έννοια**) ονομάζεται μέτρηση. Ο όρος μέτρηση χρησιμοποιείται συχνά περιλαμβάνοντας και την κατανομή των αντικειμένων μιας κατηγορίας σε τάξεις (**ποιοτική έννοια**). Με τη μέτρηση επιτυγχάνεται η συστηματική απόδοση αριθμών στα αντικείμενα και τις ιδιότητές τους, ώστε να διευκολύνεται η μαθηματική τους περιγραφή. Διακρίνονται διάφορα είδη μέτρησης. Τα είδη δεδομένων διαφέρουν στην ερμηνεία των αριθμητικών τιμών που χρησιμοποιούνται. Οι μεταβλητές (δεδομένα) διακρίνονται ανάλογα με τα μαθηματικά τους χαρακτηριστικά σε ποιοτικές (*qualitative*) και ποσοτικές (*quantitative*), με τις πρώτες να διακρίνονται σε ονομαστικές και διατάξιμες και τις δεύτερες σε μεταβλητές διαστηματικής κλίμακας και μεταβλητές κλίμακας λόγου [78,79].

#### 2.1.1 Κατηγορικά Δεδομένα

Ένα σύνολο δεδομένων είναι κατηγορηματικό (*categorical*) αν οι τιμές του μπορούν να ταξινομηθούν σε **μη επικαλυπτόμενες κατηγορίες**. Για παράδειγμα, τα παπούτσια σε ένα ντουλάπι μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το χρώμα: η μεταβλητή "χρώμα" έχει τις μη επικαλυπτόμενες κατηγορίες «μαύρο», «καφέ», «κόκκινο» και «άλλα». Οι άνθρωποι έχουν το χαρακτηριστικό του "φύλου", με τις κατηγορίες του

«άνδρα» και της «γυναίκας». Κάθε τιμή θα πρέπει να ανήκει σε μία μόνο κατηγορία και δεν πρέπει να υπάρχει αμφιβολία σε ποια [80].

### 2.1.2 Ονομαστικά δεδομένα

Τα **ονομαστικά δεδομένα** (*nominal data*) είναι η απλούστερη και περισσότερο συνηθισμένη μορφή δεδομένων. Σε αυτήν, τα αντικείμενα μιας ορισμένης κατηγορίας διασπώνται και εντάσσονται σε διάφορες ομάδες με τους αριθμούς να αποτελούν ονόματα ή χαρακτηρισμούς και χωρίς να έχουν αριθμητικό νόημα. Για να είναι επιστημονικώς χρήσιμα τα δεδομένα ονομαστικής κλίμακας θα πρέπει (α) οι τάξεις να μην έχουν κοινά στοιχεία ώστε να αποκλείεται να ανήκει ένα στοιχείο σε περισσότερες από μία τάξεις και (β) η κατανομή των τάξεων να εξαντλεί την περιοχή όπου αναλύεται [78].

Σημειώνεται ότι οι **μεταβλητές** (*variates*) δεν υπάρχουν στη φύση και αποτελούν στατιστικές έννοιες που σχεδιάζονται από τους ερευνητές, ενώ ως δεδομένα νοούνται οι τιμές που λαμβάνει μια μεταβλητή κατά τη μέτρησή της. Το φύλο, για παράδειγμα, δεν είναι μεταβλητή. Στην περίπτωση δημιουργίας μιας μεταβλητής για το φύλο, οι άνδρες μπορούν να λάβουν την τιμή 0 και οι γυναίκες την τιμή 1. Οι τιμές αυτές 0 και 1 δεν έχουν αριθμητικό νόημα και βεβαίως δεν αποτελούν τη μοναδική επιλογή. Είναι δυνατόν οι άνδρες να λάβουν την τιμή 1 και οι γυναίκες την τιμή 2 χωρίς να επηρεαστεί η ανάλυση των δεδομένων. Παρόμοιο παράδειγμα αποτελεί η ομάδα αίματος, με τα άτομα της ομάδας A να λαμβάνουν την τιμή 1, τα άτομα της ομάδας B την τιμή 2, τα άτομα της ομάδας AB την τιμή 3 και τα άτομα της ομάδας O την τιμή 4. Οι συμβολισμοί των διαφόρων ομάδων με αριθμούς διευκολύνει τη διαχείρισή τους με ηλεκτρονικούς υπολογιστές [78,80].

Όταν τα δεδομένα ονομαστικής κλίμακας μπορούν να λάβουν μόνο μία από δύο συγκεκριμένες τιμές (πχ άνδρες-γυναίκες) τότε ονομάζονται διχότομα ή **δυναδικά** (*binary*). Τα δυναδικά δεδομένα (εμφάνιση ή όχι μιας πάθησης) χρησιμοποιούνται συχνά στις επιστήμες υγείας [78]. Πολλές φορές, τα δεδομένα διχοτομούνται σε δύο κατηγορίες (ακόμα και αν έχουν περισσότερες) για να χρησιμοποιηθούν μέθοδοι δυναδικών δεδομένων.

### 2.1.3 Διατάξιμα δεδομένα

Τα **διατάξιμα δεδομένα** (*ordinal data*) είναι εκείνα στα οποία η σειρά ή η διάταξη μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών έχει σημασία, ώστε οι μεγαλύτερες αριθμητικές τιμές να



αντιπροσωπεύουν την παρουσία ενός χαρακτηριστικού σε μεγαλύτερο βαθμό και οι μικρότερες την παρουσία του ίδιου χαρακτηριστικού σε μικρότερο βαθμό. Τα αντικείμενα μιας κατηγορίας όχι μόνο διασπώνται και εντάσσονται σε διάφορες κατηγορίες, αλλά είναι δυνατή και η διάταξή τους που επιτρέπει τις μεταξύ τους συγκρίσεις [78].

Χαρακτηριστικό **παράδειγμα** διατάξιμης μεταβλητής αποτελεί ο βαθμός εγκαύματος που λαμβάνει συνήθως τιμές 1–4, με τις υψηλότερες τιμές να αντιπροσωπεύουν σοβαρότερη μορφή εγκαύματος. Η διάταξη των τάξεων ή κατηγοριών πραγματοποιείται λογικά, αλλά **δεν είναι δυνατόν να ποσοτικοποιηθεί η διαφορά** μεταξύ των κατηγοριών και να καθοριστεί αν η διαφορά μεταξύ εγκαυμάτων πρώτου και δεύτερου βαθμού είναι ίδια με τη διαφορά μεταξύ εγκαυμάτων τρίτου και τέταρτου βαθμού [78,80].

Ιδιαίτερη κατηγορία διατάξιμων δεδομένων αποτελούν τα **διατεταγμένα δεδομένα** (*ranked data*), στα οποία οι παρατηρήσεις τοποθετούνται στη σειρά από τη μεγαλύτερη στη μικρότερη –ή και αντίστροφα– και στη συνέχεια αντικαθίστανται από αριθμούς που αντιστοιχούν στη θέση κάθε παρατήρησης στην ακολουθία [78].

#### **2.1.4 Δεδομένα διαστηματικής κλίμακας**

Στα **δεδομένα διαστηματικής κλίμακας** (*interval scale data*) έχει σημασία τόσο η διάταξη όσο και το μέγεθος, με τους αριθμούς να αντιπροσωπεύουν πραγματικές μετρήσεις και όχι ονόματα ή χαρακτηρισμούς τάξεων. Τα διαστήματα που χωρίζουν τη μια τιμή της μεταβλητής από την άλλη έχουν διαφορετική βαρύτητα στα διάφορα σημεία της κλίμακας. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η κλίμακα μέτρησης της έντασης των σεισμών Ρίχτερ, στην οποία οι τιμές της μεταβλητής μπορεί να απέχουν μεταξύ τους κατά ίση αριθμητική διαφορά, αλλά αυτό δεν συνεπάγεται κίόλας ότι οι διαφορές είναι ισοδύναμες. Στην περίπτωση της κλίμακας Ρίχτερ, η διαφορά της έντασης μεταξύ δύο σεισμών 4 και 5 βαθμών δεν είναι ισοδύναμη με τη διαφορά μεταξύ δύο σεισμών 7 και 8 βαθμών. Τα δεδομένα διαστηματικής κλίμακας είναι αξιοποιήσιμα, αλλά δεν υφίσταται η σχέση του πολλαπλασιασμού μεταξύ των τιμών τους. Έτσι, έχει νόημα ότι ένας σεισμός 8 βαθμών της κλίμακας Ρίχτερ είναι ισχυρότερος από ένα σεισμό 4 βαθμών της κλίμακας Ρίχτερ, αλλά όχι ότι ο πρώτος είναι δύο φορές ισχυρότερος από το δεύτερο [78].

### 2.1.5 Δεδομένα κλίμακας λόγου

Τα **δεδομένα κλίμακας λόγου** (*ratio scale data*) υπερέχουν έναντι των δεδομένων διαστηματικής κλίμακας γιατί διαθέτουν ένα μηδενικό σημείο έναρξης της μέτρησης. Οι περισσότερες μεταβλητές (το βάρος, το ύψος, η ηλικία) ανήκουν στην κατηγορία αυτή. Με τα δεδομένα κλίμακας λόγου είναι δυνατή η πρόσθεση, η αφαίρεση, ο πολλαπλασιασμός και η διαίρεση των δεδομένων. Παραδείγματος χάρη, ένα άτομο βάρους 100 kg είναι δύο φορές βαρύτερο από ένα άτομο βάρους 50 kg [78].

### 2.1.6 Συνεχή και διακριτά δεδομένα

Σε αρκετές περιπτώσεις, τα ποσοτικά δεδομένα διακρίνονται σε **συνεχή** (*continuous*) και **διακριτά** ή ασυνεχή (*discrete*). Η διαφορά τους έγκειται στο γεγονός ότι τα διακριτά δεδομένα περιορίζονται στο να λαμβάνουν μόνο ακέραιες τιμές, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους κατά συγκεκριμένες ποσότητες, ενώ τα συνεχή δεδομένα μπορούν να λάβουν οποιαδήποτε τιμή (και δεκαδική). Τα περισσότερα δεδομένα διαστηματικής κλίμακας και κλίμακας λόγου αποτελούν συνεχή δεδομένα. Παραδείγματα ασυνεχών μεταβλητών αποτελούν ο αριθμός των τροχαίων ατυχημάτων και ο αριθμός των νέων περιπτώσεων μιας πάθησης που καταγράφηκαν σε μια χώρα σ' ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, ενώ παραδείγματα συνεχών μεταβλητών αποτελούν το βάρος, το ύψος και η ηλικία. Σημειώνεται ότι σε ορισμένες περιπτώσεις οι συνεχείς μεταβλητές μετατρέπονται σε διατάξιμες εφόσον απαιτείται μικρότερος βαθμός λεπτομέρειας. Για παράδειγμα, ανάλογα με το δείκτη μάζας σώματος, τα άτομα μπορούν να ταξινομηθούν σε αδύνατα, φυσιολογικά, υπέρβαρα ή παχύσαρκα [78,80].

## 2.2 Είδη στατιστικών ερευνών

Υπάρχουν πολλά διαφορετικά είδη στατιστικών ερευνών. Η διαφοροποίηση που υπάρχει μεταξύ τους έγκειται στις διαφορετικές απαιτήσεις κάθε μελέτης καθώς και στο αν αποτελούν αναδρομικές ή μελλοντικές σχεδιάσεις.

### Μελέτες μαρτύρων ασθενών

Οι μελέτες μαρτύρων ασθενών (*case-control studies*) [96] ανήκουν στις μελέτες παρατήρησης (*observational studies*) και είναι αναδρομικές σχεδιάσεις (*retrospective designs*) αφού εξετάζουν παρελθοντικά αποτελέσματα. Χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις ελέγχου αν κάποιος φέρει ή δεν φέρει μια ασθένεια. Πιο συγκεκριμένα, cases χαρακτηρίζονται οι ασθενείς και controls οι υγιείς. Τις περισσότερες φορές, στις case-control studies είναι γνωστός ο αριθμός των cases και ανάλογα προστίθεται συγκεκριμένος αριθμός controls [97]. Case – control είναι και η δική μας στατιστική μελέτη.

### Μελέτες κοορτής

Οι μελέτες κοορτής (*cohort studies*) [96] ανήκουν στις μελέτες παρατήρησης και είναι μελλοντικές σχεδιάσεις όπου τα άτομα επιλέγουν την κατηγορία τους (πχ καπνιστές ή όχι) [97]. Στον Πίνακα 2.1 [95] γίνεται σύγκριση των case-control και cohort studies.

**Πίνακας 2.1:** Σύγκριση case-control και cohort studies.

Case-control	Cohort
Small, inexpensive	Large, expensive
Cases already otherwise identified, may exclude mild disease forms	Disease and non-disease representative of population
Deliberate selection of some specific types of cases and controls possible	Can exclude rare subgroups or disease types because of sampling variability
Cannot estimate predictive values directly	Can estimate all measures of diagnostic accuracy
Exploratory	Confirmatory

### Διατμηματικές μελέτες

Οι **διατμηματικές μελέτες** (*cross-sectional studies*) [96] ανήκουν στις μελέτες παρατήρησης και είναι αναδρομικές ή μελλοντικές σχεδιάσεις. Γίνεται δειγματοληψία κάποιων ατόμων και τα άτομα ταξινομούνται ανάλογα με την απάντησή τους [97].

### Κλινικές δοκιμές

Οι **κλινικές δοκιμές** (*clinical trials*) [96] ανήκουν στις πειραματικές μελέτες (*experimental studies*). Τα άτομα που συμμετέχουν χωρίζονται σε δύο ομάδες (πχ τους δίνουμε ένα φάρμακο καταπολέμησης μιας ασθένειας ή ένα placebo) [97].

## 2.3 Στατιστικά μέτρα απόδοσης

Στο υποκεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα βασικότερα στατιστικά μέτρα που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της απόδοσης των διαγνωστικών test. Κατά τον υπολογισμό όλων αυτών των μέτρων, συνήθως υπολογίζεται ένα **διάστημα εμπιστοσύνης-ΔΕ** (*confidence interval-CI*) μέσα στο οποίο είναι πιθανό να βρίσκεται η παράμετρος που εξετάζουμε. Η πιθανότητα να βρίσκεται η παράμετρος μέσα στο διάστημα εμπιστοσύνης ονομάζεται **βαθμός εμπιστοσύνης** (*confidence level*). Προφανώς, όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός εμπιστοσύνης, τόσο μεγαλύτερο είναι και το διάστημα εμπιστοσύνης. Για παράδειγμα όταν λέμε ότι έχουμε 95% CI εννοούμε ότι έχουμε ένα διάστημα εμπιστοσύνης CI στο οποίο βρίσκεται η παράμετρος με πιθανότητα 95%.

### 2.3.1 Ευαισθησία και ειδικότητα

Η ευαισθησία και η ειδικότητα είναι δύο στατιστικά μέτρα της απόδοσης ενός δυαδικού test κατάταξης (*binary classification test*). Η **ευαισθησία** (*sensitivity ή recall rate ή power*) μετρά το ποσοστό των αληθώς θετικών αποτελεσμάτων του test στο σύνολο των πραγματικών θετικών αποτελεσμάτων (το ποσοστό των πραγματικών ασθενών ανθρώπων που σωστά έχουν προσδιοριστεί από το test ως ασθενείς). Η **ειδικότητα** (*specificity*) μετρά το ποσοστό των αληθώς αρνητικών αποτελεσμάτων του test στο σύνολο των πραγματικών αρνητικών αποτελεσμάτων (το ποσοστό των πραγματικά υγιών ανθρώπων που σωστά

έχουν προσδιοριστεί από το test ως υγιείς). Όπως θα αναφερθεί παρακάτω, η ευαισθησία και η ειδικότητα έχουν άμεση σχέση με τα σφάλματα τύπου I και II [81].

Μια θεωρητική **βέλτιστη πρόβλεψη** μπορεί να επιτύχει 100% ευαισθησία (πρόβλεψη όλων των ανθρώπων από την ομάδα των ασθενών ως ασθενείς) και 100% ειδικότητα (πρόβλεψη όλων των ανθρώπων από την ομάδα των υγιών ως υγιείς).

Για κάθε δοκιμαστικό test, υπάρχει συνήθως μια εξισορρόπηση (**trade-off**) μεταξύ των δύο αυτών μέτρων. Για παράδειγμα, σε ένα σύστημα ασφαλείας ενός αεροδρομίου υπάρχουν ειδικοί σαρωτές που ελέγχουν τα αντικείμενα που περνούν. Προκειμένου το σύστημα να καταφέρει να εντοπίσει όσο το δυνατόν περισσότερα αντικείμενα που μπορεί να προκαλέσουν κίνδυνο για την ασφάλεια του αεροσκάφους (υψηλότερη ευαισθησία), αναγκαστικά ορίζεται να ενεργοποιεί το συναγερμό ακόμα και για τα χαμηλού κινδύνου αντικείμενα όπως ζώνες και κλειδιά (χαμηλότερη ειδικότητα). Αυτό το trade-off μεταξύ ευαισθησίας και ειδικότητας μπορεί να αναπαρασταθεί χρησιμοποιώντας μια χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας (*ROC curve*) που αναλύεται στο υποκεφάλαιο 2.3.6.

Έστω ότι θέλουμε να αξιολογήσουμε ένα νέο διαγνωστικό test που ελέγχει προληπτικά κάποιους ανθρώπους για να ανιχνεύσει ή όχι μια ασθένεια. Κάθε άνθρωπος που συμμετέχει στη διαδικασία μπορεί είτε να φέρει την ασθένεια είτε όχι. Το αποτέλεσμα του test μπορεί είτε να είναι θετικό (προβλέποντας ότι το άτομο έχει την ασθένεια) ή αρνητικό (προβλέποντας ότι το άτομο δεν έχει την ασθένεια). Τα **αποτελέσματα του test** για κάθε άτομο μπορεί να συμπίπτουν με την πραγματική κατάσταση του ατόμου (*actual health condition*) ή να μη συμπίπτουν. Τότε, ορίζουμε τα παρακάτω [81]:

Αληθώς θετικό (*true positive-TP*): Ασθενείς που έχουν σωστά διαγνωσθεί ως ασθενείς

Ψευδώς θετικό (*false positive-FP*): Υγιείς που έχουν εσφαλμένα διαγνωσθεί ως ασθενείς

Αληθώς αρνητικό (*true negative-TN*): Υγιείς που έχουν σωστά διαγνωσθεί ως υγιείς

Ψευδώς αρνητικό (*false negative-FN*): Ασθενείς που έχουν εσφαλμένα διαγνωσθεί ως υγιείς

Για να γίνει πιο εύκολα κατανοητή η έννοια της ειδικότητας, ας χρησιμοποιήσουμε το παράδειγμα ενός **σκύλου-ανιχνευτή** που χρησιμοποιείται για να εντοπίζει ναρκωτικά. Ένας τέτοιος σκύλος μπορεί να έχει εκπαιδευτεί να εντοπίζει μόνο κοκαΐνη, ενώ ένας άλλος κοκαΐνη, ηρωίνη και μαριχουάνα. Ο δεύτερος σκύλος παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία από τον πρώτο επειδή έχει τη δυνατότητα να αναγνωρίσει περισσότερες μυρωδιές, αλλά και μικρότερη ειδικότητα αφού μπορεί πιο εύκολα να μπερδευτεί και να διαλέξει ακόμα και υγιή πακέτα (χωρίς κανένα ναρκωτικό). Έτσι, ο δεύτερος σκύλος θα διαλέξει ένα πολύ μεγαλύτερο αριθμό ύποπτων πακέτων, οδηγώντας σε περισσότερα

ψευδή θετικά αποτελέσματα. Συνεχίζοντας το παραπάνω παράδειγμα για την επεξήγηση της έννοιας της ευαισθησίας, μπορούμε να πούμε ότι ένας σκύλος λόγω ηλικίας χάνει την ικανότητά του να ανιχνεύει πακέτα που είναι όντως ύποπτα και τα θεωρεί καθαρά (χωρίς ναρκωτικό). Έτσι, οδηγούμαστε σε περισσότερα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα [81].

Συμπεραίνουμε, λοιπόν, ότι ένα θετικό αποτέλεσμα ενός test με υψηλή ειδικότητα χρησιμοποιείται για να επιβεβαιώσει την ασθένεια. Αντίστοιχα, ένα αρνητικό αποτέλεσμα ενός test με υψηλή ευαισθησία χρησιμοποιείται για να αποκλείσει την ασθένεια.

Ο τύπος υπολογισμού της ευαισθησίας είναι:

$$\text{sensitivity} = \frac{\text{number of True Positives}}{\text{number of True Positives} + \text{number of False Negatives}}$$

Ο αντίστοιχος τύπος υπολογισμού της ειδικότητας είναι:

$$\text{specificity} = \frac{\text{number of True Negatives}}{\text{number of True Negatives} + \text{number of False Positives}}$$

**Πίνακας 2.2:** Γενικός πίνακας συνάφειας ενός δυαδικού διαγνωστικού test.

		Condition (as determined by "Gold standard")		
		Positive	Negative	
Test outcome	Positive	True Positive	False Positive (Type I error, P-value)	→ Positive predictive value
	Negative	False Negative (Type II error)	True Negative	→ Negative predictive value
		↓ Sensitivity	↓ Specificity	

Στον Πίνακα 2.2 έχουμε ένα γενικό παράδειγμα ενός πίνακα συνάφειας (συσχέτισης) ενός δυαδικού διαγνωστικού test που μας οδηγεί στον υπολογισμό της ευαισθησίας και της ειδικότητας. Γίνεται σύγκριση μεταξύ της πραγματικής κατάστασης ενός ατόμου (ασθενής ή υγιής) και του αποτελέσματος του διαγνωστικού test (ασθενής ή υγιής). Τα positive/negative predictive value θα αναλυθούν στο υποκεφάλαιο 2.3.3.

Μπορούμε, επίσης, να υπολογίσουμε τις παρακάτω **πιθανότητες** οι οποίες έχουν ως δεδομένη την πραγματική κατάσταση ασθένειας του ατόμου:

- False Positive Rate or Fraction = FPF =  $\alpha = FP / (FP + TN) = 1 - \text{specificity}$
- False Negative Rate or Fraction = FNF =  $\beta = FN / (TP + FN) = 1 - \text{sensitivity} = 1 - \text{power}$
- True Positive Rate or Fraction = TPF = sensitivity = power
- True Negative Rate or Fraction = TNF = specificity

Όπου:

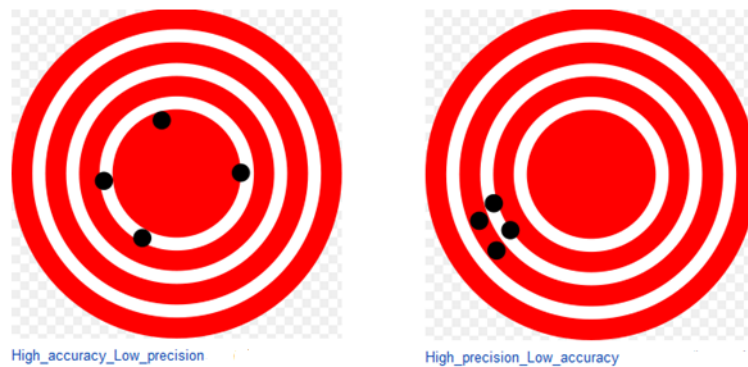
- False Positive Rate or Fraction = Πιθανότητα ψευδώς θετικών
- False Negative Rate or Fraction = Πιθανότητα ψευδώς αρνητικών
- True Positive Rate or Fraction = Πιθανότητα αληθώς θετικών
- True Negative Rate or Fraction = Πιθανότητα αληθώς αρνητικών.

Από τις πιθανότητες αυτές περνάμε στα **σφάλματα τύπου I και II**. Οι πιθανότητες  $\alpha$ ,  $\beta$  εκφράζουν η μεν  $\alpha$  την πιθανότητα να έχω σφάλμα τύπου I, η δε  $\beta$  την πιθανότητα να έχω σφάλμα τύπου II. Αρχικά, μπορούμε να πούμε απλά ότι τα σφάλματα I και II αναφέρονται στα ψευδή θετικά και στα ψευδή αρνητικά αντίστοιχα. Προφανώς, από τον τύπο τους συμπεραίνουμε ότι όταν μεγαλώνει το σφάλμα I τότε μικραίνει η ειδικότητα κι όταν μεγαλώνει το σφάλμα II τότε μικραίνει η ευαισθησία [81]. Εκτενέστερη ανάλυση σχετικά με τα σφάλματα I και II γίνεται στο υποκεφάλαιο 2.4.

Στον **καρκίνο τραχήλου μήτρας**, οι ψευδώς αρνητικές εκθέσεις παρουσιάζονται όταν ο κυτταρολόγος αποτυγχάνει να ανιχνεύσει τα άτυπα κύτταρα που είναι παρόντα στο επίχρισμα και οι ψευδώς θετικές εκθέσεις παρουσιάζονται όταν αρνητικά επιχρίσματα αναφέρονται να περιέχουν άτυπα κύτταρα. Οι ψευδώς αρνητικές εκθέσεις είναι ιδιαίτερα επιβλαβείς για τον ασθενή επειδή οδηγούν στην αποτυχία να διαγνωσθεί και να θεραπευθεί ο καρκίνος. Ευαισθησία της εξέτασης ορίζεται η αναλογία των ασθενών γυναικών των οποίων τα κολποτραχηλικά επιχρίσματα αναγνωρίστηκαν σωστά ως θετικά, προς όλες τις γυναίκες που εξετάστηκαν και έχουν την νόσο. Ειδικότητα της εξέτασης ορίζεται η αναλογία των υγιών γυναικών των οποίων τα επιχρίσματα αναγνωρίστηκαν σωστά ως αρνητικά, προς όλες τις γυναίκες που εξετάστηκαν και είναι ελεύθερες νόσου [3].

### 2.3.2 Ορθότητα και ακρίβεια

Δύο στατιστικά μέτρα απόδοσης που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι η ορθότητα και η ακρίβεια. Η **ορθότητα** (*accuracy*) ενός διαγνωστικού test αναφέρεται στο βαθμό του πόσο κοντά στις πραγματικές τιμές μιας ποσότητας είναι οι μετρούμενες τιμές της (βαθμός προσέγγισης πραγματικότητας). Δείχνει την ικανότητα του διαγνωστικού test να προβλέπει σωστά την ύπαρξη ασθένειας ή όχι. Η **ακρίβεια** (*precision* ή *reproducibility* ή *repeatability*) αναφέρεται στο βαθμό στον οποίο επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (υπό τις ίδιες συνθήκες) δίνουν ίδια αποτελέσματα. Εκφράζει τη διασπορά των λαμβανόμενων αποτελεσμάτων [82]. Ένα test χαρακτηρίζεται ως **έγκυρο** αν είναι ορθό και ακριβές [83]. Όμως, αυτά δεν συνδυάζονται πάντα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η *Εικόνα 2.1*.



*Εικόνα 2.1: Σχέση ορθότητας και ακρίβειας.*

Σε ένα **δυσάδικο διαγνωστικό test**, η ορθότητα υπολογίζει το ποσοστό των ορθών αποτελεσμάτων στο σύνολο των αποτελεσμάτων [83]:

$$\text{accuracy} = \frac{\text{number of true positives} + \text{number of true negatives}}{\text{numbers of true positives} + \text{false positives} + \text{false negatives} + \text{true negatives}}$$

Η ορθότητα μπορεί να υπολογισθεί από την ευαισθησία και την ειδικότητα όταν είναι γνωστός ο **επιπολασμός** ή *prevalence* (συχνότητα εμφάνισης της νόσου στον πληθυσμό) [84] από τον τύπο:

$$\text{accuracy} = (\text{sensitivity})(\text{prevalence}) + (\text{specificity})(1 - \text{prevalence}).$$

Η ακρίβεια υπολογίζει το ποσοστό των αληθώς θετικών αποτελεσμάτων στο σύνολο των θετικών αποτελεσμάτων του διαγνωστικού test [83]:

$$\text{precision} = \frac{\text{number of true positives}}{\text{number of true positives} + \text{false positives}}$$

Μάλιστα, η ακρίβεια ταυτίζεται με την θετική προγνωστική αξία που θα αναλυθεί εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 2.3.3.



### 2.3.3 Θετική και αρνητική προγνωστική αξία

Οι προγνωστικές αξίες (θετική και αρνητική) έχουν ως δεδομένο το αποτέλεσμα του διαγνωστικού test κι όχι την πραγματική κατάσταση ασθένειας του ατόμου [95].

Η **θετική προγνωστική αξία** (*positive predictive value - PPV ή precision*) ενός διαγνωστικού test είναι το ποσοστό των ατόμων με θετικό αποτέλεσμα που ορθά διαγιγνώσκονται ως ασθενείς. Εκφράζει πόσο καλό είναι το διαγνωστικό test στο να επιβεβαιώνει την ασθένεια (θετικό αποτέλεσμα) [85]. Ο τύπος που χρησιμοποιείται είναι:

$$PPV = \frac{\text{number of True Positives}}{\text{number of True Positives} + \text{number of False Positives}}$$

ή αν είναι γνωστός ο επιπολασμός (prevalence):

$$PPV = \frac{(\text{sensitivity})(\text{prevalence})}{(\text{sensitivity})(\text{prevalence}) + (1 - \text{specificity})(1 - \text{prevalence})}$$

Η **αρνητική προγνωστική αξία** (*negative predictive value - NPV*) ενός διαγνωστικού test είναι το ποσοστό των ατόμων με αρνητικό αποτέλεσμα που ορθά διαγιγνώσκονται ως υγιείς. Εκφράζει πόσο καλό είναι το διαγνωστικό test στο να απορρίπτει την ασθένεια (αρνητικό αποτέλεσμα) [86]. Ο τύπος που χρησιμοποιείται είναι:

$$NPV = \frac{\text{number of True Negatives}}{\text{number of True Negatives} + \text{number of False Negatives}}$$

ή αν είναι γνωστός ο επιπολασμός (prevalence):

$$NPV = \frac{(\text{specificity})(1 - \text{prevalence})}{(\text{specificity})(1 - \text{prevalence}) + (1 - \text{sensitivity})(\text{prevalence})}$$

Αν λάβουμε υπ' όψη την εμφάνιση της ασθένειας σε ένα άτομο πριν τη χρήση του διαγνωστικού test (**pre-test odds**) και την εμφάνιση της ασθένειας σε ένα άτομο αν γνωρίζουμε το αποτέλεσμα του διαγνωστικού test (**post-test odds**) τότε καταλήγουμε στο παρακάτω πολύ χρήσιμο ζευγάρι σχέσεων:

$$\frac{PPV}{1 - PPV} = \text{post-test odds } (Y = 1)$$
$$\frac{1 - NPV}{NPV} = \text{post-test odds } (Y = 0)$$

όπου Y=1 δηλώνει θετικό αποτέλεσμα του test και Y=0 αρνητικό.

Τα PPV, NPV δεν χρησιμοποιούνται πάντα αποτελεσματικά. **Εξαρτώνται** και τα δύο πολύ έντονα **από** τον **επιπολασμό** της νόσου στον πληθυσμό. Γι' αυτό, πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο αν ο λόγος του αριθμού των ασθενών στο γκρουπ των ασθενών και του αριθμού των ασθενών στο γκρουπ των υγιών είναι ίσος με τον επιπολασμό της νόσου στον εξεταζόμενο πληθυσμό ή στην περίπτωση εξέτασης δύο γκρουπ ασθενών αν ο λόγος του αριθμού των ασθενών στο ένα γκρουπ ασθενών και του αριθμού των ασθενών στο δεύτερο γκρουπ των ασθενών είναι ίσος με το λόγο των επιπολασμών των δύο ασθενειών [85]. Σε διαφορετική περίπτωση συνίσταται η χρήση των διαγνωστικών λόγων πιθανοτήτων ( $LR^{+/-}$ ) που αναλύονται εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 2.3.4.

Επιπροσθέτως, αρκετές φορές μια ασθένεια έχει περισσότερες από μία αιτίες. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα PPV, NPV που συνήθως χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση ενός διαγνωστικού test, μπορεί να καθορίζουν απλά την ύπαρξη ή όχι της συγκεκριμένης αιτίας κι όχι αναγκαστικά την ύπαρξη ή όχι της ίδιας της ασθένειας [85].

Στον **καρκίνο τραχήλου της μήτρας**, η PPV ενός PAP test απεικονίζει την ακρίβεια με την οποία ένα θετικό αποτέλεσμα επιχρίσματος προβλέπει την ύπαρξη νεοπλασίας στον τράχηλο. Η NPV ενός PAP test απεικονίζει την ακρίβεια με την οποία ένα αρνητικό αποτέλεσμα επιχρίσματος προβλέπει την απουσία της νόσου. Οι προγνωστικές αξίες εξαρτώνται από την επίπτωση των τραχηλικών αλλοιώσεων στον πληθυσμό. Οι προγνωστικές αξίες ποικίλουν ανάλογα με το εάν ο πληθυσμός που εξετάζεται είναι υψηλού ή χαμηλού κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου [3].

### 2.3.4 Θετικός και αρνητικός διαγνωστικός λόγος πιθανοφανειών

Οι **διαγνωστικοί λόγοι πιθανοφανειών** (*diagnostic likelihood ratios – DLR ή LR*) χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της απόδοσης των διαγνωστικών test, μέσω του υπολογισμού της ευαισθησίας και της ειδικότητάς του. Τα LR ποσοτικοποιούν την αύξηση στη γνώση περί ύπαρξης ή μη της ασθένειας, που κερδίζεται μέσα από ένα διαγνωστικό test [95]. Υπάρχει ο θετικός ( $LR^+$ ) και ο αρνητικός ( $LR^-$ ) διαγνωστικός λόγος πιθανοφανειών, αντίστοιχα για θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα του test [90].

Ο θετικός διαγνωστικός λόγος πιθανοφανειών υπολογίζεται από τον τύπο:

$$LR_+ = \frac{\text{sensitivity}}{1 - \text{specificity}}$$

Ο αρνητικός λόγος πιθανοφανειών υπολογίζεται από τον τύπο:

$$LR- = \frac{1 - \text{sensitivity}}{\text{specificity}}$$

Αν λάβουμε υπ' όψη την εμφάνιση της ασθένειας σε ένα άτομο πριν τη χρήση του διαγνωστικού test (**pre-test odds**) και την εμφάνιση της ασθένειας σε ένα άτομο αν γνωρίζουμε το αποτέλεσμα του διαγνωστικού test (**post-test odds**) τότε καταλήγουμε στο παρακάτω πολύ χρήσιμο ζευγάρι σχέσεων [95]:

$$\text{post-test odds } (Y = 1) = DLR^+ \times (\text{pre-test odds})$$

$$\text{post-test odds } (Y = 0) = DLR^- \times (\text{pre-test odds})$$

όπου  $Y=1$  δηλώνει θετικό αποτέλεσμα του test και  $Y=0$  αρνητικό.

Ένα άλλο χρήσιμο ζευγάρι τύπων για τα LR ως προς τα γνωστά fractions είναι [95]:

$$DLR^+ = \frac{TPF}{FPF}$$

$$DLR^- = \frac{1 - TPF}{1 - FPF}$$

Η κλίμακα των LR είναι το  $(0, \infty)$  και ένα τέλει διαγνωστικό test έχει  $LR^+=\infty$  και  $LR^-=0$  [95]. Ένας λόγος πιθανοφανειών που είναι μεγαλύτερος από το 1 δείχνει ότι ένα αντίστοιχο αποτέλεσμα του test συσχετίζεται με την ύπαρξη ασθένειας. Ένας λόγος πιθανοφανειών που είναι μικρότερος από το 1 δείχνει ότι το αντίστοιχο αποτέλεσμα του test συσχετίζεται με την απουσία της ασθένειας. Διαγνωστικά test με λόγο πιθανοφανειών κοντά στο 1 παρουσιάζουν πολύ μικρή πρακτική σημασία αφού στην ουσία δεν μας βοηθούν να καθορίσουμε την ύπαρξη ή την απουσία της ασθένειας (που είναι και ο πρωταρχικός μας στόχος). Όταν ο θετικός λόγος πιθανοφανειών είναι μεγαλύτερος του 5 ή ο αρνητικός λόγος πιθανοφανειών είναι μικρότερος του 0.2 τότε το διαγνωστικό test μπορεί να εφαρμοσθεί σε ένα άτομο που φέρει την ασθένεια, με σκοπό την επιβεβαίωση ότι η ασθένεια όντως είναι υπαρκτή [90]. Παρ' όλα αυτά, στην πράξη οι ιατροί χρησιμοποιούν σπάνια το συγκεκριμένο μέτρο [87,88,89].

**Πίνακας 2.3:** Συνοπτικός πίνακας στατιστικών μέτρων ορθότητας.

*Three measures of diagnostic accuracy for binary tests and their attributes*

	Classification probabilities	Predictive values	Diagnostic likelihood ratios
Parameter definitions	FPF = $P[Y = 1 D = 0]$ TPF = $P[Y = 1 D = 1]$	PPV = $P[D = 1 Y = 1]$ NPV = $P[D = 0 Y = 0]$	$DLR^+ = \mathcal{LR}(Y = 1)^*$ $DLR^- = \mathcal{LR}(Y = 0)^*$
Scale	(0, 1)	(0, 1)	(0, $\infty$ )
Perfect test	FPF = 0, TPF = 1	PPV = 1, NPV = 1	$DLR^+ = \infty$ , $DLR^- = 0$
Useless test	FPF = $\tau$ = TPF	PPV = $\rho$ , NPV = $1 - \rho$	$DLR^+ = 1 = DLR^-$
Context for use	Accuracy	Clinical prediction	Test informativeness
Question addressed	To what degree does the test reflect the true disease state?	How likely is disease given the test result?	By how much does the test change knowledge of disease status?
Affected by disease prevalence?	No	Yes	No

\*  $\mathcal{LR}(y) = P[Y = y|D = 1]/P[Y = y|D = 0]$

### 2.3.5 Σχετικός κίνδυνος και αναλογία πιθανοτήτων

Ο **σχετικός κίνδυνος** (*relative risk* – *RR*) είναι ένα μέτρο της ανάπτυξης μιας ασθένειας σε σχέση με την έκθεση σε αυτήν. Είναι ο λόγος της πιθανότητας εμφάνισης της νόσου σε ασθενείς προς την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου σε υγιείς. **Εκφράζει** την ικανότητα ενός διαγνωστικού test να καθορίσει την ύπαρξη μιας ασθένειας αλλά δεν είναι καλό μέτρο γιατί εξαρτάται από τη συχνότητα της νόσου [93].

Για παράδειγμα, έστω ότι εξετάζεται η πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα σε καπνιστές και μη καπνιστές.

Risk	Disease status	
	Present	Absent
Smk	<i>a</i>	<i>b</i>
Non-smk	<i>c</i>	<i>d</i>

Το relative risk του παραπάνω πίνακα υπολογίζεται ως εξής:

$$RR = \frac{a/(a + b)}{c/(c + d)}$$

Ο σχετικός κίνδυνος **χρησιμοποιείται** κυρίως στη στατιστική ανάλυση δυαδικών μεταβλητών, όπου το αποτέλεσμα παρουσιάζει σχετικά μικρή πιθανότητα. Γι' αυτό και είναι περισσότερο χρήσιμος σε κλινικά δεδομένα δοκιμών, όπως για παράδειγμα όταν συγκρίνεται ο κίνδυνος ανάπτυξης μιας ασθένειας σε άτομα στα οποία δίδεται κάποιο φάρμακο αντιμετώπισης και σε άτομα που δίδεται ένα εικονικό φάρμακο (*placebo*) [91].

Σε περίπτωση που συγκρίνονται δύο ομάδες ατόμων, όταν ο σχετικός κίνδυνος έχει **τιμή 1** τότε δεν υπάρχει διαφορά στον κίνδυνο μεταξύ των δύο ομάδων. Τιμές σχετικού κινδύνου μεγαλύτερες του 1 υποδηλώνουν ότι η ασθένεια έχει μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανιστεί στο πρώτο γκρουπ των ατόμων παρά στο δεύτερο. Για παράδειγμα, όταν λέμε ότι το κάπνισμα έχει σχετικό κίνδυνο 10 για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα, εννοούμε πως ο καπνιστής έχει 10 φορές περισσότερο πιθανότητα να αναπτύξει καρκίνο του πνεύμονα σε σχέση με το μη καπνιστή. Είναι εμφανές πως δεν αποκλείεται η πιθανότητα να αναπτύξει καρκίνο του πνεύμονα ένας μη καπνιστής, αλλά η σαφής ποσοτική διαφορά στην πιθανότητα εμφάνισης της νόσου μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών είναι εκείνη που υπαγορεύει την ανάγκη αποχής από το κάπνισμα. Όταν η τιμή του σχετικού κινδύνου έχει τιμή μικρότερη της μονάδας τότε η ασθένεια έχει μικρότερη πιθανότητα να εμφανιστεί στο πρώτο γκρουπ απ' ότι στο δεύτερο [93].

Εκτός από το σχετικό κίνδυνο, υπάρχει επίσης και ο **απόλυτος κίνδυνος** (*absolute risk*). Είναι ένα μέτρο που εκτιμάει την απόλυτη διαφορά (*absolute difference*) μεταξύ των τιμών δύο μεταβλητών. Σε περίπτωση που συγκρίνονται δύο ομάδες ατόμων, όταν ο απόλυτος κίνδυνος έχει **τιμή 0** τότε δεν υπάρχει διαφορά στον κίνδυνο μεταξύ των δύο ομάδων. Θετικές τιμές απόλυτου κινδύνου υποδηλώνουν ότι η ασθένεια έχει μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανιστεί στο πρώτο γκρουπ των ατόμων παρά στο δεύτερο. Όταν η τιμή του απόλυτου κινδύνου είναι αρνητική τότε η ασθένεια έχει μικρότερη πιθανότητα να εμφανιστεί στο πρώτο γκρουπ απ' ότι στο δεύτερο [116]. Ο απόλυτος κίνδυνος δεν χρησιμοποιείται πολύ συχνά καθώς δεν ωφελεί να ξέρεις την διαφορά μεταξύ δύο μεγεθών αλλά το πόσες φορές είναι μικρότερο ή μικρότερο το ένα από το άλλο [95].

Η **αναλογία πιθανοτήτων** ή λόγος σχετικών πιθανοτήτων (*odds ratio*) είναι ένα πολύ διαδεδομένο μέτρο που περιγράφει τη δύναμη της συσχέτισης (ή αλλιώς της μη-ανεξαρτησίας) μεταξύ δύο δυαδικών μεταβλητών. Η αναλογία πιθανοτήτων έχει βρει μεγάλη εφαρμογή στη λογιστική παλινδρόμηση (*logistic regression*) γιατί μπορεί να συγκρίνει τις 2 μεταβλητές με συμμετρικό τρόπο [92].

Η αναλογία πιθανοτήτων **ισούται** με το λόγο της πιθανότητας να εμφανιστεί ένα χαρακτηριστικό (πχ μια ασθένεια) σε μια ομάδα ατόμων προς την πιθανότητα να εμφανιστεί το χαρακτηριστικό σε μια άλλη ομάδα ατόμων. Οι δύο αυτές ομάδες μπορεί να είναι άντρες-γυναίκες αλλά και οποιαδήποτε άλλη διχοτομική ταξινόμηση. Αν οι πιθανότητες εμφάνισης της ασθένειας (*odds*) στις δύο ομάδες είναι  $p_1$  και  $p_2$  αντίστοιχα και αν  $q_{1,2}=1-p_{1,2}$  τότε η αναλογία πιθανοτήτων υπολογίζεται ως εξής:

$$\frac{p_1/(1-p_1)}{p_2/(1-p_2)} = \frac{p_1/q_1}{p_2/q_2} = \frac{p_1q_2}{p_2q_1}$$

Ένας άλλος τρόπος να οριστεί η αναλογία πιθανοτήτων είναι μέσω των δεσμευμένων πιθανοτήτων ενός 2\*2 πίνακα συνάφειας. Για παράδειγμα ο παρακάτω πίνακας δίνει το odds ratio:

	Y = 1	Y = 0
X = 1	$p_{11} / (p_{11} + p_{10})$	$p_{10} / (p_{11} + p_{10})$
X = 0	$p_{01} / (p_{01} + p_{00})$	$p_{00} / (p_{01} + p_{00})$

$$\frac{p_{11}/(p_{11} + p_{10})}{p_{10}/(p_{11} + p_{10})} \bigg/ \frac{p_{01}/(p_{01} + p_{00})}{p_{00}/(p_{01} + p_{00})} = \frac{p_{11}p_{00}}{p_{10}p_{01}}$$

κάτι που αποδεικνύει και τη χιαστί συμμετρία του μέτρου [92].

Όταν η αναλογία πιθανοτήτων είναι 1, τότε η ασθένεια που ερευνάται έχει τις ίδιες πιθανότητες να αναπτυχθεί στις δύο ομάδες ατόμων. Για αναλογία πιθανοτήτων μεγαλύτερη από 1, τότε η ασθένεια έχει μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτυχθεί στην πρώτη ομάδα. Για αναλογία πιθανοτήτων κάτω από 1, τότε η ασθένεια έχει μικρότερη πιθανότητα να αναπτυχθεί στην πρώτη ομάδα [92].

Ο σχετικός κίνδυνος **διαφέρει** από την αναλογία πιθανοτήτων παρ' όλο που την προσεγγίζει ασυμπτωτικά για μικρές πιθανότητες. Πιο συγκεκριμένα στον τύπο του σχετικού κινδύνου αν  $a \ll b$  και  $c \ll d$  τότε:

$$RR = \frac{a/(a+b)}{c/(c+d)} \approx \frac{ad}{bc}$$

Για να γίνει κατανοητή η διαφορά των δύο μέτρων, όταν έχουμε  $p_1=99.9\%$  και  $p_2=99\%$  τότε ο σχετικός κίνδυνος είναι λίγο πάνω από το 1 ενώ η αναλογία πιθανοτήτων είναι περίπου 10 [91].

Ο σχετικός κίνδυνος, η αναλογία πιθανοτήτων και σπανιότερα ο απόλυτος κίνδυνος χρησιμοποιούνται για τη σύγκριση των μέτρων της απόδοσης δύο διαφορετικών διαγνωστικών tests. Έτσι, δίνεται η δυνατότητα να αποφανθούμε για το ποιο test είναι το καταλληλότερο για αυτό που θέλουμε να εξετάσουμε (πχ μια ασθένεια). Στον Πίνακα 2.4 παρουσιάζεται συνοπτικά ο τρόπος με τον οποίο χρησιμοποιούνται ο απόλυτος κίνδυνος, ο σχετικός κίνδυνος και η αναλογία πιθανοτήτων για τη σύγκριση των fractions (TPF, FPF) δύο διαγνωστικών tests A και B [95].

**Πίνακας 2.4:** Πίνακας μέτρων σύγκρισης των fractions των A,B tests.

	Absolute differences	Odds ratios	Relative probabilities
Definition	$TPF_A - TPF_B$	$\frac{TPF_A(1-TPF_B)}{TPF_B(1-TPF_A)}$	$TPF_A/TPF_B$
	$FPF_A - FPF_B$	$\frac{FPF_A(1-FPF_B)}{FPF_B(1-FPF_A)}$	$FPF_A/FPF_B$
Notation	$\Delta TPF(A, B)$	$oTPF(A, B)$	$rTPF(A, B)$
	$\Delta FPF(A, B)$	$oFPF(A, B)$	$rFPF(A, B)$
Interpretation	Easy	Awkward	Easy
Statistical inference	Limited	Standard	Easy
Flexible designs accommodated	No	No	Yes

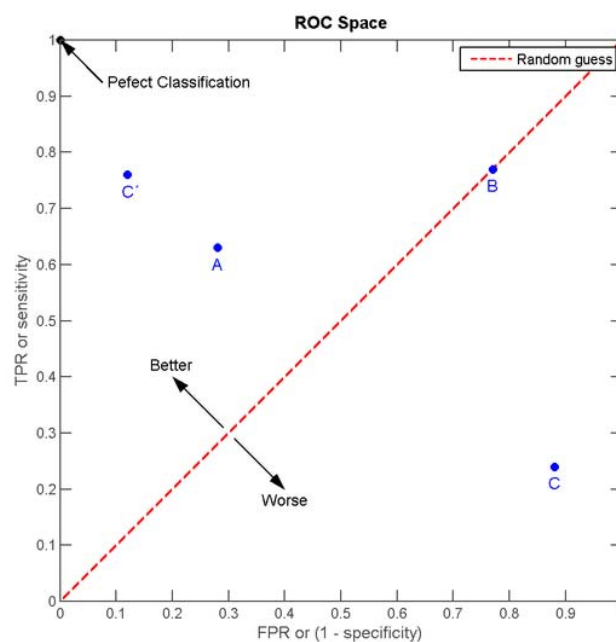
Στην περίπτωση που συγκρίνουμε δύο διαγνωστικά tests A και B, για να είναι το A καλύτερο του B πρέπει  $rTPF(A,B) > 1$  και  $rFPF(A,B) < 1$ . Για παράδειγμα, αν  $rTPF(A,B) = 2$  και  $rFPF(A,B) = 0.5$  τότε το true positive fraction του A είναι δύο φορές καλύτερο από το αντίστοιχο του B και το false positive fraction του A είναι μόνο το 50% του αντίστοιχου του B. Αν ισχύει μόνο μια από τις ανισότητες τότε χρησιμοποιούνται άλλα μέτρα, όπως για παράδειγμα το odds ratio  $oTPF(A,B)$  και  $oFPF(A,B)$  [95].

### 2.3.6 Χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας

Η χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας ή *ROC curve* ενός δυαδικού συστήματος (πχ ένα διαγνωστικό test) είναι η γραφική αναπαράσταση της ευαισθησίας ή αλλιώς των αληθώς θετικών αποτελεσμάτων έναντι του (1-ειδικότητα) ή αλλιώς των

ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων. Η ROC μπορεί επίσης να θεωρηθεί αναπαράσταση του true positive fraction-TPF έναντι του false positive fraction-FPF [94]. Η ευαισθησία, η ειδικότητα και οι πιθανότητες αληθώς-ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων αναφέρθηκαν εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 2.3.1.

Σε μια **καμπύλη ROC** (Εικόνα 2.2), στο x-άξονα μπαίνει το (1-ειδικότητα) ή το FPF και στο y-άξονα η ευαισθησία ή το TPF. Έτσι, γίνεται η απεικόνιση του γνωστού trade-off που παρατηρείται μεταξύ τους. Κάθε δυαδικό διαγνωστικό test αντιπροσωπεύει ένα σημείο στην καμπύλη ROC. Το διαγνωστικό test που προβλέπει με το βέλτιστο τρόπο μια ασθένεια θα βρίσκεται στο πάνω αριστερό σημείο (0,1) της καμπύλης, δηλαδή εκεί όπου έχει 100% ευαισθησία και 100% ειδικότητα. Το σημείο αυτό ονομάζεται σημείο τέλειας πρόβλεψης. Μια τελείως τυχαία μαντεψιά του αποτελέσματος ενός διαγνωστικού test θα δώσει ένα σημείο πάνω στη διαγώνια κόκκινη γραμμή που ξεκινάει από το κάτω αριστερά σημείο και φθάνει ως το πάνω δεξιά. Η διαγώνιος αυτή χωρίζει τη ROC καμπύλη σε δύο υποχώρους. Σημεία πάνω από την κόκκινη γραμμή αντιπροσωπεύουν καλά διαγνωστικά αποτελέσματα ενώ σημεία κάτω από την κόκκινη γραμμή φτωχά διαγνωστικά αποτελέσματα. Να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα ενός φτωχού διαγνωστικού test (με σημείο κάτω από την καμπύλη) μπορούν να αναστραφούν για να δώσουν καλά διαγνωστικά αποτελέσματα. Δηλαδή, κάθε θετικό αποτέλεσμα που θα δίνει το test εμείς θα το κάνουμε αρνητικό και κάθε αρνητικό θα το κάνουμε θετικό [94].



**Εικόνα 2.2:** Χαρακτηριστικά σημεία μιας καμπύλης ROC.



Ας δούμε ένα **παράδειγμα**, λαμβάνοντας υπ' όψη τα σημεία που φαίνονται στη ROC καμπύλη της *Εικόνας 2.2*. Εξετάζουμε την απόδοση τριών διαγνωστικών test, του A, του B και του C. Το αποτέλεσμα του test A είναι το καλύτερο από τα τρία, αφού βρίσκεται πάνω από την διαγώνια γραμμή. Το test B βρίσκεται ακριβώς πάνω στη διαγώνια γραμμή οπότε έχει ορθότητα 50% και δεν βοηθάει στην ελεγχόμενη πρόβλεψη της νόσου παρά μόνο με τυχαίο τρόπο. Προφανώς, το C είναι το χειρότερο απ' όλα αφού είναι κάτω από την κόκκινη γραμμή. Όμως, αν καθρεφτίσουμε το σημείο C ως προς το κεντρικό σημείο (0.5,0.5), τότε παίρνουμε το σημείο C'. Μάλιστα, το σημείο C' είναι καλύτερο ακόμα και από το A! Όπως είπαμε και προηγουμένως, αυτή η μέθοδος καθρεπτισμού εφαρμόζεται με αντιστροφή όλων των αποτελεσμάτων του test C. Όσο πιο κοντά είναι ένα σημείο στην πάνω αριστερή γωνία τόσο καλύτερα προβλέπει. Επίσης, όσο πιο μακριά είναι από την κόκκινη διαγώνια γραμμή τυχαίας μαντεψιάς, τόσο μεγαλύτερη προβλεπτική δύναμη διαθέτει [94].

Κάποιες μελέτες ορίζουν ένα μέγιστο false positive fraction. Τέτοιες μελέτες είναι τα διαγνωστικά tests που χρησιμοποιούνται σαν screening tests. Σε αυτές τις περιπτώσεις, μόνο ένα τμήμα της ROC curve (**partial ROC curve**) είναι χρήσιμο [95].

Τρία μέτρα που σχετίζονται με τη ROC curve και χρησιμοποιούνται αρκετά συχνά για τη σύγκριση δύο διαγνωστικών tests είναι το AUC, η μέγιστη κάθετη απόσταση και το σημείο συμμετρίας. **AUC** ονομάζεται το εμβαδόν κάτω από τη ROC curve. Ένα τέλειο test έχει  $AUC=1$ , ένα μη πληροφοριακό test έχει  $AUC=0.5$  και συνήθως η τιμή του AUC κυμαίνεται από 0.5 μέχρι 1. Για να είναι ένα test A καλύτερο ενός test B πρέπει  $AUC_A \geq AUC_B$ . **Μέγιστη κάθετη απόσταση** (*maximum vertical distance*) ονομάζεται η απόσταση της ROC curve από τη διαγώνιο γραμμή. Όσο μεγαλύτερη είναι η απόσταση αυτή, τόσο πιο πληροφοριακό είναι το διαγνωστικό test. Το **σημείο συμμετρίας** (*symmetry point*) είναι το σημείο στο οποίο ισχύει ότι  $sensitivity = specificity$  ή αλλιώς  $TPF = 1 - FPF$ . Όσο πιο πάνω και αριστερά βρίσκεται το symmetry point τόσο καλύτερα [95].

## 2.4 Έλεγχος υποθέσεων και στατιστική σημαντικότητα

Όπως αναφέρθηκε και στο υποκεφάλαιο 2.3.1 της ευαισθησίας και της ειδικότητας, δύο είδη σφαλμάτων μπορούν να εμφανιστούν σε ένα στατιστικό έλεγχο υπόθεσης (*statistical hypothesis test*). Τα σφάλματα αυτά ονομάζονται σφάλματα τύπου I και II και η πιθανότητα να συμβεί ένα από αυτά τα σφάλματα συμβολίζεται  $\alpha$  και  $\beta$  αντίστοιχα.

Πρώτα απ' όλα, πρέπει να αναφερθούμε στις έννοιες της μηδενικής και της εναλλακτικής υπόθεσης. Η **μηδενική υπόθεση (null hypothesis)** αντιστοιχεί σε μια κατ' εκτίμηση επιλογή της φυσιολογικής κατάστασης του προβλήματος (πχ ένα άτομο που είναι υγιές, δηλαδή δεν νοσεί από μια ασθένεια). Επίσης, ορίζεται η **εναλλακτική υπόθεση (alternative hypothesis)** που αντιστοιχεί στην αντίθετη κατάσταση (πχ ένα άτομο νοσεί). Στον καρκίνο του τραχήλου, η μηδενική υπόθεση είναι η απουσία καρκίνου (άτομο ελεύθερο από τον καρκίνο). Ο στόχος είναι να προσδιοριστεί ακριβώς αν μπορεί να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση υπέρ της εναλλακτικής [101,102].

Κατά τη διεξαγωγή ενός διαγνωστικού test εξάγεται κάποιο αποτέλεσμα. Το αποτέλεσμα μπορεί να είναι αρνητικό (το άτομο δεν νοσεί) ή θετικό (το άτομο νοσεί). Αν το αποτέλεσμα δεν ταυτίζεται με την πραγματική κατάσταση ασθένειας του ατόμου (υγιής ή ασθενής) τότε έχει γίνει κάποιο σφάλμα, αλλιώς αν υπάρχει ταύτιση αποτελέσματος του test και της πραγματικής κατάστασης του ατόμου τότε έχει γίνει μια σωστή εκτίμηση.

Τα σφάλματα που μπορεί να προκύψουν βασίζονται στο ποια από τις δύο υποθέσεις βρέθηκε λανθασμένα ως πραγματική κατάσταση ασθένειας. Το **σφάλμα τύπου I** (γνωστό και ως *σφάλμα πρώτου βαθμού* ή *σφάλμα  $\alpha$*  ή *ψευδώς αληθές*) είναι το σφάλμα που προκύπτει από την εσφαλμένη απόρριψη της μηδενικής υποθέσεως, όταν αυτή κανονικά ισχύει. Το σφάλμα αυτό υποδηλώνει ένα test χαμηλής ειδικότητας. Το **σφάλμα τύπου II** (γνωστό και ως *σφάλμα δεύτερου βαθμού* ή *σφάλμα  $\beta$*  ή *ψευδώς αρνητικό*) είναι το σφάλμα που προκύπτει από την αποτυχία να απορριφθεί η μηδενική υπόθεση, όταν αυτή κανονικά δεν ισχύει. Το σφάλμα τύπου II υποδηλώνει ένα test χαμηλής ευαισθησίας [98].

Ο έλεγχος υποθέσεων (*hypothesis testing*) είναι μια μέθοδος ελέγχου για το αν η σχέση μεταξύ δύο στατιστικών κατανομών εξηγείται τυχαία ή όχι. Έτσι, ένα αποτέλεσμα ονομάζεται **στατιστικά σημαντικό** αν είναι απίθανο να έχει προκύψει στην τύχη. Η έννοια της στατιστικής σημαντικότητας δεν έχει την ίδια έννοια με την έννοια που έχει στον καθημερινό λόγο αλλά την ικανότητα ενός test να βρίσκει κάτι χωρίς πολλά λάθη. Το πόσο

στατιστικά σημαντικό είναι ένα test καθορίζεται από την τιμή του επιπέδου σημαντικότητας και από την κρίσιμη τιμή  $p$  ( $p$ -value) [99].

Το **επίπεδο σημαντικότητας** ισούται με την πιθανότητα να συμβεί σφάλμα τύπου I και συμβολίζεται με  $\alpha$ . Οι συνήθεις τιμές του επιπέδου σημαντικότητας που χρησιμοποιούνται είναι 5% (0.05), 1% (0.01) και 0.1% (0.001). Προφανώς, όσο μικρότερο είναι το  $\alpha$ -επίπεδο σημαντικότητας τόσο πιο ισχυρή πρέπει να είναι η απόδειξη έναντι της μηδενικής υπόθεσης αφού έτσι αυξάνεται η εμπιστοσύνη στον προσδιορισμό της σημαντικότητας. Παρόλα αυτά, μια τέτοια μείωση θα οδηγήσει σε αύξηση του σφάλματος τύπου II και κατ' επέκταση σε μείωση της ευαισθησίας. Συνεπώς, η επιλογή ενός επιπέδου σημαντικότητας απαιτεί τον αμοιβαίο συμβιβασμό μεταξύ σημαντικότητας και ευαισθησίας ή αλλιώς μεταξύ σφάλματος τύπου I και σφάλματος τύπου II [99].

Η  **$p$ -value** καθορίζει τη σημαντικότητα ενός στατιστικού test ως προς το επίπεδο σημαντικότητας που έχει επιλεγεί. Ειδικότερα, είναι η πιθανότητα να λάβεις ένα στατιστικό αποτέλεσμα ενός test που να είναι τουλάχιστον τόσο ακραίο όσο η πραγματική κατάσταση, υποθέτοντας πάντα ότι η μηδενική υπόθεση ισχύει. Μπορούμε να πούμε επίσης ότι η  $p$ -value είναι η ικανότητα της μηδενικής υπόθεσης να εξηγήσει ένα αποτέλεσμα ή καλύτερα η δύναμη της απόδειξης ενάντια στη μηδενική υπόθεση. Όσο μικρότερη είναι η  $p$ -value τόσο πιο απίθανη είναι η απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης (αν αυτή στην πραγματικότητα ισχύει) και τόσο πιο σημαντικό είναι το αποτέλεσμα. Δύο ή τρία δεκαδικά ψηφία είναι αρκετά σε μια  $p$ -value [97].

Πιο συγκεκριμένα, μπορεί κάποιος να απορρίψει τη μηδενική υπόθεση (αν αυτή στην πραγματικότητα ισχύει) και να δεχτεί την εναλλακτική, αν η  $p$ -value είναι μικρότερη ή ίση με το επιλεγμένο επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha$ . Αντίστοιχα, αν η  $p$ -value είναι μεγαλύτερη από το επίπεδο σημαντικότητας τότε η μηδενική υπόθεση δεν μπορεί να απορριφθεί (αυτό δεν σημαίνει ότι η μηδενική υπόθεση είναι αληθής). Βέβαια, πρέπει να σημειωθεί ότι για να είναι αξιόπιστη μια  $p$ -value, απαιτείται σωστή επιλογή του επιπέδου σημαντικότητας και λογική επιλογή της μηδενικής υπόθεσης του προβλήματος [100].

Η **σύγκριση της  $p$ -value με το επίπεδο σημαντικότητας** θα μας δώσει ένα από τα εξής αποτελέσματα: είτε την απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης, είτε ότι η μηδενική υπόθεση δεν μπορεί να απορριφθεί στο συγκεκριμένο επίπεδο σημαντικότητας που επιλέχθηκε (κάτι που δεν σημαίνει απαραίτητα ότι η μηδενική υπόθεση είναι αληθής). Μια μικρή  $p$ -value που υποδεικνύει στατιστική σημαντικότητα δεν υποδεικνύει ότι η εναλλακτική υπόθεση είναι εκ των πραγμάτων σωστή [100]. Γι' αυτό το λόγο υπάρχουν

άλλα στατιστικά tests (πχ *goodness of fit tests*) που μπορούν δώσουν μια πιο οριστική απάντηση για την ισχύ της μηδενικής υπόθεσης και τα οποία αναλύονται εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 2.5.

Επειδή πολύ συχνά δημιουργείται έντονη σύγχυση σχετικά με τι πληροφορίες δίνει η p-value, καλό είναι να παραθέσουμε κάποιες **συχνές παρανοήσεις** [100].

- Η p-value δεν είναι η πιθανότητα να είναι αληθής μια μηδενική υπόθεση.
- Η p-value δεν είναι η πιθανότητα ένα αποτέλεσμα να σημειώνει επιτυχία από καθαρή τύχη.
- Η p-value δεν είναι η πιθανότητα να απορριφθεί λανθασμένα η μηδενική υπόθεση.
- Η p-value δεν είναι η πιθανότητα ένα ολόιδιο πείραμα να δώσει ακριβώς το ίδιο αποτέλεσμα.
- Το  $(1 - p\text{-value})$  δεν είναι η πιθανότητα να είναι αληθής η εναλλακτική υπόθεση.
- Το επίπεδο σημαντικότητας ενός test δεν καθορίζεται από την p-value. Το επίπεδο σημαντικότητας επιλέγεται πριν τη διεξαγωγή του στατιστικού test και ύστερα από αυτό συγκρίνεται με την υπολογισθείσα p-value.
- Η p-value δεν υποδεικνύει το μέγεθος ή τη σημασία μια παρατήρησης.

## 2.5 Στατιστικοί έλεγχοι υποθέσεων κατηγορικών δεδομένων

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, ο έλεγχος υποθέσεων (*hypothesis testing*) είναι μια μέθοδος ελέγχου για το αν η σχέση μεταξύ δύο στατιστικών κατανομών είναι τυχαία ή όχι. Έτσι, ένα αποτέλεσμα ονομάζεται **στατιστικά σημαντικό** αν είναι απίθανο να έχει προκύψει στην τύχη, κάτι που καθορίζεται από την τιμή του επιπέδου σημαντικότητας και από την κρίσιμη τιμή  $p$  (*p-value*). Στη δική μας περίπτωση, ένα test σημαντικότητας εξετάζει αν υπάρχει διαφορά μεταξύ του αποτελέσματος ενός screening test και της πραγματικής κατάστασης της υγείας του ατόμου (*actual health status*) ως προς τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Εμείς, θα επιλέξουμε επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0.05$  (ή 5%), δηλαδή επίπεδο εμπιστοσύνης  $=1-\alpha=1-0.05=0.95$  (ή 95%).

Ας εξετάσουμε πρώτα ορισμένες πολύ χρήσιμες έννοιες που θα βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση των στατιστικών tests που αναλύονται εκτενέστερα παρακάτω.

Τα στατιστικά tests απαιτούν την ύπαρξη μιας **μεταβλητής απόκρισης** (*εξαρτημένη μεταβλητή Y*) και μιας **ερμηνευτικής μεταβλητής** (*ανεξάρτητη μεταβλητή X*). Εμείς, επειδή

έχουμε να κάνουμε με screening test που ελέγχει την ακρίβεια διάγνωσης καρκίνου, διαλέγουμε σαν μεταβλητή απόκρισης το αποτέλεσμα (*outcome ή result*) του screening test και σαν ερμηνευτική μεταβλητή την actual health condition [97].

Επιπροσθέτως, απαιτείται να γίνεται διαχωρισμός των screening tests ανάλογα με το είδος και το πλήθος των κατηγοριών των δεδομένων που περιέχουν. Ένας διαχωρισμός αφορά τα **ονομαστικά** και τα **διατάξιμα** δεδομένα για την ορθή επιλογή στατιστικού test. Άλλα test ενδείκνυνται για ονομαστικά και άλλα για διατάξιμα δεδομένα. Τα είδη των δεδομένων έχουν αναλυθεί στο υποκεφάλαιο 2.1. Ένας άλλος διαχωρισμός σχετίζεται με το πλήθος των κατηγοριών των screening tests αφού άλλα είναι απλά **δυναδικά** (*binary*) και άλλα είναι **πολυκατηγορικά** (*multicategory*).

Τα στατιστικά tests εφαρμόζονται σε ένα πίνακα (I γραμμών, J στηλών) που περιέχει τα δεδομένα (πλήθος ατόμων  $n_{i,j}$  στη δική μας περίπτωση) των μεταβλητών X και Y και ο οποίος ονομάζεται **πίνακας συνάφειας** (*contingency table*). Λαμβάνοντας υπόψη τον πίνακα συνάφειας μπορούμε να εξάγομαι ορισμένες χρήσιμες πιθανότητες: την από κοινού, την περιθώρια και τη δεσμευμένη πιθανότητα [97].

Η **από κοινού πιθανότητα** (*joint probability*) ορίζεται ως η πιθανότητα οι μεταβλητές X και Y να πάρουν ένα συγκεκριμένο ζευγάρι τιμών, συμβολίζεται  $\pi_{i,j}$  και είναι ίση με την τιμή του αντίστοιχου κελιού του πίνακα συνάφειας. Ισχύει  $\sum_{i,j} \pi_{i,j} = 1$  [97].

Η **περιθώρια πιθανότητα** (*marginal probability*) ορίζεται ως το άθροισμα των πιθανοτήτων μιας γραμμής ή στήλης του πίνακα και συμβολίζεται  $\pi_{i+}$  (γραμμή i) και  $\pi_{+j}$  (στήλη j) [97].

Η **δεσμευμένη πιθανότητα** (*conditional probability*) χρησιμοποιείται για να δείξουμε την κατανομή της μεταβλητής Y (ή της X) στα διάφορα επίπεδα της μεταβλητής X (ή της Y). Αλλιώς μπορούμε να πούμε ότι δίνει την πιθανότητα να ισχύει η μεταβλητή Y αν είναι δεδομένη η τιμή της μεταβλητής X. Συμβολίζεται  $P(Y | X)$  [97].

Τώρα μπορούμε να εξετάσουμε τα διάφορα στατιστικά tests που χρησιμοποιούνται κατά τη στατιστική ανάλυση κατηγορικών δεδομένων. Γενικά, υπάρχουν **δύο τύποι ελέγχου υποθέσεων**. Ο πρώτος αφορά τον έλεγχο της ανεξαρτησίας μεταξύ των μεταβλητών (*independence tests*) και ο δεύτερος αφορά τον έλεγχο της καλής προσαρμογής των δεδομένων (*goodness of fit tests*).

### 2.5.1 Έλεγχοι ανεξαρτησίας $\chi^2$

Μια μεγάλη κατηγορία ελέγχων υποθέσεων κατηγορικών δεδομένων είναι οι  $\chi^2$  έλεγχοι ανεξαρτησίας των μεταβλητών (*chi-square independence tests*). Με αυτούς τους ελέγχους προσπαθούμε να αποδείξουμε με αριθμητικό τρόπο πόσο εξαρτώνται (σχετίζονται) μεταξύ τους οι μεταβλητές.

#### 2.5.1.1 Έλεγχοι ανεξαρτησίας για ονομαστικά δεδομένα

Στο υποκεφάλαιο αυτό θα αναφερθούμε στους ελέγχους ανεξαρτησίας  $\chi^2$  που χρησιμοποιούνται σε ονομαστικά (*nominal*) δεδομένα. Ονομάζονται  $\chi^2$  διότι για μεγάλο μέγεθος  $n$  του δείγματος προσεγγίζουν την  $\chi^2$ -κατανομή όταν ισχύει η μηδενική υπόθεση.

Υπενθυμίζουμε ότι ως μηδενική υπόθεση θεωρούμε ότι ένα άτομο δεν νοσεί. Στον πίνακα συνάφειας, η πιθανότητα εμφάνισης κάθε κελιού γραμμής  $i$  και στήλης  $j$  συμβολίζεται  $\pi_{ij}$ . Σε δείγμα μεγέθους  $n$  με μετρούμενο πλήθος ατόμων  $n_{ij}$  σε κάθε κελί, οι  $\mu_{ij} = n \cdot \pi_{ij}$  ονομάζονται αναμενόμενες συχνότητες (*expected frequencies*). Οι συχνότητες αυτές αντιπροσωπεύουν τις προσδοκώμενες τιμές όταν η μηδενική υπόθεση ισχύει [97].

Ο σκοπός της εφαρμογής των στατιστικών tests ελέγχου ανεξαρτησίας  $\chi^2$  είναι η εξέταση της διαφοροποίησης μεταξύ του  $n_{ij}$  (πλήθος ατόμων σε κάθε κελί του πίνακα συνάφειας που μετρήθηκε/παρατηρήθηκε σε μια έρευνα) και του  $\mu_{ij}$  (αναμενόμενες συχνότητες σε κάθε κελί του πίνακα συνάφειας όταν ισχύει η μηδενική υπόθεση που υπολογίζονται μετά τη διεξαγωγή της έρευνας) [103].

#### Pearson's $X^2$

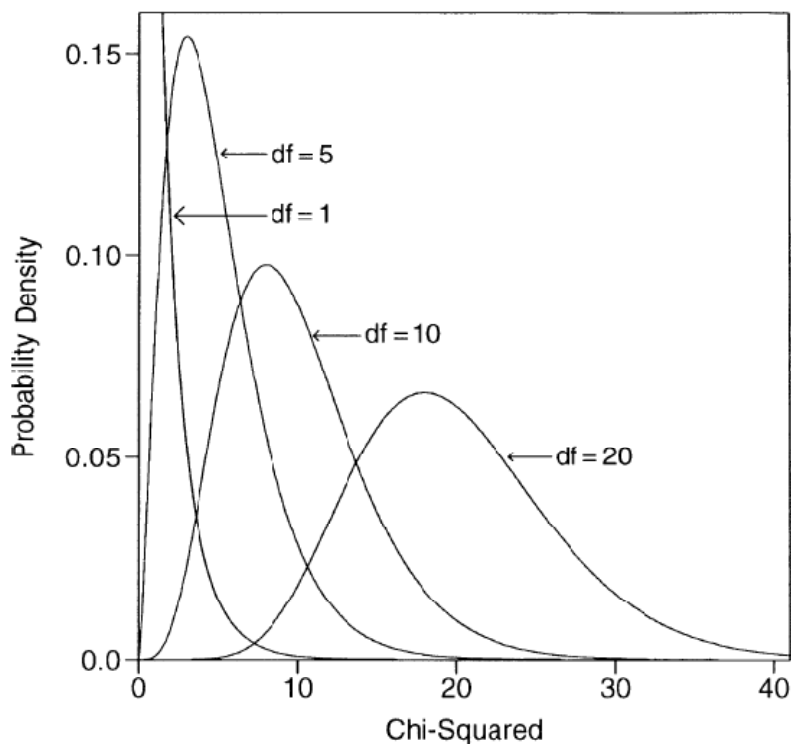
Το Pearson's  $X^2$  για τον έλεγχο της μηδενικής υπόθεσης υπολογίζεται από τον τύπο:

$$X^2 = \sum \frac{(n_{ij} - \mu_{ij})^2}{\mu_{ij}}$$

Αυτό το στατιστικό test παίρνει τη μικρότερη τιμή του (το μηδέν) όταν  $n_{ij} = \mu_{ij}$ . Για σταθερό μέγεθος δείγματος, μικρές διαφορές  $\{n_{ij} - \mu_{ij}\}$  δίνουν μικρές τιμές του  $X^2$  (πολύ κοντά στο μηδέν) και συνεπώς αδυναμία απόρριψης της μηδενικής υπόθεσης. Αντίθετα, μεγαλύτερες διαφορές  $\{n_{ij} - \mu_{ij}\}$  οδηγούν σε μεγαλύτερες τιμές του  $X^2$  και συνεπώς σε

ισχυρότερη απόδειξη ενάντια στη μηδενική υπόθεση. Αφού μεγαλύτερες τιμές του  $X^2$  οδηγούν σε ισχυρότερη απόδειξη ενάντια στη μηδενική υπόθεση, η p-value είναι η μηδενική πιθανότητα (*null probability*) να είναι το  $X^2$  τουλάχιστον τόσο μεγάλο όσο η παρατηρούμενη τιμή [97].

Το Pearson's  $X^2$  προσεγγίζει την  $\chi^2$ -κατανομή για μεγάλα n. Μάλιστα, η προσέγγιση αυτή βελτιώνεται όσο αυξάνονται τα  $\mu_{i,j}$  και συνήθως είναι αρκετά καλή για  $\mu_{i,j} \geq 5$ . Εδώ καλό θα ήταν να αναφέρουμε μερικά πράγματα για την  $\chi^2$ -κατανομή (Εικόνα 2.3) [104]. Η  $\chi^2$ -κατανομή παίρνει μη αρνητικές τιμές. Έχει μέσο (mean) ίσο με τους βαθμούς ελευθερίας (*degrees of freedom-df*) και τυπική απόκλιση ίση με  $\sqrt{2 \cdot df}$ . Το πλήθος των βαθμών ελευθερίας ισούται με τη διαφορά μεταξύ του πλήθους των παραμέτρων στη εναλλακτική και στη μηδενική υπόθεση. Ειδικότερα ισχύει ο τύπος  $df = (I - 1) \cdot (J - 1)$  για I γραμμές και J στήλες του πίνακα συνάφειας. Καθώς οι **βαθμοί ελευθερίας df** αυξάνονται, η κατανομή συγκεντρώνεται γύρω από μεγαλύτερες τιμές (μετατοπίζεται δεξιά) και απλώνεται περισσότερο (αποκτά τη γνωστή μορφή καμπάνας).



Εικόνα 2.3: Παραδείγματα  $\chi^2$ -κατανομής ως προς τους βαθμούς ελευθερίας.

Το **εξαγόμενο συμπέρασμα** του Pearson's  $X^2$  ως έλεγχος ανεξαρτησίας είναι ότι αν η p-value είναι μικρότερη ή ίση με το επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha$  (ή αν το υπολογισθέν στατιστικό test  $X^2$  είναι μεγαλύτερο ή ίσο με την τιμή της  $\chi^2$ -κατανομής για df βαθμούς

ελευθερίας και εμπιστοσύνη  $(1-\alpha)$ ), τότε η μηδενική υπόθεση απορρίπτεται. Αν δεν ισχύουν τα παραπάνω, τότε η μηδενική υπόθεση ανεξαρτησίας δεν μπορεί να απορριφθεί.

### Likelihood ratio $G^2$

Δύο έννοιες που χρειάζονται για να ορίσουμε το Likelihood ratio test είναι η συνάρτηση πιθανοφάνειας και η εκτίμηση μέγιστης πιθανοφάνειας. **Συνάρτηση πιθανοφάνειας (likelihood function)** είναι η συνάρτηση της πιθανότητας εμφάνισης μιας παραμέτρου  $\pi$  και συμβολίζεται με  $L(\pi)$ . Η **εκτίμηση μέγιστης πιθανοφάνειας ή ΕΜΠ (maximum likelihood estimate)** είναι η τιμή της παραμέτρου  $\pi$  για την οποία η  $L(\pi)$  γίνεται μέγιστη [97].

Το **likelihood ratio test** (test λόγου πιθανοφάνειας) καθορίζει τις τιμές της παραμέτρου  $\pi$  που μεγιστοποιούν την  $L(\pi)$  υπό την προϋπόθεση ότι η μηδενική υπόθεση είναι αληθής αλλά και από υπό την προϋπόθεση ότι δεν γνωρίζουμε αν η μηδενική υπόθεση είναι αληθής ή όχι. Έτσι, παίρνουμε το γενικό **τύπο** του likelihood ratio test:

$$-2 \log \left( \frac{\text{maximum likelihood when parameters satisfy } H_0}{\text{maximum likelihood when parameters are unrestricted}} \right)$$

Η **τιμή** του test αυτού είναι μη αρνητική. Όταν η μηδενική υπόθεση δεν ισχύει (επιλέγεται η εναλλακτική υπόθεση), ο λόγος των μέγιστων πιθανοφανειών τείνει να είναι πολύ μικρότερος του 1. Έτσι, ο λογάριθμος γίνεται αρνητικός και καθώς πολλαπλασιάζεται με το -2 γίνεται πολύ μεγάλος θετικός αριθμός. Ο θετικός αυτός αριθμός αυξάνεται όσο το μέγεθος του δείγματος μεγαλώνει [97].

Ο παραπάνω τύπος απλοποιείται στους πίνακες συνάφειας δύο μεταβλητών και παίρνει τη μορφή του Likelihood ratio  $G^2$  test:

$$G^2 = 2 \sum n_{ij} \log \left( \frac{n_{ij}}{\mu_{ij}} \right)$$

Όπως και το Pearson's  $X^2$ , το Likelihood ratio  $G^2$  παίρνει τη μικρότερη **τιμή** του (ίση με μηδέν) όταν  $n_{i,j} = \mu_{i,j}$  και μεγαλύτερες διαφορές  $\{n_{i,j} - \mu_{i,j}\}$  οδηγούν σε μεγαλύτερες τιμές του  $X^2$  (ισχυρότερη απόδειξη ενάντια στη μηδενική υπόθεση). Επίσης, και τα δύο test δεν διακρίνουν τις μεταβλητές σε μεταβλητές απόκρισης και ερμηνευτικές. Γενικά τα  $X^2$  και  $G^2$  είναι αρκετά παρόμοια και συχνά καταλήγουν σε πανομοιότυπα αποτελέσματα [97].



Χρήση των  $X^2$  και  $G^2$  σε πίνακες συνάφειας δύο μεταβλητών

Σε πίνακες συνάφειας δύο μεταβλητών, η μηδενική υπόθεση της στατιστικής ανεξαρτησίας εκφράζεται με μαθηματικό τρόπο ως εξής [97]:

$$H_0: \pi_{ij} = \pi_{i+}\pi_{+j} \quad \text{for all } i \text{ and } j$$

Έτσι, για να ελέγξουμε τη μηδενική υπόθεση πρέπει να υπολογίσουμε τις προσδοκώμενες τιμές  $\mu_{i,j} = n \cdot \pi_{i,j} = n \cdot \pi_{i+} \cdot \pi_{+j}$ . Όταν έχω ένα εξεταζόμενο δείγμα, τη θέση των πιθανοτήτων  $\pi$  παίρνουν οι αντίστοιχες πιθανότητες  $p$  του δείγματος. Οπότε παίρνουμε τον παρακάτω απλοποιημένο τύπο για τις αναμενόμενες τιμές [97]:

$$\hat{\mu}_{ij} = n p_{i+} p_{+j} = n \left( \frac{n_{i+}}{n} \right) \left( \frac{n_{+j}}{n} \right) = \frac{n_{i+} n_{+j}}{n}$$

Για τον έλεγχο της ανεξαρτησίας σε  $I \times J$  πίνακες συνάφειας με  $df = (I-1) \cdot (J-1)$ , τα στατιστικά test που αναλύθηκαν προηγουμένως γίνονται [97]:

$$X^2 = \sum \frac{(n_{ij} - \hat{\mu}_{ij})^2}{\hat{\mu}_{ij}}, \quad G^2 = 2 \sum n_{ij} \log \left( \frac{n_{ij}}{\hat{\mu}_{ij}} \right)$$

Ως γνωστόν, ένα στατιστικό test και η p-value του περιγράφουν τη δύναμη της απόδειξης ενάντια στη μηδενική υπόθεση. Αρκετές φορές βοηθάει να ελέγξουμε την απόδειξη αυτή συγκρίνοντας τις παρατηρήσεις με τις αναμενόμενες τιμές ξεχωριστά ανά κελί και όχι μόνο στον πίνακα ως σύνολο. Σε αυτές τις περιπτώσεις, για τον έλεγχο της ανεξαρτησίας χρησιμοποιούμε τα **τυποποιημένα υπόλοιπα (standardized residuals)** [97]. Ο τύπος που χρησιμοποιείται είναι ο εξής:

$$\frac{n_{ij} - \hat{\mu}_{ij}}{\sqrt{\hat{\mu}_{ij}(1 - p_{i+})(1 - p_{+j})}}$$

Ο παρονομαστής είναι το εκτιμώμενο τυπικό σφάλμα (*estimated standard error*) της διαφοράς  $n_{i,j} - \hat{\mu}_{i,j}$  (που είναι ο αριθμητής του κλάσματος) υπό την προϋπόθεση ότι ισχύει η μηδενική υπόθεση. Όταν ένα τυποποιημένο υπόλοιπο έχει απόλυτη τιμή μεγαλύτερη από 2 για λίγα κελιά ή μεγαλύτερη από 3 για πολλά κελιά, τότε αυτό δείχνει αδυναμία ισχύος της μηδενικής υπόθεσης ανεξαρτησίας στο συγκεκριμένο κελί.

Ας δούμε τώρα ένα **παράδειγμα** εφαρμογής των ελέγχων ανεξαρτησίας σε μια έρευνα του 2000 όπου σχετίζεται το φύλο ενός ατόμου με τις πολιτικές του πεποιθήσεις.

Στον Πίνακα 2.5 που περιγράφει τα αποτελέσματα της έρευνας, εμφανίζονται τα πλήθη των ατόμων σε κάθε συνδυασμό κατηγοριών (σε κάθε κελί) και σε παρένθεση οι αντίστοιχες αναμενόμενες τιμές τους. Έχουν υπολογισθεί επίσης τα επιμέρους αθροίσματα των γραμμών και των στηλών.

**Πίνακας 2.5:** Πίνακας συνάφειας για υπολογισμό ελέγχων ανεξαρτησίας  $\chi^2$ .

Gender	Party Identification			Total
	Democrat	Independent	Republican	
Females	762 (703.7)	327 (319.6)	468 (533.7)	1557
Males	484 (542.3)	239 (246.4)	477 (411.3)	1200
Total	1246	566	945	2757

*Note:* Estimated expected frequencies for hypothesis of independence in parentheses. Data from 2000 General Social Survey.

Με χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS, οι έλεγχοι ανεξαρτησίας  $\chi^2$  έδωσαν τα παρακάτω αποτελέσματα που δείχνουν ξεκάθαρα ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του φύλου του ατόμου και των πολιτικών πεποιθήσεων (δηλαδή δεν είναι ανεξάρτητα):

$$X^2=30.1, G^2=30.0$$

$\chi^2$ -κατανομή με  $df=(I-1)*(J-1)=(2-1)*(3-1)=2$ , μέσο= $df=2$ , τυπική απόκλιση= $\sqrt{2 \cdot df} = 2$

p-value<0.0001.

Παρακάτω δίνεται και ο Πίνακας 2.6 υπολογισμού των τυποποιημένων υπολοίπων (σε παρένθεση). Για παράδειγμα, στο πρώτο κελί για γυναίκες που υποστηρίζουν Δημοκράτες το υπόλοιπο ισούται με 4.50 που υποδεικνύει μεγαλύτερη απόκλιση μεταξύ  $n_{1,1}$  και  $\hat{\mu}_{1,1}$  από αυτήν που θα περιμέναμε αν οι μεταβλητές ήταν ανεξάρτητες.

**Πίνακας 2.6:** Πίνακας για υπολογισμό τυποποιημένων υπολοίπων.

Gender	Party Identification		
	Democrat	Independent	Republican
Females	762 (4.50)	327 (0.70)	468 (-5.32)
Males	484 (-4.50)	239 (-0.70)	477 (5.32)

### Περιορισμοί των $X^2$ και $G^2$

Τα  $X^2$  και  $G^2$  είναι πολύ χρήσιμα αλλά δεν αποτελούν πανάκεια. Όπως όλα τα test σημαντικότητας, οι έλεγχοι ανεξαρτησίας  $\chi^2$  έχουν ορισμένους **περιορισμούς**.

Προκειμένου κάποιος να έχει μια **καλύτερη εκτίμηση** της δύναμης της συσχέτισης μεταξύ δύο μεταβλητών, απαιτείται να υπολογίσει εκτός των  $X^2$ ,  $G^2$  και τα τυποποιημένα υπόλοιπα και την αναλογία πιθανοτήτων (υποκεφάλαιο 2.3.5).

Επιπροσθέτως, τα  $X^2$  και  $G^2$  επιβάλλουν περιορισμούς όσον αφορά το **μέγεθος των δειγμάτων** που εξετάζουν. Προς αυτήν την κατεύθυνση, υπάρχει και ο περιορισμός που απαιτεί όλες τις αναμενόμενες τιμές να είναι μεγαλύτερες του 5. Σε διαφορετική περίπτωση, καλό είναι να χρησιμοποιηθούν στατιστικά tests ακριβείας για μικρά δείγματα μεγέθους  $n < 30$  (περαιτέρω ανάλυση στο υποκεφάλαιο 2.5.3).

Τέλος, οι αναμενόμενες τιμές που υπολογίζουν τα  $X^2$  και  $G^2$  δεν λαμβάνουν υπόψη μια πιθανή διάταξη των κατηγοριών σε κάποια από τις δύο μεταβλητές. Σε αυτήν την περίπτωση, προτιμούνται κάποια πιο ισχυρά στατιστικά tests που έχουν καλύτερη εφαρμογή σε **διατάξιμα (ordinal) δεδομένα** (περαιτέρω ανάλυση στο υποκεφάλαιο 2.5.2).

### McNemar's test

Το McNemar's test χρησιμοποιείται μόνο σε  $2 \times 2$  πίνακες συνάφειας με ονομαστικές μεταβλητές που χωρίζονται σε ίδιες κατηγορίες (πχ θετικό-αρνητικό αποτέλεσμα). Πίνακες μεγαλύτεροι από  $2 \times 2$  μετατρέπονται με χρήση σύμπτυξης στηλών και γραμμών σε  $2 \times 2$  για να εφαρμοστεί το McNemar's test. Στόχος του είναι η **περιθώρια ομογένεια (marginal homogeneity)**, δηλαδή να εξακριβώσει πόσο διαφέρουν μεταξύ τους οι περιθώριες συχνότητες των αντίστοιχων σειρών και στηλών [112].

Έστω ότι έχουμε τον παρακάτω  $2 \times 2$  πίνακα συνάφειας:

	Test 2 positive	Test 2 negative	Row total
Test 1 positive	a	b	a + b
Test 1 negative	c	d	c + d
Column total	a + c	b + d	n

Η μηδενική υπόθεση της περιθώριας ομογένειας εκφράζεται ως:  $b=c$ . Το McNemar's test δίνεται από τον τύπο:

$$\chi^2 = \frac{(|b - c| - 0.5)^2}{b + c}$$

Για  $b + c \geq 25$  το υπολογισθέν  $\chi^2$  ακολουθεί  $\chi^2$ -κατανομή με  $df=1$ . Όσο μεγαλύτερο είναι το υπολογισθέν  $\chi^2$  τόσο μεγαλύτερη είναι η απόδειξη έναντι της μηδενικής υπόθεσης [112].

### 2.5.1.2 Έλεγχοι ανεξαρτησίας για διατάξιμα δεδομένα

Όταν υπάρχει ένα είδος διάταξης μεταξύ των στηλών ή και των γραμμών ενός πίνακα, οι έλεγχοι ανεξαρτησίας  $X^2$  και  $G^2$  αγνοούν την ύπαρξη της εν λόγω διάταξης. Γι' αυτό, για **διατάξιμα δεδομένα** χρησιμοποιούνται άλλα πιο ισχυρά στατιστικά tests.

#### $M^2$ test

Αρχικά, ψάχνουμε την ποιοτική εξάρτηση μεταξύ των κατηγοριών των διατάξιμων μεταβλητών. Η ποιοτική αυτή συσχέτιση μπορεί να παρουσιάζεται είτε ως θετική είτε ως αρνητική [97].

Στη συνέχεια, αποδίδουμε συγκεκριμένα **βάρη** (*scores*) στις διατάξιμες κατηγορίες. Έστω ότι θέτουμε βάρη  $u_1 \leq u_2 \leq \dots \leq u_I$  για τις γραμμές και βάρη  $v_1 \leq v_2 \leq \dots \leq v_J$  για τις στήλες. Τα βάρη πρέπει να επιλεγούν σύμφωνα με τις αντίστοιχες αποστάσεις μεταξύ των κατηγοριών. Συνήθως, χρησιμοποιούνται τα κεντρικά σημεία των κατηγοριών [97].

Θέτουμε  $\bar{u} = \sum_i u_i \cdot p_{i+}$  και  $\bar{v} = \sum_j v_j \cdot p_{+j}$ . Τότε μπορούμε να υπολογίσουμε το **συντελεστή συσχέτισης r** (*correlation coefficient r*) μεταξύ των μεταβλητών X,Y:

$$r = \frac{\sum_{i,j} (u_i - \bar{u})(v_j - \bar{v}) p_{ij}}{\sqrt{[\sum_i (u_i - \bar{u})^2 p_{i+}] [\sum_j (v_j - \bar{v})^2 p_{+j}]}}$$

Ο αριθμητής είναι η συνδιακύμανση των  $X, Y$  και ο παρονομαστής το γινόμενο των τυπικών αποκλίσεων των  $X, Y$  [97].

Ο συντελεστής παίρνει τιμές μεταξύ του  $-1$  και του  $1$ . Η τιμή  $0$  υποδηλώνει πλήρη ανεξαρτησία των μεταβλητών. Όσο μεγαλύτερη είναι η απόλυτη τιμή τόσο πιο μακριά από την ανεξαρτησία βρισκόμαστε.

Για τον έλεγχο της μηδενικής υπόθεσης υπολογίζουμε το **στατιστικό test  $M^2$**  μέσω του τύπου:

$$M^2 = (n - 1)r^2$$

Το  $M^2$  μεγαλώνει καθώς μεγαλώνει το  $r$  και το μέγεθος  $n$  του δείγματος. Μεγαλύτερες τιμές του  $M^2$  οδηγούν σε πιο δυνατή απόδειξη της απόρριψης της μηδενικής υπόθεσης. Το  $M^2$  προσεγγίζει την  $\chi^2$ -κατανομή με  $df=1$  για μεγάλα  $n$ . Όπως και τα  $X^2, G^2$ , το  $M^2$  δεν διακρίνει τις μεταβλητές σε μεταβλητές απόκρισης και ερμηνευτικές. Τέλος, καλό θα ήταν να χρησιμοποιείται το  $M^2$  μόνο όταν είναι και οι δύο μεταβλητές διατάξιμες ή το πολύ η μία να είναι δυαδική ονομαστική και η άλλη διατάξιμη [97].

Ας δούμε τώρα ένα **παράδειγμα** εφαρμογής του  $M^2$  ελέγχου σε μια έρευνα όπου σχετίζεται η κατανάλωση αλκοόλ από μια μητέρα και οι δυσπλασίες του βρέφους της (Πίνακας 2.7). Η μεταβλητή  $X$  είναι η κατανάλωση αλκοόλ και λογίζεται ως διατάξιμη αφού υπάρχουν διαφορετικές ποσότητες ποτού. Η μεταβλητή  $Y$  είναι οι δυσπλασίες του βρέφους και λογίζεται ως δυαδική ονομαστική (παρουσία ή απουσία δυσπλασιών).

**Πίνακας 2.7:** Πίνακας συνάφειας για υπολογισμό του  $M^2$ .

Alcohol Consumption	Malformation		Total	Percentage Present	Standardized Residual
	Absent	Present			
0	17,066	48	17,114	0.28	-0.18
<1	14,464	38	14,502	0.26	-0.71
1-2	788	5	793	0.63	1.84
3-5	126	1	127	0.79	1.06
$\geq 6$	37	1	38	2.63	2.71

Source: B. I. Graubard and E. L. Korn, *Biometrics*, 43: 471-476, 1987. Reprinted with permission from the Biometric Society.

Το SPSS έδειξε ότι τα  $X^2, G^2$  δεν βοηθούν καθόλου εδώ:  $df=(5-1)*(2-1)=4$ ,  $X^2=12.1$  ( $P=0.02$ ),  $G^2=6.2$  ( $P=0.19$ ). Παρ' όλα αυτά, κοιτάζοντας προσεχτικά το ποσοστό των δυσπλασιών (percentage present) και το τυποποιημένο υπόλοιπο (standardized residual) αναγνωρίζουμε μια πιθανή συσχέτιση. Αυτό επιβεβαιώνεται με τον υπολογισμό του  $M^2$ , αφού πρώτα ορίσουμε βάρη στη διατάξιμη μεταβλητή (προτιμήθηκαν τα κεντρικά σημεία των κατηγοριών της X). Πιο συγκεκριμένα, βρίσκουμε  $r=0.0142$  και  $M^2=6.6$  ( $P=0.01$ ) [97].

### Άλλα διατάξιμα tests για I\*J πίνακες

#### **Spearman's rho**

Το Spearman's rho είναι το αντίστοιχο του  $X^2$  για διατάξιμα δεδομένα. Οι τιμές  $X_i, Y_i$  μετατρέπονται σε βάρη  $x_i, y_i$ . Υπολογίζονται τα  $d_i=x_i-y_i$ . Ο τύπος είναι:

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

Το **πρόσημο** του  $\rho$  δείχνει την κατεύθυνση της συσχέτισης μεταξύ των X και Y. Αν η Y τείνει να αυξηθεί όταν αυξάνεται η X, τότε το  $\rho$  είναι θετικό. Αν η Y τείνει να μειωθεί όταν αυξάνεται η X, τότε το  $\rho$  είναι αρνητικό. Το  $\rho$  είναι 0 για ανεξάρτητες μεταβλητές. Το **μέτρο** του  $\rho$  αυξάνεται καθώς η συσχέτιση των X, Y γίνεται μεγαλύτερη [105].

#### **Gamma test**

Το gamma test ελέγχει τη δύναμη της συσχέτισης μεταξύ δύο διατάξιμων μεταβλητών. Ορίζουμε το πλήθος αρμονικών (*concordant*) ζευγαριών που βαθμολογούνται με την ίδια σειρά (αύξουσα ή φθίνουσα) και στις δύο διατάξιμες μεταβλητές ως  $N_s$  και το πλήθος δυσαρμονικών (*discordant*) ζευγαριών που βαθμολογούνται με διαφορετική σειρά (μια φθίνουσα και μια αύξουσα) ως  $N_d$ . Σε περίπτωση θετικής συσχέτισης των μεταβλητών έχουμε  $N_s > N_d$ , αρνητικής έχουμε  $N_s < N_d$  και καμίας συσχέτισης έχουμε  $N_s \approx N_d$ . Τότε μπορούμε να υπολογίσουμε το:

$$G = \frac{N_s - N_d}{N_s + N_d}$$

Η **τιμή** του G βρίσκεται μεταξύ του -1 (100% αρνητική συσχέτιση ή *τέλεια ασυμφωνία*) και του +1 (100% θετική συσχέτιση ή *τέλεια συμφωνία*) [106].

## Kendall tau

Ο τύπος του Kendall tau είναι:

$$\tau = \frac{(\text{number of concordant pairs}) - (\text{number of discordant pairs})}{\frac{1}{2}n(n-1)}$$

όπου ο παρονομαστής είναι ίσος με το συνολικό αριθμό των ζευγαριών.

Η **τιμή** του κυμαίνεται μεταξύ -1 και +1. Αν έχουμε τέλεια συμφωνία μεταξύ των δύο βαρών τότε ο συντελεστής έχει τιμή 1. Αν έχουμε τέλεια ασυμφωνία μεταξύ των δύο βαρών τότε ο συντελεστής παίρνει την τιμή -1. Για πλήρη ανεξαρτησία δίνει 0 [107].

Σε περίπτωση που παρουσιάζονται **δεσμευμένα ζεύγη** (*tied pairs*), στα οποία παρατηρούνται ίσα βάρη μεταξύ δύο κατηγοριών, τότε υπάρχει μια ειδική περίπτωση του Kendall tau που ονομάζεται **Kendall tau b**. Ο τύπος του είναι [107]:

$$\tau_b = \frac{N_s - N_d}{\sqrt{(n^2 - \sum n_{i+}^2) \cdot (n^2 - \sum n_{+j}^2)}}$$

### Διατάζιμα tests για I\*2 και 2\*J πίνακες

#### **Wilcoxon or Mann-Whitney test**

Το Wilcoxon or Mann-Whitney test χρησιμοποιείται σε περίπτωση που η X είναι δυαδική μεταβλητή, δηλαδή σε 2\*J πίνακες. Τέτοιες έρευνες γίνονται όταν συγκρίνονται δύο διαφορετικά δείγματα, όπως για παράδειγμα η αντίδραση δύο ομάδων ατόμων σε δύο διαφορετικές θεραπείες μιας ασθένειας [108].

#### **Kruskal-Wallis test**

Το Kruskal-Wallis test είναι μια επέκταση του Wilcoxon or Mann-Whitney test που εφαρμόζεται σε αναλύσεις με τρία ή περισσότερα ανεξάρτητα δείγματα [113].

#### **Cochran-Armitage trend test**

Το Cochran-Armitage trend test χρησιμοποιείται σε περίπτωση που η Y είναι δυαδική μεταβλητή, δηλαδή σε I\*2 πίνακες [109].

### 2.5.1.3 Έλεγχοι ανεξαρτησίας για μικρά δείγματα

Σε περίπτωση που ένα κελί του πίνακα συνάφειας έχει προσδοκώμενη τιμή μικρότερη από 5 τότε συχνά εφαρμόζεται η **διόρθωση συνέχειας του Yates** (*Yates' correction for continuity*). Η διόρθωση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σε μικρούς πίνακες (1\*2 ή 2\*2) και στοχεύει στην αποφυγή της υπερεκτίμησης της στατιστικής σημαντικότητας μικρών δειγμάτων. Ο τύπος του Pearson's  $\chi^2$  με τη διόρθωση του Yates προσαρμόζεται ως εξής:

$$\chi_{Yates}^2 = \sum_{i=1}^N \frac{(|O_i - E_i| - 0.5)^2}{E_i}$$

Έτσι, με το να αφαιρούμε 0.5 από την απόλυτη διαφορά μετρούμενων και προσδοκώμενων τιμών, **καταφέρνουμε** να μειώσουμε την τιμή του  $\chi^2$  και κατ' επέκταση να αυξήσουμε την p-value [115].

Για μικρά δείγματα ενδείκνυνται επίσης άλλα πιο ακριβή στατιστικά tests για τον έλεγχο της ανεξαρτησίας των μεταβλητών. Τέτοια tests είναι το **Fisher's exact test** και το **Barnard's exact test**. Αυτά τα tests χρησιμοποιούνται σε 2\*2 πίνακες και υπολογίζουν την p-value χρησιμοποιώντας τον τύπο της υπεργεωμετρικής κατανομής. Βασική προϋπόθεση χρησιμοποίησής τους είναι η γνώση των επιμέρους αθροισμάτων κάθε στήλης και κάθε γραμμής εκ των προτέρων [97,110,111]. Στη δική μας στατιστική ανάλυση, δεν χρησιμοποιήθηκαν τέτοια tests λόγω του μεγάλου πλήθους των γυναικών που συμμετείχαν.

### 2.5.1.4 Στατιστικά μέτρα συσχέτισης

Μετά τον υπολογισμό των ελέγχων ανεξαρτησίας, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τα **στατιστικά μέτρα συσχέτισης** (*statistical measures of association*) για να υπολογίσουμε με μεγαλύτερη ακρίβεια το βαθμό της συσχέτισης (ή της μη ανεξαρτησίας) μεταξύ δύο μεταβλητών. Τα μέτρα αυτά χρησιμοποιούν τα αποτελέσματα των ελέγχων ανεξαρτησίας που αναλύσαμε προηγουμένως [117].



### Συντελεστής φ

Το απλούστερο μέτρο είναι ο συντελεστής φ (*phi coefficient*). Χρησιμοποιείται μόνο σε 2\*2 πίνακες και ο τύπος του είναι:

$$\phi = \sqrt{\frac{\chi^2}{N}}$$

όπου το  $\chi^2$  είναι το γνωστό Pearson's test και N είναι το συνολικό πλήθος των παρατηρήσεων. Η τιμή του βρίσκεται μεταξύ του -1 (πλήρης αντίστροφη συσχέτιση μεταβλητών) και του +1 (πλήρης συσχέτιση μεταβλητών). Η τιμή 0 δείχνει ότι δεν υπάρχει καμία συσχέτιση [118].

### Συντελεστής συνάφειας C

Ο τύπος του C είναι

$$C = \sqrt{\frac{\chi^2}{N + \chi^2}}$$

Ο C παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι δεν παίρνει τις ακραίες τιμές +1,-1 (σε 2\*2 πίνακα έχει μέγιστο το 0.707 και σε 4\*4 το 0.870). Μπορεί να πλησιάσει το 1 σε πίνακα με περισσότερες κατηγορίες αλλά δεν γίνεται να εφαρμοστεί σε πίνακες με διαφορετικό αριθμό σειρών και στηλών ή σε μεταβλητές με διαφορετικό αριθμό κατηγοριών. Βέβαια, ο C μπορεί να προσαρμοστεί ώστε να πάρει τη μέγιστη τιμή του 1, αν διαιρεθεί με την

ποσότητα  $\sqrt{\frac{k-1}{k}}$  όπου k = αριθμός στηλών = αριθμός γραμμών [118].

### Συντελεστής V του Cramer

Ο τύπος του Cramer's V είναι:

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{N(k-1)}}$$

όπου το k είναι ο αριθμός των στηλών ή των γραμμών (το μικρότερο) [118].

### 2.5.2 Έλεγχοι καλής προσαρμογής $\chi^2$

Η δεύτερη μεγάλη κατηγορία ελέγχων στατιστικών υποθέσεων κατηγορικών δεδομένων είναι οι **έλεγχοι καλής προσαρμογής  $\chi^2$**  (*chi-square goodness of fit tests*). Πρόκειται για ελέγχους μιας μεταβλητής. Με αυτούς τους ελέγχους προσπαθούμε να αποδείξουμε με αριθμητικό τρόπο πόσο καλά μια κατανομή ενός δείγματος ανταποκρίνεται στην κατανομή του πληθυσμού στον οποίο ανήκει.

Η μεγάλη **διαφορά** με τους ελέγχους ανεξαρτησίας μεταβλητών είναι ότι οι έλεγχοι ανεξαρτησίας εφαρμόζονται σε δύο μεταβλητές του ίδιου δείγματος (πχ σε δύο screening tests από το δείγμα των γυναικών που εξετάστηκαν), ενώ οι έλεγχοι καλής προσαρμογής εφαρμόζονται σε μια μεταβλητή (πχ σε ένα screening test). Επίσης, πλέον δεν εξετάζεται η εξάρτηση μεταξύ των μεταβλητών αλλά το αν οι μετρούμενες τιμές (παρατηρήσεις που λαμβάνονται σε μια έρευνα) προσαρμόζονται καλά στις προσδοκώμενες τιμές (που υπολογίζονται μετά την έρευνα) υπό την προϋπόθεση ότι ισχύει η μηδενική υπόθεση [117].

Ο τύπος υπολογισμού που χρησιμοποιείται είναι ο γνωστός τύπος του **Pearson's  $X^2$**  που υπάρχει στο υποκεφάλαιο 2.5.1. Αρχικά υπολογίζονται οι προσδοκώμενες τιμές από μια θεωρητική κατανομή που θεωρείται αποδεκτή. Η μηδενική υπόθεση λέει ότι τα δεδομένα που μετρήθηκαν/παρατηρήθηκαν προσαρμόζονται σωστά στο θεωρητικό μοντέλο. Η εναλλακτική υπόθεση προφανώς δέχεται τη μη σωστή προσαρμογή [117]. Στη δική μας περίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, οι προσδοκώμενες τιμές προκύπτουν από τα αποτελέσματα της ιστολογικής βιοψίας (που για εμάς θεωρούνται gold standard) και οι παρατηρούμενες τιμές προκύπτουν από τα αποτελέσματα του καθενός από τα υπό εξέταση screening tests (HPV DNA, mRNA, p16, Flow Cytometry).

Στους ελέγχους καλής προσαρμογής, συχνά χρησιμοποιείται ο **δείκτης επίδρασης μεγέθους** (*index of size effect*) του δείγματος. Ο τύπος του Cohen είναι [117]:

$$\omega = \sqrt{\sum_{i=1}^m \frac{(P_{1i} - P_{0i})^2}{P_{0i}}}$$

όπου  $P_{0i}$ = πιθανότητα εμφάνισης ενός κελιού του πίνακα αν ισχύει η μηδενική υπόθεση,

$P_{1i}$ = πιθανότητα εμφάνισης ενός κελιού του πίνακα αν ισχύει η εναλλακτική υπόθεση

$M$ = πλήθος των κελιών.

Η **τιμή** του δείκτη επίδρασης μεγέθους είναι 0 για τέλεια προσαρμογή των δεδομένων, ενώ καθώς η τιμή του δείκτη μεγαλώνει τόσο απομακρυνόμαστε από την τέλεια προσαρμογή. Για τιμή 0.1 έχουμε μικρή επίδραση του μεγέθους στα δεδομένα, για τιμή 0.3 έχουμε μέτρια επίδραση και για τιμή 0.5 έχουμε μεγάλη επίδραση [117].

## 2.6 Στατιστικά μέτρα συμφωνίας

Πολλές φορές θέλουμε να υπολογίσουμε το βαθμό στον οποίο οι τιμές δύο μεταβλητών συμφωνούν μεταξύ τους. Για παράδειγμα, μπορεί να θέλουμε να υπολογίσουμε τη συμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο screening tests του καρκίνου του τραχήλου. Σε αυτές τις περιπτώσεις, χρησιμοποιούνται ευρέως κάποια **στατιστικά μέτρα συμφωνίας** (*statistical measures of agreement*).

Το **κ του Cohen** είναι το πιο διαδεδομένο στατιστικό μέτρο συμφωνίας μεταξύ ονομαστικών μεταβλητών με ίδιο αριθμό κατηγοριών και χρησιμοποιείται για τη σύγκριση δύο (μόνο) μετρητών (*raters*) που εξετάζουν ένα δείγμα ατόμων. Ο **τύπος** του είναι [119]:

$$\kappa = \frac{\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e)}{1 - \text{Pr}(e)},$$

όπου  $\text{Pr}(a)$  = πιθανότητα σχετικής συμφωνίας των παρατηρήσεων των δύο μετρητών

$\text{Pr}(e)$  = υποθετική πιθανότητα τυχαίας συμφωνίας των δύο μετρητών.

Όταν λάβει την **τιμή** 1 τότε υπάρχει πλήρης συμφωνία μεταξύ των δύο μετρητών και όσο αυξάνεται το κ (μέχρι το 1) τόσο αυξάνεται και η συμφωνία. Όταν λάβει αρνητικές τιμές δεν παρατηρείται συμφωνία εκτός από την τυχαία συμφωνία που μπορεί να προκύψει. Η ερμηνεία των τιμών του φαίνεται στον Πίνακα 2.8 των Landis & Koch [119].

**Πίνακας 2.8:** Ερμηνεία τιμών του Cohen's kappa value.

<i>Kappa Statistic</i>	<i>Strength of Agreement</i>
<0.00	Poor
0.00–0.20	Slight
0.21–0.40	Fair
0.41–0.60	Moderate
0.61–0.80	Substantial
0.81–1.00	Almost Perfect

Ας δούμε ένα **παράδειγμα** εφαρμογής του Cohen's κ. Έστω ότι έχουμε ένα ερωτηματολόγιο 50 ερωτήσεων με πιθανές απαντήσεις μόνο ΝΑΙ ή ΟΧΙ, που ασκείται σε 2 άτομα (Α - γραμμές πίνακα και Β - στήλες πίνακα). Ο πίνακας των δεδομένων μας είναι:

	Yes	No
Yes	20	5
No	10	15

Το παρατηρούμενο ποσοστό συμφωνίας των Α και Β (δηλαδή το ποσοστό των ερωτήσεων όπου απάντησαν είτε και οι δύο ΝΑΙ είτε και οι δύο ΟΧΙ) =  $\mathbf{Pr(a)} = (20+15)/50=0.7$ .

Για τον υπολογισμό της τυχαίας πιθανότητας συμφωνίας των Α και Β κάνουμε τα εξής:

Ο Α απάντησε ΝΑΙ στις  $(20+5)=25$  ερωτήσεις και ΟΧΙ στις  $(10+15)=25$  ερωτήσεις. Άρα ο Α απάντησε ΝΑΙ στο  $(25/50)$  50% του συνόλου, ή αλλιώς 0.5.

Ο Β απάντησε ΝΑΙ στις  $(20+10)=30$  ερωτήσεις και ΟΧΙ στις  $(5+15)=20$  ερωτήσεις. Άρα ο Β απάντησε ΝΑΙ στο  $(30/50)$  60% του συνόλου, ή αλλιώς 0.6.

Συνεπώς, η συνδυασμένη πιθανότητα να είπαν και οι δύο ΝΑΙ είναι  $0.5*0.6=0.3$  και η συνδυασμένη πιθανότητα να είπαν και οι δύο ΟΧΙ είναι  $(1-0.5)*(1-0.6)=0.5*0.4=0.2$ .

Άρα,  $\mathbf{Pr(e)}=0.3+0.2=0.5$ .

Τελικά υπολογίζουμε από τον τύπο του Cohen's kappa:  $k = \frac{0.7-0.5}{1-0.5} = 0.4$  [119].

Το *Scott's pi* είναι ένα εναλλακτικό μέτρο συμφωνίας που χρησιμοποιεί τον ίδιο ακριβώς τύπο με το Cohen's kappa, αλλά υπολογίζει το  $\mathbf{Pr(e)}$  με διαφορετικό τρόπο [120]. Για διατάξιμες μεταβλητές χρησιμοποιούμε το *weighted kappa* [122]. Για περισσότερους από δύο μετρητές χρησιμοποιούμε το *Fleiss kappa* [121].

Στην δική μας στατιστική ανάλυση, το Cohen's kappa και τα εναλλακτικά του μέτρα εντοπίζουν τη συμφωνία των screening tests στην πρόβλεψη του καρκίνου.

### 3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Στο τρίτο κεφάλαιο της διπλωματικής εργασίας, παρουσιάζεται η **στατιστική ανάλυση** που πραγματοποιήσαμε κατά την έρευνά μας. Στα παρακάτω υποκεφάλαια παρουσιάζονται αναλυτικά η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε κατά τη συλλογή και επεξεργασία των δεδομένων, τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης και τα συμπεράσματα που εξήχθησαν. Τέλος, παρατίθενται κάποιες προτάσεις για μελλοντική έρευνα πάνω στο θέμα του πληθυσμιακού ελέγχου του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

#### 3.1 Μεθοδολογία

Όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως, **σκοπός** της έρευνάς μας είναι να εξετάσουμε κατά πόσο ο συνδυασμός νέων τεχνικών ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας συμπληρώνει αποδοτικά το PAP test. Μ' αυτόν τον τρόπο, θέλουμε να βοηθήσουμε τους ιατρούς να πάρουν μια έγκυρη απόφαση για το πώς θα αντιμετωπίσουν κάθε ασθενή (*triage*). Η διαφορά της ανάλυσης μας από άλλες μελέτες είναι ότι συνδυάζονται τέσσερα νέα screening tests (HPV DNA, NASBA mRNA, p16 και Flow Cytometry) και όχι μόνο ένα ή δύο.

Τα **δεδομένα** που επεξεργαστήκαμε προέκυψαν από γυναίκες που εξετάστηκαν στα πλαίσια πληθυσμιακού ελέγχου (κατόπιν συμφωνίας τους). Η βάση δεδομένων αποτελείται από ένα δείγμα 500 γυναικών από το Αττικό Νοσοκομείο και από το Νοσοκομείο Ιωαννίνων. Σε περιπτώσεις που παρουσίασαν παθολογικό PAP test, διενεργήθηκε κολποσκόπηση και λήφθηκε κυτταρολογικό επίχρισμα διατηρούμενο σε LBC μορφή. Η κολποσκόπηση δεν λήφθηκε υπόψη κατά τη στατιστική ανάλυση λόγω έντονου υποκειμενικού στοιχείου, όπως θα αποδειχθεί στο υποκεφάλαιο 3.2.6.

Ανάλογα με τα κολποσκοπικά ευρήματα και άλλες παραμέτρους (ηλικία γυναίκας, συμπλήρωση οικογένειας, επιθυμία μελλοντικής τεκνοποίησης, επιθυμία γυναίκας για ιστολογική διάγνωση ή και θεραπεία), αποφασίστηκε η λήψη ιστολογικής βιοψίας σε ένα ποσοστό των γυναικών που συμμετείχαν. Η **ιστολογική βιοψία** αποτελεί το *reference test* (ή *gold standard*) με την οποία συγκρίνονται τα αποτελέσματα των διαγνωστικών tests.

Στο Τμήμα Διαγνωστικής Κυτταρολογίας στο νοσοκομείο “ΑΤΤΙΚΟΝ” διεξάγονται διάφορες **νέες τεχνικές** σε τραχηλικό υλικό κυτταρολογίας υγρής φάσης, ως συμπληρωματικές προς την κυτταρολογική διάγνωση. Αυτές οι τεχνικές παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για τη διαχείριση της ασθενούς. Διεξάγονται μοριακές τεχνικές για την ταυτοποίηση της παρουσίας και της κατάστασης της HPV λοίμωξης.

- Η CLART2 (GENOMICA) τυποποιεί 35 **HPV DNA** τύπους υψηλού και χαμηλού κινδύνου.
- Με τη μέθοδο **NASBA** (NucliSENS EasyQ® HPV v1.0) ανιχνεύεται το mRNA των HPV τύπων πολύ υψηλού κινδύνου 16,18,31,33,45.
- Πραγματοποιείται ανοσοκυτταροχημεία για την ανίχνευση της πρωτεΐνης **p16INK4a** η οποία υπερεκφράζεται στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.
- Η **κυτταρομετρία ροής** (Invirion Diagnostics) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση του mRNA των HPV τύπων υψηλού κινδύνου.

Πριν περάσουμε στο κυρίως μέρος της ανάλυσης, πρέπει να αναφερθούμε στα **είδη** των δεδομένων και στις **κατηγορίες** που αυτά χωρίζονται σε κάθε διαγνωστικό test.

Τα αποτελέσματα της **ιστολογικής βιοψίας** που χρησιμοποιήθηκαν για εξακρίβωση των αποτελεσμάτων χωρίζονται βάσει της δυσπλασίας στις εξής κατηγορίες:

- **Αρνητική Βιοψία:** περιλαμβάνει περιπτώσεις τελείως φυσιολογικών (*normal*) τραχήλων όπου δεν παρατηρείται καμία αλλοίωση ή περιπτώσεις αρνητικής (*negative*) βιοψίας όπου δεν παρατηρούνται σημαντικές αλλοιώσεις ή περιπτώσεις κλινικά αρνητικής (*clinically negative*) βιοψίας στις οποίες δεν διενεργήθηκε βιοψία επειδή ο ιατρός έκρινε κατά την κολποσκόπηση ότι δεν υπάρχει πρόβλημα.
- **Χαμηλού βαθμού δυσπλασία:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις εύρεσης CIN1 ή HPV (ειδικός τύπος του CIN1).
- **Υψηλού βαθμού δυσπλασία:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις εύρεσης CIN2 ή 3.
- **Καρκίνος:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις εύρεσης καρκινώματος SCC (πλακώδες καρκίνωμα) ή ADENO-CA (αδενοκαρκίνωμα) ή CA (άλλο καρκίνωμα).

Τα αποτελέσματα τού κυτταρολογικού **PAP test** αναλύονται ως διατάξιμα δεδομένα και χωρίζονται βάσει του μεγέθους της αλλοίωσης στις εξής πέντε κατηγορίες:

- **Εντός φυσιολογικών ορίων** (*within normal limits ή WNL*): περιλαμβάνει τις περιπτώσεις ανίχνευσης τραχήλων εντός των φυσιολογικών ορίων αλλοίωσης.

- **ASCUS:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις των άτυπων πλακωδών κυττάρων απροσδιορίστου σημασίας.
- **LSIL:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις χαμηλού βαθμού πλακώδους ενδοεπιθηλιακής αλλοίωσης.
- **HSIL:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις υψηλού βαθμού πλακώδους ενδοεπιθηλιακής αλλοίωσης.
- **Καρκίνος:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις ανίχνευσης καρκινώματος SCC (πλακώδες καρκίνωμα) ή ADENO-CA (αδενοκαρκίνωμα).

Τα αποτελέσματα του **HPV DNA test** ταξινομούνται ανάλογα με τους ευρισκόμενους HPV τύπους και χωρίζονται στις εξής κατηγορίες:

- **Αρνητικό:** περιπτώσεις μη εύρεσης ενός HPV τύπου.
- **Χαμηλού κινδύνου τύποι:** περιπτώσεις εύρεσης τουλάχιστον ενός εκ των τύπων 6,11,40,42,43,44,54,61,62,70,71,72,81,83,84,89.
- **Υψηλού κινδύνου τύποι:** περιπτώσεις εύρεσης τουλάχιστον ενός εκ των τύπων 26,35,39,51,52,53,56,58,59,66,68,73,82,85.
- **Πολύ υψηλού κινδύνου τύποι:** περιπτώσεις εύρεσης τουλάχιστον ενός εκ των τύπων 16,18,31,33,45 που έχει αποδειχθεί ότι είναι οι πλέον επικίνδυνοι [30].

Να σημειωθεί ότι ο **διαχωρισμός** των τύπων υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου έγινε από εμάς χωρίς να υπάρχει μια παγκοσμίως αποδεκτή απόφαση περί τούτου. Παρόλα αυτά, η επιλογή των τύπων πολύ υψηλού κινδύνου βασίστηκε σε πολυάριθμες έρευνες που αποδεικνύουν τη μεγαλύτερη σχετική επικινδυνότητά τους [30].

Επιπλέον, κατά την ταξινόμηση των αποτελεσμάτων στις επιμέρους κατηγορίες, όταν συνυπάρχουν πολλοί τύποι του HPV τότε υπάρχει **προτεραιότητα** στους τύπους υψηλότερου κινδύνου. Για παράδειγμα, αν υπάρχει τουλάχιστον ένας τύπος πολύ υψηλού κινδύνου τότε αυτόματα το αποτέλεσμα υπάγεται στην κατηγορία πολύ υψηλού κινδύνου, ανεξάρτητα από το πλήθος των τύπων χαμηλού ή υψηλού κινδύνου που μπορεί να έχει.

Τα αποτελέσματα του **NASBA mRNA test** ταξινομούνται ανάλογα με την ανίχνευση του mRNA των τύπων πολύ υψηλού κινδύνου 16,18,31,33,45 ως εξής:

- **Αρνητικό:** περιπτώσεις μη εύρεσης του mRNA των παραπάνω τύπων.
- **Θετικό:** περιπτώσεις εύρεσης του mRNA τουλάχιστον ενός εκ των τύπων αυτών.

Τα αποτελέσματα του **p16 test** ταξινομούνται ανάλογα με την ανίχνευση της έκφρασης της πρωτεΐνης p16:

- **Αρνητικό:** περιπτώσεις μη ανίχνευσης υψηλής ποσότητας της p16.
- **Θετικό:** περιπτώσεις ανίχνευσης υψηλής ποσότητας της p16.

Τα αποτελέσματα του **Flow Cytometry test** ταξινομούνται ανάλογα με την ανίχνευση του mRNA των τύπων υψηλού κινδύνου ως εξής:

- **Αρνητικό:** περιπτώσεις μη εύρεσης του mRNA των παραπάνω τύπων.
- **Θετικό:** περιπτώσεις εύρεσης του mRNA τουλάχιστον ενός εκ των τύπων αυτών.

Τα αποτελέσματα της **κολποσκόπησης**, αφού πρώτα αφαιρέθηκαν 14 περιπτώσεις στις οποίες η κολποσκόπηση κατέστη μη δυνατή ή ήταν μη ικανοποιητική, χωρίζονται βάσει της δυσπλασίας στις εξής κατηγορίες:

- **Φυσιολογικός τράχηλος:** περιλαμβάνει περιπτώσεις τελείως φυσιολογικών (*normal*) τραχήλων όπου δεν παρατηρείται ύπαρξη άτυπων κυττάρων ή κάποιας αλλοίωσης ή περιπτώσεις αρνητικής (*negative*) κολποσκόπησης όπου δεν παρατηρούνται σημαντικές αλλοιώσεις.
- **Χαμηλού βαθμού δυσπλασία:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις εύρεσης CIN1 ή HPV (ειδικός τύπος του CIN1).
- **Υψηλού βαθμού δυσπλασία:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις εύρεσης CIN2 ή 3.
- **Καρκίνος:** περιλαμβάνει τις περιπτώσεις εύρεσης καρκινώματος SCC (πλακώδες καρκίνωμα) ή ADENO-CA (αδενοκαρκίνωμα) ή CA (άλλο καρκίνωμα).

Πρέπει να αναφέρουμε ότι τα διαγνωστικά tests που έχουν περισσότερες των δύο κατηγοριών, μπορούν να αναλυθούν και ως δυαδικά μέσω της **διχοτόμησης** των δεδομένων. Ειδικότερα, οι κατηγορίες συμπύσσονται σε δύο γενικότερες κατηγορίες ανάλυσης, όπως για παράδειγμα σε αρνητικά και θετικά αποτελέσματα.

Τέλος, να σημειωθεί ότι για την **στατιστική επεξεργασία** των δεδομένων μας χρησιμοποιήθηκαν το παρακάτω υπολογιστικά προγράμματα:

- SPSS Release 18.0.0 (July 30 2009) της PASW Statistics
- MATLAB Release 2010a Version 7.10.0.499 (February 5 2010) της MathWorks
- Office Excel Release 2007 και 2010 της Microsoft.



## 3.2 Αποτελέσματα

### 3.2.1 PAP test

#### 3.2.1.1 Διαδικό PAP test

Αρχικά, ως εξετάσουμε το PAP test ως **δυναδικό** διαγνωστικό test εφαρμόζοντας τη γνωστή μέθοδο διχοτόμησης των αποτελεσμάτων του. Πιο συγκεκριμένα, θεωρήσαμε ότι το PAP test δίνει είτε αρνητικό αποτέλεσμα (μόνο οι εντός φυσιολογικών ορίων περιπτώσεις) είτε θετικό (όλες οι περιπτώσεις οποιασδήποτε αλλοίωσης δηλαδή LSIL, HSIL και καρκίνος). Στη συνέχεια, υπολογίσαμε τα γνωστά στατιστικά μέτρα απόδοσης του PAP test λαμβάνοντας υπόψη την ιστολογική βιοψία ως gold standard για την εξακρίβωση της ορθότητας των αποτελεσμάτων του. Προφανώς, διχοτομήσαμε αντίστοιχα και τα αποτελέσματα της βιοψίας: 181 αρνητικά (106 clinically negative και 75 negative) για αρνητικές βιοψίες και 319 θετικά για βιοψίες με οποιαδήποτε μορφή δυσπλασίας.

Ο **δυναδικός πίνακας συνάφειας** των δεδομένων, που περιλαμβάνει τα επιμέρους αθροίσματα των γραμμών και των στηλών και το πλήθος του δείγματος, είναι ο εξής:

**Πίνακας 3.1:** Πίνακας συνάφειας δυναδικού PAP test.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
PAP	Θετικό	289	41	330
	Αρνητικό	30	140	170
	Άθροισμα	319	181	500

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 289
- FP = 41
- TN = 140
- FN = 30
- sensitivity = 0,91 = 91% και TPF= 0,91
- specificity = 77% και FPF= 1-0,77 = 0,23

- accuracy = 86%
- precision = PPV = 88%
- NPV = 82%
- post-test odds (Y=1) = 7,05
- post-test odds (Y=0) = 0,21
- $LR^+ = 4$
- $LR^- = 0,12$
- RR = 4,96

Τα παραπάνω δείχνουν ότι αν λάβουμε υπόψη το PAP test ως ένα απλό δυαδικό test τότε η **απόδοσή** του είναι **πέρα πολύ καλή**. Επιτυγχάνει πολύ υψηλή ευαισθησία (91%), αρκετά υψηλή ειδικότητα (77%) και υψηλή ορθότητα (86%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης τραχηλικών αλλοιώσεων. Επίσης, ο υψηλός σχετικός κίνδυνος (4,96) δείχνει πόσο πιο πιθανό είναι ένα θετικό PAP test να προβλέψει ύπαρξη αλλοίωσης απ' ότι ένα αρνητικό. Συνεπώς, το PAP test είναι πολύ ικανό στην ανίχνευση ύπαρξης αλλοίωσης.

Στη συνέχεια, ας εξετάσουμε το δυαδικό PAP test στα διάφορα **στάδια τραχηλικής δυσπλασίας της βιοψίας**. Σχηματίζουμε τον *Πίνακα 3.2*.

**Πίνακας 3.2:** Πίνακας συνάφειας δυαδικού PAP test στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
PAP	Θετικό	41	170	101	18	330
	Αρνητικό	140	27	3	0	170
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Αν εξετάσουμε τον παραπάνω πίνακα **κατά γραμμή**, διαπιστώνουμε ότι στις 330 περιπτώσεις θετικού PAP, ανιχνεύεται με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα η ύπαρξη δυσπλασίας χαμηλού (52%) παρά υψηλού (31%) βαθμού ή καρκίνου (5%). Το αρνητικό PAP test αντιστοιχεί κατά 98% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που το ισχυροποιεί σε πολύ μεγάλο βαθμό. Αυτό το αποτέλεσμα δεν το λάβαμε τόσο μεγάλο στον προηγούμενο δυαδικό *Πίνακα 3.1* γιατί δεν ταξινομήσαμε τις θετικές βιοψίες.

Αν αναλύσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 86% (170/197) δίνει θετικό PAP test. Ακόμα πιο εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, το PAP ήταν θετικό κατά 97%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου (9 SCC, 8 ADENO-CA, 1 CA), το δυαδικό PAP test ήταν θετικό κατά 100%!

Συνεπώς, καταλήγουμε στο γνωστό συμπέρασμα ότι το PAP test είναι ένα πάρα **πολύ αποδοτικό screening test** στην ανίχνευση τραχηλικών δυσπλασιών χαμηλού και υψηλού βαθμού αλλά και καρκίνου. Βέβαια, οι παραπάνω υπολογισμοί προκαλούν πολλά ερωτηματικά αν τα διαβάσει κάποιος ανάποδα. Για παράδειγμα, το 86% της ορθότητας μπορεί να διαβασθεί και ως 14% λανθασμένης πρόγνωσης, που αποτελεί ένα αρκετά σημαντικό **ποσοστό αναξιοπιστίας** του PAP test, ιδιαίτερα από τη στιγμή που χρησιμοποιείται ευρέως ως πρωταρχικό screening test του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Επιπροσθέτως, ένα άλλο ερώτημα που γεννάται αμέσως είναι το τι γίνεται στην περίπτωση που το PAP test διατηρήσει τις επιμέρους κατηγορίες των αποτελεσμάτων του. Μόνο έτσι θα αξιολογηθεί σωστότερα το PAP test ως προς την πρόβλεψη του ακριβούς βαθμού τραχηλικής αλλοίωσης. Μάλιστα, αυτό είναι απαραίτητο αφού οι ασθενείς διαφέρουν κατά πολύ στις διάφορες κατηγορίες ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας. Το πρόβλημα αυτό αναλύεται εκτενώς στο υποκεφάλαιο 3.2.1.2.

### *3.2.1.2 Πολυκατηγορικό PAP test*

Για να εξετάσουμε το PAP test διεξοδικά, επιλέγουμε να μην διχοτομήσουμε τα δεδομένα αλλά να διατηρήσουμε το διαχωρισμό τους στις πέντε κατηγορίες που αναφέρονται στο υποκεφάλαιο 3.1. Με άλλα λόγια, θα εξετάσουμε ανά κατηγορία το **πολυκατηγορικό PAP test**.

Σε αυτό το σημείο, πρέπει να επισημάνουμε ότι ένα πρόβλημα που παρουσιάστηκε κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων του PAP test ήταν η αδυναμία ταξινόμησης των **ASCUS** στην κλίμακα των τραχηλικών αλλοιώσεων. Αυτό εξηγείται από το ότι τα ASCUS είναι άτυπα κύτταρα απροσδιόριστης σημασίας, δηλαδή κύτταρα στα οποία δεν μπορεί να εξακριβωθεί ο βαθμός της αλλοίωσης που υπάρχει. Συνεπώς, δεν μπορούμε να τα τοποθετήσουμε σε μια συγκεκριμένη θέση της κλίμακας αλλοιώσεων και κατ' επέκταση χρήζουν προσεκτικής αντιμετώπισης αφού μπορεί να οδηγήσουν σε σημαντικά σφάλματα.

Ας δούμε πρώτα την **κατανομή των δικών μας ASCUS** σε σύγκριση πάντα με την ιστολογική βιοψία. Όπως φαίνεται και στον *Πίνακα 3.3*, στο σύνολο των 75 ASCUS αποτελεσμάτων:

- το 66,7% (50 περιπτώσεις) ήταν στην πραγματικότητα χαμηλού βαθμού δυσπλασία
- το 20% (15 περιπτώσεις) ήταν αρνητικά (όλα negative, κανένα clinically negative).
- το 12% (9 περιπτώσεις) ήταν υψηλού βαθμού δυσπλασία
- το 1,3% (1 περίπτωση) ήταν καρκίνος (ADENO-CA).

**Πίνακας 3.3:** Κατανομή των ASCUS στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				Άθροισμα
		Αρνητική	Χαμηλού Βαθμού	Υψηλού Βαθμού	Καρκίνος	
PAP	ASCUS	15	50	9	1	75

Συμπεραίνουμε, προφανώς, ότι τα ASCUS ήταν κυρίως χαμηλού βαθμού δυσπλασίες αλλά αυτό δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κανόνας γιατί υπάρχουν αρκετές άλλες περιπτώσεις υψηλού βαθμού δυσπλασίας και αρνητικής βιοψίας. Αξίζει, να σημειωθεί ότι βρέθηκε και μια περίπτωση που είχε στην πραγματικότητα καρκίνο!

Το παραπάνω πρόβλημα που προέκυψε με τα ASCUS, μας οδήγησε στο να σχηματίσουμε δύο **πολυκατηγορικούς πίνακες συνάφειας** των δεδομένων μας. Ο πρώτος δεν συμπεριλαμβάνει τα 75 ASCUS αποτελέσματα ενώ ο δεύτερος τα συμπεριλαμβάνει. Έτσι, λοιπόν δημιουργήσαμε τους *Πίνακες 3.4, 3.5*, που μας επιτρέπουν να εξετάσουμε τα ποσοστά επιτυχίας κάθε κατηγορίας του PAP test σε κάθε κατηγορία της βιοψίας, δηλαδή να τους εξετάσουμε κατά στήλη, αλλά και το αντίστροφο (κατά γραμμή).

**Πίνακας 3.4:** Πίνακας συνάφειας πολυκατηγορικού PAP test (χωρίς ASCUS).

		Βιοψία				Άθροισμα
		Αρνητικό	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	
PAP	WNL	140	27	3	0	170
	LSIL	21	104	25	1	151
	HSIL	5	16	67	4	92
	Καρκίνος	0	0	0	12	12
	Άθροισμα	166	147	95	17	425

**Πίνακας 3.5:** Πίνακας συνάφειας πολυκατηγορικού PAP test (με ASCUS).

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
PAP	WNL	140	27	3	0	170
	ASCUS	15	50	9	1	75
	LSIL	21	104	25	1	151
	HSIL	5	16	67	4	92
	Καρκίνος	0	0	0	12	12
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Ας υπολογίσουμε τα ποσοστά επιτυχίας **κατά στήλη** από τον Πίνακα 3.5 που περιλαμβάνει τα ASCUS (χωρίς να αναφερόμαστε σε αυτά εδώ).

Στις 181 περιπτώσεις **αρνητικής βιοψίας**, το PAP την ανίχνευσε σωστά κατά 77%. Βέβαια, έκανε λάθος στο υπόλοιπο 23% και μάλιστα στο 15% ανίχνευσε εσφαλμένα χαμηλού (LSIL) ή υψηλού (HSIL) βαθμού αλλοίωση. Αυτό δείχνει σε ένα πρώτο επίπεδο το πρόβλημα που αντιμετωπίζουμε.

Στις 197 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας** της βιοψίας, το PAP την ανίχνευσε σωστά μόνο στο 53% (104/197) των περιπτώσεων. Εν προκειμένω, έκανε λάθος στο υπόλοιπο 47%, που κατά κοινή ομολογία είναι ένα πολύ μεγάλο νούμερο. Μάλιστα, ανίχνευσε εσφαλμένα υψηλού βαθμού (HSIL) αλλοίωση κατά 8% αλλά και εσφαλμένα φυσιολογικό τράχηλο (WNL) κατά 14%. Στο 14% δηλαδή των περιπτώσεων υποτίμησε τη σοβαρότητα της κατάστασης!

Στις 104 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας** της βιοψίας, το PAP την ανίχνευσε σωστά κατά 64%. Όμως, κατά 25% (25/104) ανίχνευσε εσφαλμένα LSIL και κατά 3% WNL, δηλαδή υποτίμησε ξανά τη σοβαρότητα της κατάστασης. Κάτι που μπορεί να αποβεί ιδιαίτερα επικίνδυνο καθώς θα παραμεληθεί μια πιθανή θεραπεία που ίσως να αποτρέψει τη μελλοντική ανάπτυξη καρκίνου.

Στις 18 περιπτώσεις **καρκίνου** στη βιοψία (9 SCC, 8 ADENO-CA, 1 CA), το PAP τον ανίχνευσε σωστά κατά 67%. Εδώ πάλι παρατηρείται ένα πολύ μεγάλο ποσοστό υποβάθμισης της τραχηλικής αλλοίωσης αφού υπολογίσθηκε ένα 21% εσφαλμένης πρόβλεψης υψηλού βαθμού δυσπλασίας και ένα 6% χαμηλού βαθμού αντί για καρκίνο.

Εξετάζοντας τον Πίνακα 3.5 **κατά γραμμή**, παίρνουμε τα παρακάτω ποσοστά.

Στις 170 περιπτώσεις **WNL** αποτελέσματος του PAP, το 82% είναι ορθό και μόλις στο 18% υπερεκτιμά λανθασμένα την αλλοίωση (όχι και τόσο σημαντικό).

Στις 151 περιπτώσεις **LSIL** του PAP, το 69% είναι σωστό αλλά και το 17% υποτιμά εσφαλμένα την πραγματική αλλοίωση υψηλού βαθμού.

Στις 92 περιπτώσεις **HSIL** του PAP, το 73% είναι ακριβές, το 23% υπερεκτιμά την πραγματική αλλοίωση και το 4% την υποτιμά.

Στις 12 περιπτώσεις **καρκίνου** του PAP (6 SCC, 6 ADENO-CA), παρατηρείται 100% ορθότητα.

Συμπεραίνουμε (κυρίως από την ανά στήλη ανάλυση) ότι το PAP δίνει ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό εσφαλμένων διαγνώσεων. Μάλιστα, συχνά οδηγεί σε **λανθασμένη υποβάθμιση** της αλλοίωσης που μπορεί να αποδειχθεί μοιραία. Επομένως, είναι απαραίτητη η χρησιμοποίηση νέων τεχνικών που το βοηθούν στην έγκυρη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου. Η εφαρμογή τέτοιων τεχνικών παρουσιάζεται παρακάτω.

### 3.2.2 HPV DNA test

#### 3.2.2.1 Δυαδικό HPV DNA test

Αρχικά, εξετάζουμε το HPV DNA test ως **δυαδικό** εφαρμόζοντας τη μέθοδο διχοτόμησης των αποτελεσμάτων. Θεωρήσαμε ότι το HPV DNA δίνει είτε αρνητικό αποτέλεσμα (κανένας τύπος HPV παρών) είτε θετικό (τουλάχιστον ένας τύπος HPV οποιουδήποτε κινδύνου παρών). Υπολογίσαμε τα στατιστικά μέτρα απόδοσης, έχοντας τη βιοψία ως gold standard για την εξακρίβωση των αποτελεσμάτων. Διχοτομήσαμε αντίστοιχα και τα αποτελέσματά της σε 181 αρνητικά (106 clinically negative και 75 negative) για αρνητικές βιοψίες και 319 θετικά για βιοψίες με οποιαδήποτε δυσπλασία.

Ο **δυαδικός πίνακας συνάφειας** των δεδομένων, που περιλαμβάνει τα επιμέρους αθροίσματα των γραμμών και των στηλών και το πλήθος του δείγματος, είναι ο εξής:

**Πίνακας 3.6:** Πίνακας συνάφειας δυαδικού HPV DNA test.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
HPV DNA	Θετικό	252	58	310
	Αρνητικό	67	123	190
	Άθροισμα	319	181	500

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 252
- FP = 58
- TN = 123
- FN = 67
- sensitivity = 0,79 = 79% και TPF= 0,79
- specificity = 68% και FPF= 1-0,68 = 0,32
- accuracy = 75%
- precision = PPV = 81%
- NPV = 65%
- post-test odds (Y=1) = 4,34
- post-test odds (Y=0) = 0,54
- LR<sup>+</sup> = 2,47
- LR<sup>-</sup> = 0,31
- RR = 2,31

Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι αν λάβουμε υπόψη το HPV DNA test ως ένα απλό δυαδικό test, τότε η **απόδοσή** του είναι **αρκετά καλή**. Επιτυγχάνει αρκετά υψηλή ευαισθησία (79%), ειδικότητα (68%) και ορθότητα (75%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης τραχηλικών αλλοιώσεων.

Στη συνέχεια, ας εξετάσουμε το δυαδικό HPV DNA test στα διάφορα **στάδια** τραχηλικής δυσπλασίας της βιοψίας. Σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.7.

**Πίνακας 3.7:** Πίνακας συνάφειας δυαδικού HPV DNA test στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				Άθροισμα
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	
HPV DNA	Θετικό	58	137	98	17	310
	Αρνητικό	123	60	6	1	190
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Αν εξετάσουμε τον παραπάνω πίνακα **κατά γραμμή**, διαπιστώνουμε ότι στις 310 περιπτώσεις θετικού HPV DNA, η παρουσία του DNA τουλάχιστον ενός τύπου πολύ υψηλού κινδύνου υποδηλώνει με μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας χαμηλού (44%) παρά υψηλού (32%) βαθμού ή καρκίνου (5%). Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 96% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί πάρα πολύ το αρνητικό HPV DNA. Αυτό το αποτέλεσμα δεν το λάβαμε πριν (στο δυαδικό πίνακα) γιατί δεν ταξινομήσαμε τις θετικές βιοψίες.

Αν αναλύσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 70% εμφανίζει κάποιο τύπο πολύ υψηλού κινδύνου. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, το HPV DNA ήταν θετικό κατά 94%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το HPV DNA ήταν θετικό κατά 94%!

Βέβαια, οι παραπάνω υπολογισμοί είναι χειρότεροι από τους αντίστοιχους του δυαδικού PAP test. Συνεπώς, το HPV DNA δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρωταρχικό screening test αντικαθιστώντας το PAP, αλλά μπορεί να το **υποβοηθήσει** με πολύ μεγάλη επιτυχία σε συγκεκριμένες αλλοιώσεις. Ειδικότερα, το θετικό HPV DNA ανιχνεύει με πολύ μεγάλη πιθανότητα κατά σειρά χαμηλού βαθμού δυσπλασία, υψηλού βαθμού αλλά και καρκίνου! Επίσης, το αρνητικό HPV DNA test επιβεβαιώνει σε πολύ μεγάλο ποσοστό την ύπαρξη αρνητικής βιοψίας ή το πολύ χαμηλού βαθμού δυσπλασίας.

Στη συνέχεια, θα αναλύσουμε το HPV DNA test, χωρίζοντας τα αποτελέσματά του **ανάλογα με τον τύπο HPV** που ανιχνεύεται στα διάφορα στάδια της βιοψίας. Έτσι, μπορούμε να δώσουμε ορισμένες βοηθητικές απαντήσεις στο PAP test, που όπως αποδείξαμε και πριν παρουσιάζει σημαντικά ποσοστά εσφαλμένης διάγνωσης. Αυτό επιχειρείται στα επόμενα υποκεφάλαια 3.2.2.2 και 3.2.2.3.

### *3.2.2.2 Πολυκατηγορικό HPV DNA test*

Σε αυτό το υποκεφάλαιο, παρουσιάζεται η ανάλυση του HPV DNA test όταν τα αποτελέσματά του χωρίζονται σε **επιμέρους κατηγορίες** ανάλογα με τον τύπο του HPV που ανιχνεύεται. Να σημειωθεί ότι κατά την ταξινόμηση των αποτελεσμάτων στις επιμέρους κατηγορίες, όταν συνυπάρχουν πολλοί τύποι του HPV τότε υπάρχει προτεραιότητα στους τύπους υψηλότερου κινδύνου. Εν προκειμένω, αν υπάρχει τουλάχιστον ένας τύπος πολύ υψηλού κινδύνου τότε αυτόματα το αποτέλεσμα υπάγεται



στην κατηγορία πολύ υψηλού κινδύνου, ανεξάρτητα από το πλήθος των τύπων χαμηλού ή υψηλού κινδύνου που μπορεί να έχει.

Σχηματίσαμε δύο **πολυκατηγορικούς πίνακες συνάφειας**, ανάλογα με τον αριθμό των κατηγοριών των HPV τύπων.

Στον **Πίνακα 3.8**, οι τρεις κατηγορίες του HPV DNA test είναι τα αρνητικά (απουσία οποιουδήποτε HPV τύπου), τα αποτελέσματα με τουλάχιστον έναν τύπο χαμηλού κινδύνου και τα αποτελέσματα με τουλάχιστον έναν τύπο υψηλού (είτε απλά υψηλού είτε πολύ υψηλού) κινδύνου. Η βιοψία χωρίζεται στις τέσσερις γνωστές κατηγορίες.

**Πίνακας 3.8:** Πίνακας συνάφειας HPV DNA test τριών κατηγοριών.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
HPV DNA	Αρνητικό	123	60	6	1	190
	Χαμηλού κινδύνου	7	16	0	1	24
	Υψηλού κινδύνου	51	121	98	16	286
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Ας εξετάσουμε πρώτα τον **Πίνακα 3.8 κατά στήλη** για να δούμε τι αριθμητικά συμπεράσματα μπορεί να μας δώσει.

Στις 181 περιπτώσεις **αρνητικής βιοψίας** (106 clinically negative και 75 negative), το HPV DNA test δεν ανίχνευσε HPV τύπο στο 68% (123/181), ανίχνευσε τουλάχιστον ένα χαμηλού κινδύνου στο 4% και τουλάχιστον έναν υψηλού κινδύνου στο 28%. Τα ποσοστά αυτά είναι πολύ ενδιαφέροντα γιατί παρόλο που δείχνουν ότι τις περισσότερες φορές μια αρνητική βιοψία σημαίνει ανυπαρξία HPV τύπου, αποδεικνύουν επίσης ότι αυτό δεν είναι σίγουρο. Μάλιστα, κατά 28% παρατηρείται τουλάχιστον ένας τύπος υψηλού κινδύνου. Η παρατήρηση αυτή επιδέχεται δύο ερμηνειών. Πρώτον, η ύπαρξη HPV τύπων υψηλού κινδύνου δεν σημαίνει σε καμία περίπτωση ότι υπάρχει τραχηλική αλλοίωση. Δεύτερον, ακόμα και αν μια γυναίκα βρεθεί να έχει αρνητική βιοψία δεν σημαίνει ότι πρέπει να σταματήσει να υποβάλλεται σε διαγνωστικά tests επειδή η ύπαρξη των HPV τύπων υψηλού κινδύνου μπορεί να τη θέσει σε κίνδυνο στο μέλλον.

Στις 197 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας** της βιοψίας, το HPV DNA test ανίχνευσε κατά 61% τύπου υψηλού κινδύνου, κατά 8% τύπο χαμηλού κινδύνου και κατά 31% κανέναν τύπο. Το 61% των τύπων υψηλού κινδύνου αποδεικνύει ότι τις περισσότερες

φορές η ύπαρξη ενός τέτοιου τύπου οδηγεί τουλάχιστον σε μια μορφή τραχηλικής αλλοίωσης (έστω και χαμηλής). Βέβαια, το 31% που δεν παρατηρείται κάποιος τύπος του ιού, δείχνει ξεκάθαρα ότι δεν είναι απαραίτητο αυτό. Το μεγάλο νούμερο που καταλαμβάνουν οι τύποι υψηλού κινδύνου μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πρέπει να χωρίσουμε την κατηγορία αυτή σε δύο κατηγορίες επικινδυνότητας (κάτι που θα αναλυθεί εκτενέστερα παρακάτω).

Στις 104 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας** της βιοψίας, το HPV DNA στη συντριπτική πλειοψηφία (94%) ανιχνεύει τύπο υψηλού κινδύνου και στο υπόλοιπο 6% δεν ανίχνευσε κάποιον τύπο HPV. Είναι προφανής, πάλι, η σημασία των τύπων υψηλού κινδύνου στην ανάπτυξη τραχηλικής δυσπλασίας καθώς και η ανάγκη για περαιτέρω διαχωρισμό τους.

Στις 18 περιπτώσεις **καρκίνου** (9 SCC, 8 ADENO-CA, 1 CA), το HPV DNA κατά 90% ανίχνευσε τύπο υψηλού κινδύνου και κατά 10% ανίχνευσε τύπο χαμηλού κινδύνου ή ακόμα και κανένα τύπο!

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.8 κατά γραμμή*, λαμβάνουμε τα παρακάτω αποτελέσματα.

Στις 190 περιπτώσεις **αρνητικού HPV DNA test**, κατά 65% έχω αρνητική βιοψία (79 clinically negative και 44 negative), κατά 31% έχω χαμηλού βαθμού δυσπλασία, κατά 3% έχω υψηλού βαθμού δυσπλασία και κατά 1% καρκίνο (1 SCC). Αυτό δείχνει ξεκάθαρα ότι ένα αρνητικό HPV DNA test είναι πολύ χρήσιμο αφού κατά 96% μπορεί να ανιχνεύσει μια αρνητική βιοψία ή μια δυσπλασία το πολύ χαμηλού βαθμού.

Στις 24 περιπτώσεις εύρεσης τουλάχιστον ενός τύπου **χαμηλού κινδύνου**, το HPV DNA test τον ανίχνευσε σε ποσοστό 96%: είτε σε μια αρνητική βιοψία κατά 29% (6 clinically negative και 1 negative), είτε σε μια χαμηλού βαθμού δυσπλασία στη βιοψία κατά 67%. Το μεγάλο αυτό ποσοστό αποδεικνύει ξανά τη δύναμη του HPV DNA test στην πρόβλεψη μέχρι χαμηλό βαθμό δυσπλασίας. Σε 1 περίπτωση (4%), που στην πραγματικότητα είχε καρκίνο (1 SCC), ανιχνεύθηκε τύπος χαμηλού κινδύνου.

Στις 286 περιπτώσεις εύρεσης τουλάχιστον ενός HPV τύπου **υψηλού κινδύνου**, κατά 18% έχουμε αρνητική βιοψία (21 clinically negative και 30 negative), 43% παίρνουμε χαμηλού βαθμού δυσπλασία, 33% υψηλού βαθμού δυσπλασία και κατά 6% καρκίνο (7 SCC, 8 ADENO-CA, 1 CA). Αυτό που παρατηρούμε είναι ότι η ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου υψηλού κινδύνου δεν μας βοηθά να καταλάβουμε αν έχουμε χαμηλού ή υψηλού βαθμού δυσπλασία. Η διαφορά μεταξύ αυτών των δύο σταδίων δυσπλασίας είναι πάρα

πολύ σημαντική, αφού απαιτείται εντελώς διαφορετική διαχείριση μιας ασθενούς με χαμηλού βαθμού δυσπλασία σε σχέση με μια ασθενή με υψηλού βαθμού δυσπλασία. Προφανώς, η επισήμανση αυτή καθώς και το πολύ μεγάλο πλήθος των γυναικών με HPV τύπο υψηλού κινδύνου (286 γυναίκες), αποτελούν μια ακόμα απόδειξη ότι πρέπει να χωρίσουμε τους τύπους υψηλού κινδύνου σε απλού και πολύ υψηλού κινδύνου.

Καταλήγουμε, λοιπόν, στο συμπέρασμα (ιδιαίτερα από την ανά γραμμή ανάλυση) ότι το HPV DNA test τριών κατηγοριών είναι πάρα πολύ χρήσιμο όταν δίνει τουλάχιστον ένα τύπο χαμηλού κινδύνου ή κανένα HPV τύπο γιατί μπορεί να προβλέψει μια δυσπλασία το πολύ χαμηλού βαθμού. Όμως, δεν είναι τόσο πληροφοριακό όταν προβλέπει υψηλού κινδύνου τύπους αφού δεν μας βοηθάει στο **διαχωρισμό** της πρόβλεψης μεταξύ χαμηλού και υψηλού βαθμού δυσπλασίας. Προς αυτήν την κατεύθυνση, επιλέξαμε να καταναείμουμε τους HPV τύπους υψηλού κινδύνου σε δύο κατηγορίες: (απλά) υψηλού κινδύνου και πολύ υψηλού κινδύνου (Πίνακας 3.9).

Στον **Πίνακα 3.9**, οι τέσσερις κατηγορίες του HPV DNA test είναι τα αρνητικά (απουσία οποιουδήποτε HPV τύπου), τα αποτελέσματα με τουλάχιστον έναν τύπο χαμηλού κινδύνου, τα αποτελέσματα με τουλάχιστον έναν τύπο (απλά) υψηλού κινδύνου και τα αποτελέσματα με τουλάχιστον έναν τύπο πολύ υψηλού κινδύνου. Επιλέξαμε να κάνουμε αυτήν την ταξινόμηση με τη διαφοροποίηση υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου, για να εξετάσουμε την επίδραση της ύπαρξης των πέντε πλέον επικίνδυνων HPV τύπων (16,18,31,33,45). Η βιοψία χωρίζεται στις τέσσερις γνωστές κατηγορίες.

**Πίνακας 3.9:** Πίνακας συνάφειας HPV DNA test τεσσάρων κατηγοριών.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
HPV DNA	Αρνητικό	123	60	6	1	190
	Χαμηλού κινδύνου	7	16	0	1	24
	Υψηλού κινδύνου	30	57	19	2	108
	Πολύ υψηλού κινδύνου	21	64	79	14	178
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Αναλύοντας τον Πίνακα 3.9 κατά στήλη, παίρνουμε τα παρακάτω ποσοστά.

Σε 181 περιπτώσεις **αρνητικής βιοψίας** (106 clinically negative και 75 negative), το HPV DNA ανιχνεύει κατά 17% τουλάχιστον ένα τύπο υψηλού και κατά 12% τουλάχιστον ένα τύπο πολύ υψηλού κινδύνου. Τα ποσοστά αυτά αποδεικνύουν ότι η ύπαρξη ενός τύπου υψηλού ή πολύ υψηλού κινδύνου δεν οδηγεί πάντα σε δυσπλασία.

Στις 197 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας**, το HPV DNA έδωσε τύπο υψηλού κινδύνου κατά 29% και τύπο πολύ υψηλού κινδύνου κατά 32%.

Στις 104 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας**, το HPV DNA ανίχνευσε τύπο υψηλού κινδύνου κατά 18% και πολύ υψηλού κινδύνου κατά 76%. Από αυτό συμπεραίνουμε ότι σε περίπτωση υψηλού βαθμού δυσπλασίας, ένα πολύ μεγάλο ποσοστό των αποτελεσμάτων του HPV DNA κατάφερε να ανιχνεύσει πολύ υψηλό κίνδυνο.

Στις 18 περιπτώσεις **καρκίνου** (9 SCC, 8 ADENO-CA, 1 CA), το HPV DNA ανίχνευσε τύπο πολύ υψηλού κινδύνου κατά 79% και (απλά) υψηλού κατά 11%. Άρα, στη πλειοψηφία των καρκίνων ανιχνεύτηκε τουλάχιστον ένας τύπος πολύ υψηλού κινδύνου.

Εξετάζοντας τον Πίνακα 3.9 κατά γραμμή, παίρνουμε τα παρακάτω ποσοστά.

Στις 108 περιπτώσεις ανίχνευσης τύπου (απλά) **υψηλού κινδύνου**, η βιοψία είναι αρνητική στο 27% (19 clinically negative και 11 negative), έχουμε χαμηλού βαθμού δυσπλασία βιοψίας στο 53%, υψηλού βαθμού στο 18% και καρκίνο στο 2% (2 ADENO-CA). Τα ποσοστά αυτά (παρόλο που δεν είναι πολύ πειστικά) μας υποδεικνύουν ότι η ανίχνευση ενός τύπου υψηλού κινδύνου συνήθως μεταφράζεται ως χαμηλού βαθμού δυσπλασία. Βέβαια, αυτό δεν είναι σε καμία περίπτωση σίγουρο αφού μπορεί πολύ εύκολα να πρόκειται για καθαρά αρνητική βιοψία ή για υψηλού βαθμού δυσπλασία.

Στις 178 περιπτώσεις ανίχνευσης τύπου **πολύ υψηλού κινδύνου**, η βιοψία είναι αρνητική κατά 12% (2 clinically negative και 19 negative), έχουμε χαμηλού βαθμού δυσπλασία κατά 36%, υψηλού βαθμού κατά 44% και καρκίνο κατά 8% (7 SCC, 6 ADENO-CA, 1 CA). Συνεπώς, η ύπαρξη ενός τύπου πολύ υψηλού κινδύνου δεν μας οδηγεί σε ασφαλή συμπεράσματα εκτός από το γεγονός ότι τις περισσότερες φορές σημαίνει χαμηλού ή υψηλού βαθμού δυσπλασία.

Συνεπώς, ο διαχωρισμός των τύπων υψηλού κινδύνου σε (απλά) υψηλού και πολύ υψηλού, βοηθάει αρκετά στην ορθή πρόβλεψη του καρκίνου, του υψηλού αλλά και του χαμηλού βαθμού δυσπλασίας. Όμως, δεν παρουσιάζει ιδιαίτερα μεγάλη ευαισθησία στην εύρεση της ακριβούς μορφής της δυσπλασίας. Στο επόμενο υποκεφάλαιο, θα εξετάσουμε τον κάθε τύπο πολύ υψηλού κινδύνου ξεχωριστά για να σιγουρευτούμε για τη δράση τους.

### 3.2.2.3 HPV DNA test ανά HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου

Στο υποκεφάλαιο αυτό, εξετάζουμε κάθε τύπο πολύ υψηλού κινδύνου (16,18,31,33,45) ξεχωριστά. Επιθυμούμε να προσδιορίσουμε τα **ποσοστά εμφάνισης συγκεκριμένης τραχηλικής δυσπλασίας** ανάλογα με την παρουσία ενός τύπου πολύ υψηλού κινδύνου. Στο τέλος, η ανάλυση γίνεται και για τον HPV 53 που δεν θεωρείται τύπος πολύ υψηλού κινδύνου, αλλά παρατηρήσαμε ότι συχνά προκαλεί δυσπλασία.

Η **μεθοδολογία** για κάθε τύπο ορίζει το δυαδικό test να θεωρείται θετικό όταν ο τύπος είναι υπαρκτός και αρνητικό όταν απουσιάζει. Η δυαδική βιοψία είναι αρνητική για φυσιολογικούς τραχήλους και θετική για ύπαρξη μιας οποιασδήποτε αλλοίωσης. Εκτός από τη δυαδική βιοψία, κάναμε ανάλυση και ως προς τη βιοψία που κατηγοριοποιεί τα θετικά αποτελέσματα. Αυτό μας βοήθησε να εκτιμήσουμε την αξία ενός αρνητικού test που αντιστοιχεί σε μεγάλο ποσοστό σε αρνητικές βιοψίες ή σε δυσπλασίες χαμηλού βαθμού.

Να σημειωθεί ότι τα παρακάτω αποτελέσματα δεν είναι ιδιαίτερα πληροφοριακά όταν χρησιμοποιούνται μόνα τους, καθώς η ύπαρξη ενός μόνο τύπου δεν μπορεί να οδηγήσει σε δυσπλασία. Συνήθως απαιτούνται περισσότεροι του ενός τύπου. Έτσι εξηγούνται και τα μικρά ποσοστά ευαισθησίας που παρουσιάζουν οι τύποι όταν εξετάζονται μόνοι τους. Δηλαδή, ακόμα και αν δεν εμφανίζεται κάποιος τύπος (ακόμα και ο πλέον επικίνδυνος τύπος 16), μπορεί να εμφανιστεί τραχηλική δυσπλασία λόγω παρουσίας κάποιου άλλου. Περισσότερο χρησιμοποιούνται κατά το συνδυασμό των screening tests (υποκεφάλαιο 3.2.7). Βέβαια, η **ξεχωριστή ανάλυση ανά τύπο** δίνει πολύτιμες πληροφορίες για την επιμέρους δυναμική του στην πρόκληση δυσπλασίας.

#### HPV 16

Σχηματίζουμε το **δυαδικό πίνακα συνάφειας** (Πίνακας 3.10) του HPV 16 έναντι της δυαδικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.10:** Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 16.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
HPV 16	Θετικό	94	8	102
	Αρνητικό	225	173	398
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.10 αν τον αναλύσουμε **κατά γραμμή**, σε 102 περιπτώσεις θετικού HPV 16 εξασφαλίζεται κατά 92% (94/102) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό HPV 16 δεν δίνει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του HPV 16 κατά 71%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον HPV 16 κατά 96%, που είναι πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίστηκαν έδωσαν:

- TP = 94
- FP = 8
- TN = 173
- FN = 225
- sensitivity = 0,29 = 29% και TPF= 0,29
- specificity = 96% και FPF= 1-0,96 = 0,04
- accuracy = 53%
- precision = PPV = 92%
- NPV = 43%
- post-test odds (Y=1) = 11,75
- post-test odds (Y=0) = 1,30
- $LR^+ = 6,67$
- $LR^- = 0,74$
- RR = 1,63

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (96%) αλλά και η πολύ υψηλή θετική προγνωστική αξία (92%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού HPV 16**.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.11 όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του HPV 16 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.11:** Πίνακας συνάφειας του HPV 16 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
HPV 16	Θετικό	8	30	52	12	102
	Αρνητικό	173	167	52	6	398
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.11 κατά γραμμή*, διαπιστώνουμε ότι η παρουσία του HPV 16 υποδηλώνει με πολύ μεγάλη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (51%) αλλά και χαμηλού (29%) βαθμού. Επιπροσθέτως, το θετικό HPV 16 υποδηλώνει καρκίνο κατά 12% που είναι ένα αρκετά υψηλό ποσοστό. Κατηγοριοποιώντας τις θετικές βιοψίες, η απουσία του τύπου 16 αντιστοιχεί κατά 85% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό HPV 16.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 85% δεν εμφανίζει τον HPV 16. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η παρουσία και η απουσία του HPV 16 είναι απόλυτα μοιρασμένα και άρα μη πληροφοριακή. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το HPV 16 ήταν θετικό κατά 67%! Αυτό αποδεικνύει, πάλι, τη διαγνωστική δύναμη του τύπου 16 όσον αφορά τον καρκίνο.

Συνεπώς, μπορούμε να πούμε ότι ο HPV 16 είναι πάρα πολύ επικίνδυνος αφού η εμφάνιση του είναι ιδιαίτερα συχνή (102 θετικά) και η παρουσία του οδηγεί με πολύ μεγάλη πιθανότητα σε υψηλού και χαμηλού βαθμού δυσπλασία καθώς και σε καρκίνο.

### HPV 18

Σχηματίζουμε το *δυναδικό πίνακα συνάφειας (Πίνακας 3.12)* του HPV 18 έναντι της δυαδικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.12:** Δυναδικός πίνακας συνάφειας του HPV 18.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
HPV 18	Θετικό	25	4	29
	Αρνητικό	294	177	471
	Άθροισμα	319	181	500

Αν αναλύσουμε τον *Πίνακα 3.12 κατά γραμμή*, σε 29 περιπτώσεις θετικού HPV 18 εξασφαλίζεται κατά 86% (25/29) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας. Αντίθετα, το αρνητικό HPV 18 δεν δίνει ασφαλές συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του HPV 18 κατά 92%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον HPV 18 κατά 98%, που είναι πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 25

- FP = 4
- TN = 177
- FN = 294
- sensitivity = 0,08 = 8% και TPF= 0,08
- specificity = 98% και FPF= 1-0,98 = 0,02
- accuracy = 40%
- precision = PPV = 86%
- NPV = 38%
- post-test odds (Y=1) = 6,25
- post-test odds (Y=0) = 1,66
- LR<sup>+</sup> = 3,55
- LR<sup>-</sup> = 0,94
- RR = 1,38

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (98%) και η πολύ υψηλή θετική προγνωστική αξία (86%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού HPV 18**.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον *Πίνακα 3.13* όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του HPV 18 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.13:** Πίνακας συνάφειας του HPV 18 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
HPV 18	Θετικό	4	19	6	0	29
	Αρνητικό	177	178	98	18	471
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.13 κατά γραμμή*, διαπιστώνουμε ότι η παρουσία του HPV 18 υποδηλώνει με μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας χαμηλού (66%) παρά υψηλού (21%) βαθμού και ποτέ καρκίνου. Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 75% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό HPV 18.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 90% δεν εμφανίζει τον HPV 18. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του HPV 18 είναι συντριπτική (94%). Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου το HPV 18 ήταν αρνητικό κατά 100%!



Συνεπώς, μπορούμε να πούμε ότι ο HPV 18 δεν είναι τόσο επικίνδυνος (όσο ο 16 για παράδειγμα), αφού εμφανίζεται πιο σπάνια (29 θετικά) και η παρουσία του οδηγεί κυρίως σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία παρά σε υψηλού βαθμού και ποτέ σε καρκίνο.

### HPV 31

Σχηματίζουμε το **δυναδικό πίνακα συνάφειας** (Πίνακας 3.14) του HPV 31 έναντι της δυναδικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.14:** Δυναδικός πίνακας συνάφειας του HPV 31.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
HPV 31	Θετικό	35	8	43
	Αρνητικό	284	173	457
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.14 αν τον αναλύσουμε **κατά γραμμή**, σε 43 περιπτώσεις θετικού HPV 31 εξασφαλίζεται κατά 81% (35/43) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό HPV 31 δεν δίνει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του HPV 31 κατά 89%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον HPV 31 κατά 96%, που είναι πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 35
- FP = 8
- TN = 173
- FN = 284
- sensitivity = 0,11 = 11% και TPF= 0,11
- specificity = 96% και FPF= 1-0,96 = 0,04
- accuracy = 42%
- precision = PPV = 81%
- NPV = 38%
- post-test odds (Y=1) = 4,38

- post-test odds (Y=0) = 1,64
- $LR^+ = 2,48$
- $LR^- = 0,93$
- $RR = 1,31$

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (96%) και η υψηλή θετική προγνωστική αξία (81%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού HPV 31**.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον *Πίνακα 3.15* όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του HPV 31 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.15:** Πίνακας συνάφειας του HPV 31 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
HPV 31	Θετικό	8	15	20	0	43
	Αρνητικό	173	182	84	18	457
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.15 κατά γραμμή*, διαπιστώνουμε ότι η παρουσία του HPV 31 υποδηλώνει με μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (47%) παρά χαμηλού (35%) βαθμού και ποτέ καρκίνου. Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 78% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό HPV 31.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 92% δεν εμφανίζει τον HPV 31. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του HPV 31 παρατηρείται κατά 81%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το HPV 31 ήταν αρνητικό στο 100%!

Συνεπώς, ο HPV 31 δεν είναι τόσο επικίνδυνος (όσο ο 16) αφού η παρουσία του οδηγεί κυρίως σε χαμηλού και υψηλού βαθμού δυσπλασία και ποτέ σε καρκίνο. Βέβαια, αξίζει να τονιστεί ότι είναι πιο συχνός (43 θετικά) και πιο επικίνδυνος από τον τύπο 18, ιδιαίτερα στην πρόκληση υψηλού βαθμού δυσπλασίας. Οι τρεις προαναφερθέντες τύποι (16,18,31) θεωρούνται οι πλέον επικίνδυνοι από τους τύπους πολύ υψηλού κινδύνου.

### HPV 33

Σχηματίζουμε το **δυναμικό πίνακα συνάφειας** (*Πίνακας 3.16*) του HPV 33 έναντι της δυαδικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.16:** Δυαδικός πίνακας συνάφειας του HPV 33.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
HPV 33	Θετικό	19	4	23
	Αρνητικό	300	177	477
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.16 αν τον αναλύσουμε **κατά γραμμή**, σε 23 περιπτώσεις θετικού HPV 33 εξασφαλίζεται κατά 83% (19/23) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό HPV 33 δεν δίνει κάποιο άμεσο συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του HPV 33 κατά 94%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον HPV 33 κατά 98%, που είναι επίσης πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 19
- FP = 4
- TN = 177
- FN = 300
- sensitivity = 0,06 = 6% και TPF= 0,06
- specificity = 98% και FPF= 1-0,98 = 0,02
- accuracy = 39%
- precision = PPV = 83%
- NPV = 37%
- post-test odds (Y=1) = 4,75
- post-test odds (Y=0) = 1,69
- $LR^+ = 2,70$
- $LR^- = 0,96$
- RR = 1,31

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (98%) και η υψηλή θετική προγνωστική αξία (83%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού HPV 33**.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.17 όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του HPV 33 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.17:** Πίνακας συνάφειας του HPV 33 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
HPV 33	Θετικό	4	7	11	1	23
	Αρνητικό	177	190	93	17	477
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον Πίνακα 3.17 **κατά γραμμή**, η παρουσία του HPV 33 υποδηλώνει με μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (48%) παρά χαμηλού (30%) βαθμού ή καρκίνου (4%). Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 77% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό HPV 33.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 96% δεν εμφανίζει τον HPV 33. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του HPV 33 παρατηρείται κατά 89%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το HPV 33 ήταν θετικό στο 6%.

Συνεπώς, ο HPV 33 είναι αρκετά επικίνδυνος αφού παρά το γεγονός ότι δεν εμφανίζεται πολύ συχνά (23 θετικά), η παρουσία του οδηγεί με μεγάλη πιθανότητα σε χαμηλού και υψηλού βαθμού δυσπλασία αλλά και σε καρκίνο. Αξίζει να τονιστεί ότι είναι πιο επικίνδυνος για πρόκληση υψηλού παρά χαμηλού βαθμού δυσπλασίας ή καρκίνου.

### HPV 45

Σχηματίζουμε το **δυναμικό πίνακα συνάφειας** (Πίνακας 3.18) του HPV 45 έναντι της δυναμικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.18:** Δυναμικός πίνακας συνάφειας του HPV 45.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
HPV 45	Θετικό	8	1	9
	Αρνητικό	311	180	491
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.18 αν τον αναλύσουμε **κατά γραμμή**, σε μόλις 9 περιπτώσεις θετικού HPV 45 εξασφαλίζεται κατά 89% (8/9) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό HPV 45 δεν δίνει κάποιο άμεσο συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του HPV 45 κατά 97%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον HPV 45 κατά 99%, που είναι επίσης πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 8
- FP = 1
- TN = 180
- FN = 311
- sensitivity = 0,03 = 3% και TPF= 0,03
- specificity = 99% και FPF= 1-0,99 = 0,01
- accuracy = 38%
- precision = PPV = 89%
- NPV = 37%
- post-test odds (Y=1) = 8,00
- post-test odds (Y=0) = 1,73
- $LR^+ = 4,54$
- $LR^- = 0,98$
- RR = 1,4

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (99%) και η πολύ υψηλή θετική προγνωστική αξία (89%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού HPV 45**.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.19 όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του HPV 45 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.19:** Πίνακας συνάφειας του HPV 45 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
HPV 45	Θετικό	1	3	3	2	9
	Αρνητικό	180	194	101	16	491
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.19 κατά γραμμή*, η παρουσία του HPV 45 υποδηλώνει ισοπίθανα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού και χαμηλού βαθμού (33%) και με αρκετά μεγάλη πιθανότητα την ύπαρξη καρκίνου (22%)! Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 76% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό HPV 45.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 98% δεν εμφανίζει τον HPV 45. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του HPV 45 είναι συντριπτική κατά 97%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το HPV 45 ήταν θετικό κατά 11%.

Συνεπώς, ο HPV 45 εμφανίζεται αρκετά σπάνια (μόλις 9 θετικά) αλλά η παρουσία του είναι ιδιαίτερα κρίσιμη αφού οδηγεί με ίσες πιθανότητες σε δυσπλασία χαμηλού και υψηλού βαθμού αλλά και πολύ συχνά σε καρκίνο. Άρα, μπορούμε να πούμε ότι ο τύπος 45 είναι ιδιαίτερα επικίνδυνος όταν εμφανίζεται.

### HPV 53

Σχηματίζουμε το *δυναμικό πίνακα συνάφειας (Πίνακας 3.20)* του HPV 53 έναντι της δυναμικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.20:** Δυναμικός πίνακας συνάφειας του HPV 53.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
HPV 53	Θετικό	45	14	59
	Αρνητικό	274	167	441
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον *Πίνακα 3.20* αν τον αναλύσουμε *κατά γραμμή*, σε 59 περιπτώσεις θετικού HPV 53 εξασφαλίζεται κατά 76% (45/59) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό HPV 53 δεν δίνει κάποιο άμεσο συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του HPV 53 κατά 86%. Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον HPV 53 κατά 92%, που είναι πολύ υψηλό. Αυτά αιτιολογούνται ξανά από το ότι υπάρχουν και άλλοι τύποι υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου που μπορεί να οδηγήσουν σε δυσπλασία.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 45
- FP = 14
- TN = 167
- FN = 274
- sensitivity = 0,14 = 14% και TPF= 0,14
- specificity = 92% και FPF= 1-0,92 = 0,08
- accuracy = 42%
- precision = PPV = 76%
- NPV = 38%
- post-test odds (Y=1) = 3,21
- post-test odds (Y=0) = 1,64
- LR<sup>+</sup> = 1,82
- LR<sup>-</sup> = 0,93
- RR = 1,23

Η πολύ υψηλή ειδικότητα (92%) και η αρκετά υψηλή θετική προγνωστική αξία (76%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού HPV 53**.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον *Πίνακα 3.21* όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του HPV 53 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.21:** Πίνακας συνάφειας του HPV 53 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				Άθροισμα
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	
HPV 53	Θετικό	14	28	13	4	59
	Αρνητικό	167	169	91	14	441
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.21 κατά γραμμή*, η παρουσία του HPV 53 υποδηλώνει με μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας χαμηλού (47%) παρά υψηλού (22%) βαθμού ή καρκίνου (7%). Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 76% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό HPV 53.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 86% δεν εμφανίζει τον HPV 53. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες,

η απουσία του HPV 53 παρατηρείται κατά 88%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το HPV 53 ήταν θετικό κατά 22%!

Συνεπώς, μπορούμε να πούμε ότι ο HPV 53 αν και δεν ανήκει στους τύπους πολύ υψηλού κινδύνου, εντούτοις είναι ιδιαίτερα επικίνδυνος αφού εμφανίζεται αρκετά συχνά (59 θετικά) και η παρουσία του οδηγεί με μεγάλη πιθανότητα σε χαμηλού και υψηλού βαθμού δυσπλασία αλλά και σε καρκίνο! Βέβαια, αξίζει να τονιστεί ότι είναι πιο επικίνδυνος για πρόκληση χαμηλού βαθμού δυσπλασίας.

### Σύγκριση HPV τύπων πολύ υψηλού κινδύνου

Για να δούμε ποιοι από τους τύπους που αναλύθηκαν παραπάνω ένας-ένας είναι οι πλέον επικίνδυνοι, θα χρησιμοποιήσουμε την **αναλογία πιθανοτήτων** (*odds ratio*) και τη **ROC curve**. Τα μέτρα αυτά θα μας βοηθήσουν να βρούμε ποιοι HPV τύποι οδηγούν σε μια οποιαδήποτε μορφή τραχηλικής δυσπλασίας με μεγαλύτερη επικινδυνότητα.

Αρχικά, θα εφαρμόσουμε τον τύπο της αναλογίας πιθανοτήτων σε κάθε πιθανό ζευγάρι που σχηματίζεται μεταξύ των τύπων 16,18,31,33,45 και 53. Προφανώς, θα λάβουμε υπόψη τις **δυναδικές μορφές** τους γιατί μόνο τότε εφαρμόζεται η αναλογία πιθανοτήτων. Επίσης, θα χρησιμοποιηθούν μόνο οι 319 περιπτώσεις της θετικής βιοψίας (ύπαρξη οποιασδήποτε τραχηλικής δυσπλασίας) διότι θέλουμε να συγκρίνουμε την επικινδυνότητα κατά την εύρεση δυσπλασίας.

Έτσι, για κάθε ζευγάρι HPV τύπων X,Y υπολογίζεται ο παρακάτω λόγος  $o(X,Y)$ :

	Y = 1	Y = 0
X = 1	$p_{11} / (p_{11} + p_{10})$	$p_{10} / (p_{11} + p_{10})$
X = 0	$p_{01} / (p_{01} + p_{00})$	$p_{00} / (p_{01} + p_{00})$

$$\frac{p_{11}/(p_{11} + p_{10})}{p_{10}/(p_{11} + p_{10})} \bigg/ \frac{p_{01}/(p_{01} + p_{00})}{p_{00}/(p_{01} + p_{00})} = \frac{p_{11}p_{00}}{p_{10}p_{01}}$$

Προς αυτήν την κατεύθυνση, δημιουργήσαμε τον παρακάτω Πίνακα 3.22 στον οποίο κάθε γραμμή αντιπροσωπεύει τον αντίστοιχο τύπο X του ζευγαριού και κάθε στήλη τον αντίστοιχο τύπο Y του ζευγαριού. Τα στοιχεία του πίνακα είναι η αναλογία πιθανοτήτων του ζευγαριού των τύπων X και Y.



**Πίνακας 3.22:** Σύγκριση HPV τύπων πολύ υψηλού κινδύνου με αναλογία πιθανοτήτων.

		HPV τύπος Y					
		HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 33	HPV 45	HPV 53
HPV τύπος X	HPV 16	1	4,91	3,39	6,6	16,24	2,54
	HPV 18	0,2	1	0,69	1,34	3,31	0,52
	HPV 31	0,3	1,45	1	1,95	4,79	0,75
	HPV 33	0,15	0,74	0,51	1	2,46	0,39
	HPV 45	0,06	0,3	0,21	0,41	1	0,16
	HPV 53	0,39	1,93	1,33	2,59	6,38	1

Αυτό που **παρατηρούμε** ευθύς εξαρχής στον εν λόγω τετραγωνικό πίνακα είναι ότι τα διαγώνια στοιχεία είναι όλα ίσα με 1, κάτι απολύτως λογικό αφού αντιπροσωπεύουν την αναλογία πιθανοτήτων των ζευγαριών που αποτελούνται από τον ίδιο HPV τύπο. Οπότε, ισχύει:  $o(16,16) = o(18,18) = o(31,31) = o(33,33) = o(45,45) = o(53,53) = 1$ . Επίσης, παρατηρείται μια συμμετρία μεταξύ των στοιχείων που βρίσκονται σε κατοπτρική θέση ως προς τη διαγώνιο, αφού το ένα είναι αντίστροφο του άλλου. Για παράδειγμα, ισχύει:

$$o(45,31) = 0,21 = \frac{1}{4,79} = \frac{1}{o(31,45)}$$

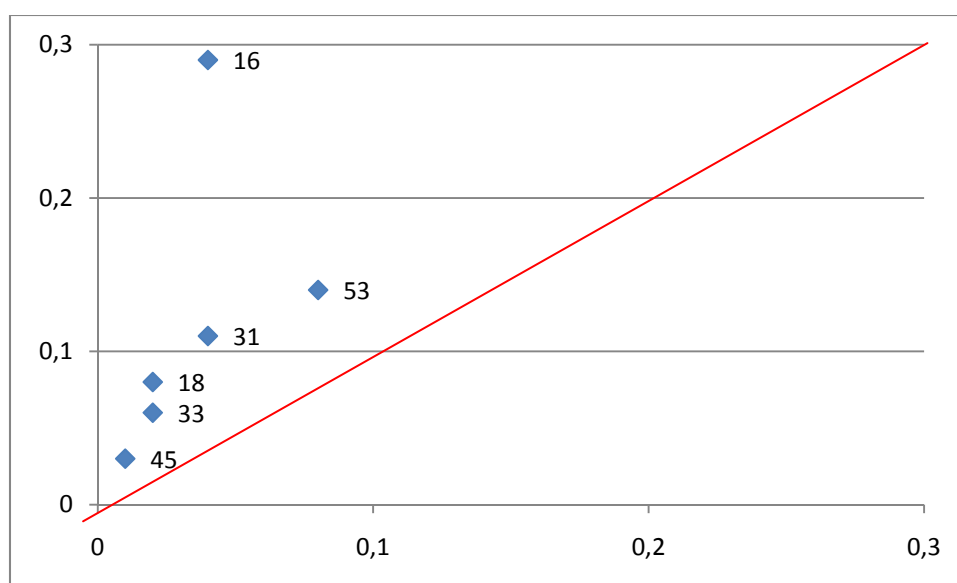
Όσον αφορά την **ποιοτική σύγκριση** της επίδρασης του κάθε τύπου στην πρόκληση τραχηλικής δυσπλασίας, παρατηρούμε ότι ο HPV 16 είναι με διαφορά ο πιο επικίνδυνος τύπος από όλους. Πολύ σημαντική επίσης, είναι η παρατήρηση ότι ο HPV 53 είναι ο δεύτερος πιο επικίνδυνος τύπος στη δημιουργία δυσπλασίας παρόλο που δεν ανήκει στους τύπους πολύ υψηλού κινδύνου! Στη συνέχεια, ακολουθούν κατά σειρά επικινδυνότητας ο 31, ο 18 και ο 33. Ο λιγότερο επικίνδυνος είναι ο HPV 45 αφού παρουσιάζει αισθητά χαμηλότερα ποσοστά εμφάνισης απ' όλους τους άλλους.

Συνεπώς, μπορούμε να **σχολιάσουμε** ότι παρόλο που το πλήθος των εξεταζόμενων γυναικών δεν είναι ιδιαίτερα μεγάλο (500 στο σύνολο και 319 με θετική βιοψία), εντούτοις ο HPV 53 είναι ιδιαίτερα επικίνδυνος και ίσως θα μπορούσε να συμπεριληφθεί στους τύπους πολύ υψηλού κινδύνου. Βέβαια, απαιτούνται και άλλες αντίστοιχες έρευνες με μεγαλύτερο πλήθος γυναικών για την επιβεβαίωση της παρατήρησης αυτής.

Στη συνέχεια, θα απεικονίσουμε τα TPF και τα FPF κατά την αντίστροφη του κάθε HPV τύπου σε μια συγκεντρωτική **ROC curve**. Ο Πίνακας 3.23 παρουσιάζει τα TPF και FPF ανά εξεταζόμενο HPV τύπο και η αντίστοιχη χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας (*ROC curve*) απεικονίζεται στην *Εικόνα 3.1*.

**Πίνακας 3.23:** TPF και FPF ανά εξεταζόμενο HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου.

	FPF	TPF
HPV 16	0,04	0,29
HPV 18	0,02	0,08
HPV 31	0,04	0,11
HPV 33	0,02	0,06
HPV 45	0,01	0,03
HPV 53	0,08	0,14



*Εικόνα 3.1:* ROC curve των HPV DNA τύπων πολύ υψηλού κινδύνου.

Από τη ROC curve συμπεραίνουμε ότι ο HPV 16 είναι ο πιο επικίνδυνος από τους εξεταζόμενους HPV τύπους επειδή βρίσκεται πιο πάνω και αριστερά από τους υπόλοιπους ή πιο μακριά από τη διαγώνιο κόκκινη γραμμή της τυχαίας μαντεψιάς. Οι τύποι που ακολουθούν κατά σειρά επικινδυνότητας είναι οι 53, 31, 18, 33 και 45.

### **3.2.3 NASBA mRNA test**

#### *3.2.3.1 Δυναμικό NASBA mRNA test*

Αρχικά, ας εξετάσουμε το NASBA mRNA test ως **δυναμικό** διαγνωστικό test εφαρμόζοντας τη γνωστή μέθοδο διχοτόμησης των αποτελεσμάτων του. Πιο συγκεκριμένα, θεωρήσαμε ότι το NASBA mRNA test δίνει είτε αρνητικό αποτέλεσμα

(κανένα εκφρασμένο mRNA τύπου HPV πολύ υψηλού κινδύνου) είτε θετικό (τουλάχιστον ένα mRNA τύπου HPV πολύ υψηλού κινδύνου).

Στη συνέχεια, υπολογίσαμε τα γνωστά στατιστικά μέτρα απόδοσης του NASBA mRNA test λαμβάνοντας υπόψη την **ιστολογική βιοψία** ως gold standard για την εξακρίβωση της ορθότητας των αποτελεσμάτων του. Προφανώς, διχοτομήσαμε αντίστοιχα και τα αποτελέσματα της βιοψίας: 181 αρνητικά (106 clinically negative και 75 negative) για αρνητικές βιοψίες και 319 θετικά για βιοψίες με οποιαδήποτε μορφή δυσπλασίας. Εκτός από τη δυαδική βιοψία, κάναμε ανάλυση και ως προς τη βιοψία που κατηγοριοποιεί τα θετικά αποτελέσματα. Αυτό μας βοήθησε να εκτιμήσουμε την αξία ενός αρνητικού test που αντιστοιχεί σε μεγάλο ποσοστό σε αρνητικές βιοψίες ή σε δυσπλασίες χαμηλού βαθμού.

Ο **δυαδικός πίνακας συνάφειας** των δεδομένων, που περιλαμβάνει τα επιμέρους αθροίσματα των γραμμών και των στηλών και το πλήθος του δείγματος, είναι:

**Πίνακας 3.24:** Πίνακας συνάφειας δυαδικού NASBA mRNA test.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
NASBA mRNA	Θετικό	143	12	155
	Αρνητικό	176	169	345
	Άθροισμα	319	181	500

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 143
- FP = 12
- TN = 169
- FN = 176
- sensitivity = 0,45 = 45% και TPF= 0,45
- specificity = 93% και FPF= 1-0,93 = 0,07
- accuracy = 62%
- precision = PPV = 92%
- NPV = 49%
- post-test odds (Y=1) = 11,92
- post-test odds (Y=0) = 1,04

- $LR^+ = 6,76$
- $LR^- = 0,59$
- $RR = 1,81$

Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι αν λάβουμε υπόψη το NASBA mRNA test ως ένα απλό δυαδικό test τότε η **απόδοσή** του κρίνεται **ικανοποιητική**. Επιτυγχάνει πολύ υψηλή ειδικότητα (93%) και θετική προγνωστική αξία (92%), μέτρα που είναι αρκετά μεγαλύτερα από τα αντίστοιχα του δυαδικού PAP test. Επίσης, παρουσιάζει ιδιαίτερος υψηλό post-test odds σε περίπτωση που είναι γνωστή η ύπαρξη κάποιας δυσπλασίας στη βιοψία (11,92). Επιπροσθέτως, σημειώνει μέτρια ευαισθησία (45%) και αρκετά καλή ορθότητα (62%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης τραχηλικών αλλοιώσεων, νούμερα που όμως είναι χαμηλότερα από τα αντίστοιχα του δυαδικού PAP test.

Στη συνέχεια, ας εξετάσουμε το δυαδικό NASBA mRNA test στα διάφορα **στάδια τραχηλικής δυσπλασίας της βιοψίας**. Σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.25.

**Πίνακας 3.25:** Πίνακας συνάφειας δυαδικού NASBA mRNA test στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				Άθροισμα
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	
NASBA mRNA	Θετικό	12	49	80	14	155
	Αρνητικό	169	148	24	4	345
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Αν εξετάσουμε τον παραπάνω πίνακα **κατά γραμμή**, διαπιστώνουμε ότι στις 155 περιπτώσεις θετικού NASBA mRNA, η παρουσία τουλάχιστον ενός mRNA τύπου πολύ υψηλού κινδύνου υποδηλώνει με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (52%) παρά χαμηλού (32%) βαθμού ή καρκίνου (9%). Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 92% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί πάρα πολύ το αρνητικό NASBA mRNA.

Αν αναλύσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 75% δεν εμφανίζει κάποιο mRNA υψηλού κινδύνου. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το ότι αρκετές φορές δεν έχουν προλάβει ακόμα να εκφραστούν σε ανιχνεύσιμα επίπεδα τα mRNA των HPV τύπων και εκφράζονται σε αργότερα στάδια τραχηλικής αλλοίωσης. Η πολύ σημαντική αυτή παρατήρηση επιβεβαιώνεται και από το

ότι στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, το NASBA mRNA ήταν θετικό κατά 77%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το NASBA mRNA ήταν θετικό κατά 78%!

Συνεπώς, το NASBA mRNA test δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρωταρχικό screening test αντικαθιστώντας το PAP, αλλά μπορεί να το **υποβοηθήσει** με πολύ μεγάλη επιτυχία σε συγκεκριμένες αλλοιώσεις. Ειδικότερα, το θετικό NASBA mRNA ανιχνεύει με πολύ μεγάλη πιθανότητα κατά σειρά υψηλού βαθμού δυσπλασία, χαμηλού αλλά και καρκίνου! Επίσης, το αρνητικό NASBA mRNA test επιβεβαιώνει σε πολύ μεγάλο ποσοστό την ύπαρξη αρνητικής βιοψίας ή το πολύ χαμηλού βαθμού δυσπλασίας.

Στη συνέχεια, θα αναλύσουμε το NASBA mRNA test, χωρίζοντας τα αποτελέσματά του **ανάλογα με τον τύπο HPV** πολύ υψηλού κινδύνου του οποίου το mRNA ανιχνεύεται στα διάφορα στάδια της βιοψίας. Έτσι, μπορούμε να δώσουμε ορισμένες βοηθητικές απαντήσεις στο PAP test, που όπως αποδείξαμε παρουσιάζει σημαντικά ποσοστά εσφαλμένης διάγνωσης. Αυτό επιχειρείται στο υποκεφάλαιο 3.2.3.2.

#### 3.2.3.2 *NASBA mRNA test ανά HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου*

Στο υποκεφάλαιο αυτό, εξετάζουμε την εμφάνιση του mRNA κάθε HPV τύπου πολύ υψηλού κινδύνου ξεχωριστά (N16,N18,N31,N33,N45). Έτσι, επιθυμούμε να προσδιορίσουμε τα **ποσοστά εμφάνισης συγκεκριμένης τραχηλικής δυσπλασίας** ανάλογα με την παρουσία του mRNA ενός συγκεκριμένου τύπου πολύ υψηλού κινδύνου.

Η **μεθοδολογία** για κάθε τύπο ορίζει το δυαδικό test να θεωρείται θετικό όταν ο τύπος είναι υπαρκτός και αρνητικό όταν απουσιάζει. Η δυαδική βιοψία είναι αρνητική για φυσιολογικούς τραχήλους και θετική για ύπαρξη μιας οποιασδήποτε αλλοίωσης. Εκτός από τη δυαδική βιοψία, κάναμε ανάλυση και ως προς τη βιοψία που κατηγοριοποιεί τα θετικά αποτελέσματα. Αυτό μας βοήθησε να εκτιμήσουμε την αξία ενός αρνητικού test που αντιστοιχεί σε μεγάλο ποσοστό σε αρνητικές βιοψίες ή σε δυσπλασίες χαμηλού βαθμού.

Να σημειωθεί ότι τα παρακάτω αποτελέσματα δεν είναι ιδιαίτερα πληροφοριακά όταν χρησιμοποιούνται από μόνα τους, καθώς η ύπαρξη ενός μόνο τύπου δεν μπορεί να οδηγήσει από μόνη της στην ανίχνευση δυσπλασιών. Συνήθως απαιτούνται περισσότεροι του ενός τύπου. Έτσι, εξηγούνται και τα πολύ μικρά ποσοστά ευαισθησίας που παρουσιάζουν οι τύποι όταν εξετάζονται μόνοι τους. Δηλαδή, ακόμα και αν δεν εμφανίζεται κάποιος τύπος (ακόμα και ο πλέον επικίνδυνος τύπος 16), μπορεί να

εμφανιστεί δυσπλασία λόγω παρουσίας κάποιου άλλου. Περισσότερο χρησιμοποιούνται κατά το συνδυασμό των screening tests (υποκεφάλαιο 3.2.7). Παρ' όλα αυτά, η **ξεχωριστή ανάλυση ανά τύπο** δίνει πολύτιμες πληροφορίες για την επιμέρους δυναμική του στην πρόκληση δυσπλασίας.

### N16

Σχηματίζουμε το **δυναμικό πίνακα συνάφειας** (Πίνακας 3.26) του N16 (ή αλλιώς το mRNA του HPV 16) έναντι της δυναμικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.26:** Δυναμικός πίνακας συνάφειας του N16.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
N16	Θετικό	91	3	94
	Αρνητικό	228	178	406
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.26 αν τον αναλύσουμε **κατά γραμμή**, σε 94 περιπτώσεις θετικού N16 εξασφαλίζεται κατά 97% (91/94) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό N16 δεν δίνει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του N16 κατά 71%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον N16 κατά 98%, που είναι πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 91
- FP = 3
- TN = 178
- FN = 228
- sensitivity = 0,29 = 29% και TPF= 0,29
- specificity = 98% και FPF= 1-0,98 = 0,02
- accuracy = 54%
- precision = PPV = 97%
- NPV = 44%

- post-test odds (Y=1) = 30,33
- post-test odds (Y=0) = 1,28
- $LR^+ = 17,21$
- $LR^- = 0,73$
- $RR = 1,72$

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (98%) αλλά και η πολύ υψηλή θετική προγνωστική αξία (97%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού N16**. Επίσης, δίνει πολύ υψηλό post-test odds σε περίπτωση που είναι γνωστή η ύπαρξη κάποιας δυσπλασίας στη βιοψία (30,33) και πολύ υψηλό θετικό διαγνωστικό λόγο πιθανοτήτων (17,21). Τέλος, σημειώνει μέτρια ευαισθησία (29%) και μέτρια ορθότητα (54%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης αλλοιώσεων.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον *Πίνακα 3.27* όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του N16 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.27:** Πίνακας συνάφειας του N16 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
N16	Θετικό	3	24	54	13	94
	Αρνητικό	178	173	50	5	406
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.27 κατά γραμμή*, διαπιστώνουμε ότι η παρουσία του N16 υποδηλώνει με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (57%) παρά χαμηλού (26%) βαθμού. Επιπροσθέτως, το θετικό N16 υποδηλώνει καρκίνο κατά 14% που είναι ένα αρκετά υψηλό ποσοστό. Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 86% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό N16.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 88% δεν εμφανίζει τον N16. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η παρουσία και η απουσία του HPV 16 είναι σχεδόν μοιρασμένη (52% και 48%) και άρα μη πληροφοριακή. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το N16 ήταν θετικό κατά 72%! Αυτό αποδεικνύει, *πάλι*, τη διαγνωστική δύναμη του N16 όσον αφορά τον καρκίνο.

Συνεπώς, μπορούμε να πούμε ότι ο N16 είναι *πάρα πολύ επικίνδυνος* αφού η εμφάνιση του είναι ιδιαίτερα συχνή (94 θετικά) και η παρουσία του οδηγεί με πολύ μεγάλη πιθανότητα σε υψηλού και χαμηλού βαθμού δυσπλασία καθώς και σε καρκίνο.

## N18

Σχηματίζουμε το **δυναμικό πίνακα συνάφειας** (Πίνακας 3.28) του N18 έναντι της δυναμικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.28:** Δυναμικός πίνακας συνάφειας του N18.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
N18	Θετικό	18	1	19
	Αρνητικό	301	180	481
	Άθροισμα	319	181	500

Αν αναλύσουμε τον Πίνακα 3.28 **κατά γραμμή**, σε 19 περιπτώσεις θετικού N18 εξασφαλίζεται κατά 95% (18/19) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό N18 δεν δίνει ασφαλές συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του N18 κατά 94%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον N18 κατά 99%, που είναι πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 18
- FP = 1
- TN = 180
- FN = 301
- sensitivity = 0,06 = 6% και TPF= 0,06
- specificity = 99% και FPF= 1-0,99 = 0,01
- accuracy = 40%
- precision = PPV = 95%
- NPV = 37%
- post-test odds (Y=1) = 18,0
- post-test odds (Y=0) = 1,67
- $LR^+ = 10,21$
- $LR^- = 0,95$
- RR = 1,51



Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (99%) και η πολύ υψηλή θετική προγνωστική αξία (95%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού N18**. Επίσης, παρουσιάζει πολύ υψηλό post-test odds σε περίπτωση που είναι γνωστή η ύπαρξη κάποιας δυσπλασίας στη βιοψία (18,0) και πολύ υψηλό θετικό διαγνωστικό λόγο πιθανοτήτων (10,21). Τέλος, σημειώνει χαμηλή ευαισθησία (6%) και μέτρια ορθότητα (40%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης αλλοιώσεων.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον *Πίνακα 3.29* όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του N18 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.29:** Πίνακας συνάφειας του N18 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
N18	Θετικό	1	10	8	0	19
	Αρνητικό	180	187	96	18	481
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.29 κατά γραμμή*, διαπιστώνουμε ότι η παρουσία του N18 υποδηλώνει με λίγο μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας χαμηλού (53%) απ' ότι υψηλού (42%) βαθμού και ποτέ καρκίνου. Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 76% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό N18.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 95% δεν εμφανίζει τον N18. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του N18 παρατηρείται κατά 92%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου το N18 ήταν αρνητικό κατά 100%.

Συνεπώς, μπορούμε να πούμε ότι ο N18 δεν είναι τόσο επικίνδυνος (όσο ο N16 για παράδειγμα), αφού εμφανίζεται πιο σπάνια (19 θετικά) και η παρουσία του οδηγεί κυρίως σε χαμηλού και υψηλού βαθμού δυσπλασία και ποτέ σε καρκίνο.

### N31

Σχηματίζουμε το **δυναδικό πίνακα συνάφειας** (*Πίνακας 3.30*) του N31 έναντι της δυαδικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.30:** Δυαδικός πίνακας συνάφειας του N31.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
N31	Θετικό	27	5	32
	Αρνητικό	292	176	468
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω Πίνακα 3.30 αν τον αναλύσουμε **κατά γραμμή**, σε 32 περιπτώσεις θετικού N31 εξασφαλίζεται κατά 84% (27/32) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό N31 δεν δίνει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του N31 κατά 92%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον N31 κατά 97%, που είναι πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 27
- FP = 5
- TN = 176
- FN = 292
- sensitivity = 0,08 = 8% και TPF= 0,08
- specificity = 97% και FPF= 1-0,97 = 0,03
- accuracy = 41%
- precision = PPV = 84%
- NPV = 38%
- post-test odds (Y=1) = 5,40
- post-test odds (Y=0) = 1,66
- $LR^+ = 3,06$
- $LR^- = 0,94$
- RR = 1,35

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (97%) αλλά και η υψηλή θετική προγνωστική αξία (84%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού N31**. Επιπροσθέτως, σημειώνει χαμηλή ευαισθησία (8%) και μέτρια ορθότητα (41%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης τραχηλικών αλλοιώσεων.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.31 όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του N31 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.31:** Πίνακας συνάφειας του N31 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
N31	Θετικό	5	10	17	0	32
	Αρνητικό	176	187	87	18	468
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον Πίνακα 3.31 **κατά γραμμή**, διαπιστώνουμε ότι η παρουσία του N31 υποδηλώνει με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (53%) παρά χαμηλού (31%) βαθμού και ποτέ καρκίνου. Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 78% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό N31.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 95% δεν εμφανίζει τον N31. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του N31 παρατηρείται κατά 84%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το N31 ήταν αρνητικό στο 100%.

Συνεπώς, ο N31 δεν είναι τόσο επικίνδυνος (όσο ο N16) αφού η παρουσία του οδηγεί κυρίως σε χαμηλού και υψηλού βαθμού δυσπλασία και ποτέ σε καρκίνο. Βέβαια, αξίζει να τονιστεί ότι είναι πιο συχνός (32 θετικά) και πιο επικίνδυνος από τον N18, ιδιαίτερα στην πρόκληση υψηλού βαθμού δυσπλασίας. Οι τρεις προαναφερθέντες τύποι (16,18,31) θεωρούνται οι πλέον επικίνδυνοι από τους τύπους πολύ υψηλού κινδύνου.

### N33

Σχηματίζουμε το **δυναδικό πίνακα συνάφειας** (Πίνακας 3.32) του N33 έναντι της δυναδικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.32:** Δυναδικός πίνακας συνάφειας του N33.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
N33	Θετικό	14	1	15
	Αρνητικό	305	180	485
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.32 αν τον αναλύσουμε **κατά γραμμή**, σε 15 περιπτώσεις θετικού N33 εξασφαλίζεται κατά 93% (14/15) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό N33 δεν δίνει κάποιο άμεσο συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του N33 κατά 96%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον N33 κατά 99%, που είναι επίσης πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 14
- FP = 1
- TN = 180
- FN = 305
- sensitivity = 0,04 = 4% και TPF= 0,04
- specificity = 99% και FPF= 1-0,99 = 0,01
- accuracy = 39%
- precision = PPV = 93%
- NPV = 37%
- post-test odds (Y=1) = 14,00
- post-test odds (Y=0) = 1,69
- $LR^+ = 7,94$
- $LR^- = 0,96$
- RR = 1,48

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (99%) και η πολύ υψηλή θετική προγνωστική αξία (93%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού N33**. Επίσης, παρουσιάζει πολύ υψηλό post-test odds σε περίπτωση που είναι γνωστή η ύπαρξη κάποιας δυσπλασίας στη βιοψία (14,00) και υψηλό θετικό διαγνωστικό λόγο πιθανοτήτων (7,94). Τέλος, σημειώνει αρκετά χαμηλή ευαισθησία (4%) και μέτρια ορθότητα (39%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης αλλοιώσεων.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.33 όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του N33 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.33:** Πίνακας συνάφειας του N33 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
N33	Θετικό	1	4	9	1	15
	Αρνητικό	180	193	95	17	485
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον *Πίνακα 3.33 κατά γραμμή*, η παρουσία του N33 υποδηλώνει με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (60%) παρά χαμηλού (27%) βαθμού ή καρκίνου (7%). Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 77% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό N33.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα *κατά στήλη*, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 98% δεν εμφανίζει τον N33. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του N33 παρατηρείται κατά 91%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το N33 ήταν θετικό στο 6%.

Συνεπώς, ο N33 είναι αρκετά επικίνδυνος αφού παρά το γεγονός ότι δεν εμφανίζεται πολύ συχνά (15 θετικά), η παρουσία του οδηγεί με μεγάλη πιθανότητα κατά σειρά σε υψηλού βαθμού δυσπλασία, χαμηλού βαθμού και καρκίνο.

#### N45

Σχηματίζουμε το **δυναδικό πίνακα συνάφειας** (*Πίνακας 3.34*) του N45 έναντι της δυναδικής ιστολογικής βιοψίας.

**Πίνακας 3.34:** Δυναδικός πίνακας συνάφειας του N45.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
N45	Θετικό	11	3	14
	Αρνητικό	308	178	486
	Άθροισμα	319	181	500

Όπως φαίνεται από τον *Πίνακα 3.34* αν τον αναλύσουμε *κατά γραμμή*, σε μόλις 14 περιπτώσεις θετικού N45 εξασφαλίζεται κατά 79% (11/14) η ύπαρξη μιας οποιασδήποτε δυσπλασίας στη βιοψία. Αντίθετα, το αρνητικό N45 δεν δίνει κάποιο άμεσο συμπέρασμα για την ύπαρξη αλλοίωσης.

Αναλύοντας τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, μια θετική βιοψία δεν συνοδεύεται από την παρουσία του N45 κατά 97%! Βέβαια, μια αρνητική βιοψία δεν εμφανίζει τον N45 κατά 98%, που είναι επίσης πολύ υψηλό.

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 11
- FP = 3
- TN = 178
- FN = 308
- sensitivity = 0,03 = 3% και TPF= 0,03
- specificity = 98% και FPF= 1-0,98 = 0,02
- accuracy = 38%
- precision = PPV = 79%
- NPV = 37%
- post-test odds (Y=1) = 3,67
- post-test odds (Y=0) = 1,73
- LR<sup>+</sup> = 2,08
- LR<sup>-</sup> = 0,98
- RR = 1,24

Η σχεδόν άριστη ειδικότητα (98%) αλλά και η αρκετά υψηλή θετική προγνωστική αξία (79%) αποδεικνύουν τη **δύναμη του θετικού N16**.

Στη συνέχεια, σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.35 όπου εξετάζεται με αριθμητικό τρόπο η παρουσία του N45 στις τέσσερις κατηγορίες της βιοψίας.

**Πίνακας 3.35:** Πίνακας συνάφειας του N45 στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
N45	Θετικό	3	5	5	1	14
	Αρνητικό	178	192	99	17	486
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Εξετάζοντας τον Πίνακα 3.35 **κατά γραμμή**, η παρουσία του N45 υποδηλώνει ισοπίθανα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού και χαμηλού βαθμού (36%) και καρκίνο κατά

7%. Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 76% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί το αρνητικό N45.

Αν εξετάσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 97% δεν εμφανίζει τον N45. Στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η απουσία του N45 παρατηρείται στο 95%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το N45 ήταν θετικό κατά 6%.

Συνεπώς, ο N45 εμφανίζεται αρκετά σπάνια (μόλις 14 θετικά) αλλά η παρουσία του είναι αρκετά κρίσιμη αφού οδηγεί με ίσες πιθανότητες σε δυσπλασία χαμηλού και υψηλού βαθμού και αρκετά συχνά σε καρκίνο.

Σε αυτό το σημείο, αξίζει να αναφερθούμε σε κάτι που μας απασχόλησε μόνο κατά την επεξεργασία των δεδομένων του τύπου HPV 45. Πιο συγκεκριμένα, λάβαμε ένα περίεργο αποτέλεσμα όσον αφορά το **πλήθος των DNA και των mRNA του τύπου 45** στις γυναίκες που συμμετείχαν. Το HPV DNA 45 ανιχνεύθηκε σε 9 γυναίκες, ενώ το NASBA mRNA 45 σε 14 περιπτώσεις! Αφού το mRNA προέρχεται ύστερα από τη μεταγραφή του DNA, δεν είναι λογικό να έχουμε περισσότερα mRNA από DNA. Η παρατήρηση αυτή δεν μοιάζει τόσο παράλογη αν λάβουμε υπόψη το μικρό νούμερο εμφάνισης του τύπου 45. Δηλαδή, το πλήθος των ανιχνεύσιμων DNA και mRNA του τύπου 45 είναι αρκετά μικρό ώστε να επηρεάζεται από τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα του NASBA mRNA, από τη χαμηλή ειδικότητα του HPV DNA και από τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα του HPV DNA [60].

Στους υπόλοιπους τύπους, συναντήσαμε λιγότερα mRNA από τα αντίστοιχα DNA. Το γεγονός ότι τα μετρούμενα θετικά mRNA είναι ένα μέρος των μετρούμενων DNA, εξηγείται από το ότι σε κάποιες γυναίκες δεν μεταγράφεται και δεν εκφράζεται το DNA του ιού HPV. Συνεπώς, σε αυτές τις περιπτώσεις δεν υπάρχει άμεσος κίνδυνος ανάπτυξης τραχηλικής αλλοίωσης, απλά οι γυναίκες αυτές χαρακτηρίζονται ως **φορείς του HPV** [60].

Βέβαια, εδώ πρέπει να σημειώσουμε ότι το HPV DNA test που χρησιμοποιήσαμε ανιχνεύει 35 HPV τύπους, ενώ το NASBA mRNA test μόλις 5 τύπους. Αυτό οδηγεί το NASBA mRNA test συνήθως σε μικρότερη ευαισθησία (λιγότερα αληθώς θετικά αποτελέσματα) αλλά και σε μεγαλύτερη ειδικότητα (λιγότερα ψευδώς θετικά). Μια πρόκληση για **μελλοντική έρευνα** αποτελεί και η προσπάθεια για ένταξη κι άλλων τύπων στην ανίχνευση του NASBA mRNA, με σκοπό την αύξηση της ευαισθησίας του αλλά χωρίς τη μεγάλη μείωση της ειδικότητάς του (παρόλο που μια μείωσή της είναι αναμενόμενη και αποδεκτή) [60].

Σύγκριση mRNA τύπων HPV πολύ υψηλού κινδύνου

Για να δούμε ποιοι από τους τύπους που αναλύθηκαν παραπάνω είναι οι πλέον επικίνδυνοι, θα χρησιμοποιήσουμε την **αναλογία πιθανοτήτων** (*odds ratio*) και τη **ROC curve**. Αυτά θα μας βοηθήσουν να βρούμε τα mRNA των HPV τύπων που οδηγούν σε μια οποιαδήποτε μορφή τραχηλικής δυσπλασίας με μεγαλύτερη επικινδυνότητα.

Αρχικά, θα εφαρμόσουμε τον τύπο της αναλογίας πιθανοτήτων σε κάθε πιθανό ζευγάρι που σχηματίζεται μεταξύ των mRNA των τύπων 16,18,31,33 και 45. Προφανώς, θα λάβουμε υπόψη τις **δυναδικές μορφές** τους γιατί μόνο τότε εφαρμόζεται η αναλογία πιθανοτήτων. Επίσης, θα χρησιμοποιηθούν μόνο οι 319 περιπτώσεις της θετικής βιοψίας (ύπαρξη οποιασδήποτε τραχηλικής δυσπλασίας) διότι θέλουμε να συγκρίνουμε την επικινδυνότητα κατά την εύρεση δυσπλασίας.

Έτσι, για κάθε ζευγάρι HPV τύπων X,Y υπολογίζεται ο παρακάτω λόγος **o(X,Y)**:

	Y = 1	Y = 0
X = 1	$p_{11} / (p_{11} + p_{10})$	$p_{10} / (p_{11} + p_{10})$
X = 0	$p_{01} / (p_{01} + p_{00})$	$p_{00} / (p_{01} + p_{00})$

$$\frac{p_{11}/(p_{11} + p_{10})}{p_{10}/(p_{11} + p_{10})} \bigg/ \frac{p_{01}/(p_{01} + p_{00})}{p_{00}/(p_{01} + p_{00})} = \frac{p_{11}p_{00}}{p_{10}p_{01}}$$

Προς αυτήν την κατεύθυνση, δημιουργήσαμε τον παρακάτω Πίνακα 3.36 στον οποίο κάθε γραμμή αντιπροσωπεύει το αντίστοιχο mRNA του τύπου X του ζευγαριού και κάθε στήλη το αντίστοιχο mRNA του τύπου Y του ζευγαριού. Τα στοιχεία του πίνακα είναι η αναλογία πιθανοτήτων του ζευγαριού των τύπων X και Y.

**Πίνακας 3.36:** Σύγκριση mRNA των HPV τύπων πολύ υψηλού κινδύνου με αναλογία πιθανοτήτων.

		mRNA τύπος Y				
		N16	N18	N31	N33	N45
mRNA τύπος X	N16	1	6,67	4,32	8,7	11,18
	N18	0,15	1	0,65	1,3	1,67
	N31	0,23	1,55	1	2,01	2,59
	N33	0,12	0,77	0,5	1	1,29
	N45	0,09	0,6	0,39	0,78	1



Αυτό που **παρατηρούμε** ευθύς εξαρχής στον εν λόγω τετραγωνικό πίνακα είναι ότι τα διαγώνια στοιχεία είναι όλα ίσα με 1, κάτι απολύτως λογικό αφού αντιπροσωπεύουν την αναλογία πιθανοτήτων των ζευγαριών που αποτελούνται από τον ίδιο HPV τύπο. Οπότε, ισχύει:  $o(16,16) = o(18,18) = o(31,31) = o(33,33) = o(45,45) = 1$ . Επίσης, παρατηρείται μια συμμετρία μεταξύ των στοιχείων που βρίσκονται σε κατοπτρική θέση ως προς τη διαγώνιο, αφού το ένα είναι αντίστροφο του άλλου. Για παράδειγμα, ισχύει:

$$o(45,31) = 0,39 = \frac{1}{2,59} = \frac{1}{o(31,45)}$$

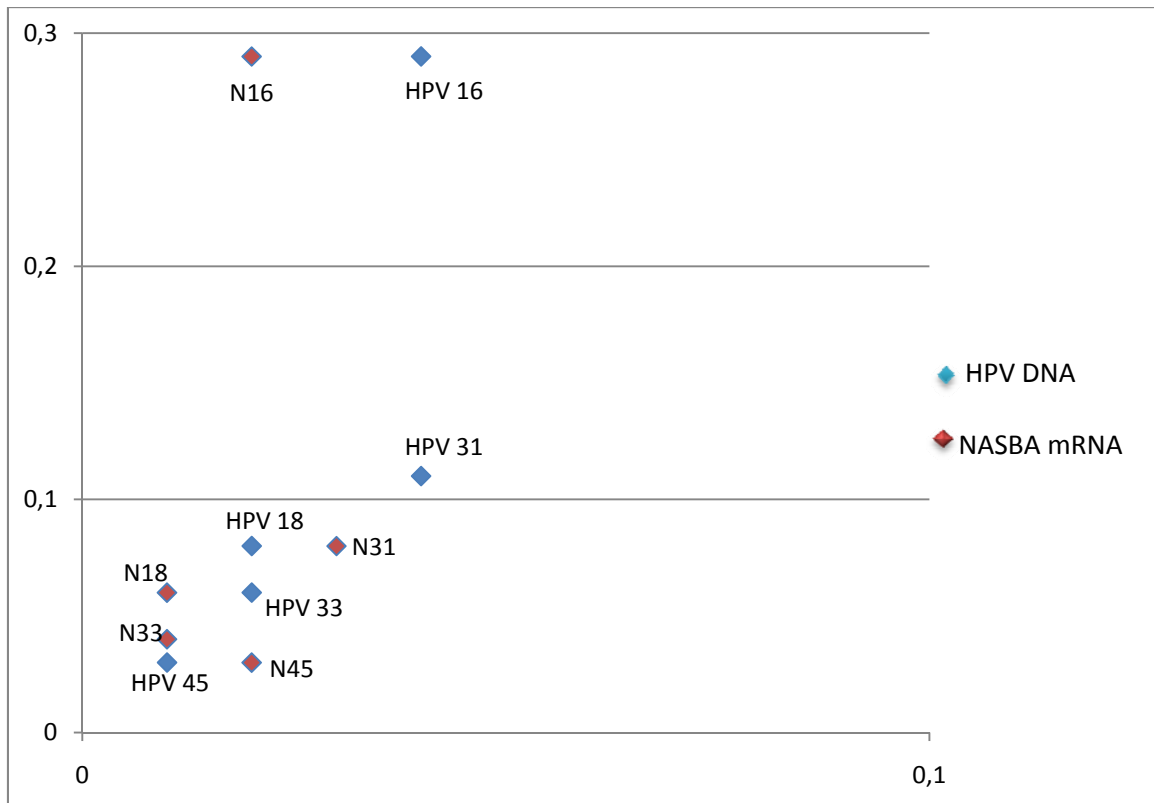
Όσον αφορά την **ποιοτική σύγκριση** της επίδρασης του κάθε τύπου στην πρόκληση τραχηλικής δυσπλασίας, παρατηρούμε ότι ο N16 είναι με διαφορά ο πιο επικίνδυνος τύπος από όλους. Στη συνέχεια, ακολουθούν κατά σειρά επικινδυνότητας ο 31, ο 18 και ο 33. Ο λιγότερο επικίνδυνος είναι ο N45 αφού παρουσιάζει αισθητά χαμηλότερα ποσοστά εμφάνισης απ' όλους τους άλλους.

Από τον *Πίνακα 3.36* προκύπτουν, δηλαδή, πολύ χρήσιμα συμπεράσματα για την επίδραση του καθενός τύπου ξεχωριστά. Παρ' όλα αυτά, δεν πρέπει να ξεχνάμε το γεγονός ότι οι δυσπλασίες τις περισσότερες φορές εμφανίζονται με **συνδυασμό** περισσότερων του ενός τύπου και δεν αρκεί ή γνώση της ύπαρξης ή της απουσίας ενός εξ' αυτών (ακόμα και του 16) για μια έγκυρη διάγνωση. Έτσι εξηγείται και η πολύ χαμηλή ευαισθησία που παρουσιάζουν. Επίσης, το **πλήθος των εξεταζόμενων γυναικών** δεν είναι ιδιαίτερα μεγάλο (500 στο σύνολο και 319 με θετική βιοψία), οπότε απαιτούνται και άλλες αντίστοιχες έρευνες με μεγαλύτερο πλήθος γυναικών για την επιβεβαίωση των παραπάνω παρατηρήσεων.

Στη συνέχεια, θα απεικονίσουμε τα TPF και τα FPF κατά την ανίχνευση του mRNA κάθε HPV τύπου σε μια συγκεντρωτική **ROC curve**. Ο *Πίνακας 3.37* παρουσιάζει τα TPF και FPF ανά εξεταζόμενο HPV τύπο και η αντίστοιχη χαρακτηριστική καμπύλη λειτουργίας (*ROC curve*) απεικονίζεται στην *Εικόνα 3.2*.

**Πίνακας 3.37:** TPF και FPF ανά εξεταζόμενο HPV τύπο πολύ υψηλού κινδύνου.

	FPF	TPF
N16	0,02	0,29
N18	0,01	0,06
N31	0,03	0,08
N33	0,01	0,04
N45	0,02	0,03



**Εικόνα 3.2:** ROC curve των HPV DNA και mRNA τύπων πολύ υψηλού κινδύνου.

Στην παραπάνω **ROC curve**, έχουν απεικονιστεί όχι μόνο τα mRNA των τύπων πολύ υψηλού κινδύνου αλλά και τα DNA τους που βρέθηκαν στο προηγούμενο υποκεφάλαιο. Καταρχάς, συμπεραίνουμε ότι ο N16 είναι ο πιο επικίνδυνος από τους εξεταζόμενους τύπους επειδή βρίσκεται πιο πάνω και αριστερά από τους υπόλοιπους ή αλλιώς πιο μακριά από τη διαγώνιο κόκκινη γραμμή της “τυχαίας μαντεψιάς”. Οι τύποι που ακολουθούν κατά σειρά επικινδυνότητας είναι οι N31, N18, N33 και N45. Επίσης, η απεικόνιση της εμφάνισης και των HPV DNA των αντίστοιχων τύπων, μας δίνει ένα πάρα πολύ σημαντικό συμπέρασμα: τα mRNA των τύπων παρουσιάζουν αισθητά μεγαλύτερη ειδικότητα (λιγότερα FPF) και ίση ή ελαφρώς μικρότερη ευαισθησία (TPF) από τα αντίστοιχα DNA. Εξαιρέση, αποτελεί ο λιγότερο επικίνδυνος τύπος 45 όπου το HPV DNA 45 είναι το ίδιο ευαίσθητο αλλά περισσότερο ειδικό από το N45.

### 3.2.4 p16 test

Σε αυτό το υποκεφάλαιο, θα εξετάσουμε το p16 test ως **δυναδικό** test εφαρμόζοντας τη μέθοδο διχοτόμησης των αποτελεσμάτων του. Θεωρήσαμε ότι το p16 δίνει είτε

αρνητικό αποτέλεσμα (ασήμαντη έκφραση της p16 πρωτεΐνης) είτε θετικό (σημαντική έκφραση της p16). Υπολογίσαμε τα στατιστικά μέτρα απόδοσης του p16 λαμβάνοντας υπόψη τη βιοψία ως gold standard για την εξακρίβωση των αποτελεσμάτων του. Αρχικά διχοτομήσαμε τα αποτελέσματα της βιοψίας σε 181 αρνητικά (106 clinically negative και 75 negative) για αρνητικές βιοψίες και 319 θετικά για βιοψίες με οποιαδήποτε μορφή δυσπλασίας και ύστερα ταξινομήσαμε τις βιοψίες στις τέσσερις γνωστές κατηγορίες.

Ο **δυναδικός πίνακας συνάφειας** των δεδομένων, που περιλαμβάνει τα επιμέρους αθροίσματα των γραμμών και των στηλών και το πλήθος του δείγματος, είναι:

**Πίνακας 3.38:** Δυναδικός πίνακας συνάφειας του p16 test.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
p16	Θετικό	88	2	90
	Αρνητικό	231	179	410
	Άθροισμα	319	181	500

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 88
- FP = 2
- TN = 179
- FN = 231
- sensitivity = 0,28 = 28% και TPF= 0,28
- specificity = 99% και FPF= 1-0,99 = 0,01
- accuracy = 53%
- precision = PPV = 98%
- NPV = 44%
- post-test odds (Y=1) = 44,00
- post-test odds (Y=0) = 1,29
- $LR^+ = 24,97$
- $LR^- = 0,73$
- RR = 1,74

Τα παραπάνω αποτελέσματα, δείχνουν ότι το p16 επιτυγχάνει πολύ υψηλή ειδικότητα (99%) και θετική προγνωστική αξία (98%), που είναι αρκετά μεγαλύτερα από

τα αντίστοιχα του δυαδικού PAP test. Επίσης, παρουσιάζει πάρα πολύ υψηλό post-test odds όταν είναι γνωστή η ύπαρξη κάποιας δυσπλασίας στη βιοψία (44,00) και πάρα πολύ υψηλό θετικό διαγνωστικό λόγο πιθανοτήτων (24,97). Βέβαια, σημειώνει χαμηλή ευαισθησία (28%) και μέτρια ορθότητα (53%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης αλλοιώσεων.

Στη συνέχεια, ας εξετάσουμε το p16 test στα διάφορα **στάδια τραχηλικής δυσπλασίας της βιοψίας**. Σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.39.

**Πίνακας 3.39:** Πίνακας συνάφειας του p16 test στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
p16	Θετικό	2	24	54	10	90
	Αρνητικό	179	173	50	8	410
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Αν εξετάσουμε τον παραπάνω πίνακα **κατά γραμμή**, διαπιστώνουμε ότι στις 90 περιπτώσεις θετικού p16, η παρουσία της p16 πρωτεΐνης υποδηλώνει με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (60%) παρά χαμηλού (27%) βαθμού ή καρκίνου (11%). Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 86% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί πάρα πολύ το αρνητικό p16. Αυτό το συμπέρασμα δεν το λάβαμε πριν (στο δυαδικό πίνακα) γιατί δεν ταξινομήσαμε τις θετικές βιοψίες.

Αν αναλύσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 88% δεν εμφανίζει την p16. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το ότι αρκετές φορές δεν έχει προλάβει ακόμα να εκφραστεί σε ανιχνεύσιμα επίπεδα η συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Η πολύ σημαντική αυτή παρατήρηση επιβεβαιώνεται και από το ότι στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, το p16 ήταν θετικό μόλις κατά 52%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το p16 ήταν θετικό κατά 56%!

Συνεπώς, το p16 test δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρωταρχικό screening test αντικαθιστώντας το PAP, αλλά μπορεί να το **υποβοηθήσει** με πολύ μεγάλη επιτυχία σε συγκεκριμένες αλλοιώσεις κατά το συνδυασμό των screening tests, που θα αναλυθεί εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 3.2.7. Ειδικότερα, το θετικό p16 ανιχνεύει με πολύ μεγάλη πιθανότητα κατά σειρά υψηλού βαθμού δυσπλασία, χαμηλού αλλά και καρκίνου! Επίσης, το αρνητικό p16 test επιβεβαιώνει σε πολύ μεγάλο ποσοστό την ύπαρξη αρνητικής βιοψίας ή το πολύ χαμηλού βαθμού δυσπλασίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι το p16 και το N16 (NASBA mRNA του τύπου 16) δώσανε σχεδόν ταυτόσημα αποτελέσματα.

### 3.2.5 Flow Cytometry test

Σε αυτό το υποκεφάλαιο, θα εξετάσουμε το Flow Cytometry test ως **δυναμικό** διαγνωστικό test εφαρμόζοντας τη γνωστή μέθοδο διχοτόμησης των αποτελεσμάτων του. Πιο συγκεκριμένα, θεωρήσαμε ότι το Flow Cytometry test δίνει είτε αρνητικό αποτέλεσμα (ασήμαντη έκφραση του mRNA των ογκογονικών περιοχών του HPV) είτε θετικό (σημαντική έκφραση του mRNA). Στη συνέχεια, υπολογίσαμε τα γνωστά στατιστικά μέτρα απόδοσης του Flow Cytometry test λαμβάνοντας υπόψη την ιστολογική βιοψία ως gold standard για την εξακρίβωση της ορθότητας των αποτελεσμάτων του. Αρχικά, διχοτομήσαμε τα αποτελέσματα της βιοψίας σε 181 αρνητικά (106 clinically negative και 75 negative) για αρνητικές βιοψίες και 319 θετικά για βιοψίες με οποιαδήποτε μορφή δυσπλασίας και ύστερα αφήσαμε τις βιοψίες στις τέσσερις γνωστές κατηγορίες.

Ο **δυναμικός πίνακας συνάφειας** των δεδομένων, που περιλαμβάνει τα επιμέρους αθροίσματα των γραμμών και των στηλών και το πλήθος του δείγματος, είναι:

**Πίνακας 3.40:** Δυναμικός πίνακας συνάφειας του Flow Cytometry test.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
Flow Cytometry	Θετικό	149	22	171
	Αρνητικό	170	159	329
	Άθροισμα	319	181	500

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 149
- FP = 22
- TN = 159
- FN = 170
- sensitivity = 0,47 = 47% και TPF= 0,47
- specificity = 88% και FPF= 1-0,88 = 0,12
- accuracy = 62%
- precision = PPV = 87%
- NPV = 48%
- post-test odds (Y=1) = 6,77

- post-test odds (Y=0) = 1,07
- $LR^+ = 3,84$
- $LR^- = 0,61$
- $RR = 1,69$

Τα παραπάνω αποτελέσματα, δείχνουν ότι το Flow Cytometry test επιτυγχάνει αρκετά υψηλή ειδικότητα (88%) και θετική προγνωστική αξία (87%), μέτρα που είναι λίγο μεγαλύτερα από τα αντίστοιχα του δυαδικού PAP test. Επίσης, παρουσιάζει αρκετά υψηλό post-test odds σε περίπτωση που είναι γνωστή η ύπαρξη κάποιας δυσπλασίας στη βιοψία (6,77). Βέβαια, σημειώνει μέτρια ευαισθησία (47%) και ορθότητα (62%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης τραχηλικών αλλοιώσεων, νούμερα που είναι χαμηλότερα από τα αντίστοιχα του δυαδικού PAP test.

Στη συνέχεια, ας εξετάσουμε το Flow Cytometry test στα διάφορα **στάδια τραχηλικής δυσπλασίας της βιοψίας**. Σχηματίζουμε τον Πίνακα 3.41.

**Πίνακας 3.41:** Πίνακας συνάφειας του Flow Cytometry test στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				Άθροισμα
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	
Flow Cytometry	Θετικό	22	69	67	13	171
	Αρνητικό	159	128	37	5	329
	Άθροισμα	181	197	104	18	500

Αν εξετάσουμε τον παραπάνω πίνακα **κατά γραμμή**, διαπιστώνουμε ότι στις 171 περιπτώσεις θετικού Flow Cytometry, η εμφάνιση του mRNA υποδηλώνει σχεδόν ισοπίθανα την ύπαρξη δυσπλασίας υψηλού (39%) και χαμηλού (40%) βαθμού και καρκίνο κατά 8%. Η απουσία του αντιστοιχεί κατά 87% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί αρκετά το αρνητικό Flow Cytometry. Αυτό το συμπέρασμα δεν το λάβαμε πριν (στο δυαδικό πίνακα) γιατί δεν ταξινομήσαμε τις θετικές βιοψίες.

Αν αναλύσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 197 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 65% δεν εμφανίζει κάποιο mRNA υψηλού κινδύνου. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το ότι αρκετές φορές δεν έχει προλάβει ακόμα να εκφραστεί σε ανιχνεύσιμα επίπεδα η συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Η πολύ σημαντική αυτή παρατήρηση επιβεβαιώνεται και από το ότι στις 104 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, το Flow Cytometry ήταν θετικό κατά

64%. Τέλος, στις 18 περιπτώσεις καρκίνου, το Flow Cytometry ήταν θετικό κατά 72%! Τα παραπάνω νούμερα, που προκύπτουν από την ανά στήλη ανάλυση, είναι αρκετά καλά, κάτι που υποδηλώνει τη σημαντικότητα της εφαρμογής του Flow Cytometry κατά την ανίχνευση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Συνεπώς, το Flow Cytometry test ίσως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρωταρχικό screening test αντικαθιστώντας το PAP. Σίγουρα, μπορεί να το **υποβοηθήσει** με πολύ μεγάλη επιτυχία σε συγκεκριμένες αλλοιώσεις κατά το συνδυασμό των screening tests, που θα αναλυθεί εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 3.2.7. Ειδικότερα, το θετικό Flow Cytometry ανιχνεύει με αρκετά μεγάλη πιθανότητα δυσπλασία υψηλού και χαμηλού βαθμού αλλά και καρκίνου! Επίσης, το αρνητικό Flow Cytometry test επιβεβαιώνει σε πολύ μεγάλο ποσοστό την ύπαρξη αρνητικής βιοψίας ή το πολύ χαμηλού βαθμού δυσπλασίας.

### **3.2.6 Κολποσκόπηση**

Στο συγκεκριμένο υποκεφάλαιο, θα εξετάσουμε αναλυτικά την επιτυχία της κολποσκόπησης στην πρόγνωση των τραχηλικών δυσπλασιών. Παρά το γεγονός ότι στην καθημερινή κλινική πράξη η κολποσκόπηση θεωρείται σχεδόν αλάθητη, εμείς δεν την χρησιμοποιήσαμε πουθενά λόγω του μεγάλου **υποκειμενικού στοιχείου** που τη διακρίνει. Αυτό ακριβώς θα αποδείξουμε εδώ. Θα αναλύσουμε τα αποτελέσματά της τόσο ως δυαδικό όσο και ως πολυκατηγορικό screening test. Να σημειωθεί ότι από τα αρχικά αποτελέσματα αφαιρέθηκαν 14 περιπτώσεις στις οποίες η κολποσκόπηση κατέστη μη δυνατή ή μη ικανοποιητική, οπότε το δείγμα μας περιορίστηκε στις 486 γυναίκες.

#### **3.2.6.1 Δυαδική κολποσκόπηση**

Αρχικά, ας εξετάσουμε την κολποσκόπηση ως **δυαδικό** διαγνωστικό test εφαρμόζοντας τη γνωστή μέθοδο διχοτόμησης των αποτελεσμάτων της. Πιο συγκεκριμένα, θεωρήσαμε ότι η κολποσκόπηση δίνει είτε αρνητικό αποτέλεσμα (μόνο οι φυσιολογικοί τράχηλοι) είτε θετικό (όλες οι περιπτώσεις οποιουδήποτε βαθμού δυσπλασίας). Στη συνέχεια, υπολογίσαμε τα γνωστά στατιστικά μέτρα απόδοσης της κολποσκόπησης λαμβάνοντας υπόψη την ιστολογική βιοψία ως gold standard για την εξακρίβωση της ορθότητας των αποτελεσμάτων του. Προφανώς, διχοτομήσαμε αντίστοιχα και τα

αποτελέσματα της βιοψίας: 176 αρνητικά (106 clinically negative και 70 negative) για αρνητικές βιοψίες και 310 θετικά για βιοψίες με οποιαδήποτε μορφή δυσπλασίας.

Ο **δυναδικός πίνακας συνάφειας** των δεδομένων, που περιλαμβάνει τα επιμέρους αθροίσματα των γραμμών και των στηλών και το πλήθος του δείγματος, είναι ο εξής:

**Πίνακας 3.42:** Πίνακας συνάφειας δυναδικής κολποσκόπησης.

		Βιοψία		
		Θετικό	Αρνητικό	Άθροισμα
Κολποσκόπηση	Θετικό	285	42	327
	Αρνητικό	25	134	159
	Άθροισμα	310	176	486

Τα στατιστικά μέτρα απόδοσης που υπολογίσθηκαν έδωσαν:

- TP = 285
- FP = 42
- TN = 134
- FN = 25
- sensitivity = 0,92 = 92% και TPF= 0,92
- specificity = 76% και FPF= 1-0,76 = 0,24
- accuracy = 86%
- precision = PPV = 87%
- NPV = 84%
- post-test odds (Y=1) = 6,79
- post-test odds (Y=0) = 0,19
- $LR^+ = 3,85$
- $LR^- = 0,11$
- RR = 5,54

Τα παραπάνω δείχνουν ότι αν λάβουμε υπόψη την κολποσκόπηση ως ένα απλό δυναδικό test τότε η **απόδοσή** της είναι **πάρα πολύ καλή**. Επιτυγχάνει πολύ υψηλή ευαισθησία (92%), αρκετά υψηλή ειδικότητα (76%) και υψηλή ορθότητα (86%) κατά την πρόβλεψη ύπαρξης τραχηλικών αλλοιώσεων. Επίσης, ο υψηλός σχετικός κίνδυνος (5,54) δείχνει πόσο πιο πιθανό είναι μια θετική κολποσκόπηση να προβλέψει ύπαρξη αλλοίωσης απ' ότι μια αρνητική.



Στη συνέχεια, ας εξετάσουμε τη δυαδική κολποσκόπηση στα διάφορα **στάδια τραχηλικής δυσπλασίας της βιοψίας**. Σχηματίζουμε τον *Πίνακα 3.43*.

**Πίνακας 3.43:** Πίνακας συνάφειας δυαδικής κολποσκόπησης στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				Άθροισμα
		Αρνητική	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	
Κολποσκόπηση	Θετικό	42	172	98	15	327
	Αρνητικό	134	22	1	2	159
	Άθροισμα	176	194	99	17	486

Αν εξετάσουμε τον παραπάνω πίνακα **κατά γραμμή**, στις 327 περιπτώσεις θετικής κολποσκόπησης ανιχνεύεται με πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα η ύπαρξη δυσπλασίας χαμηλού (53%) παρά υψηλού (30%) βαθμού ή καρκίνου (5%). Οι φυσιολογικοί τράχηλοι της κολποσκόπησης αντιστοιχούν κατά 98% σε χαμηλού βαθμού δυσπλασία ή αρνητική βιοψία, κάτι που ισχυροποιεί σε πολύ μεγάλο βαθμό την αρνητική κολποσκόπηση. Αυτό το αποτέλεσμα δεν το λάβαμε τόσο μεγάλο στον προηγούμενο πίνακα γιατί δεν ταξινομήσαμε τις θετικές βιοψίες.

Αν αναλύσουμε τον ίδιο πίνακα **κατά στήλη**, παρατηρούμε ότι στις 194 χαμηλού βαθμού βιοψίες, το 89% (172/194) δίνει θετική κολποσκόπηση. Ακόμα πιο εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι στις 99 υψηλού βαθμού δυσπλασίες, η κολποσκόπηση ήταν θετική κατά 99%. Τέλος, στις 17 περιπτώσεις καρκίνου (8 SCC, 8 ADENO-CA, 1 CA), η δυαδική κολποσκόπηση ήταν θετική κατά 88%!

Συνεπώς, καταλήγουμε στο γνωστό συμπέρασμα ότι όταν η κολποσκόπηση εξετάζεται ως δυαδική τεχνική, τότε είναι **πάρα πολύ αποδοτική** στην ανίχνευση τραχηλικών δυσπλασιών χαμηλού και υψηλού βαθμού αλλά και καρκίνου. Βέβαια, οι παραπάνω υπολογισμοί προκαλούν πολλά ερωτηματικά αν τα διαβάσει κάποιος ανάποδα. Για παράδειγμα, το 86% της ορθότητας μπορεί να διαβασθεί και ως 14% λανθασμένης πρόγνωσης, που αποτελεί ένα αρκετά σημαντικό **ποσοστό αναξιοπιστίας** της κολποσκόπησης, ιδιαίτερα από τη στιγμή που χρησιμοποιείται ευρέως ως η αλάθητη τεχνική διάγνωσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Επιπροσθέτως, ένα άλλο ερώτημα που γεννάται αμέσως είναι το τι γίνεται στην περίπτωση που η κολποσκόπηση διατηρήσει τις επιμέρους κατηγορίες των αποτελεσμάτων της. Μόνο έτσι θα αξιολογηθεί

σωστότερα η κολποσκόπηση ως προς την πρόβλεψη του ακριβούς βαθμού τραχηλικής αλλοίωσης. Μάλιστα, αυτό είναι απαραίτητο αφού οι ασθενείς διαφέρουν κατά πολύ στις διάφορες κατηγορίες ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων του τραχήλου της μήτρας. Το πρόβλημα αυτό αναλύεται στο υποκεφάλαιο 3.2.6.2.

### 3.2.6.2 Πολυκατηγορική κολποσκόπηση

Προκειμένου να εξετάσουμε την κολποσκόπηση διεξοδικά, επιλέγουμε να μην διχοτομήσουμε τα δεδομένα της βιοψίας αλλά να διατηρήσουμε το διαχωρισμό τους στις τέσσερις γνωστές κατηγορίες που αναφέρονται στο υποκεφάλαιο 3.1. Με άλλα λόγια, θα εξετάσουμε ανά κατηγορία την **πολυκατηγορική** κολποσκόπηση.

Προς αυτή την κατεύθυνση, δημιουργήσαμε τον **πολυκατηγορικό πίνακα συνάφειας** των δεδομένων μας (*Πίνακας 3.44*), που μας επιτρέπει να εξετάσουμε τα ποσοστά επιτυχίας κάθε κατηγορίας της κολποσκόπησης σε κάθε κατηγορία της βιοψίας, δηλαδή να τον εξετάσουμε κατά στήλη, αλλά και το αντίστροφο (κατά γραμμή).

**Πίνακας 3.44:** Πίνακας συνάφειας πολυκατηγορικής κολποσκόπησης στις κατηγορίες της βιοψίας.

		Βιοψία				
		Αρνητικό	Χαμηλού βαθμού	Υψηλού βαθμού	Καρκίνος	Άθροισμα
Κολποσκόπηση	Φυσιολογικός Τράχηλος	134	22	1	2	159
	Χαμηλού βαθμού	36	157	30	1	224
	Υψηλού βαθμού	6	15	67	2	90
	Καρκίνος	0	0	1	12	13
	Άθροισμα	176	194	99	17	486

Ας υπολογίσουμε τα ποσοστά επιτυχίας **κατά στήλη** από τον *Πίνακα 3.44*.

Στις 176 περιπτώσεις **αρνητικής βιοψίας**, η κολποσκόπηση την ανίχνευσε σωστά κατά 76%. Βέβαια, έκανε λάθος στο υπόλοιπο 24% και μάλιστα στο 20% ανίχνευσε εσφαλμένα χαμηλού και στο 4% υψηλού βαθμού αλλοίωση. Αυτό δείχνει σε ένα πρώτο επίπεδο το πρόβλημα που αντιμετωπίζουμε.

Στις 194 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας** της βιοψίας, η κολποσκόπηση την ανίχνευσε σωστά στο 81% (157/194) των περιπτώσεων. Εν προκειμένω, έκανε λάθος στο υπόλοιπο 19%. Μάλιστα, ανίχνευσε εσφαλμένα υψηλού βαθμού αλλοίωση κατά 8% αλλά και εσφαλμένα φυσιολογικό τράχηλο κατά 11%. Στο 11% δηλαδή των περιπτώσεων υποτίμησε τη σοβαρότητα της κατάστασης!

Στις 99 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας** της βιοψίας, η κολποσκόπηση την ανίχνευσε σωστά κατά 68%. Όμως, στο 30% (30/99) των προβλέψεών του ανίχνευσε εσφαλμένα χαμηλό βαθμό, δηλαδή υποτίμησε ξανά τη σοβαρότητα της κατάστασης. Κάτι που μπορεί να αποβεί ιδιαίτερα επικίνδυνο καθώς θα παραμεληθεί μια πιθανή θεραπεία που ίσως να αποτρέψει τη μελλοντική ανάπτυξη καρκίνου.

Στις 17 περιπτώσεις **καρκίνου** στη βιοψία (8 SCC, 8 ADENO-CA, 1 CA), η κολποσκόπηση τον ανίχνευσε σωστά κατά 71%. Εδώ πάλι παρατηρείται ένα πολύ μεγάλο ποσοστό υποβάθμισης της τραχηλικής αλλοίωσης αφού υπολογίσθηκε ένα 12% εσφαλμένης πρόβλεψης φυσιολογικού τραχήλου, ένα 12% υψηλού βαθμού δυσπλασίας και ένα 5% χαμηλού βαθμού δυσπλασίας αντί για καρκίνο! Ιδιαίτερα, το 12% που προέβλεψε φυσιολογικό τράχηλο ενώ ήταν καρκίνος, είναι τρομακτικά απογοητευτικό και επικίνδυνο και κατά πάσα πιθανότητα θα στοίχιζε τη ζωή της άτυχης ασθενούς.

Ας εξετάσουμε τώρα τον *Πίνακα 3.44 κατά γραμμή* για να δούμε τι αριθμητικά συμπεράσματα μπορεί να μας δώσει.

Στις 159 περιπτώσεις **φυσιολογικού τραχήλου** της κολποσκόπησης, το 84% είναι ορθό και μόλις στο 16% υπερεκτιμά λανθασμένα την αλλοίωση (όχι και τόσο σημαντικό).

Στις 224 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας** της κολποσκόπησης, το 70% είναι σωστό αλλά και το 13% υποτιμά εσφαλμένα την πραγματική αλλοίωση υψηλού βαθμού.

Στις 90 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας** της κολποσκόπησης, το 74% είναι ακριβές, το 23% υπερεκτιμά την πραγματική αλλοίωση και το 3% υποτιμά τον υπάρχοντα καρκίνο.

Στις 13 περιπτώσεις **καρκίνου** της κολποσκόπησης (7 SCC, 6 CA), παρατηρείται 92% ορθότητα.

Καταλήγουμε, λοιπόν, στο συμπέρασμα (ιδιαίτερα από την ανά στήλη ανάλυση) ότι η κολποσκόπηση μας οδηγεί σε ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό των περιπτώσεων σε εσφαλμένη διάγνωση. Μάλιστα, αρκετά συχνά οδηγεί σε **λανθασμένη υποβάθμιση** της τραχηλικής αλλοίωσης κάτι που μπορεί να αποδειχθεί μοιραίο για την ασθενή. Γι' αυτό το

λόγο δεν πρέπει να θεωρείται ως αλάθητη τεχνική ανίχνευσης της δυσπλασίας. Η παρατήρηση αυτή κάνει κατανοητή την ανάγκη χρησιμοποίησης νέων τεχνικών ανίχνευσης που θα υποβοηθήσουν αποτελεσματικά την κολποσκόπηση στην έγκυρη διάγνωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

### **3.2.7 Συνδυασμός των screening tests**

Στο υποκεφάλαιο αυτό, θα ασχοληθούμε με τη στατιστική ανάλυση του συνδυασμού των screening tests ώστε να εξετάσουμε κατά πόσο οι νέες τεχνικές **υποβοηθούν** αποτελεσματικά το PAP test στην έγκυρη λήψη ιατρικής απόφασης. Ειδικότερα, θα προσπαθήσουμε να βρούμε ποιες τεχνικές μας δίνουν έγκυρη διάγνωση όταν το PAP test δίνει εσφαλμένη διάγνωση. Έτσι, θα έχουμε τη δυνατότητα να αναγνωρίζουμε τις περιπτώσεις που το PAP test δίνει λανθασμένο αποτέλεσμα, ώστε αντί αυτού να λαμβάνουμε υπόψη τα αποτελέσματα των νέων τεχνικών.

Η διαδικασία που θα ακολουθήσουμε, περιλαμβάνει την επιμέρους εξέταση των λανθασμένων αποτελεσμάτων **ανά κατηγορία** του PAP test. Πιο συγκεκριμένα, θα εξετάσουμε διεξοδικά τα εσφαλμένα αποτελέσματα στις παρακάτω κατηγορίες του PAP: αλλοίωση εντός φυσιολογικών ορίων, ASCUS, LSIL και HSIL. Η πρόβλεψη του PAP test για ύπαρξη καρκίνου ήταν 100% ορθή οπότε δεν χρειάστηκε να εξετάσουμε τις νέες τεχνικές ανίχνευσης. Περισσότερο μας ενδιαφέρει να αποφανθούμε με μεγαλύτερη βεβαιότητα στις περιπτώσεις LSIL και HSIL, οι οποίες είναι καθοριστικές για τη πορεία της νόσου. Προς αυτή την κατεύθυνση, πρώτα θα εξετάσουμε το κατά πόσο βοηθάει κάθε screening test ξεχωριστά και ύστερα θα εξετάσουμε επιμέρους συνδυασμούς των αποτελεσμάτων των screening tests. Στο υποκεφάλαιο 3.2.7.5 παρουσιάζονται κάποια γενικευμένα συμπεράσματα που απορρέουν από την ανάλυση των λανθασμένων αποτελεσμάτων του PAP σε σύγκριση με τα αποτελέσματα των νέων τεχνικών ανίχνευσης.

#### **3.2.7.1 Αλλοίωση εντός φυσιολογικών ορίων**

Σύμφωνα με τον Πίνακα 3.5 του πολυκατηγορικού PAP test, βρέθηκαν 170 αποτελέσματα με αλλοίωση εντός φυσιολογικών ορίων. Από αυτά, τα **30** ήταν

**λανθασμένα.** Ειδικότερα, είχαμε 27 αποτελέσματα που στην πραγματικότητα ήταν χαμηλού βαθμού δυσπλασίες και 3 που ήταν υψηλού βαθμού δυσπλασίες.

Στις 140 περιπτώσεις ορθής διάγνωσης **αρνητικής βιοψίας**, το HPV DNA βρέθηκε αρνητικό κατά 77%, το NASBA αρνητικό κατά 95%, το p16 αρνητικό κατά 100% και το flow αρνητικό κατά 89%. Ο συνδυασμός αρνητικών HPV DNA-NASBA βρέθηκε κατά 75%, αρνητικών HPV DNA-flow κατά 69% και αρνητικών NASBA-flow κατά 85%. Είναι προφανές, ότι σε περίπτωση που λάβουμε PAP αποτέλεσμα εντός φυσιολογικών ορίων αλλά και αρνητικά κατά σειρά προτεραιότητας τα p16, NASBA, flow και HPV DNA, τότε ισχυροποιείται ακόμα περισσότερο το φυσιολογικό PAP.

Στις 27 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας**, παρατηρήθηκε ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου HPV DNA υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 52% (14/27). Το NASBA βρέθηκε θετικό κατά 30%, το p16 θετικό κατά 0% και το flow θετικό κατά 22%. Ο συνδυασμός θετικών HPV DNA-NASBA βρέθηκε κατά 7%, θετικών HPV DNA-flow κατά 11% και θετικών NASBA-flow κατά 7%. Εδώ παρατηρήθηκε ξανά το παράδοξο να υπάρχουν γυναίκες στις οποίες έχω θετικό NASBA αλλά αρνητικό HPV DNA. Αυτό, όπως εξηγήθηκε και προηγουμένως κατά την ανάλυση του mRNA του τύπου 45, μάλλον οφείλεται στα ψευδώς θετικά NASBA και στα ψευδώς αρνητικά HPV DNA. Στη συγκεκριμένη περίπτωση φαίνεται να αποκτά μεγαλύτερη σημασία η ύπαρξη του θετικού NASBA, αφού αποτελεί μια πολύ ισχυρή ένδειξη υπέρ μιας δυσπλασίας χαμηλού βαθμού αντί για αρνητική βιοψία. Αυτό αιτιολογείται από το εξαπλάσιο ποσοστό εμφάνισης θετικού NASBA στην πρώτη περίπτωση. Επίσης, τα HPV DNA και flow παρουσιάζουν διπλάσια εμφάνιση απ' ότι στις αρνητικές βιοψίες. Τέλος, αξίζει να σημειώσουμε ότι το p16 εξακολουθεί να βγαίνει 100% αρνητικό, κάτι που σημαίνει ότι δεν πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά το διαχωρισμό της αρνητικής βιοψίας και της δυσπλασίας χαμηλού βαθμού.

Στις 3 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας**, παρατηρήθηκε ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου HPV DNA υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 100%. Το NASBA βρέθηκε θετικό κατά 67%, το p16 θετικό κατά 33% και το flow cytometry θετικό κατά 33%. Ο συνδυασμός θετικών HPV DNA-NASBA βρέθηκε κατά 67%, θετικών HPV DNA-flow κατά 33%, θετικών HPV DNA-p16 κατά 33%, θετικών NASBA-flow κατά 33%, θετικών NASBA-p16 κατά 33%, θετικών flow-p16 κατά 33% και θετικών HPV DNA-NASBA-flow-p16 κατά 33%. Είναι προφανές, λοιπόν, ότι έχουμε ακόμα πιο συχνή εμφάνιση θετικών NASBA (υπερδιπλάσια), HPV DNA (διπλάσια) και flow (αύξηση κατά 50%) σε

σχέση με τις αντίστοιχες εμφανίσεις στις χαμηλού βαθμού δυσπλασίες. Επίσης, είναι πολύ σημαντικό να τονίσουμε την καθοριστική σημασία του θετικού p16 υπέρ της δυσπλασίας υψηλού βαθμού (εμφάνιση 33%) αντί για χαμηλού βαθμού ή αρνητική βιοψία (καθολική απουσία). Συνεπώς, μπορούμε να αποφανθούμε ότι αν βρεθούν δύο ή περισσότερα θετικά tests (εκ των HPV DNA, NASBA, p16, flow) τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης υψηλού βαθμού δυσπλασίας.

**Εν κατακλείδι**, καταλήγουμε στο ότι ο συνδυασμός των screening tests για την υποβοήθηση του PAP στα λανθασμένα αποτελέσματα φυσιολογικής αλλοίωσης μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμος, ιδιαίτερα το NASBA για την ανίχνευση των δυσπλασιών χαμηλού βαθμού αντί για αρνητική βιοψία και το p16 για την ανίχνευση δυσπλασιών υψηλού βαθμού αντί για χαμηλού βαθμού.

### 3.2.7.2 ASCUS

Σύμφωνα με τον Πίνακα 3.5 του πολυκατηγορικού PAP test, βρέθηκαν **75 αποτελέσματα** με ASCUS. Προφανώς, όπως αναλύθηκε εκτενώς στο υποκεφάλαιο 3.2.1.2, η συγκεκριμένη κατηγορία δεν εκφράζεται απευθείας σε κάποια κατηγορία της ιστολογικής βιοψίας. Συνεπώς, δεν θα αναφερθούμε σε λανθασμένη πρόβλεψη του PAP αλλά στον τρόπο με το οποίο οι νέες τεχνικές μπορούν να βοηθήσουν στο να κατηγοριοποιήσουμε ορθά τα ASCUS. Από τα 75 ASCUS, τα 15 είχαν στην πραγματικότητα αρνητική βιοψία, τα 50 είχαν χαμηλού βαθμού δυσπλασία, τα 9 υψηλού βαθμού και το 1 είχε καρκίνο.

Στις 15 περιπτώσεις **αρνητικής βιοψίας**, λάβαμε αρνητικό HPV DNA test (κανένας τύπος υψηλού κινδύνου) σε ποσοστό 73% (11/15). Το NASBA και το p16 βρέθηκαν αρνητικά κατά 100%! Το flow cytometry βρέθηκε αρνητικό κατά 87%. Ο συνδυασμός των αρνητικών NASBA-p16 εμφανίζεται κατά 100%, των αρνητικών NASBA-flow κατά 87%, των αρνητικών p16-flow κατά 87% και των τεσσάρων αρνητικών screening tests κατά 67%. Είναι προφανές, ότι σε περίπτωση που λάβουμε PAP αποτέλεσμα ASCUS αλλά και αρνητικά κατά σειρά προτεραιότητας τα p16, NASBA, flow και HPV DNA, τότε ισχυροποιείται η ένδειξη υπέρ της αρνητικής βιοψίας.

Στις 50 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας**, παρατηρήθηκε ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου HPV DNA υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 56%. Το NASBA βρέθηκε

θετικό κατά 14%, το p16 θετικό κατά 4% και το flow cytometry θετικό κατά 26%. Ο μοναδικός συνδυασμός που φαίνεται να είναι πληροφοριακός είναι ο συνδυασμός των θετικών HPV DNA-flow που εμφανίσθηκε κατά 14%. Στη συγκεκριμένη περίπτωση φαίνεται να αποκτά μεγαλύτερη σημασία η ύπαρξη του θετικού NASBA, αφού αποτελεί μια ένδειξη υπέρ μιας δυσπλασίας χαμηλού βαθμού (εμφάνιση 14%) αντί για αρνητική βιοψία (καθολική απουσία). Επίσης, τα HPV DNA και flow παρουσιάζουν διπλάσια εμφάνιση απ' ότι στις αρνητικές βιοψίες. Τέλος, αξίζει να σημειώσουμε ότι το p16 εξακολουθεί να βγαίνει σχεδόν πάντα αρνητικό, κάτι που σημαίνει ότι δεν πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά το διαχωρισμό της αρνητικής βιοψίας και της δυσπλασίας χαμηλού βαθμού. Παρ' όλα αυτά, το αρνητικό p16 δίνει μια καλή ένδειξη για αρνητική βιοψία ή χαμηλού βαθμού δυσπλασία παρά υψηλού βαθμού δυσπλασία ή καρκίνο.

Στις 9 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας**, παρατηρήθηκε ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου HPV DNA υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 78%. Το NASBA βρέθηκε θετικό κατά 56%, το p16 θετικό κατά 33% και το flow cytometry θετικό κατά 44%. Ο συνδυασμός θετικών HPV DNA-NASBA παρατηρήθηκε σε ποσοστό 56%, θετικών HPV DNA-flow κατά 44%, θετικών HPV DNA-p16 κατά 33%, θετικών NASBA-flow κατά 33%, θετικών NASBA-p16 κατά 22%, θετικών flow-p16 κατά 22%. Ο συνδυασμός όλων των θετικών screening tests εμφανίζεται με πιθανότητα 22%. Στη συγκεκριμένη περίπτωση φαίνεται να αποκτά πολύ καθοριστική σημασία η ύπαρξη του θετικού p16, αφού η υπεροκταπλάσια εμφάνισή του αποτελεί μια πάρα πολύ ισχυρή ένδειξη υπέρ μιας δυσπλασίας υψηλού βαθμού αντί για μια δυσπλασία χαμηλού βαθμού. Επίσης, το NASBA εμφανίζεται με τετραπλάσια πιθανότητα ενώ το flow παρουσιάζει αύξηση κατά 70% και το HPV DNA κατά 40%, σε σύγκριση με τα ποσοστά εμφάνισης στις δυσπλασίες χαμηλού βαθμού. Συνεπώς, προκειμένου να διαχωρίσουμε τις δυσπλασίες χαμηλού βαθμού από εκείνες του υψηλού βαθμού, αρκεί να παίρνουμε δύο ή περισσότερα tests (εκ των HPV DNA, NASBA, p16, flow) θετικά.

Στη μοναδική περίπτωση **καρκίνου** (ADENO-CA), το HPV DNA, το NASBA και το flow βρέθηκαν θετικά, ενώ το p16 αρνητικό. Εδώ πρέπει να σημειώσουμε ότι η μόλις μία περίπτωση δεν μας επιτρέπει να γενικεύσουμε όπως κάναμε στις άλλες περιπτώσεις. Ίσως, να μπορούσαμε απλά να τονίσουμε την ταυτόχρονη παρουσία τριών θετικών tests ως ιδιαίτερα ύποπτη για την εμφάνιση καρκίνου.

**Εν κατακλείδι**, καταλήγουμε στο ότι ο συνδυασμός των screening tests για την υποβοήθηση του PAP στα αποτελέσματα ASCUS μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμος,

ιδιαίτερα το NASBA για την ανίχνευση των δυσπλασιών χαμηλού βαθμού αντί για αρνητική βιοψία και το p16 για την ανίχνευση δυσπλασιών υψηλού βαθμού αντί για χαμηλού βαθμού.

### 3.2.7.3 LSIL

Σύμφωνα με τον Πίνακα 3.5 του πολυκατηγορικού PAP test, βρέθηκαν 151 αποτελέσματα με LSIL. Από αυτά, τα **47** ήταν **λανθασμένα**. Ειδικότερα, είχαμε 21 αποτελέσματα που στην πραγματικότητα ήταν αρνητικές βιοψίες, 25 υψηλού βαθμού δυσπλασίες και 1 καρκίνο.

Στις 21 περιπτώσεις **αρνητικής βιοψίας**, λάβαμε αρνητικό HPV DNA σε ποσοστό 43% (9/21). Το NASBA και το flow βρέθηκαν αρνητικά κατά 81% και το p16 αρνητικό κατά 95%! Ο συνδυασμός των αρνητικών NASBA-p16 εμφανίζεται κατά 81%, των αρνητικών NASBA-flow κατά 71%, των αρνητικών p16-flow κατά 76%, των αρνητικών NASBA-p16-flow κατά 71% και των τεσσάρων αρνητικών screening tests κατά 43%. Συμπεραίνουμε ότι αν έχουμε LSIL αποτέλεσμα του PAP αλλά αρνητικά τα υπόλοιπα screening tests (κατά σειρά προτεραιότητας τα p16, NASBA, flow και HPV DNA) τότε μπορώ να αποφανθώ με μεγάλη σιγουριά υπέρ μιας αρνητικής βιοψίας!

Στις 104 περιπτώσεις ορθής διάγνωσης **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας**, λάβαμε θετικό HPV DNA κατά 66%, θετικό flow κατά 38%, θετικό NASBA κατά 27% και θετικό p16 κατά 15%. Ο συνδυασμός των θετικών HPV DNA-flow εμφανίστηκε κατά 27%, θετικών HPV DNA-NASBA κατά 24%, θετικών NASBA-flow κατά 15% και θετικών HPV DNA, flow και NASBA κατά 15%. Στη συγκεκριμένη περίπτωση τα θετικά flow και p16 αποδεικνύονται τα πιο πληροφοριακά υπέρ μιας δυσπλασίας χαμηλού βαθμού παρά μιας αρνητικής βιοψίας. Ειδικότερα, έχουμε ακόμα πιο συχνή εμφάνιση θετικού p16 (τριπλάσια), flow (διπλάσια), HPV DNA (αύξηση κατά 50%) και NASBA (αύξηση κατά 40%) σε σχέση με τις αντίστοιχες εμφανίσεις στις αρνητικές βιοψίες. Συνεπώς, μπορούμε να αποφανθούμε ότι αν βρεθούν δύο ή περισσότερα θετικά tests (εκ των HPV DNA, NASBA, p16, flow) τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης χαμηλού βαθμού δυσπλασίας παρά αρνητικής βιοψίας.

Στις 25 περιπτώσεις **υψηλού βαθμού δυσπλασίας**, παρατηρήθηκε ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου HPV DNA υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 100%! Το NASBA και το



flow βρέθηκαν θετικά κατά 64% και το p16 θετικό κατά 28%. Ο συνδυασμός θετικών HPV DNA-NASBA-flow εμφανίστηκε κατά 44%. Στη συγκεκριμένη περίπτωση τα θετικά NASBA και p16 αποδεικνύονται τα πιο πληροφοριακά υπέρ μιας δυσπλασίας υψηλού βαθμού παρά χαμηλού βαθμού. Ειδικότερα, έχουμε ακόμα πιο συχνή εμφάνιση θετικού NASBA (δύομιση φορές μεγαλύτερη), p16 (αύξηση κατά 90%), flow (αύξηση κατά 70%) και HPV DNA (αύξηση κατά 50%) σε σχέση με τις αντίστοιχες εμφανίσεις στις δυσπλασίες χαμηλού βαθμού. Συνεπώς, μπορούμε να αποφανθούμε ότι αν βρεθούν τρία ή περισσότερα θετικά tests (εκ των HPV DNA, NASBA, p16, flow) τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης υψηλού βαθμού δυσπλασίας παρά χαμηλού βαθμού. Δηλαδή, παίρνουμε με μεγαλύτερη πιθανότητα ένα λανθασμένο PAP test παρά ένα ορθό. Επομένως, ο συνδυασμός αυτών των θετικών tests είναι αρκετά χρήσιμος για τη διόρθωση του LSIL αποτελέσματος του PAP test, όταν αυτό στην πραγματικότητα αναφέρεται σε δυσπλασία υψηλού βαθμού.

Στην μία περίπτωση **καρκίνου**, παρατηρήθηκαν θετικά μόνο τα HPV DNA και flow και αρνητικά τα NASBA, p16! Εδώ υπάρχει σοβαρή πιθανότητα να έχει γίνει κάποιο λάθος κατά τη διενέργεια των εξετάσεων στη συγκεκριμένη ασθενή γιατί τα αποτελέσματα δεν δικαιολογούν σε καμία περίπτωση την ύπαρξη καρκίνου. Βέβαια, το γεγονός ότι πρόκειται για μόλις μία ασθενή, δεν μας επιτρέπει να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα.

**Εν κατακλείδι**, καταλήγουμε στο ότι ο συνδυασμός των screening tests για την υποβοήθηση του PAP στα αποτελέσματα LSIL μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμος. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στο διαχωρισμό δυσπλασίας χαμηλού και υψηλού βαθμού, που υποδηλώνεται με την αρκετά συχνότερη εμφάνιση των NASBA, p16 και flow.

#### 3.2.7.4 HSIL

Σύμφωνα με τον Πίνακα 3.5 του πολυκατηγορικού PAP test, βρέθηκαν 92 αποτελέσματα με HSIL. Από αυτά, τα **25** ήταν **λανθασμένα**. Ειδικότερα, είχαμε 5 αποτελέσματα που στην πραγματικότητα ήταν αρνητικές βιοψίες, 16 χαμηλού βαθμού δυσπλασίες και 4 καρκίνους.

Στις 5 περιπτώσεις **αρνητικής βιοψίας**, λάβαμε αρνητικό HPV DNA σε ποσοστό 40% (2/5). Το καθένα εκ των NASBA, flow και p16 βρέθηκε αρνητικό κατά 80%. Ο συνδυασμός αρνητικών NASBA-p16-flow εμφανίστηκε σε ποσοστό 60% (3/5).

Συμπεραίνουμε, λοιπόν, ότι οποιοσδήποτε συνδυασμός των αρνητικών NASBA, flow και p16 ενισχύει την ένδειξη υπέρ της αρνητικής βιοψίας.

Στις 16 περιπτώσεις **χαμηλού βαθμού δυσπλασίας**, παρατηρήθηκε ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου HPV DNA υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 63%. Το ίδιο ακριβώς ποσοστό εμφάνισε και το θετικό flow. Το NASBA αλλά και το p16 βρέθηκαν θετικά κατά 38%. Ο συνδυασμός των θετικών HPV DNA-flow εμφανίζεται κατά 38%, θετικών HPV DNA-NASBA επίσης κατά 38% και θετικών HPV DNA-NASBA-flow κατά 25%. Συμπεραίνουμε ότι το flow είναι πάρα πολύ χρήσιμο για να ξεχωρίζει μια αρνητική βιοψία από μια δυσπλασία χαμηλού βαθμού, αφού το ποσοστό του θετικού flow υπερτριπλασιάζεται στη δεύτερη περίπτωση. Για το διαχωρισμό αυτό, αρκετά χρήσιμα είναι και τα NASBA και p16, αφού το ποσοστό των θετικών τους αποτελεσμάτων είναι σχεδόν διπλάσιο για δυσπλασία χαμηλού βαθμού απ' ότι για μια αρνητική βιοψία. Τέλος, το θετικό HPV DNA δεν πρέπει να χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό της δυσπλασίας χαμηλού βαθμού και αρνητικής βιοψίας, διότι εμφανίζεται με την ίδια σχεδόν συχνότητα και στις δύο περιπτώσεις.

Στις 67 περιπτώσεις ορθής διάγνωσης **υψηλού βαθμού δυσπλασίας**, λάβαμε θετικό HPV DNA κατά 94%, θετικό NASBA κατά 85%, θετικό flow κατά 69% και θετικό p16 κατά 64%. Ο συνδυασμός θετικών HPV DNA-NASBA εμφανίστηκε κατά 82%, θετικών HPV DNA-flow κατά 67%, θετικών HPV DNA-p16 κατά 61%, θετικών NASBA-flow κατά 63%, θετικών NASBA-p16 κατά 55%, θετικών flow-p16 κατά 45%, θετικών HPV DNA-NASBA-flow κατά 61% και θετικών HPV DNA-NASBA-p16 κατά 52%. Στη συγκεκριμένη περίπτωση τα θετικά NASBA και p16 αποδεικνύονται τα πιο πληροφοριακά υπέρ μιας δυσπλασίας υψηλού βαθμού παρά χαμηλού βαθμού. Ειδικότερα, έχουμε ακόμα πιο συχνή εμφάνιση θετικού NASBA (υπερδιπλασιασμός), p16 (αύξηση κατά 70%) και HPV DNA (αύξηση κατά 50%) σε σχέση με τις αντίστοιχες εμφανίσεις στις δυσπλασίες χαμηλού βαθμού. Αντίθετα, το θετικό flow παρουσίασε μια μικρή μόνο αύξηση της τάξης του 10%, οπότε δεν αποτελεί αξιόπιστο κριτή της διαφοροποίησης μεταξύ δυσπλασίας χαμηλού και υψηλού βαθμού. Συνεπώς, μπορούμε να αποφανθούμε ότι αν βρεθούν τρία ή περισσότερα θετικά tests (κατά σειρά τα NASBA, p16, HPV DNA, flow) τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης υψηλού βαθμού δυσπλασίας παρά χαμηλού βαθμού.

Στις 4 περιπτώσεις **καρκίνου** (3 SCC και 1 CA), παρατηρήθηκε ύπαρξη ενός τουλάχιστον τύπου HPV DNA υψηλού κινδύνου σε ποσοστό 100%. Το ίδιο ακριβώς ποσοστό εμφάνισε και το θετικό NASBA. Το p16 βρέθηκε θετικό κατά 75%, ενώ το flow

θετικό κατά 25%. Ο συνδυασμός θετικών HPV DNA-NASBA εμφανίζεται κατά 100%, θετικών HPV DNA-NASBA-p16 κατά 75% ενώ όταν στα τρία αυτά θετικά tests προστεθεί ένα αρνητικό flow τότε το ποσοστό πέφτει στο 50%. Αν συγκρίνουμε τα αποτελέσματα αυτά με τα αντίστοιχα του υψηλού βαθμού δυσπλασίας, διαπιστώνουμε ότι η εμφάνιση του p16 σε συνδυασμό με θετικά HPV DNA και NASBA είναι ιδιαίτερα δηλωτική υπέρ της ύπαρξης καρκίνου. Τέλος, το αρνητικό flow (και όχι το θετικό!) σε συνδυασμό με θετικά τα άλλα tests, δίνει με πολύ μεγάλη πιθανότητα καρκίνο.

**Εν κατακλείδι**, καταλήγουμε στο ότι ο συνδυασμός των screening tests για την υποβοήθηση του PAP στα λανθασμένα αποτελέσματα HSIL μπορεί να αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμος. Το θετικό flow μπορεί να χρησιμοποιηθεί με μεγάλη επιτυχία στη διόρθωση των αποτελεσμάτων αυτών υπέρ μιας δυσπλασίας χαμηλού βαθμού και τα θετικά NASBA και p16 υπέρ μιας δυσπλασίας υψηλού βαθμού ή ακόμα και καρκίνου.

### *3.2.7.5 Συμπεράσματα και παρατηρήσεις του συνδυασμού των screening tests*

Στο συγκεκριμένο υποκεφάλαιο γίνεται μια παρουσίαση των γενικευμένων συμπερασμάτων που εξάγουμε από τη στατιστική ανάλυση του συνδυασμού των τεχνικών ανίχνευσης, που παρουσιάστηκε εκτενώς στα προηγούμενα υποκεφάλαια. Πιο συγκεκριμένα, εδώ παρουσιάζονται κάποιες **γενικές οδηγίες** που θα μπορούσαν να λαμβάνουν υπόψη τους οι ιατροί κατά τη λήψη της ιατρικής απόφασης περί καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Αποτελούν μια βοήθεια στη συγκριτική εκτίμηση των αποτελεσμάτων των νέων τεχνικών ανίχνευσης που εφαρμόζονται για να βοηθήσουν στη διόρθωση των λανθασμένων αποτελεσμάτων των κατηγοριών του PAP. Ο ιατρός, έχοντας ως δεδομένο το PAP test, κοιτάζει τα αποτελέσματα των τεσσάρων νέων τεχνικών ανίχνευσης (HPV DNA, NASBA, p16 και flow) ώστε να αναγνωρίσει με μεγαλύτερη πιθανότητα μια πιθανή εσφαλμένη πρόβλεψη του PAP.

Από τα 170 αποτελέσματα του PAP με **αλλοίωση εντός φυσιολογικών ορίων**, τα 30 ήταν λανθασμένα. Σε αυτήν την περίπτωση, αν ληφθεί θετικό το NASBA τότε είναι πολύ πιθανό να πρόκειται στην πραγματικότητα για μια δυσπλασία χαμηλού βαθμού παρά για μια αρνητική βιοψία. Επιπροσθέτως, αν ληφθεί το p16 θετικό τότε υπάρχει πολύ μεγάλη πιθανότητα να πρόκειται στην πραγματικότητα για υψηλού βαθμού δυσπλασία παρά χαμηλού βαθμού ή αρνητική βιοψία. Το θετικό flow μας οδηγεί σε αρκετές

περιπτώσεις σε ύπαρξη υψηλού ή χαμηλού βαθμού δυσπλασίας αντί για αρνητική βιοψία. Συνεπώς, αν το PAP δώσει αποτέλεσμα φυσιολογικής αλλοίωσης αλλά οι υπόλοιπες τεχνικές δώσουν θετικό αποτέλεσμα (κατά σειρά προτεραιότητας HPV DNA, NASBA, p16, flow), τότε ο ιατρός πρέπει να λάβει πολύ σοβαρά υπόψη του την πιθανότητα το PAP να έκανε λανθασμένη διάγνωση. Σε αυτήν την περίπτωση, η ασθενής θα πρέπει είτε να ξανακάνει το PAP test είτε να οδηγηθεί για λήψη ιστολογικής βιοψίας. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το να αρκестεί σε ένα αρνητικό PAP test χωρίς να ελέγξει την ορθότητά του, μπορεί να αποβεί πάρα πολύ επικίνδυνο για την υγεία της.

Πολύ σημαντική είναι η συνεισφορά των νέων τεχνικών ανίχνευσης στην εκτίμηση των ASCUS του PAP test. Σε αυτήν την περίπτωση, αν ληφθούν αρνητικά κατά σειρά προτεραιότητας τα NASBA, p16, flow και HPV DNA, τότε η πιθανότητα να πρόκειται στην πραγματικότητα για αρνητική βιοψία είναι πάρα πολύ μεγάλη. Επιπροσθέτως, αν βρεθεί θετικό το NASBA, τότε υπάρχει αρκετά μεγάλη πιθανότητα να πρόκειται για χαμηλού βαθμού δυσπλασία παρά για αρνητική βιοψία. Επιπλέον, αν το p16 ή και το NASBA είναι θετικό, τότε αυτό υποδηλώνει με μεγαλύτερη πιθανότητα την ύπαρξη μιας υψηλού βαθμού δυσπλασίας παρά χαμηλού.

Από τα 151 αποτελέσματα του PAP με LSIL, τα 47 ήταν λανθασμένα. Σε αυτήν την περίπτωση, αν ληφθούν αρνητικά κατά σειρά προτεραιότητας τα p16 (κυρίως), NASBA και flow τότε είναι πολύ πιθανό να πρόκειται στην πραγματικότητα για μια αρνητική βιοψία. Αυτό είναι πολύ σημαντικό συμπέρασμα, διότι αποτρέπει την ασθενή από το να κάνει ανούσιες εξετάσεις ή ακόμα και επεμβάσεις. Επιπροσθέτως, αν ο συνδυασμός των HPV DNA-NASBA-flow ληφθεί θετικός, τότε υπάρχει πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουμε μια υψηλού βαθμού δυσπλασία παρά χαμηλού. Συνεπώς, αν το PAP δώσει αποτέλεσμα LSIL αλλά οι υπόλοιπες τεχνικές δώσουν θετικό αποτέλεσμα (κατά σειρά προτεραιότητας NASBA, p16, flow), τότε ο ιατρός πρέπει να λάβει πολύ σοβαρά υπόψη του την πιθανότητα το PAP να υποτίμησε τη σοβαρότητα της πραγματικής δυσπλασίας υψηλού βαθμού. Σε αυτήν την περίπτωση, η ασθενής θα πρέπει είτε να ξανακάνει το PAP test είτε να οδηγηθεί για λήψη ιστολογικής βιοψίας. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το να αρκестεί σε ένα εσφαλμένα καθησυχαστικό PAP test χωρίς να ελέγξει την ορθότητά του, μπορεί να αποβεί πάρα πολύ επικίνδυνο για την υγεία της.

Από τα 92 αποτελέσματα του PAP με HSIL, τα 25 ήταν λανθασμένα. Σε αυτήν την περίπτωση, αν ληφθεί αρνητικός ο συνδυασμός των NASBA-flow-p16 τότε είναι πάρα πολύ πιθανό να πρόκειται για αρνητική βιοψία και όχι για υψηλού βαθμού δυσπλασία.

Αυτό είναι πολύ σημαντικό συμπέρασμα, διότι αποτρέπει την ασθενή από το να κάνει ανούσιες εξετάσεις ή ακόμα και επεμβάσεις. Επιπροσθέτως, τα θετικά flow (κυρίως), NASBA και p16 υποδεικνύουν με μεγαλύτερη πιθανότητα μια χαμηλού βαθμού δυσπλασία παρά μια αρνητική βιοψία. Το HPV DNA δεν βοηθά καθόλου σε αυτή την περίπτωση. Επιπλέον, αν ληφθούν θετικά κατά σειρά προτεραιότητας τα NASBA και p16, τότε υπάρχει πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να πρόκειται στην πραγματικότητα για ορθή διάγνωση υψηλού βαθμού δυσπλασίας παρά εσφαλμένα χαμηλού βαθμού. Το flow δεν βοηθά καθόλου σε αυτή την περίπτωση. Επίσης, ο συνδυασμός των θετικών HPV DNA-NASBA-p16 δίνει με αρκετά μεγάλη πιθανότητα ύπαρξη καρκίνου. Συνεπώς, αν το PAP δώσει αποτέλεσμα HSIL αλλά οι τεχνικές NASBA, flow ή p16 δώσουν αρνητικό αποτέλεσμα, τότε ο ιατρός πρέπει να λάβει πολύ σοβαρά υπόψη του την πιθανότητα το PAP να υπερτίμησε λανθασμένα την πραγματική κατάσταση της ασθενούς. Επιπλέον, αν το PAP δώσει αποτέλεσμα HSIL και τα NASBA και p16 δώσουν θετικό αποτέλεσμα, τότε παρατηρείται πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να έχει όντως υψηλού παρά χαμηλού βαθμού δυσπλασία. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι αν λάβουμε τρία θετικά HPV DNA-NASBA-p16 και αρνητικό flow, τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα υποτίμησης του καρκίνου, κάτι που όπως είναι γνωστό μπορεί να αποβεί μοιραίο για την ασθενή. Δηλαδή, το θετικό flow χρησιμεύει κυρίως στις χαμηλού βαθμού δυσπλασίες και στις αρνητικές βιοψίες ενώ το αρνητικό flow χρησιμεύει στον καρκίνο.

Σε αυτό το σημείο, πρέπει να αναφερθούν ορισμένες απαραίτητες **παρατηρήσεις-διευκρινήσεις** σχετικά με τα παραπάνω εξαγόμενα συμπεράσματα.

Πρώτα απ' όλα, τα συμπεράσματα αυτά απορρέουν από τα **δεδομένα** του δείγματος των γυναικών που εμείς εξετάσαμε και σε καμία περίπτωση δεν αποτελούν παγκοσμίως καθιερωμένες οδηγίες.

Επιπροσθέτως, πρέπει να τονίσουμε το γεγονός ότι το δείγμα μας αποτελείται εξ αρχής από **περισσότερες δυσπλασίες χαμηλού βαθμού παρά υψηλού**. Αυτό σημαίνει ότι γενικά έχω μεγαλύτερη πιθανότητα να λάβω μια δυσπλασία χαμηλού βαθμού απ' ότι υψηλού. Για παράδειγμα, αν εξετάσω τα LSIL αποτελέσματα του PAP που συνδυάζονται με θετικά HPV DNA-NASBA-flow-p16, καταλήγω σε 6 γυναίκες. Από αυτές τις 6 γυναίκες, οι τρεις έχουν χαμηλού βαθμού δυσπλασία και οι άλλες τρεις υψηλού βαθμού. Το αποτέλεσμα αυτό δεν είναι λάθος, απλά καλό είναι να μην ξεχνάμε ότι το πλήθος των δυσπλασιών χαμηλού βαθμού είναι μεγαλύτερο από εκείνο των δυσπλασιών υψηλού

βαθμού. Βέβαια, ο αντίλογος είναι ότι ούτως ή άλλως, στην καθημερινή κλινική πράξη τα LSIL αποτελέσματα είναι πολύ πιο συνηθισμένα από τα HSIL. Συνεπώς, αυτή η άνιση κατανομή LSIL και HSIL είναι περισσότερο ρεαλιστική.

Εν κατακλείδι, τα παραπάνω συμπεράσματα χρήζουν επιπρόσθετης **μελλοντικής έρευνας** σε μεγαλύτερα και αντιπροσωπευτικότερα δείγματα γυναικών, προκειμένου να επιβεβαιωθούν.

## 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

### 4.1 Γενικά συμπεράσματα της στατιστικής ανάλυσης

Παρακάτω παρουσιάζονται όλα τα συμπεράσματα που εξάγαμε κατά τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων μας. Όλα τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα που λάβαμε κατά τη **μέθοδο** που ακολουθήσαμε, επιβεβαιώθηκαν για την ορθότητά τους με την ιστολογική βιοψία, την οποία θεωρήσαμε ως το gold standard (ή reference test) της ανάλυσής μας. Αρχικά, αναλύσαμε το δείγμα μας λαμβάνοντας υπόψη το κάθε screening test (PAP, HPV DNA, NASBA, p16, flow) ξεχωριστά. Μάλιστα, εξετάσαμε το κάθε test και ως δυαδικό (θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα) αλλά και ως πολυκατηγορικό (κατηγοριοποίηση των αποτελεσμάτων ανάλογα με το επίπεδο της αλλοίωσης που προβλέπει). Στη συνέχεια, αναλύσαμε το δείγμα μας λαμβάνοντας υπόψη επιμέρους συνδυασμούς των screening tests, με σκοπό την αναγνώριση των λανθασμένων αποτελεσμάτων του PAP και τη διόρθωσή τους.

Πρώτα απ' όλα, εξετάσαμε την αποδοτικότητα του **PAP test**. Όταν εξετάσαμε το PAP ως δυαδικό test, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για ένα πάρα πολύ αποδοτικό screening test. Παρ' όλα αυτά, παρουσιάζει ένα σημαντικό ποσοστό αναξιοπιστίας λόγω λανθασμένης πρόβλεψης μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών της ιστολογικής βιοψίας. Το συμπέρασμα αυτό έγινε ακόμα πιο εμφανές, όταν αναλύσαμε το πολυκατηγορικό PAP στις διάφορες κατηγορίες του. Πιο συγκεκριμένα, πολύ συχνά παρατηρήσαμε λανθασμένη υποβάθμιση της αλλοίωσης που μπορεί να αποδειχθεί μοιραία για την ασθενή ή λανθασμένη υπερτίμηση της αλλοίωσης που μπορεί να οδηγήσει σε ανούσιες εξετάσεις ή και επεμβάσεις. Συνεπώς, το PAP test δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από μόνο του στο screening του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, αλλά χρειάζεται τη βοήθεια νέων τεχνικών ανίχνευσης.

Η πιο διαδεδομένη νέα τεχνική ανίχνευσης που χρησιμοποιείται ευρέως είναι το **HPV DNA test**. Όταν εξετάσαμε το HPV DNA ως δυαδικό test, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι δεν είναι τόσο αποδοτικό όσο το PAP, αλλά μπορεί να το υποβοηθήσει με μεγάλη επιτυχία σε συγκεκριμένες αλλοιώσεις. Το συμπέρασμα αυτό έγινε ακόμα πιο εμφανές, όταν αναλύσαμε το πολυκατηγορικό HPV DNA ανάλογα με τους τύπους υψηλού

ή χαμηλού κινδύνου. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήσαμε ότι ο διαχωρισμός σε υψηλού και χαμηλού κινδύνου HPV τύπους μπορεί να προβλέψει με μεγάλη επιτυχία μια αρνητική βιοψία ή μια δυσπλασία το πολύ χαμηλού βαθμού. Μάλιστα, όταν χωρίσαμε εκ νέου τους τύπους υψηλού κινδύνου σε απλά υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου, μπορέσαμε να ανιχνεύσουμε δυσπλασίες υψηλού βαθμού αλλά και καρκίνο. Παρ' όλα αυτά, το HPV DNA δεν είναι αρκετά πληροφοριακό στην εύρεση της ακριβούς μορφής της δυσπλασίας και ιδιαίτερα των δυσπλασιών υψηλού βαθμού. Για τέτοιες δυσπλασίες είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται άλλες τεχνικές ανίχνευσης.

Προς αυτή την κατεύθυνση, εξετάσαμε τη δυναμική του **NASBA test**. Όταν εξετάσαμε το NASBA ως δυαδικό test, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι δεν είναι τόσο αποδοτικό όσο το PAP, αλλά μπορεί να το υποβοηθήσει με πάρα πολύ μεγάλη επιτυχία σε συγκεκριμένες αλλοιώσεις. Το συμπέρασμα αυτό έγινε ακόμα πιο εμφανές, όταν αναλύσαμε το NASBA ως προς τους τύπους πολύ υψηλού κινδύνου. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήσαμε ότι μπορεί να βοηθήσει καθοριστικά το PAP στην ανίχνευση δυσπλασιών υψηλού βαθμού ή ακόμα και καρκίνου.

Ύστερα, εξετάσαμε το **p16 test**. Πιο συγκεκριμένα, το θετικό p16 αποτελεί πολύ ισχυρή ένδειξη υπέρ μιας δυσπλασίας υψηλού βαθμού (αντί για χαμηλού βαθμού) ή καρκίνου. Επίσης, το αρνητικό p16 επιβεβαιώνει σε πολύ μεγάλο ποσοστό την ύπαρξη αρνητικής βιοψίας ή το πολύ χαμηλού βαθμού δυσπλασίας. Βέβαια, πρέπει να σημειώσουμε ότι είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούμε το p16 συνδυαστικά με άλλα screening tests και όχι μόνο του.

Στη συνέχεια, εξετάσαμε το **Flow Cytometry test**. Πιο συγκεκριμένα, το θετικό flow μπορεί να προβλέψει με αρκετά μεγάλη επιτυχία μια δυσπλασία υψηλού ή χαμηλού βαθμού. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι το flow μπορεί να βοηθήσει αποφασιστικά το ιατρό κατά την ορθή εκτίμηση των ASCUS του PAP, ιδιαίτερα υπέρ μιας δυσπλασίας χαμηλού βαθμού.

Τέλος, εξετάσαμε διεξοδικά το **συνδυασμό** των επιμέρους screening tests, με σκοπό την αναγνώριση των λανθασμένων αποτελεσμάτων του PAP test.

Στην περίπτωση που έχουμε ένα PAP **εντός φυσιολογικών ορίων**, αν λάβουμε θετικό NASBA τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται στην πραγματικότητα για χαμηλού βαθμού δυσπλασία, αν λάβουμε θετικό p16 τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται για υψηλού βαθμού δυσπλασία και αν λάβουμε θετικό flow τότε υπάρχει



αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται είτε για χαμηλού είτε για υψηλού βαθμού δυσπλασία παρά για αρνητική βιοψία.

Στην περίπτωση που έχουμε ένα PAP ASCUS, αν λάβουμε αρνητικά κατά σειρά τα NASBA, p16, flow ή HPV DNA τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται στην πραγματικότητα για αρνητική βιοψία, αν λάβουμε θετικό το NASBA τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται για χαμηλού βαθμού δυσπλασία και αν λάβουμε θετικά κατά σειρά τα p16, NASBA και flow τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται για υψηλού βαθμού δυσπλασία παρά χαμηλού.

Στην περίπτωση που έχουμε ένα PAP LSIL, αν λάβουμε αρνητικά κατά σειρά τα p16, NASBA και flow τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται στην πραγματικότητα για αρνητική βιοψία και αν λάβουμε θετικό το συνδυασμό HPV DNA-NASBA-flow τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται για υψηλού βαθμού δυσπλασία παρά χαμηλού.

Στην περίπτωση που έχουμε ένα PAP HSIL, αν λάβουμε αρνητικό το συνδυασμό NASBA-flow-p16 τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται στην πραγματικότητα για αρνητική βιοψία, αν λάβουμε θετικά κατά σειρά τα p16, flow και NASBA τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται για χαμηλού βαθμού δυσπλασία παρά για μια αρνητική βιοψία και αν λάβουμε θετικά τα NASBA και p16 τότε υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να πρόκειται για καρκίνο αντί για μια δυσπλασία υψηλού βαθμού.

Στην περίπτωση που έχουμε ένα PAP **καρκίνο**, δεν εξετάσαμε το συνδυασμό των υπόλοιπων τεχνικών ανίχνευσης επειδή το PAP παρουσίασε 100% ορθότητα κατά την πρόβλεψη.

## *4.2 Μελλοντική Έρευνα*

Κατά την εκπόνηση της στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων μας και κατά τη σύγκρισή της με αντίστοιχες έρευνες, διαπιστώνουμε ότι υπάρχουν κάποια σημεία τα οποία δεν είναι σίγουρο ότι μπορεί να αποτελέσουν ένα γενικό κανόνα αντιμετώπισης. Ειδικότερα, μπορεί να αποτελούν συμπεράσματα που εξαρτώνται άμεσα από το συγκεκριμένο δείγμα γυναικών που εμείς εξετάσαμε. Κατ' επέκταση, το θέμα χρήζει **επιπρόσθετης μελλοντικής έρευνας** και από άλλους, ώστε να επιβεβαιωθούν τα εξαγόμενα συμπεράσματα.

Πολύ σημαντικό είναι να τονίζουμε τα ιδιαίτερα στοιχεία του δείγματος των γυναικών που αναλύσαμε. Όπως φαίνεται και στο υποκεφάλαιο 3.1, τα **δεδομένα** που επεξεργαστήκαμε προέκυψαν από γυναίκες που εξετάστηκαν στα πλαίσια πληθυσμιακού ελέγχου (κατόπιν συμφωνίας τους). Η βάση δεδομένων αποτελείται από ένα δείγμα 500 γυναικών από το Αττικό Νοσοκομείο και από το Νοσοκομείο Ιωαννίνων. Επομένως, μια μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να περιλαμβάνει τα αποτελέσματα από ακόμα περισσότερες γυναίκες. Επίσης, η έρευνα αυτή αφορά την περιοχή της Ελλάδας. Είναι αρκετά πιθανό, λοιπόν, σε άλλες περιοχές του κόσμου να παρατηρούνται αρκετά διαφορετικά αποτελέσματα λόγω της επιδημιολογίας της νόσου.

Η **κατανομή των αποτελεσμάτων του PAP test** δίνει τη δυνατότητα για μελλοντικές έρευνες που θα χρησιμοποιούν αντιπροσωπευτικότερα δείγματα γυναικών. Η δική μας ανάλυση περιελάμβανε 75 ASCUS από τα οποία εξάγαμε ορισμένα πολύ χρήσιμα συμπεράσματα. Προκειμένου όμως αυτά να επιβεβαιωθούν, καλό είναι να γίνουν και άλλες μελέτες με περισσότερα ASCUS. Επίσης, περιελάμβανε 151 LSIL και 92 HSIL. Η διαφορά αυτή είναι μεν ρεαλιστική αλλά οδηγεί σε μια μεγαλύτερη πιθανότητα εύρεσης δυσπλασιών χαμηλού βαθμού παρά υψηλού. Αυτό όμως δεν βοηθά ιδιαίτερα στην αμερόληπτη προσπάθεια διαχωρισμού των δύο δυσπλασιών, που είναι και ο σημαντικότερος στόχος μας. Επομένως, θα μπορούσαν να γίνουν αναλύσεις και σε δείγματα με παρόμοιο πλήθος δυσπλασιών χαμηλού και υψηλού βαθμού, ώστε να μην υπάρχουν παρερμηνείες.

Τέλος, πρέπει να επισημάνουμε το διαχωρισμό των **τύπων του HPV** ανάλογα με την επικινδυνότητά τους. Πιο συγκεκριμένα, διαχωρίσαμε τους τύπους σε χαμηλού, (απλά) υψηλού και πολύ υψηλού κινδύνου. Βέβαια, ο διαχωρισμός των τύπων υψηλού κινδύνου σε απλά και πολύ υψηλού κινδύνου δεν είναι ακόμα επισήμως αποδεκτός. Παρόλα αυτά, η επιλογή των τύπων πολύ υψηλού κινδύνου βασίστηκε σε πολυάριθμες έρευνες που αποδεικνύουν τη μεγαλύτερη σχετική επικινδυνότητά τους [30]. Προφανώς, το πεδίο για νέες έρευνες σχετικά με τη σχετική επικινδυνότητα των τύπων είναι ανοιχτό. Για παράδειγμα, εμείς παρατηρήσαμε τη σπουδαιότητα του τύπου 53. Ο HPV 53 δεν θεωρείται τύπος πολύ υψηλού κινδύνου αλλά αποδείχθηκε ιδιαίτερα καθοριστικός στην πρόκληση δυσπλασίας. Επιπλέον, καλό θα ήταν να χρησιμοποιηθούν τεχνικές για την ανίχνευση του mRNA περισσότερων τύπων κι όχι μόνο των πέντε που εμείς εξετάσαμε, διότι υπάρχει μεγάλη διαφορά με τους 35 DNA τύπους που ανιχνεύονται. Δηλαδή, είναι πολύ μεγαλύτερη η πιθανότητα να έχουμε θετικό HPV DNA απ' ότι NASBA mRNA.

Βέβαια, εδώ πρέπει να σημειώσουμε ότι αυξάνοντας τον αριθμό των ανιχνεύσιμων mRNA θα αυξήσουμε την ευαισθησία αλλά θα μειώσουμε την ειδικότητα.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Δ.Ι. Αραβαντινού, *Φυσιολογία της Γυναίκας*, Επιστημονικές Εκδόσεις Γ.Κ. Παρισιανού, 1990
- [2] Lippert, *Ανατομική*, Επιστημονικές Εκδόσεις Γ.Κ. Παρισιανού, 1993
- [3] Εκπαιδευτικό διαδικτυακό πρόγραμμα Eurocytology, “Κυτταρολογία τραχήλου της μήτρας”, <http://www.eurocytology.eu/Static/EUROCYTOLOGY/GRE/TP1CONTENT.html>
- [4] [http://en.wikipedia.org/wiki/Cervix\\_uteri](http://en.wikipedia.org/wiki/Cervix_uteri)
- [5] [http://en.wikipedia.org/wiki/Cervical\\_cancer](http://en.wikipedia.org/wiki/Cervical_cancer)
- [6] World Health Organization, “Cancer”, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>
- [7] Globocan 2002 database, [http://www-dep.iarc.fr/GLOBOCAN/Table1\\_sel1.htm](http://www-dep.iarc.fr/GLOBOCAN/Table1_sel1.htm)
- [8] A Kent, “HPV vaccination and testing”, *Obstet Gynecol.*, vol. 3 (1), pp. 33-34, 2010
- [9] T.P. Canavan, N.R. Doshi, “Cervical Cancer”, *American Academy of Family Physicians*, March 2010, <http://www.aafp.org/afp/20000301/1369.html>
- [10] Seer Cancer Statistics, <http://canques.seer.cancer.gov/>
- [11] Cancer Research UK, “Cervical cancer – UK mortality statistics”, <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/types/cervix/mortality/>
- [12] N. MacDonald, M.B. Stanbrook, P.C. Hebert, “Human papillomavirus vaccine risk and reality”, *CMAJ*, vol. 179 (6), September 2008
- [13] PAPSreen Victoria, “Latest statistics”, <http://www.papscreen.org.au/browse.asp?ContainerID=c15>
- [14] National Cervical Cancer Coalition, <http://www.nccc-online.org/>
- [15] F. Kiss, I. Szentagothai, *Ατλας Ανατομίας του Ανθρώπου*, Εκδόσεις Αθηνάς Ματράγκα, 1976
- [16] Δ.Β. Κασκαρέλη, *Μαιευτική και Γυναικολογία*, Τόμος Β, Εκδόσεις Βουλγαρίδη & Χατζηστύλη, 1983
- [17] B. Bates, *Οδηγός για Κλινική Εξέταση*, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, 1982
- [18] M.A. Krupp, M.J. Chatton, *Σύγχρονος Διαγνωστική και Θεραπευτική*, Τόμος Ι, Επιστημονικές Εκδόσεις Γ.Κ. Παρισιανού, 1978
- [19] Γ. Μιχαηλίδη, *Αγγλοελληνικόν Λεξικόν των Ιατρικών Όρων*, Εκδόσεις Η. Κωνσταντάρας, 1987
- [20] National Cancer Institute, “Dictionary of cancer terms”, <http://www.cancer.gov/dictionary/>
- [21] National Cancer Institute, “Human Papillomaviruses and Cancer: Questions and Answers”, <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/risk/HPV>
- [22] Kumar, Vinay, Abbas, Abul, Fausto, Nelson, Mitchell, Richard, *Robbins Basic Pathology*, Saunders Elsevier, 2007

- [23] T.P. Canavan, N.R. Doshi, "Cervical Cancer", *American Academy of Family Physicians*, vol. 61 (5), pp. 1369-1376, March 2000, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10735343>
- [24] Medline Plus, "Cervical Cancer",  
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000893.htm>
- [25] American Cancer Society, "What causes cancer of the cervix",  
[http://www.cancer.org/docroot/CRI/content/CRI\\_2\\_2\\_2X\\_What\\_causes\\_cancer\\_of\\_the\\_cervix\\_Can\\_it\\_be\\_prevented\\_8.asp?sitearea=](http://www.cancer.org/docroot/CRI/content/CRI_2_2_2X_What_causes_cancer_of_the_cervix_Can_it_be_prevented_8.asp?sitearea=)
- [26] J.M. Marrazzo, L.A. Koutsky, N.B. Kiviat, J.M. Kuypers, K. Stine, "Papanicolaou test screening and prevalence of genital human Papillomavirus among women who have sex with women", *American Journal of Public Health*, vol. 91 (6), pp. 947-952, June 2001
- [27] Medical Diagnostic Laboratories, [http://www.mdlab.com/html/testing/hpv\\_typedetect.html](http://www.mdlab.com/html/testing/hpv_typedetect.html)
- [28] National Cancer Institute, Benchmarks, <http://benchmarks.cancer.gov/>
- [29] N. Munoz, F.X. Bosch, S. de Sanjose, R. Herrero, X. Castellsague, K.V. Shah, P.J. Snijders, C.J. Meijer, "Epidemiologic classification of human Papillomavirus types associated with cervical cancer", *N. Engl. J. Med.*, vol. 348 (6), pp. 518-527, February 2003
- [30] J.M.M. Walboomers, M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J.F. Snijders, J. Peto, C.J.L.M. Meijer, N. Munoz, "Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide", *Journal of pathology*, vol. 189, pp. 12-19, 1999.
- [31] P.J.F. Snijders, R.D.M. Steenbergen, D.A.M. Heideman, C.J.L.M. Meijer, "HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications", *Journal of Pathology*, vol. 208, pp. 152-164, 2006
- [32] The Age, "Expert says circumcision makes sex safer",  
<http://www.theage.com.au/articles/2005/02/15/1108230001471.html>
- [33] X. Castellsague, X. Bosch, N. Munoz, C. Meijer, K. Shah, S. de Sanjose et al., "Circumcision and cervical cancer", *N. Engl. J. Med.*, vol. 346, pp. 1105-1112, 2002
- [34] Centers for disease control and prevention, "Sexually transmitted diseases - Genital HPV infection", <http://www.cdc.gov/std/HPV/STDFact-HPV.htm>
- [35] Pathology & Laboratory Medicine,  
<http://www.archivesofpathology.org/arpaonline/default.asp?request=get-abstract&issn=1543-2165&volume=127&page=930&&>
- [36] The new England Journal of Medicine, "Case 10-2009 - A 23 year old woman with an abnormal Papanicolaou smear", <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMcp0810837>
- [37] [http://en.wikipedia.org/wiki/Human\\_papillomavirus](http://en.wikipedia.org/wiki/Human_papillomavirus)
- [38] J.T. Schiller, P.M. Day, R.C. Kines, "Current understanding of the mechanism of HPV infection", *Gynecologic Oncology*, vol. 118, pp. S12-S17, April 2010

- [39] N. Ganguly, S.P. Parihar, "Human Papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis", *J. Biosci.*, vol. 34, pp. 113-123, 2009
- [40] A. Chaturvedi, M.L. Gillison, "Human Papillomavirus and head and neck cancer", *Epidemiology, pathogenesis and prevention of head and neck cancer*, pp. 87-116, 2010
- [41] K. Munger, P.M. Howley, "Human Papillomavirus immortalization and transformation functions", *Virus Research*, vol. 89, pp. 213-228, 2002
- [42] M.J. Conway, S. Alam, E.J. Ryndock et al., "Tissue-spanning redox gradient-dependent assembly of native human Papillomavirus type 16 virions", *Journal of Virology*, vol. 83 (20), pp. 10515-10526, 2009
- [43] [http://en.wikipedia.org/wiki/Cell\\_cycle](http://en.wikipedia.org/wiki/Cell_cycle)
- [44] [http://en.wikipedia.org/wiki/Retinoblastoma\\_protein](http://en.wikipedia.org/wiki/Retinoblastoma_protein)
- [45] Cancer Research UK, "Cervical Cancer – UK incidence statistics", <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/types/cervix/incidence/>
- [46] M. Demay, *Practical Principles of Cytopathology*, American Society for Clinical Pathology Press, 2007
- [47] A.L. Williamson, J.A. Passmore, E.P. Rybicki, "Strategies for the prevention of cervical cancer by human Papillomavirus vaccination", *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynecology*, vol. 19, pp. 531-544, 2005
- [48] [http://en.wikipedia.org/wiki/HPV\\_vaccine](http://en.wikipedia.org/wiki/HPV_vaccine)
- [49] L.E. Manhart, L.A. Koutsky, "Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts or cervical neoplasia? A meta-analysis", *Sex Transm. Dis.*, vol. 29 (11), pp. 725-735, November 2002
- [50] BBC news, "Semen may fuel cervical cancer", <http://news.bbc.co.uk/2/hi/health/5303054.stm>, August 2006
- [51] Medical Research Council, <http://www.mrc.ac.uk/NewsViewsAndEvents/News/MRC002621>
- [52] American Cancer Society, [http://www.cancer.org/docroot/CRI/content/CRI\\_2\\_4\\_2X\\_What\\_are\\_the\\_risk\\_factors\\_for\\_cervical\\_cancer\\_8.asp](http://www.cancer.org/docroot/CRI/content/CRI_2_4_2X_What_are_the_risk_factors_for_cervical_cancer_8.asp)
- [53] R.L. Sedjo, D.J. Roe, M. Abrahamsen, R.B. Harris, N. Craft, S. Baldwin, A.R. Giuliano, "Vitamin A, carotenoids and risk of persistent oncogenic human Papillomavirus infection", *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, vol. 11, pp. 876-884, September 2002
- [54] J. Sherris, S. Wittet, A. Kleine, J. Sellors, S. Luciani, R. Sankaranarayanan, M.A. Barone, "Evidence-based, alternative cervical cancer screening approaches in low-resource settings", *International Perspectives on Sexual and Reproductive Health*, vol. 35 (3), pp. 147-152, September 2009

- [55] R. Sankaranarayanan, L. Gaffikin, M. Jacob, J. Sellors, S. Robles, "A critical assessment of screening methods for cervical neoplasia", *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, vol. 89, pp. S4-S12, 2005
- [56] S. Luciani, J. Winkler, *Cervical cancer prevention in Peru: Lessons learned from the TATI demonstration project*, Pan American Health Organization, 2006
- [57] J.C. Cage, C. Ferreccio, M. Gonzales, R. Arroyo, M. Huiuin, S.C. Robles, "Follow-up care of women with an abnormal cytology in a low-resource setting", *Cancer Detection and Prevention*, vol. 27 (6), pp. 466-471, 2003
- [58] [http://en.wikipedia.org/wiki/Screening\\_%28medicine%29](http://en.wikipedia.org/wiki/Screening_%28medicine%29)
- [59] F. Gardeil, O. McNally, J. Skinner, M.J. Turner, "Invasive cervical cancer after treatment for cervical intraepithelial neoplasia", *The Lancet*, vol. 349 (9069), p. 1909, June 1997
- [60] A. Trope, K. Sjoborg, A. Eskild, K. Guschieri, T. Eriksen, S. Thoresen, M. Steinbakk, V. Laurak, C.M. Jonassen, U. Westerhagen, M.B. Jacobsen, A.K. Lie, "Performance of human Papillomavirus DNA and mRNA testing strategies for women with and without cervical neoplasia", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 47 (8), pp. 2458-2464, August 2009
- [61] T. Molden, I. Kraus, F. Karlsen, H. Skomedal, J.F. Nygard, B. Hagmar, "Comparison of human Papillomavirus messenger RNA and DNA detection: a cross-sectional study of 4136 women >30 years of age with a 2-year follow-up of High grade Squamous intraepithelial lesion", *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, vol. 14 (2), pp. 367-372, February 2005
- [62] R.L. Ringler, R.C. Marshall, J. Holman, "Colposcopy Syllabus", *Madigan Army Medical Center*, pp. 1-32, 2000
- [63] E. Paraskevaidis, M. Arbyn, A. Sotiriadis, E. Diakomanolis, P. Martin-Hirsch, G. Koliopoulos, G. Makrydimas, J. Tofoski, D.H. Roukos, "The role of HPV DNA testing in the follow-up period after treatment for CIN: a systematic review of the literature", *Cancer Treatment Reviews*, vol. 30, pp. 205-211, 2004
- [64] F.M. Carozzi, "Combined analysis of HPV DNA and p16INK4a expression to predict prognosis in ASCUS and LSIL PAP smears", *Coll. Antropol.*, vol. 31 (2), pp. 103-106, 2007
- [65] [http://en.wikipedia.org/wiki/P16\\_%28gene%29](http://en.wikipedia.org/wiki/P16_%28gene%29)
- [66] [http://en.wikipedia.org/wiki/Cell\\_cycle](http://en.wikipedia.org/wiki/Cell_cycle)
- [67] [http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclin-dependent\\_kinase](http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclin-dependent_kinase)
- [68] R. Narimatsu, B.K. Patterson, "High-throughput cervical cancer screening using intracellular human papillomavirus E6 and E7 mRNA quantification by flow cytometry", *American Society for Clinical Pathology*, vol.123, pp. 716-723, 2005
- [69] [http://en.wikipedia.org/wiki/Flow\\_cytometry](http://en.wikipedia.org/wiki/Flow_cytometry)
- [70] J. Coste, B. Cochand-Priollet, P. de Cremoux, C. Le Galès, I. Cartier, V. Molinié, S. Labbé, M.-C. Vacher-Lavenu, P. Vielh, "Cross sectional study of conventional cervical smear, monolayer

cytology, and human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening”, *British Medical Journal*, vol.326, p.733, April 2003

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

[72] J. Cuzick, A. Szarewski, H. Cubie, G. Hulman, H. Kitchener, D. Luesley, E. McGoogan, U. Menon, G. Terry, R. Edwards, C. Brooks, M. Desai, C. Gie, L. Ho, I. Jacobs, C. Pickles, P. Sasieni, “Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study”, *The Lancet*, vol. 362, pp. 1871-1876, December 2003

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

[74] K. Sjoborg, K. Guschieri, S. Thoresen, M. Steinbakk, V. Laurak, U. Westerhagen, M.B. Jacobsen, “Performance of human Papillomavirus DNA and mRNA testing strategies for women with and without cervical neoplasia”, *Clinical Microbiology*, vol. 47 (8), pp. 2458-2464, August 2009

[75] K. Guschieri, N. Wentzensen, “Human Papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia”, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, vol. 17 (10), pp. 2536-2545, October 2008

[76] I. Tsoumpou, M. Arbyn, M. Kyrgiou, N. Wentzensen, G. Koliopoulos, P. Martin-Hirsch, V. Malamou-Mitsi, E. Paraskevaidis, “p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis”, *Cancer Treatment Reviews*, vol. 35, pp. 210-220, 2009

[77] R. Narimatsu, “Cervical cancer screening using flow cytometry”, *American Society for Clinical Pathology*, vol.123, pp. 716-723, 2005

[78] Π. Γαλάνης, “Στατιστικές μέθοδοι ανάλυσης δεδομένων”, *Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής*, τομ. 26 (5), σελ. 699-711, 2009

[79] Β. Μπουντζιούκα, “Περιγραφική Στατιστική”, *Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας*, Νοέμβριος 2009

[80] V.J. Easton, J.H. McColl, “Statistics Glossary”,  
[http://www.stats.gla.ac.uk/steps/glossary/presenting\\_data.html](http://www.stats.gla.ac.uk/steps/glossary/presenting_data.html)

[81] [http://en.wikipedia.org/wiki/Sensitivity\\_%28tests%29](http://en.wikipedia.org/wiki/Sensitivity_%28tests%29)

[82] Charmeg, “What is the accurate meaning of precision?”,  
[http://www.charmeg.gr/\\_docs/AN004\\_1.pdf](http://www.charmeg.gr/_docs/AN004_1.pdf)

[83] <http://en.wikipedia.org/wiki/Accuracy>



- [84] <http://en.wikipedia.org/wiki/Prevalence>
- [85] [http://en.wikipedia.org/wiki/Positive\\_predictive\\_value](http://en.wikipedia.org/wiki/Positive_predictive_value)
- [86] [http://en.wikipedia.org/wiki/Negative\\_predictive\\_value](http://en.wikipedia.org/wiki/Negative_predictive_value)
- [87] M. Carrington-Reid, D.A. Lane, A.R. Feinstein, “Academic calculations versus clinical judgements: practicing physicians’ use of quantitative measures of test accuracy”, *Journal of American Medicine*, vol. 104 (4), pp. 374-380, April 1998
- [88] J. Steurer, J.E. Fischer, L.M. Bachmann, M. Koller, G. ter Riet, “Communication accuracy of tests to general practitioners: a controlled study”, *British Medical Journal*, vol. 324, pp. 824-826, April 2002
- [89] M.A. Puhan, J. Steurer, L.M. Bachmann, G. ter Riet, “A randomized trial of ways to describe test accuracy: the effect on physicians’ post-test probability estimates”, *Annals of Internal Medicine*, vol. 143 (3), pp. 184-189, August 2005
- [90] [http://en.wikipedia.org/wiki/Likelihood\\_ratios\\_in\\_diagnostic\\_testing](http://en.wikipedia.org/wiki/Likelihood_ratios_in_diagnostic_testing)
- [91] [http://en.wikipedia.org/wiki/Relative\\_risk](http://en.wikipedia.org/wiki/Relative_risk)
- [92] [http://en.wikipedia.org/wiki/Odds\\_ratio](http://en.wikipedia.org/wiki/Odds_ratio)
- [93] Ιδεώδες Ασκληπιακό Πάρκο Ιατρικής Σχολής, “Σχετικός Κίνδυνος”, <http://panacea.med.uoa.gr/topic.aspx?id=231>
- [94] [http://en.wikipedia.org/wiki/Receiver-operator\\_characteristic](http://en.wikipedia.org/wiki/Receiver-operator_characteristic)
- [95] M. Sullivan-Pepe, *The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction*, Oxford Statistical Science Series, 2003
- [96] Μ. Τσαγρής, *Αγγλοελληνικό Λεξικό Στατιστικών Όρων*, 2008
- [97] A. Agresti, *An Introduction to Categorical Data Analysis*, John Wiley & Sons Publication, 2007
- [98] [http://en.wikipedia.org/wiki/Type\\_I\\_and\\_type\\_II\\_errors](http://en.wikipedia.org/wiki/Type_I_and_type_II_errors)
- [99] [http://en.wikipedia.org/wiki/Statistical\\_significance](http://en.wikipedia.org/wiki/Statistical_significance)
- [100] <http://en.wikipedia.org/wiki/P-value>
- [101] [http://en.wikipedia.org/wiki/Null\\_hypothesis](http://en.wikipedia.org/wiki/Null_hypothesis)
- [102] [http://en.wikipedia.org/wiki/Alternative\\_hypothesis](http://en.wikipedia.org/wiki/Alternative_hypothesis)
- [103] A. Agresti, *Categorical Data Analysis*, John Wiley & Sons Publication, 2002
- [104] [http://en.wikipedia.org/wiki/Chi-square\\_distribution](http://en.wikipedia.org/wiki/Chi-square_distribution)
- [105] [http://en.wikipedia.org/wiki/Spearman%27s\\_rank\\_correlation\\_coefficient](http://en.wikipedia.org/wiki/Spearman%27s_rank_correlation_coefficient)
- [106] [http://en.wikipedia.org/wiki/Gamma\\_test\\_%28statistics%29](http://en.wikipedia.org/wiki/Gamma_test_%28statistics%29)
- [107] [http://en.wikipedia.org/wiki/Kendall\\_tau\\_rank\\_correlation\\_coefficient](http://en.wikipedia.org/wiki/Kendall_tau_rank_correlation_coefficient)
- [108] [http://en.wikipedia.org/wiki/Mann%E2%80%93Whitney\\_U](http://en.wikipedia.org/wiki/Mann%E2%80%93Whitney_U)
- [109] [http://en.wikipedia.org/wiki/Cochran-Armitage\\_test\\_for\\_trend](http://en.wikipedia.org/wiki/Cochran-Armitage_test_for_trend)
- [110] [http://en.wikipedia.org/wiki/Fisher%27s\\_exact\\_test](http://en.wikipedia.org/wiki/Fisher%27s_exact_test)

- [111] [http://en.wikipedia.org/wiki/Barnard%27s\\_test](http://en.wikipedia.org/wiki/Barnard%27s_test)
- [112] [http://en.wikipedia.org/wiki/McNemar%27s\\_test](http://en.wikipedia.org/wiki/McNemar%27s_test)
- [113] [http://en.wikipedia.org/wiki/Kruskal%E2%80%93Wallis\\_one-way\\_analysis\\_of\\_variance](http://en.wikipedia.org/wiki/Kruskal%E2%80%93Wallis_one-way_analysis_of_variance)
- [114] [http://en.wikipedia.org/wiki/Non-parametric\\_statistics](http://en.wikipedia.org/wiki/Non-parametric_statistics)
- [115] [http://en.wikipedia.org/wiki/Yates%27\\_chi-square\\_test](http://en.wikipedia.org/wiki/Yates%27_chi-square_test)
- [116] Categorical Data Analysis, <http://www.stat.ufl.edu/~winner/sta6934/CDA1.ppt>
- [117] Nominal and Ordinal Data Analysis,  
[http://www.charlesdennishale.com/books/eets\\_ap/13\\_Statistical\\_Fdn\\_Nominal\\_Ordinal\\_Data\\_Analysis.pdf](http://www.charlesdennishale.com/books/eets_ap/13_Statistical_Fdn_Nominal_Ordinal_Data_Analysis.pdf)
- [118] [http://en.wikipedia.org/wiki/Contingency\\_table](http://en.wikipedia.org/wiki/Contingency_table)
- [119] T.R. Landis, G.G. Koch, “The measurement of observer agreement for categorical data”, *Biometrics*, vol. 33 (1), pp. 159-174, March 1977
- [120] [http://en.wikipedia.org/wiki/Scott%27s\\_Pi](http://en.wikipedia.org/wiki/Scott%27s_Pi)
- [121] [http://en.wikipedia.org/wiki/Fleiss%27\\_kappa](http://en.wikipedia.org/wiki/Fleiss%27_kappa)
- [122] [http://en.wikipedia.org/wiki/Cohen%27s\\_kappa](http://en.wikipedia.org/wiki/Cohen%27s_kappa)