

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ:**

**«ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΔΙΑΓΝΩΣΗ  
ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΜΑ: «Ο Ρόλος της τεχνικής των δέντρων ταξινόμησης στην αντικειμενοποίηση της κυτταρολογικής διάγνωσης υλικού παρακέντησης δια λεπτής βελόνης ψυχρών όζων του θυρεοειδούς αδένα σύμφωνα με τα κριτήρια της κυτταρολογικής ταξινόμησης κατά Bethesda.»**

ΚΛΕΟΠΑΤΡΑ ΚΩΤΗ

ΜΕΤΑΠΤ. ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ

ΑΘΗΝΑ

ΔΕΚΕΜΒΡΗΣ 2017

**Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη**

**ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΔΙΑΓΝΩΣΗ, ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ**

**που απονέμει η Ιατρική Σχολή του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.**

**Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ**

**ΒΑΘΜΙΑ**

**ΥΠΟΓΡΑΦΗ**

**Ν.ΚΑΒΑΝΤΖΑΣ(Επιβλέπων)**

**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

.....

**Ι.ΠΑΝΑΓΙΩΤΙΔΗΣ**

**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

.....

**Α.ΔΕΛΙΔΗΣ**

**ΕΠΙΚ.ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

.....

**Η παρούσα εργασία αφιερώνεται στη μνήμη του Καθηγητή Κυτταρολογίας**

**Κου. Πέτρου Καρακίτσου.**

# 1. Εισαγωγή/Ευχαριστίες

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου « ΑΤΤΙΚΟΝ» με σκοπό τη διερεύνηση της αξίας της τεχνικής των δένδρων ταξινόμησης, στην αντικειμενοποίηση της κυτταρολογικής διάγνωσης υλικού παρακέντησης δια λεπτής βελόνης ψυχρών όζων του θυρεοειδούς αδένα σύμφωνα με τα κριτήρια της κυτταρολογικής ταξινόμησης κατά Bethesda.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή κο. Νίκο Καβαντζά, Διευθυντή του Α΄ Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για τη βοήθεια και τις πολύτιμες συμβουλές που μου προσέφερε για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας ως επιβλέπων καθηγητής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή κο. Ιωάννη Παναγιωτίδη, Διευθυντή του Β΄ Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, ο οποίος με την διαρκή υποστήριξη του, παρέχοντας προς εμένα την επιστημονική και ακαδημαϊκή του εμπειρία καθώς και τις εποικοδομητικές του υποδείξεις , συνέβαλε καθοριστικά στην περαίωση της εργασίας.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον κο. Αβραάμ Πουλιάκη Φυσικό-Ραδιοηλεκτρολόγο , επιστημονικό συνεργάτη του Β΄ Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «ΑΤΤΙΚΟΝ» , για το πολύτιμο και ουσιαστικό έργο του, στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης.

Επίσης θεωρώ υποχρέωση μου να ευχαριστήσω θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή κο. Αλέξανδρο Δελίδη για την συμπαράσταση και την υποστήριξη του

## 2. Περιεχόμενα

1.	Εισαγωγή/Ευχαριστίες.....	4
2.	Περιεχόμενα .....	5
3.	Κατάλογος Πινάκων.....	8
4.	Κατάλογος γραφημάτων.....	10
5.	Κατάλογος σχημάτων .....	11
6.	Κυτταρολογική εξέταση υλικού παρακέντησης δια λεπτής βελόνης (FNA) .....	12
6.1.	Ιστορική αναδρομή της βιοψίας με λεπτή βελόνα .....	12
6.2.	Η παρακέντηση με λεπτή βελόνη στη διαχείριση των ασθενών με οζώδεις παθήσεις του θυρεοειδούς αδένα.....	14
6.2.1.	Ενδείξεις για FNA θυρεοειδούς αδένα.....	17
6.2.2.	Διαδικασία της FNA θυρεοειδούς αδένα.....	18
6.2.3.	Πιθανές επιπλοκές.....	19
6.2.4.	Λήψη του υλικού .....	19
6.2.5.	Επεξεργασία των δειγμάτων .....	20
6.2.5.1.	Τεχνική άμεσης επίστρωσης του υλικού .....	21
6.2.5.2.	Επεξεργασία του υλικού με κυτταροφυγόκεντρο.....	21
6.2.5.3.	Εγκλεισμός του υλικού σε κύβο παραφίνης.....	21
6.2.5.4.	Τεχνική κυτταρολογίας υγρής φάσης.....	21
6.2.6.	Αξιολόγηση μορφολογικών κριτηρίων στα επιχρίσματα.....	22
6.2.7.	Διαχωρισμός κυτταρολογικών δειγμάτων .....	23
6.3.	Αλλοιώσεις με καλοήθεις μορφολογικούς χαρακτήρες .....	24
6.3.1.	Οζώδης υπερπλασία (Οζώδης κολλοειδής βρογχοκήλη).....	24
6.3.2.	Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα.....	25
6.3.3.	Υποξεία (κοκκιωματώδης) θυρεοειδίτιδα.....	26
6.4.	Θυλακίωδες αλλοιώσεις αμφίβολης μορφολογίας, με πιθανότητα να παρουσιάσουν ζήτημα διαφορικής διάγνωσης.....	26
6.4.1.	Οζώδης αλλοίωση επί εδάφους νόσου του Graves .....	26
6.4.2.	Κυτταροβριθής αδενωματώδης όζος .....	27
6.5.	Αλλοιώσεις ύποπτης κυτταρομορφολογίας .....	27
6.5.1.	Μορφολογικά κριτήρια .....	27
6.5.2.	Θυλακίωδες νεόπλασμα.....	27
6.5.3.	Ογκοκυτταρικό (Hürthle) Νεόπλασμα.....	28
6.6.	Διαφορική διάγνωση ογκοκυτταρικών αλλοιώσεων.....	28
6.6.1.	Ογκοκυτταρικές αλλοιώσεις κυτταρολογικά καλοήθεις.....	29
6.6.2.	Ογκοκυτταρικές αλλοιώσεις κυτταρολογικά ύποπτες.....	29

6.6.3.	Θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς (ογκοκυτταρική ποικιλία και υψηλοκυτταρική ποικιλία).....	30
6.6.4.	Μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς.....	30
6.6.5.	Μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα .....	31
6.6.6.	Αδένωμα παραθυρεοειδούς .....	31
6.7.	Μορφολογικά κριτήρια κακόηθων αλλοιώσεων .....	32
6.7.1.	Θηλώδες καρκίνωμα .....	32
6.7.2.	Θυλακιώδης τύπος του θηλώδους καρκινώματος (FVPTC) .....	33
6.7.3.	Υψηλοκυτταρικός τύπος (tall cell) του θηλώδους καρκινώματος .....	34
6.7.4.	Θηλώδες καρκίνωμα προσομοιάζον με τον όγκο Warthin των σιελογόνων αδένων (Warthin-like) .....	34
6.8.	Χαμηλής διαφοροποίησης καρκίνωμα .....	35
6.8.1.	Αδιαφοροποίητο (Αναπλαστικό) καρκίνωμα .....	35
6.8.2.	Μυελοειδές καρκίνωμα.....	36
6.8.2.1.	Τύποι μυελοειδούς καρκινώματος.....	37
6.8.3.	Λέμφωμα .....	38
7.	Κυτταρολογία Υγρής Φάσης .....	39
7.1.	Μέθοδος Surepath® (Becton Dickinson/ Tripath, Burlington, USA ) .....	39
7.2.	Μέθοδος ThinPrep® (Hologic, Marlborough, USA) .....	40
7.2.1.	Εφαρμογή της τεχνικής κυτταρολογίας υγρής φάσης ThinPrep® σε δείγματα FNA θυρεοειδούς 40	
7.3.	Διαγνωστική ορολογία σε δείγματα FNA θυρεοειδούς.....	41
7.4.	Ανάλυση της διαγνωστικής σημασίας του συστήματος TBSRTC.....	43
7.4.1.	Ανεπαρκή δείγματα (μη διαγνωστικά) / TBS I.....	43
7.4.2.	Αρνητικό για κακοήθεια / TBS II.....	43
7.4.3.	Ατυπία απροσδιόριστης σημασίας ή θυλακιώδης βλάβη απροσδιόριστης σημασίας / TBS III ( Atypia of Undetermined Significance “AUS” ).....	44
7.4.4.	Θυλακιώδες νεόπλασμα - υποψία για θυλακιώδες ή Hürthle νεόπλασμα / TBS IV	44
7.4.5.	Υποψία για κακοήθεια / TBS V .....	45
7.4.6.	Θετικό για κακοήθεια / TBS VI.....	45
8.	Πίνακες .....	46
8.1.	Αξιολόγηση κυτταρολογικών δειγμάτων .....	49
8.2.	Συνοπτική παρουσίαση συστημάτων διογνωστικής ορολογίας.....	53
9.	Δέντρα ταξινόμησης .....	55
9.1.	Ορισμοί.....	55
9.2.	Δυαδικά δένδρα .....	55
9.3.	Συμβολισμοί .....	56
9.4.	Αλγόριθμος κατασκευής του δέντρου .....	57
9.4.1.	Μεγάλωμα (ανάπτυξη) του δέντρου .....	58
9.4.2.	Κλάδεμα του δέντρου.....	60

9.5.	Εισαγωγή-τοποθέτηση του προβλήματος .....	60
9.6.	Δυνατότητες –Πλεονεκτήματα.....	66
9.7.	Πιθανές επεκτάσεις και γενικεύσεις.....	67
9.8.	Συμπεράσματα .....	67
10.	Στατιστική επεξεργασία δεδομένων μορφολογικών χαρακτηριστικών της κυτταρολογικής εξέτασης σε δείγματα FNA θυρεοειδούς αδένα .....	68
10.1.	Εισαγωγή.....	68
10.2.	Σκοπός.....	69
10.3.	Υλικό και Μέθοδοι.....	70
10.3.1.	Δεδομένα .....	70
10.1.	Μέθοδοι.....	77
10.1.1.	Προ-επεξεργασία.....	77
10.1.2.	Δέντρα Ταξινόμησης και Κατηγοριοποίησης .....	78
10.2.	Αποτελέσματα.....	78
10.2.1.	Αποτελέσματα Δέντρου Ταξινόμησης και Κατηγοριοποίησης (CART).....	78
10.2.1.1.	Μοντέλο-1α-CART .....	78
10.2.1.2.	Πως χρησιμοποιείται το δέντρο.....	82
10.3.	Μοντέλο-1β-CART.....	84
10.3.1.1.	Μοντέλο-2-CART .....	89
10.4.	Συζήτηση αποτελεσμάτων .....	92
11.	Περίληψη .....	93
11.1.	Εισαγωγή.....	93
11.2.	Υλικό και μέθοδοι .....	93
11.3.	Αποτελέσματα.....	93
11.4.	Συμπεράσματα.....	94
12.	Summary .....	95
12.1.	Introduction .....	95
12.2.	Material and Methods .....	95
12.3.	CART results .....	95
12.4.	Conclusions .....	96
13.	Βιβλιογραφία.....	97

### 3. Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Παθολογικές αλλοιώσεις με παρουσία λεμφοκυττάρων στον θυρεοειδή αδέννα.....	46
Πίνακας 2: Παθήσεις με Hürthle κύτταρα όπου απαιτείται διαφορική διάγνωση (Kini, 1996).....	46
Πίνακας 3: Κύριοι τύποι υπερπλαστικών αλλοιώσεων του θυλακικού επιθηλίου.....	47
Πίνακας 4: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των ποικίλων παρασκευαστικών τεχνικών.....	48
Πίνακας 5: Πιθανά αίτια ανεπαρκών δειγμάτων.....	49
Πίνακας 6: Οδηγίες για την εκτίμηση της επάρκειας του υλικού FNA.....	49
Πίνακας 7: Διαγνωστικά κυτταρολογικά κριτήρια θηλώδους καρκινώματος.....	50
Πίνακας 8: Διαγνωστικά κυτταρολογικά κριτήρια μυελοειδούς καρκινώματος.....	51
Πίνακας 9: Διαφορική διάγνωση μυελοειδούς καρκινώματος.....	52
Πίνακας 10: Ποικίλα διαγνωστικά συστήματα ταξινόμησης FNA θυρεοειδούς.....	53
Πίνακας 11: Διαγνωστικό σύστημα κατά BTA/RCoP.....	53
Πίνακας 12: Διαγνωστικό σύστημα κατά Bethesda (TBSRTC) 2009.....	54
Πίνακας 13: Κατάλογος κυτταρομορφολογικών χαρακτηριστικών που αξιολογήθηκαν.....	71
Πίνακας 14: Τιμές Κυτταρομορφολογικών χαρακτηριστικών σύμφωνα με τις κατηγορίες TBS.....	73
Πίνακας 15: Συσχέτιση κυτταρολογικής και παθολογοανατομικής διάγνωσης.....	74
Πίνακας 16: Ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις, εξαιρουμένων των ασαφών ιστολογικών αποτελεσμάτων και των ανεπαρκών κυτταρολογικών αποτελεσμάτων.....	75
Πίνακας 17: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις.....	75
Πίνακας 18: Ειδικότητα, ευαισθησία της κυτταρολογικής διάγνωσης σύμφωνα με την τιμή ορίου αποκοπής.....	76
Πίνακας 19: Αριθμητική κωδικοποίηση των απαντήσεων TBS.....	78
Πίνακας 20: Αποτελέσματα δέντρου ταξινόμησης & κατηγοριοποίησης (CART) για την πρόβλεψη...79	79
Πίνακας 21: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1- CART της προσέγγισης της κυτταρολογικής έκβασης (το κυτταρολογικό αποτέλεσμα θεωρείται ο χρυσός κανόνας).....	79



Πίνακας 22: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1-CART σε σύγκριση με την Κυτταρολογική διάγνωση.....	80
Πίνακας 22 <sup>α</sup> : Απόδοση του μοντέλου1-CART σε σύγκριση με την ιστολογική διάγνωση.....	81
Πίνακας 23: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1- CART της προσέγγισης της Ιστολογικής διάγνωσης.....	80
Πίνακας 24: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1-CART σε σύγκριση με την Ιστολογική διάγνωση, (η απόδοση της κυτταρολογικής διάγνωσης για τις ίδιες τιμές αποκοπής παρουσιάζονται για λόγους πληρότητας).....	81
Πίνακας 25: Αποτελέσματα Μοντέλου-1β-CART για πρόβλεψη κυτταρολογικών αποτελεσμάτων ....	84
Πίνακας 26: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1β-CART της προσέγγισης της κυτταρολογικής έκβασης (το κυτταρολογικό αποτέλεσμα θεωρείται ο χρυσός κανόνας).....	84
Πίνακας 27: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1β-CART σε σύγκριση με την Κυτταρολογική διάγνωση.....	85
Πίνακας 28: Απόδοση Μοντέλου-1β-CART σε σύγκριση με την ιστολογική διάγνωση.....	85
Πίνακας 29: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1β-CART της προσέγγισης της Ιστολογικής διάγνωσης.....	85
Πίνακας 30: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1β-CART σε σύγκριση με την Ιστολογική διάγνωση, (η απόδοση της κυτταρολογικής διάγνωσης για τις ίδιες τιμές αποκοπής παρουσιάζονται για λόγους πληρότητας).....	86
Πίνακας 31: Αποτελέσματα Μοντέλου-2-CART για πρόβλεψη του ιστολογικού αποτελέσματος .....	89
Πίνακας 32: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-2-CART.....	89
Πίνακας 33: Ειδικότητα, ευαισθησία της Κυτταρολογικής διάγνωσης.....	89
Πίνακας 34: Σύγκριση Κυτταρολογικής διάγνωσης και Μοντέλου-2-CART .....	90

## **4. Κατάλογος γραφημάτων**

Γράφημα 1: Καμπύλη ROC της Κυτταρολογικής διάγνωσης εξαιρουμένων των περιπτώσεων TBS I. .	77
Γράφημα 2: Καμπύλη ROC της έκβασης του Μοντέλου-1-CART.....	82
Γράφημα 3: Μοντέλο-1α-CART, για πρόβλεψη της κυτταρολογικής έκβασης. ....	83
Γράφημα 4: Καμπύλη ROC της έκβασης του Μοντέλου-1β- CART.....	87
Γράφημα 5: Μοντέλο-1β-CART, για την πρόβλεψη της κυτταρολογικής έκβασης. ....	88
Γράφημα 6: Μοντέλο-2-CART, για την πρόβλεψη της ιστολογικής έκβασης.....	91

## 5. Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 1: (α) Δυαδικό δέντρο ταξινόμησης και (β) ο διαμερισμός του χώρου εισόδου .....	56
Σχήμα 2: (α) Ένα τυπικό δέντρο $T$ με κόμβο-ρίζα $t_1$ και υποδένδρο $T_{t_3}$ (b) Το δέντρο $t_1$ μετά τον εκφυλισμό το υποδέντρου $T_{t_3}$ στον τερματικό κόμβο $t_3$ .....	57
Σχήμα 3: Παράδειγμα προβλήματος διαχωρισμού ομάδων με δέντρα ταξινόμησης .....	64
Σχήμα 4: Διαμερισμός του χώρου ταξινόμησης .....	64
Σχήμα 5: Τελικό δέντρο ταξινόμησης .....	65

## **6. Κυτταρολογική εξέταση υλικού παρακέντησης δια λεπτής βελόνης (FNA)**

### **6.1. Ιστορική αναδρομή της βιοψίας με λεπτή βελόνα**

Η μικροσκοπική μελέτη φυσιολογικών και ανώμαλων κυττάρων του ανθρώπινου σώματος τοποθετείται χρονικά στο πρώτο μισό του δέκατου αιώνα (koss et.al., 1984).

Τα κύτταρα προέρχονται από υγρά σωματικών κοιλότητων, υλικό απόχρεμψης και αποξέσεις επιφανειών, είτε από αυτόματη αποφολίδωση είτε μέσω εντυπωμάτων ή επίστρωσης του υλικού απόξεσης. Όπως είναι γνωστό, το φωτομικροσκόπιο ανακαλύφθηκε από τον Anton van Leeuwenhoek (1632-1723) (keebler et. Al.,1977)

Η κυτταρολογία ξεκίνησε ως ιδέα μελέτης υλικού εντυπωμάτων από τις επιφάνειες σε τομές όγκων νεκροτομικού υλικού και στη συνέχεια εξελίχθηκε μέσω νέων μεθόδων λήψης, μονιμοποίησης και χρώσης των κυττάρων, επιτρέποντας την άμεση και ορθή αξιολόγηση των κυτταρικών αλλοιώσεων, σε υλικό που λαμβάνεται με ελάχιστα τραυματική διαδικασία (Kocjan,2010). Η αλματώδης ανάπτυξη της Κυτταρολογίας που παρατηρείται σήμερα, αποτελώντας πλέον ένα ισχυρό διαγνωστικό εργαλείο της κλινικής ιατρικής, οφείλεται σε ένα σημαντικό παρελθόν με σπουδαίες επιστημονικές μελέτες και ανακοινώσεις τόσο στις Η.Π.Α. όσο και στην Ευρώπη. Κατά την πρώτη δεκαετία του εικοστού αιώνα, σε δείγματα που εξετάζονται και σήμερα, περιγράφονται αποφολιδωμένα καρκινικά κύτταρα. Οι δημοσιεύσεις των George Papanicolaou και Herbert Traut το 1941 και 1949 σηματοδότησαν την ανάπτυξη και διάδοση της αποφολιδωτικής κυτταρολογίας ως και την έναρξη του πληθυσμιακού ελέγχου για καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Papanicolaou 1941, Papanicolaou 1949). Σχεδόν ταυτόχρονα με τις ερευνητικές μελέτες του Γ. Παπανικολάου, βελτιώνεται η δοκιμασία με τη χρήση βελόνας προσαρμοσμένης σε σύριγγα για εξέταση δείγματος μέσω αναρρόφησης.

Σύμφωνα με τον A.J.Webb (Webb 1974), ο πρώτος που χρησιμοποίησε δείγματα αναρρόφησης από όγκους μαστών για μικροσκοπική εξέταση, ήταν ο James Paget το 1853. Μέχρι το 1930, αναφέρονται διάφοροι ερευνητές που μελέτησαν υλικό αναρρόφησης από αλλοιώσεις ιστών. Το 1904 δύο Βρετανοί χειρουργοί, οι Greig και Gray αναγνώρισαν τρυπανοσωμίαση σε υλικό αναρρόφησης λεμφαδένων. Το 1912 ο Hirschfeld και το 1921 ο Guthrie από το νοσοκομείο John Hopkins της Βαλτιμόρης διέγνωσαν λέμφωμα σε υλικό αναρρόφησης από λεμφαδένες.

Το 1930, οι H.E.Martin και E.B.Ellis, δημοσίευσαν για πρώτη φορά τις αρχικές παρατηρήσεις τους που ξεκίνησαν το 1926 στο νοσοκομείο Memorial Hospital for Cancer της Νέας Υόρκης, αναφερόμενοι στη μικροσκοπική εξέταση υλικού επίστρωσης πάνω σε αντικειμενοφόρες πλάκες, το οποίο είχε ληφθεί μέσω αναρρόφησης με βελόνα 18 gauge προσαρμοσμένης σε σύριγγα 20 ml, από ψηλαφητούς όγκους 65 ασθενών (Martin and Ellis, 1930). Ο λόγος αυτού του τρόπου προσέγγισης των αλλοιώσεων ήταν ότι, ο Dr James Ewing διευθυντής Παθολογικής Ανατομικής στο νοσοκομείο Memorial κατά τη δεκαετία του 1920, διαφωνούσε στη λήψη βιοψίας μέσω ερευνητικής εγχειρητικής τομής, θεωρώντας ότι αυτή η διαδικασία συνέβαλε στη διασπορά της νόσου. Όμως, οι χειρουργοί Martin και Coley δίσταζαν να προχωρήσουν σε θεραπεία των ασθενών τους χωρίς τεκμηριωμένη διάγνωση. Η αναρροφητική βιοψία επιλέχθηκε ως εναλλακτική λύση με μικρή τομή του υπερκείμενου δέρματος της βλάβης και αναρρόφηση με βελόνα 18 gauge. Ακολουθούσε επίστρωση σε αντικειμενοφόρους πλάκες του αναρροφούμενου υλικού, ξήρανση στον αέρα και χρώση με Αιματοξυλίνη-Ηωσίνη. Εφόσον υπήρχαν ιστοτεμαχίδια τα τοποθετούσαν σε απορροφητικό χαρτί και τα μονιμοποιούσαν σε φορμόλη για λήψη τομών. Τις αρχικές παρατηρήσεις των δύο ερευνητών ακολούθησε μια νεότερη επιστημονική δημοσίευση από τον παθολογοανατόμο Fred W. Stewart (Stewart, 1933), βασισμένη στη μελέτη επιχρισμάτων υλικού από 2500 όγκους ασθενών μέσω αναρρόφησης με βελόνα 18 gauge. Ο συγγραφέας του άρθρου σχολιάζει τις ενδείξεις και τη χρησιμότητα της μεθόδου στη διάγνωση όγκων αλλά και την προσοχή που απαιτείται για την αποφυγή ορισμένων διαγνωστικών παγίδων. Αναφερόμενος στο υλικό αναρρόφησης από τον Θυρεοειδή αδένα σε 45 δείγματα, σχολιάζει την δυσκολία της ερμηνείας των μικροσκοπικών ευρημάτων στα επιχρίσματα θεωρώντας την τεχνική ως μη ικανοποιητική, ενώ αντίθετα οι λεμφαδένες, ο μαστός και οι όγκοι μαλακών μορίων θεωρούνται κύριοι στόχοι της βιοψίας με αναρρόφηση δια βελόνας.

Το 1931 στο Βερολίνο ο EP Mannheim που αφ'ενός παρακολουθούσε το ερευνητικό έργο του Hirschfeld και αφ'ετέρου γνώριζε το έργο των Martin και Ellis, ανακοίνωσε τα ευρήματα του σε υλικό 43 όγκων που αναρροφήθηκαν από τον ίδιο με λεπτή βελόνα. Στην συνέχεια, ενώ η αποφολιδωτική κυτταρολογία υιοθετήθηκε και εξελίχθηκε στις ΗΠΑ, η τεχνική της αναρροφητικής βιοψίας σχεδόν εγκαταλήφθηκε για αρκετά έτη, μέχρι τις δεκαετίες του 1960 και 1970. Αντίθετα στην Ευρώπη, στη διάρκεια των δεκαετιών του 1940 και του 1950, αναπτύχθηκε μία νέα σχολή αναρροφητικής βιοψίας βασισμένη στην χρήση λεπτής βελόνας, ίσως επηρεασμένη από το έργο του Mannheim. Πρωτοπόροι της μεθόδου θεωρούνται, ο Ολλανδός αιματολόγος Paul Lopez Cardozo και ο Σουηδός παθολόγος Nils Söderström ο οποίος δημοσίευσε ένα επιστημονικό άρθρο, αναφερόμενος στη βιοψία με αναρρόφηση δια λεπτής βελόνης σε θυρεοειδή αδένα και σε σιαλογόνους αδένες (Soderstrom, 1952). Τόσο ο πρώτος όσο και ο δεύτερος ερευνητής ασχολούμενοι με την αιματολογία, εφάρμοσαν αιματολογικές τεχνικές για την μελέτη των επιχρισμάτων.

## **6.2. Η παρακέντηση με λεπτή βελόνη στη διαχείριση των ασθενών με οζώδεις παθήσεις του θυρεοειδούς αδένα**

Από τα τέλη της δεκαετίας του 1940, άρχισαν να δημοσιεύονται άρθρα στην ιατρική βιβλιογραφία σχολιάζοντας ότι, η συχνότητα εμφάνισης του θυρεοειδικού καρκίνου σε χειρουργηθέντες όζους ήταν 20-30% και ότι τα ευρήματα αυτά αφορούσαν το σύνολο του πληθυσμού με οζώδη βρογχοκήλη (Cerise et al., 1952, Cole et al., 1949). Αρκετοί ερευνητές είχαν αντίθετη άποψη, αναφερόμενοι στην χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του θυρεοειδούς ως αιτία θανάτου σε νεκροτομικό υλικό και έτσι προέκυψε μία αντιγνωμία όσον αφορά τον πραγματικό κίνδυνο από την παρουσία οζώδους αλλοίωσης στον θυρεοειδή αδένα.

Στην διάρκεια της δεκαετίας του 1950 είχε διαμορφωθεί η σχεδόν ομόφωνη άποψη, ότι τα ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας από τον καρκίνο του θυρεοειδούς δεν δικαιολογούσαν την χειρουργική εξαίρεση όλων των θυρεοειδικών όζων (Miller, 1955). Σήμερα, ο κλινικός προβληματισμός εστιάζεται στον τρόπο επιλογής των ασθενών που χρήζουν χειρουργικής εξαίρεσης, δηλαδή την διαγνωστική μέθοδο που καθορίζει τον κίνδυνο παρουσίας νεοπλασματος σε συγκεκριμένο όζο του θυρεοειδούς αδένα.

Κατά τις δεκαετίες 1960 και 1970 οι κλινικοί γιατροί στις ΗΠΑ αντελήφθησαν ότι οι ραδιοϊσοτοπικές ή οι υπερηχοτομογραφικές απεικονιστικές τεχνικές μπορούσαν να απαλλάξουν από τη χειρουργική εξαίρεση ένα ποσοστό των όζων που δεν υπερέβαινε το 10-20%. Ωστόσο νωρίτερα, στη δεκαετία του 1950, στις Σκανδιναβικές χώρες η προσοχή είχε ήδη στραφεί στην χρήση της λεπτής βελόνας για την αναρρόφηση κυτταρολογικού δείγματος από θυρεοειδικούς όζους (Soderstrom, 1952), προσεγγίζοντας έτσι την πιθανή παθολογοανατομική διάγνωση. Στα επόμενα περίπου 25 έτη, οι αναφορές σχετικά με την λήψη κυτταρολογικού δείγματος από οζώδεις αλλοιώσεις του θυρεοειδούς δεν προκαλούσαν μεγάλο ενδιαφέρον στις χώρες της Βόρειας Αμερικής, για δύο κυρίως λόγους. Αφ'ενός, υπήρχε ή άποψη ότι η κυτταρολογία δεν θα μπορούσε να θέσει διάγνωση σε μία αλλοίωση όπου ήταν απαραίτητο να εξετασθούν αρκετές ιστολογικές τομές για τον καθορισμό της και αφ'ετέρου η χρώση Giemsa που χρησιμοποιούσαν οι Ευρωπαίοι, δεν ήταν δημοφιλής κυτταρολογική χρώση μεταξύ των Αμερικανών κυτταρολόγων, οι οποίοι είχαν εξοικειωθεί με τις χρωστικές τεχνικές κατά Παπανικολάου (Kini, 1996). Στα μέσα της δεκαετίας του 1970, Καναδοί ερευνητές ανακοίνωσαν την εμπειρία τους από την ερμηνεία των ευρημάτων σε 103 περιπτώσεις οζωδών αλλοιώσεων του θυρεοειδούς με αναρρόφηση δια βελόνης 22-gauge προσαρμοσμένης σε σύριγγα 20-ml και χρώση των επιχρισμάτων με την αιματολογική μέθοδο May-Grünwald Giemsa (MGG) (Crockford and Bain, 1974).

Συγχρόνως, επιστημονικές ομάδες από το Κλίβελαντ και την Βοστώνη (ΗΠΑ) είχαν αξιολογήσει δείγματα, με βιοψία μέσω βελόνας μεγαλύτερης διαμέτρου. Η πρώτη μελέτη στις ΗΠΑ που αναφέρεται στο συνδυασμό και σύγκριση των δύο τρόπων λήψης υλικού, δηλαδή αναρρόφηση με λεπτή βελόνα (FNA) και αναρρόφηση με βελόνα βιοψίας

(aspiration-needle biopsy/ ANB και cutting-needle biopsy/CNB ) ανακοινώνεται το 1979 και προτείνει την χρήση της παρακέντησης-αναρρόφησης με λεπτή βελόνα (FNA) ως μέθοδο διαλογής όλων των όζων του θυρεοειδούς αδένου, συνεπικουρούμενη από την αναρροφητική βιοψία με μεγαλύτερης διαμέτρου βελόνα σε όσες περιπτώσεις είναι δυνατόν, συγκρίνοντας το υψηλότερο κόστος και τη νοσηρότητα που παρουσιάζει η διαγνωστική λοβεκτομή (Miller et al., 1979).

Στην Ελλάδα, οι παρακεντήσεις με λεπτή βελόνη του θυρεοειδούς αδένου, άρχισαν να πραγματοποιούνται στις αρχές της δεκαετίας του 1980 (Δεληγεώργη-Πολίτη, 2000) και οι πρώτες επιστημονικές μελέτες που δημοσιεύονται στην διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται αντίστοιχα σε διαγνωστικά κριτήρια του θηλώδους καρκινώματος και της λεμφοκυτταρικής θυρεοειδίτιδας (Deligeorgi- Politi, 1987, Tseleni-Balafouta et al., 1989).

Σε μία ευρεία πληθυσμιακή μελέτη που έγινε στις ΗΠΑ, οι κλινικά εμφανείς όζοι βρέθηκαν σε ποσοστό 6,4% στις γυναίκες και 1,5% αντίστοιχα στους άνδρες (Gharib et al., 2006). Η χρήση της υπερηχοτομογραφίας για την αξιολόγηση θυρεοειδικών και μη παθήσεων της τραχηλικής χώρας κατά τις δύο προηγούμενες δεκαετίες, είχε σαν αποτέλεσμα την δραματική αύξηση της συχνότητας ανεύρεσης των υποκλινικών θυρεοειδικών όζων, στο γενικό πληθυσμό. Επιπλέον, σε 20% μέχρι 48% των ασθενών με μονήρη ψηλαφητή αλλοίωση, βρέθηκαν περισσότεροι όζοι όταν ακολουθούσε υπερηχο-τομογραφική διερεύνηση του τραχήλου (Tan and Gharib, 1997).

Η κλινική σημασία της διαγνωστικής διερεύνησης των θυρεοειδικών όζων, εκτός από τις λίγες περιπτώσεις όπου παρατηρούνται τοπικά πιεστικά φαινόμενα ή συμπτώματα υπερθυρεοειδισμού, έγκειται κυρίως στην ανάγκη αποκλεισμού της παρουσίας κακοήθους νεοπλασματος, ανεξάρτητα από το μέγεθος τους. Από το σύνολο των θυρεοειδικών όζων, 90-95% είναι καλοήθεις και αντιστοιχούν σε ποικίλες παθήσεις του αδένου. Οι υπόλοιποι αφορούν κακοήθεις αλλοιώσεις.

### **Καλοήθεις οζώδεις αλλοιώσεις**

- Αδενωματώδης όζος ( οζώδης υπερπλασία )
- Κολλοειδής όζος
- Θυλακιδώδες αδένωμα
- Κύστη απλή του θυρεοειδούς
- Νόσος του Graves

- Χρόνια λεμφοκυτταρική θυρεοειδίτις (αυτοάνοσος / Hashimoto)
- Υποξεία εστιακή θυρεοειδίτις (κοκκιωματώδης)
- Συγγενείς ανωμαλίες (ανωμαλίες στη διάπλαση του αδένου)

### **Κακοήθεις οζώδεις αλλοιώσεις**

- Θηλώδες καρκίνωμα
- Θυλακιώδες καρκίνωμα / καρκίνωμα από κύτταρα Hürthle (οξύφιλο )
- Μυελοειδές καρκίνωμα
- Χαμηλής Διαφοροποίησης καρκίνωμα ( Νησιδοειδές )
- Αδιαφοροποίητο (αναπλαστικό) καρκίνωμα
- Πρωτοπαθές λέμφωμα του θυρεοειδούς
- Μεταστατικοί όγκοι στον θυρεοειδή

Πριν από 25 περίπου έτη, λίγες περιπτώσεις καρκίνου του θυρεοειδούς είχαν διαγνωσθεί κυτταρολογικά. Σήμερα, η παρακέντηση με λεπτή βελόνα, αποτελεί διαγνωστική μέθοδο πρώτης γραμμής λόγω της μεγάλης αποτελεσματικότητας στην προεγχειρητική διάγνωση των αλλοιώσεων και χρησιμοποιείται ως διαδικασία διαλογής για τον διαχωρισμό των όζων που απαιτούν χειρουργική αντιμετώπιση από εκείνους όπου η εξαίρεση τους, δεν αποτελεί απαραίτητο θεραπευτικό χειρισμό.

Η αξιολόγηση των θυρεοειδικών όζων θεωρείται από τις σημαντικότερες προκλήσεις στην Κυτταρολογία. Η εισαγωγή της παρακέντησης με λεπτή βελόνα (FNA) στην κλινική διερεύνηση, αποτελεί αναμφίβολα την πλέον διαθέσιμη δοκιμασία διαλογής ασθενών με όζους του θυρεοειδούς. Επιπλέον, μπορεί να είναι διαγνωστική για ορισμένες παθήσεις όπως, κolloειδής βρογχοκήλη, θυρεοειδίτιδα Hashimoto, Θηλώδες καρκίνωμα, Θυλακιώδες καρκίνωμα υψηλού βαθμού κακοήθειας, Μυελοειδές καρκίνωμα, Αναπλαστικό καρκίνωμα, Λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα (υψηλής κακοήθειας) και μεταστατικό καρκίνωμα. Ο αυξανόμενος αριθμός παρακενήσεων που παρατηρείται παγκόσμια, αποδίδεται στην επιτυχία της μεθόδου. Η ευρεία χρήση της FNA ως διαγνωστικό εργαλείο πρώτης γραμμής, έχει ελαττώσει τον αριθμό των ασθενών που χρειάζονται χειρουργική αντιμετώπιση



περισσότερο από 50%. Επιπλέον έχει αυξήσει την ανεύρεση κακοήθειας σε παρασκευάσματα θυρεοειδεκτομής κατά δύο έως τρεις φορές (Clark and Facquin, 2005).

### 6.2.1. Ενδείξεις για FNA θυρεοειδούς αδένα

Οποιοσδήποτε ασθενής με παρουσία ψηλαφητού ή υποκλινικού όζου στον θυρεοειδή αδένα, είναι υποψήφιος για κυτταρολογική εξέταση με παρακέντηση δια λεπτής βελόνας. Ο ασθενής πρέπει να αξιολογείται κλινικά ώστε να καθορίζεται η ανάγκη υποβολής σε FNA. Οι όζοι που ανακαλύπτονται με την ψηλάφηση συνήθως έχουν διάμετρο τουλάχιστον 10mm και ως εκ τούτου είναι μείζονος κλινικής σημασίας (Cibas et al., 2008). Πριν από την λήψη της απόφασης για την διενέργεια FNA απαιτούνται:

1. Λήψη πλήρους ιστορικού του ασθενούς
2. Κλινική εξέταση των τραχηλικών λεμφαδένων
3. Μέτρηση επιπέδων TSH ορού
4. Υπερηχογραφικός έλεγχος του θυρεοειδούς και σπινθηρογράφημα (εφ'όσον κριθεί σκόπιμο)

Κύρια ένδειξη για FNA αποτελεί ο **μονήρης ψυχρός όζος**. Η πιθανότητα κακοήθειας αυξάνει, όταν στο ιστορικό και την κλινική εξέταση περιλαμβάνονται:

- 1 Προηγηθείσα έκθεση σε ακτινοβολία της περιοχής κεφαλής-τραχήλου ή και ολόκληρου του σώματος
- 2 Οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του θυρεοειδούς (γενικώς)
- 3 Οικογενειακό ιστορικό Μυελοειδούς καρκινώματος ή σύνδρομο MEN 2
- 4 Ταχεία αύξηση μεγέθους προϋπάρχοντος όζου
- 5 Όζος συμπαγής πολύ σκληρής σύστασης
- 6 Καθήλωση όζου στους παρακείμενους ιστούς
- 7 Τραχηλική λεμφαδενοπάθεια
- 8 Επίμονο βράγχος φωνής, παράλυση φωνητικής χορδής, δυσφαγία ή δύσπνοια
- 9 Ηλικία <20 ή > 70 έτη

**Ο πολυοζώδης αδένας (πολυοζώδης βρογχοκήλη)**, συνήθως δεν δημιουργεί κλινική υποψία καρκινώματος, κυρίως όταν, δεν παρατηρείται μεταβολή των όζων για μεγάλη χρονική περίοδο ή παρατηρείται πολύ μικρή αύξηση μεγέθους, σε ασθενείς χωρίς ιστορικό έκθεσης σε ακτινοβολία της τραχηλικής χώρας. Εφ' όσον σε κάποιον συγκεκριμένο όζο παρατηρηθεί σημαντική αύξηση μεγέθους σε μικρό χρονικό διάστημα, αν επικρατεί εμφανώς έναντι των υπολοίπων, ή αν μεταβληθεί η δομή και ή σύσταση του υπερηχοτομογραφικά, τότε η υποβολή του ασθενούς σε FNA κρίνεται απαραίτητη. Κάτω από αυτές τις συνθήκες δεν υπάρχει διαφορά σχετικά με την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου μεταξύ των ασθενών με μονήρη όζο ή με πολυοζώδη αλλοίωση (Suen, 1996)

Η FNA θεωρείται επίσης διαγνωστικά χρήσιμη σε ασθενείς με ιστορικό αυτοάνοσης πάθησης του αδένα, εφ' όσον παρατηρηθεί οζώδης αλλοίωση. Η οζώδης αλλοίωση σε περιπτώσεις θυρεοειδίτιδας Hashimoto, μπορεί να υποδύεται κλινικά ή απεικονιστικά, ένα νεόπλασμα. Ωστόσο, ένα θυρεοειδικό καρκίνωμα ή λέμφωμα μπορεί να συνυπάρχει με λεμφοκυτταρική / Hashimoto θυρεοειδίτιδα. Στις περιπτώσεις αυτές το διαγνωστικό αποτέλεσμα της FNA είναι κλινικά σημαντικό.

Οι ασθενείς με οζώδη θυρεοειδική νόσο είναι στην πλειονότητα ευθυρεοειδικοί. Μικρό ποσοστό των μονήρων όζων μπορεί να είναι αυτόνομα λειτουργικά αδενώματα (τοξικά) ή προέχοντες θερμοί όζοι σε πολυοζώδη βρογχοκήλη (τοξική οζώδης βρογχοκήλη), οπότε μπορεί να συνδέονται με κλινικό υπερθυρεοειδισμό. Στην περίπτωση της αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας, η οζώδης αλλοίωση μπορεί να συνοδεύεται από υποθυρεοειδισμό. Σήμερα, η ευρεία διάδοση της εφαρμογής των υπερήχων στην απεικονιστική προσέγγιση των θυρεοειδικών παθήσεων έδωσε την δυνατότητα της ανίχνευσης μη ψηλαφητών όζων του θυρεοειδούς, της εκτίμησης του μεγέθους και της σύστασης του όζου αλλά και την δυνατότητα διενέργειας κατευθυνόμενης παρακέντησης με λεπτή βελονα. (Papini, 2002, Cochand-Priollet et al., 1994)

### **6.2.2. Διαδικασία της FNA θυρεοειδούς αδένα**

Η προετοιμασία του ασθενούς πριν από την έναρξη της διαδικασίας έχει σημασία, εφόσον η καλή συνεργασία του με τον διενεργούντα την παρακέντηση, συντελεί στη λήψη επαρκούς δείγματος από την περιοχή της αλλοίωσης. Ο ασθενής πρέπει να ενημερωθεί για την μικρή δυσφορία την οποία θα αισθανθεί κατά την εισαγωγή της βελόνης και επιπλέον για τις πιθανές ελαφρές επιπλοκές που πιθανά να προκύψουν κατά τη διάρκεια ή μετά την ολοκλήρωση της παρακέντησης, ώστε να είναι σύμφωνος με τη διενέργεια της συγκεκριμένης ιατρικής πράξης.

### 6.2.3. Πιθανές επιπλοκές

Συχνότερη επιπλοκή είναι η δημιουργία αιματώματος. Στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλεται σε ρήξη της κάψας, που πιθανόν να συμβεί εάν ο ασθενής καταπιεί, ομιλήσει ή κινηθεί όσο χρόνο βρίσκεται η βελόνα μέσα στον αδένα. Ο άξονας της βελόνης πρέπει να περιορίζεται σταθερά σε μια μικρή περιοχή για κάθε πέρασμα, χωρίς να χρησιμοποιείται περιστροφική κίνηση, ώστε να αποφεύγεται τραυματισμός του ιστού με επακόλουθο την αιμορραγία. Δεύτερη πιθανή επιπλοκή θεωρείται το λιποθυμικό επεισόδιο, το οποίο αντιμετωπίζεται με άμεση διακοπή της διαδικασίας και προσπάθεια ανάνηψης του ασθενούς.

Σπάνια θεωρείται η πιθανότητα εισαγωγής της βελόνης μέσα στη τραχεία. Το στοιχείο αυτό επιβεβαιώνεται από τη παρουσία στα επιχρίσματα κροσσωτών κυττάρων αναπνευστικού επιθηλίου.

Σημαντική αντένδειξη για την παρακέντηση με λεπτή βελόνη αποτελούν οι αιματολογικές διαταραχές, κυρίως επειδή ο θυρεοειδής αδένας είναι ένα αγγειοβριθές όργανο. Στις περιπτώσεις αυτές, χρειάζεται να προηγηθεί τουλάχιστον μία εβδομάδα πριν από την FNA, η κατάλληλη προετοιμασία του ασθενούς .

### 6.2.4. Λήψη του υλικού

Μετά από την εντόπιση της οζώδους αλλοίωσης, ο ασθενής τοποθετείται σε ύπτια θέση με έκταση της κεφαλής και του τραχήλου υποβοηθούμενη από ένα μαξιλάρι. Εφόσον η τοποθέτηση αυτή δεν είναι δυνατή, η διαδικασία μπορεί επίσης να διενεργηθεί με τον ασθενή σε καθιστική θέση. Από τον εξεταζόμενο ζητείται να καταπιεί, ώστε ο θυρεοειδής αδένας να μετακινηθεί και να γίνει αντιληπτός με τη ψηλάφηση σε σχέση με τα υπόλοιπα ανατομικά μέρη της περιοχής. Ο αδένας ψηλαφείται στην ανατομική αύλακα που σχηματίζεται μεταξύ του στερνοκλειδομαστοειδούς και της τραχείας. Το δέρμα της περιοχής εισόδου της βελόνης, καθαρίζεται με τεμάχιο γάζας ή βαμβάκι εμποτισμένα σε διάλυμα αλκοόλης. Η χορήγηση τοπικής αναισθησίας δεν είναι απαραίτητη. Ο όζος ακινητοποιείται μεταξύ του δείκτη και του μέσου δακτύλου της αριστερής χειρός, ενώ στον ασθενή δίδεται εντολή για αναστολή της κατάποσης. Με τη δεξιά χείρα, επιχειρείται η εισαγωγή βελόνης που είναι προσαρμοσμένη σε πλαστική σύριγγα 10-20 ml για την άσκηση αρνητικής πίεσης, η οποία μπορεί να υποστηρίζεται από συσκευή αναρρόφησης. Για τη λήψη του υλικού χρησιμοποιούνται βελόνες μικρού διαμετρήματος που κυμαίνεται από 21 έως 27 gauge και μήκους έως 1 1/2 ίντσες. Η βελόνα εισάγεται στον όζο χωρίς να επιχειρείται συγχρόνως αναρρόφηση και αφού επιβεβαιωθεί ότι το άκρο της ευρίσκεται στο εσωτερικό της αλλοίωσης, εφαρμόζεται αρνητική πίεση για την αναρρόφηση υλικού. Επιπλέον, χωρίς σημαντική μεταβολή της κατεύθυνσής της, η βελόνα κινείται προς τα πίσω και προς τα εμπρός μέσα στον όζο. Με τη κίνηση αυτή υποβοηθείται η απόσπαση κυτταρικού υλικού το οποίο στη συνέχεια

αναρροφάται μέσα στον αυλό και σε λίγα δευτερόλεπτα το υλικό της παρακέντησης εμφανίζεται στο αντίθετο άκρο της βελόνας. Στο σημείο αυτό, πριν αποσυρθεί η βελόνα από τον όζο, το έμβολο της σύριγγας αφήνεται, άρεται η άσκηση αρνητικής πίεσης και στη συνέχεια η βελόνα αποσύρεται. Παράλληλα, χρησιμοποιώντας έν τεμάχιο γάζας, ασκείται μέτριου βαθμού πίεση στο σημείο της παρακέντησης προς αποφυγή δημιουργίας αιματώματος. Για την προπαρασκευή επιχρισμάτων, η σύριγγα αποσυνδέεται από τη βελόνα και ο αυλός της πληρούται από αέρα σύροντας το έμβολο προς τα έξω. Στη συνέχεια, η βελόνα επανασυνδέεται στη σύριγγα και εφαρμόζοντας θετική πίεση μέσω του εμβόλου, το υλικό προωθείται προς την έξοδο ώστε να τοποθετηθεί με τη μορφή σταγόνας επάνω σε κάθε μία από τις αντικειμενοφόρους πλάκες.

Εναλλακτική μέθοδο λήψης υλικού από τον όζο, αποτελεί η τεχνική χωρίς αναρρόφηση, η οποία μπορεί να εφαρμοστεί κυρίως σε επιφανειακές οζώδεις αλλοιώσεις. Η βελόνα εισάγεται στον όζο τρεις έως τέσσερις φορές με τον τρόπο που κρατείται ένα μολύβι, χωρίς να είναι προσαρμοσμένη σε σύριγγα. Μόλις το υλικό της παρακέντησης εμφανιστεί στο άλλο άκρο, η βελόνα αποσύρεται και συνδέεται με σύριγγα η οποία έχει γεμίσει από αέρα, προκειμένου το υλικό να προωθηθεί επάνω σε αντικειμενοφόρες πλάκες. Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην αναρρόφηση υλικού μέσω της τριχοειδούς πίεσης και αποδίδει επιχρίσματα με λιγότερο αίμα.

#### **6.2.5. Επεξεργασία των δειγμάτων**

Συνήθως, διενεργούνται 2 έως 4 παρακεντήσεις από διαφορετικές θέσεις ανά όζο και για κάθε μία παρακέντηση προπαρασκευάζονται 2 ή περισσότερες αντικειμενοφόροι πλάκες για τη μικροσκοπική αξιολόγηση του υλικού.

Υπάρχουν διάφορες επιλογές ως προς τη μέθοδο επεξεργασίας των δειγμάτων του υλικού παρακέντησης. Μεταξύ των δημοφιλέστερων μεθόδων που εφαρμόζονται, είναι :

- άμεση παρασκευή επιχρισμάτων μέσω της επίστρωσης του υλικού σε αντικειμενοφόρες πλάκες
- προπαρασκευή επιχρισμάτων μετά από επεξεργασία του υλικού με κυτταροφυγόκεντρο
- εγκλεισμός του υλικού σε κύβους παραφίνης, για λήψη τομών με μικροτόμο
- τεχνική παρασκευασμάτων λεπτής επίστρωσης (κυτταρολογία υγρής φάσης).

Στις ως άνω μεθόδους, διαπιστώνονται τόσο πλεονεκτήματα όσο και μειονεκτήματα (Πίνακας 4)

### **6.2.5.1. Τεχνική άμεσης επίστρωσης του υλικού**

Συνήθως, η ποσότητα του υλικού αναρρόφησης αντιστοιχεί στον όγκο του αυλού της βελόνας (περίπου 200 μl ), εκτός εάν πρόκειται για κυστική αλλοίωση. Ολόκληρη η ποσότητα του υλικού προωθείται επάνω σε αντικειμενοφόρους πλάκες, τοποθετώντας μία σταγόνα (περίπου 50 μl ) σε κάθε ένα πλακίδιο. Στη συνέχεια, το υλικό επιστρώνεται με τη βοήθεια δεύτερου πλακιδίου το οποίο εφάπτεται μέσω της ακμής του στο πρώτο, ώστε να σχηματίζεται γωνία 30° προκειμένου το επίχρισμα να είναι όσο το δυνατόν λεπτότερο.

Αμέσως μετά την προπαρασκευή των επιχρισμάτων, το υλικό είτε μονιμοποιείται με 95° αιθυλική αλκοόλη είτε αφήνεται να στεγνώσει στον αέρα. Εφόσον το υλικό προέρχεται από κυστική αλλοίωση, φυγοκεντρείται ώστε να γίνει επίστρωση του ιζήματος. Τα μονιμοποιημένα επιχρίσματα προορίζονται για τη χρώση κατά Παπανικολάου, ενώ τα αποξηραμένα επιχρίσματα είναι κατάλληλα για τις αιματολογικές χρώσεις Diff-Quik ή May Grünwald Giemsa. Συνήθως παρασκευάζεται ίσος αριθμός επιχρισμάτων και για τις δύο χρωστικές μεθόδους, καθόσον έχει διαπιστωθεί ότι, για τη μορφολογική αξιολόγηση των δειγμάτων, η μία χρώση αποτελεί συμπληρωματική της άλλης. Οι αιματολογικές χρώσεις, αφ'ενός παρέχουν τη δυνατότητα της ταχείας διαγνωστικής αξιολόγησης αμέσως μετά τη λήψη του δείγματος και αφ'ετέρου συντελούν στην αναγνώριση του κολλοειδούς, του αμυλοειδούς αλλά και συγκεκριμένων κυτταροπλασματικών χαρακτηριστικών. Η χρώση κατά Παπανικολάου, αναδεικνύει τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των κυτταρικών πυρήνων.

### **6.2.5.2. Επεξεργασία του υλικού με κυτταροφυγόκεντρο**

Το υλικό που παραμένει στον αυλό της βελόνας, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επιπλέον διαγνωστική ανάλυση, εφόσον ακολουθήσει έκπλυση με ισότονο υδατικό διάλυμα NaCl ( 0,9% ) ή με διάλυμα Hanks (Hanks' balanced salt solution). Το δείγμα που προκύπτει τοποθετείται σε κυτταροφυγόκεντρο.

### **6.2.5.3. Εγκλεισμός του υλικού σε κύβο παραφίνης.**

Σε περιπτώσεις όπου χρειάζεται να γίνει ανοσοκυτταροχημική διερεύνηση, διενεργούνται επιπλέον δύο ή τρία περάσματα του όζου και ολόκληρο το υλικό έκπλυσης της βελόνης εγκλείεται σε κύβο παραφίνης, για την παρασκευή τομών μικροτόμου.

### **6.2.5.4. Τεχνική κυτταρολογίας υγρής φάσης**

Τα παρασκευάσματα λεπτής επίστρωσης των δειγμάτων υγρής φάσης, γίνονται συνεχώς δημοφιλέστερα επειδή η προπαρασκευή επιχρισμάτων με τη συμβατική μέθοδο απαιτεί ένα βαθμό επιδεξιότητας, και η μεταφορά των πλακιδίων μπορεί να είναι προβληματική. Επιπλέον, η άμεση μονιμοποίηση του δείγματος σε ειδικό διάλυμα και η αυτοματοποιημένη τεχνική επίστρωσης, αφενός εμποδίζουν τη δημιουργία κυτταρικών αλλοιώσεων λόγω κακής

επίστρωσης ( artifacts ) ή κακής μονιμοποίησης των επιχρισμάτων και αφετέρου επιτρέπουν τη συγκέντρωση του υλικού σε ένα πλακίδιο μικροσκόπησης. Μολονότι η ποιότητα των παρασκευασμάτων υγρής φάσης δεν είναι στη πραγματικότητα κατώτερη εκείνης των άμεσων επιχρισμάτων, θα πρέπει να σημειωθεί ότι, οι μορφολογικοί χαρακτήρες των κυττάρων παρουσιάζουν διαφορές συγκρίνοντας τις δύο τεχνικές. Επιπλέον, τα διαγνωστικά κριτήρια των αλλοιώσεων του θυρεοειδούς αδένος σύμφωνα με τις μελέτες που έχουν γίνει μέχρι την προηγούμενη δεκαετία, στηρίζονται περισσότερο σε παρασκευάσματα συμβατικής επίστρωσης.

### 6.2.6. Αξιολόγηση μορφολογικών κριτηρίων στα επιχρίσματα

Η διαγνωστική προσέγγιση των παθήσεων του θυρεοειδούς σε υλικό παρακέντησης με λεπτή βελόνα, στηρίζεται στην αντικειμενική αξιολόγηση των μικροσκοπικών ευρημάτων στα επιχρίσματα. Η παρουσία επαρκούς κυτταρικού πληθυσμού στο δείγμα (Πίνακες 5 και 6), αποτελεί προϋπόθεση για τεκμηριωμένη κυτταρολογική διάγνωση (Kini, 1996, Clark and Faquin, 2005). Η αξιολόγηση της πυρηνικής μορφολογίας και των αρχιτεκτονικών προτύπων έχει πρωταρχική σημασία. Επιπλέον αξιοποιούνται διαγνωστικά, η μορφολογία του κυτταροπλάσματος και το υπόστρωμα. Κατά συνέπεια, στα επιχρίσματα εκτιμάται ο συνδυασμός των επί μέρους παραμέτρων που αφορούν :

- **Υπόστρωμα** : παρουσία κολλοειδούς, αμυλοειδούς, αίματος, ινικής, νέκρωσης / κυτταρικών ρακών
- **Κυτταρικότητα** : χαρακτηρίζεται ως χαμηλή, μέτρια ή υψηλή, ανάλογα με τον αριθμό των επιθηλιακών και μη επιθηλιακών κυττάρων
- **Κυτταρική διάταξη**: η αρχιτεκτονική των κυτταρικών αθροίσεων και τα μεμονωμένα κύτταρα αντιστοιχούν στην υποκείμενη ιστολογική οντότητα.

Μονοεπίπεδη κυτταρική άθροιση (ταπήτιο)

Τα κύτταρα διατάσσονται σε μονοστοιβάδα, ενίοτε με μικρή αλληλοεπικάλυψη, έχουν ομοιόμορφη κατανομή μέσα στην ομάδα με διακριτά κυτταρικά όρια και παρουσιάζουν την εικόνα μελισσοκηρήθρας.

Συγκύτιο άθροιση με ανώμαλη διάταξη των κυττάρων, αλληλοεπικάλυψη των πυρήνων και μη διακριτά κυτταροπλασματικά όρια.

Μικροθυλάκιο Έχει δακτυλοειδή δομή αποτελούμενη από 12 ή λιγότερα κύτταρα που συχνά διατάσσονται γύρω από εναπόθεση κολλοειδούς.

Μακροθυλάκιο Έχει σφαιροειδή δομή με ή χωρίς κεντρικό κολλοειδές. Συνήθως αποτελείται από 20 ή περισσότερα κύτταρα

Θηλώδης άθροιση Συνήθως η κυτταρική διάταξη είναι τρισδιάστατη. Ενίοτε διακρίνεται κεντρικός αγγειοσυνδετικός άξονας

Μεμονωμένα κύτταρα

- Επιθηλιακής προέλευσης
- Ιστιοκύτταρα/μακροφάγα/ πολυπύρηνα γιγαντοκύτταρα
- Κύτταρα λεμφικού ιστού
- Φλεγμονώδη κύτταρα (εκτός λεμφικής σειράς)
- Ινοβλάστες

● **Μορφολογία κυττάρων:** αξιολογείται το μέγεθος των κυττάρων και ειδικά του πυρήνα, η ποσότητα και η μορφή του κυτταροπλάσματος, η κυτταροπλασματική μεμβράνη και η σχέση πυρήνα/κυτταροπλάσματος. Στην αξιολόγηση του πυρήνα, εκτιμάται η δομή της χρωματίνης και της πυρηνικής μεμβράνης, η παρουσία ή μη πυρηνίου και το μέγεθός του, ως και παρουσία ειδικών μορφολογικών χαρακτηριστικών με διαγνωστική σημασία.

Στα φυσιολογικά θυλακικά κύτταρα, ο πυρήνας έχει ομαλό περίγραμμα, είναι στρογγυλός με μέγεθος ώριμου λεμφοκυττάρου, περιέχει δυσδιάκριτο πυρήνιο και παρουσιάζει ομαλά κατανεμημένη λεπτοκοκκιώδη χρωματίνη. Μερικές φορές παρατηρούνται γυμνοί πυρήνες σε μέγεθος λεμφοκυττάρου. Συνήθως το κυτταρόπλασμα είναι εύθραυστο χωρίς σαφή όρια.

### 6.2.7. Διαχωρισμός κυτταρολογικών δειγμάτων

Εφόσον το δείγμα κριθεί επαρκές, οι περιπτώσεις διαχωρίζονται ανάλογα με το επικρατούν στοιχείο του επιχρίσματος (Clark and Faquin, 2005).

Κολλοειδές

Η παρουσία άφθονου κολλοειδούς, αποτελεί σημαντικό κριτήριο καλοήθειας, και συνήθως αντιστοιχεί σε κολλοειδείς και αδενωματώδεις όζους.

Το κολλοειδές σχηματίζει ένα λεπτόρρευστο υμένιο με ρωγμές πάνω στην επιφάνεια της αντικειμενοφόρου πλάκας ή ανευρίσκεται ως πυκνές εναποθέσεις. Με την χρώση κατά Παπανικολάου προσλαμβάνει γκριζοπράσινη έως πορτοκαλί χροιά, ενώ με την χρώση Diff-

Quik ή May Grünwald Giemsa (MGG) η χροιά είναι ροζ προς βιολετί. Η πρόσμιξη αίματος καθιστά δυσχερέστερη την αναγνώρισή του καθόσον προσομοιάζει προς αιμορραγικό υγρό με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Το παχύρρευστο κολλοειδές πρέπει να διακρίνεται από το αμυλοειδές ( σε χρώση MGG το αμυλοειδές βάφεται έντονα μωβ και σε χρώση Παπανικολάου έντονα γκρι ) και από τα ιστοτεμαχίδια κολλαγόνου που παρουσιάζουν ινιδώδη υφή (Orell, 1992)

#### Υπεροχή του επιθηλιακού στοιχείου

Στα επιχρίσματα που περιέχουν άφθονα κύτταρα θυλακικού επιθηλίου, η πιθανότητα παρουσίας νεοπλάσματος εγείρεται, ανάλογα με την υπάρχουσα ποσότητα κολλοειδούς. Σε σημαντική παρουσία κολλοειδούς, η πιθανότητα νεοπλασματικής αλλοίωσης ελαττώνεται. Στις αντίθετες περιπτώσεις, επιβάλλεται η λεπτομερής μικροσκόπηση σε μεγάλη μεγέθυνση, για την αξιολόγηση των μορφολογικών χαρακτήρων των επιθηλιακών κυττάρων. Εφόσον δεν αναγνωριστούν πυρηνικά χαρακτηριστικά θηλώδους καρκινώματος, η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει τις αλλοιώσεις που αφορούν κυτταροβριθή αδενωματώδη όζο, θυλακιώδες νεόπλασμα, όπως επίσης και άλλα νεοπλάσματα μη θυλακικής προέλευσης

#### Υπεροχή των ιστοκυττάρων

Στα επιχρίσματα παρατηρούνται κυρίως μακροφάγα κύτταρα. Οι περισσότερες κυστικές αλλοιώσεις του θυρεοειδούς αδένος αφορούν εκφύλιση υπερπλαστικών όζων (υπόστροφες αλλοιώσεις). Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει επίσης, το θηλώδες καρκίνωμα με κυστική αλλοίωση. Συνεπώς στις περιπτώσεις αυτές, είναι σημαντικό να υπάρχει στο δείγμα αντιπροσωπευτικό στοιχείο από την επιθηλιακή συνιστώσα της αλλοίωσης, ώστε να μπορεί να αποκλειστεί το θηλώδες καρκίνωμα.

#### Υπεροχή του φλεγμονώδους στοιχείου

Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει επιχρίσματα στα οποία επικρατούν τα φλεγμονώδη κύτταρα. Αφορά ένα φάσμα παθήσεων από την χρόνια λεμφοκυτταρική ή Hashimoto θυρεοειδίτιδα, μέχρι την υποξεία θυρεοειδίτιδα και την θυρεοειδίτιδα του Riedel. Σε επιχρίσματα με λεμφοκυτταρικό πληθυσμό και ιδιαίτερα όταν αναγνωρίζονται άτυπα λεμφοκύτταρα, αρχικά πρέπει να αποκλειστεί η πιθανότητα λεμφώματος.

### **6.3. Αλλοιώσεις με καλοήθεις μορφολογικούς χαρακτήρες**

#### **6.3.1. Οζώδης υπερπλασία (Οζώδης κολλοειδής βρογχοκήλη)**

Μορφολογία επιθηλιακών κυττάρων : επικρατούν μικρά θυλακικά κύτταρα με ένα στρογγυλό κεντρικό πυκνωτικό πυρήνα (υποπλαστικά) και ελάχιστο κυτταρόπλασμα ή λίγο



μεγαλύτερα κύτταρα (υπερπλαστικά) με περισσότερο κυτταρόπλασμα και μεγαλύτερο πυρήνα που διατηρεί λεπτοκοκκιώδη, ομαλά κατανεμημένη χρωματίνη. Εφόσον υπάρχει υπερεκκριτική δραστηριότητα, το κυτταρόπλασμα μπορεί να παρουσιάζει κενοτοπίωση που διακρίνεται κάτωθεν της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Στην περίπτωση όπου τα θυλακικά κύτταρα υφίστανται οξύφιλη τροπή, προκύπτουν τα χαρακτηριστικά κύτταρα Hürthle (Orell, 1992).

Κυτταρική διάταξη : τα θυλακικά κύτταρα ανευρίσκονται μεμονωμένα ή διατάσσονται σε ομάδες. Οι κυτταρικές αθροίσεις παρουσιάζουν δομή άθικτων μακροθυλακίων ή μονοεπίπεδη ομαλή διάταξη (ταπήτια) ομοιόμορφων κυττάρων, που αποτελούν τμήματα μακροθυλακίων.

Κολλοειδές : συνήθως είναι μέτριο έως άφθονο και προσδιορίζεται από άμορφες σταγονοειδείς εναποθέσεις ή ως λεπτόρρευστο διαφανές υπόστρωμα με φυσαλίδες και γραμμοειδείς ρωγμές.

Μακροφάγα κύτταρα ανευρίσκονται συχνά. Πιθανόν να περιέχουν κοκκία αιμοσιδηρίνης (σιδηροφάγα)

Στρωματικό στοιχείο: ιστοτεμάχια ινιδώδους υλικού παρακείμενα των επιθηλιακών αθροίσεων.

### **6.3.2. Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα**

Συνήθως, σε ασθενείς με ιστορικό χρόνιας λεμφοκυτταρικής θυρεοειδίτιδας διενεργείται FNA όταν διαπιστώνεται η παρουσία μονήρους ή πολλαπλών ψυχρών όζων.

#### **ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ**

- Μικτός πληθυσμός από άφθονα λεμφοειδή κύτταρα. Αρκετά συχνά αναγνωρίζεται εικόνα βλαστικού κέντρου
- Λεμφοϊστικοκυτταρικές αθροίσεις
- Ελάχιστα φυσιολογικά ή υπερπλαστικά κύτταρα θυλακικού επιθηλίου
- Απουσία κολλοειδούς

#### **ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑΣ HASHIMOTO**

- Κύτταρα Hürthle
- Μικτός πληθυσμός λεμφοκυττάρων και πλασματοκύτταρα
- Απουσία ή παρουσία ελάχιστου κολλοειδούς

### **6.3.3. Υποξεία (κοκκιωματώδης) θυρεοειδίτιδα**

- Μεγάλα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα
- Επιθηλιοειδή κύτταρα (ιστιοκύτταρα)
- Ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα, λεμφοκύτταρα και μακροφάγα κύτταρα

## **6.4. Θυλακιώδεις αλλοιώσεις αμφίβολης μορφολογίας, με πιθανότητα να παρουσιάσουν ζήτημα διαφορικής διάγνωσης**

### **6.4.1. Οζώδης αλλοίωση επί εδάφους νόσου του Graves**

Στις περισσότερες περιπτώσεις Νόσου του Graves υπάρχει διάχυτη βρογχοκήλη που δεν αποτελεί ένδειξη για FNA και επιβεβαιώνεται κλινικοεργαστηριακά. Δείγματα από FNA εξετάζονται μόνο σε ασθενείς με μονήρεις ψυχρούς όζους. Η συνήθης κυτταρολογική εικόνα, λόγω της κυτταροβρίθειας, της απουσίας κολλοειδούς και ενίοτε της πυρηνικής ατυπίας, μπορεί να θέσει πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης από νεοπλασματική αλλοίωση. Συνήθως παρατηρούνται:

- Κυτταροβριθή επιχρίσματα με χαρακτήρες όμοιους προς εκείνους της οζώδους υπερπλασίας
- Κύτταρα θυλακικού επιθηλίου που διατάσσονται σε μεγάλες διακλαδιζόμενες επίπεδες ομάδες αλλά και σε μικροθυλάκια. Πιθανά να παρατηρηθούν κυτταρικές αθροίσεις με θηλώδη δομή.
- Κυτταρόπλασμα μέτριο έως άφθονο λεπτοκοκκιώδες, με περιφερικά κενοτόπια που περιέχουν κολλοειδές (εκκριτικά κενοτόπια).

- Πυρήνες συνήθως στρογγυλοί, υπερχρωματικοί ή φυσαλιδώδεις. Μπορεί να ποικίλουν σε μέγεθος ή να παρουσιάζουν πλειομορφισμό και να περιέχουν μεγάλο πυρήνιο. Ενίοτε παρατηρούνται εστιακά, διάγυση της χρωματινής και σπάνιες ενδοπυρηνικές πτυχώσεις

- Υπόστρωμα συνήθως με παρουσία λεπτόρρευστου κολλοειδούς και ποικίλου αριθμού λεμφοκυττάρων.

Συνήθως, η διαφορική διάγνωση αφορά το θηλώδες καρκίνωμα.

#### **6.4.2. Κυτταροβριθής αδενωματώδης όζος**

Επιχρίσματα υψηλής κυτταροβρίθειας με ελάχιστο κολλοειδές. Παρατηρούνται λίγα μικροθυλάκια που συνήθως δεν υπερβαίνουν το 10% αναλογικά με τον αριθμό των μακροθυλακίων, η αναγνώριση των οποίων αποτελεί ουσιαστικό κριτήριο για την διάγνωση (Clark and Faquin, 2005).

Εστιακή παρουσία κυτταρολογικής ατυπίας. Συνήθως, η ατυπία οφείλεται σε ογκοκυτταρική τροπή των θυλακικών κυττάρων, που συμβαίνει συχνά στην οζώδη βρογχοκήλη. Επίσης ενοχοποιείται, η παρουσία ατρακτοειδών κυττάρων που αντιστοιχούν σε αντιδραστικά στρωματικά στοιχεία ή η μορφολογία θυλακικών κυττάρων που επενδύουν περιοχές κυστικής εκφύλισης.

### **6.5. Αλλοιώσεις ύποπτης κυτταρομορφολογίας**

#### **6.5.1. Μορφολογικά κριτήρια**

Ο διαχωρισμός των καλοήθων από τα κακοήθη νεοπλάσματα θυλακιώδους αρχιτεκτονικής, συμπεριλαμβανόμενων εκείνων του ογκοκυτταρικού τύπου (Hürthle), δεν είναι εφικτός σε υλικό παρακέντησης με λεπτή βελόνα. Τόσο οι καλοήθειες όσο και οι κακοήθειες όζοι παρουσιάζουν παρόμοιους μορφολογικούς χαρακτήρες στα κυτταρολογικά δείγματα (Baloch et al., 2002). Από τις περιπτώσεις οι οποίες στην κυτταρολογική διάγνωση αναφέρονται ως «θυλακιώδες νεόπλασμα», ένα ποσοστό 20-30% αποδεικνύεται ιστολογικά ότι αφορά θυλακιώδες καρκίνωμα, ενώ η πλειονότητα αντιστοιχεί σε θυλακιώδη αδενώματα και κυτταροβριθείς αδενωματώδεις όζους (Baloch et al., 2002).

#### **6.5.2. Θυλακιώδες νεόπλασμα**

Τα κυτταρολογικά διαγνωστικά κριτήρια περιλαμβάνουν:

- Υψηλή κυτταροβρίθεια. Συνήθως άφθονες ισομεγέθεις επιθηλιακές ομάδες
- Κολλοειδές ελάχιστο ή καθόλου

- Επικρατεί η μικροθυλακιώδης ή δοκιδώδης αρχιτεκτονική, κυρίως σε τρισδιάστατες συγκυτιακές ομάδες με πυρηνική αλληλοεπικάλυψη (στιβάδωση) και συνωστισμό. Ωστόσο, μπορεί να υπάρχει και συνδυασμός αρχιτεκτονικών προτύπων

- Συνήθως διακρίνεται ομοιόμορφη αύξηση του κυτταρικού μεγέθους.

- Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται πυρηνική ατυπία, που ωστόσο δεν αποτελεί διαγνωστικό κριτήριο κακοήθειας, καθώς μπορεί να παρατηρηθεί επίσης σε καλοήθεις οζώδεις αλλοιώσεις. Η έντονη πυρηνική ατυπία και οι μιτώσεις παρατηρούνται σπάνια

Σε ορισμένα θυλακιώδη νεοπλάσματα μπορεί να παρατηρηθούν πυρηνικές πτυχές και πυρηνικά ψευδοέγκλειστα που πιθανά να οδηγήσουν σε εσφαλμένη διάγνωση θηλώδους καρκινώματος. Αυτό μπορεί να συμβεί σε περιπτώσεις που αφορούν το υαλοειδοποιημένο δοκιδώδες αδένωμα (hyalinizing trabecular adenoma).

### **6.5.3. Ογκοκυτταρικό (Hürthle) Νεόπλασμα**

Τα θυλακιώδη νεοπλάσματα από οξύφιλα κύτταρα (Hürthle, ογκοκύτταρα) συνήθως αποδίδουν υψηλής κυτταρικότητας επιχρίσματα που αποτελούνται από αμιγή κυτταρικό πληθυσμό οξύφιλων κυττάρων. Η παρουσία στο ίδιο δείγμα φυσιολογικών θυλακικών κυττάρων και οξύφιλων κυττάρων συνηγορεί περισσότερο προς οζώδη υπερπλασία (Gonzalez et al., 1993). Τα κύτταρα διατάσσονται είτε σε μονοστοιβάδες και θυλακιώδεις σχηματισμούς, είτε μεμονωμένα, διάσπαρτα στο επίχρισμα (Kini et al., 1981)

Κυτταρική ατυπία αναγνωρίζεται συχνά σε νεοπλάσματα από κύτταρα Hürthle, με την μορφή της αύξησης του πυρηνικού μεγέθους κατά θέσεις, της πολυπυρήνωσης, της πυρηνικής πολυμορφίας και των μακροπυρήνιων. Ωστόσο, εικόνα ικανού βαθμού πυρηνικής ατυπίας μπορεί επίσης να παρατηρηθεί σε επιχρίσματα από οζώδεις αλλοιώσεις με κύτταρα Hürthle, που αναπτύσσονται σε έδαφος λεμφοκυτταρικής θυρεοειδίτιδας ή Νόσου του Graves. Οι πυρήνες των νεοπλασματικών αλλοιώσεων είναι περισσότερο ομοιόμορφοι από εκείνους που παρατηρούνται σε περιπτώσεις θυρεοειδίτιδας Hashimoto (Kini et al., 1981, Renshaw, 2002). Επιπλέον, η παρουσία μονοστοιβάδων από οξύφιλα κύτταρα είναι περισσότερο συμβατή με αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα. Κριτήρια συνηγορητικά νεοπλασματικού όζου αποτελούν, η διάταξη σχετικά ομοιόμορφων οξύφιλων κυττάρων σε συγκύτια με ασαφές περίγραμμα, η διαταραχή του προσανατολισμού, η χαλαρή συνοχή μεταξύ των κυττάρων και η παρουσία πολλών γυμνών πυρήνων στο υπόστρωμα.

### **6.6. Διαφορική διάγνωση ογκοκυτταρικών αλλοιώσεων**

Τα κύτταρα Hürthle (ογκοκύτταρα, οξύφιλα ή κύτταρα Ascanazy), ανευρίσκονται στα επιχρίσματα υλικού FNA από ποικίλες νεοπλασματικές και υπερπλαστικές οζώδεις αλλοιώσεις με θυλακιώδη αρχιτεκτονική αλλά και σε θυρεοειδίτιδες. Στα κυτταρολογικά

παρασκευάσματα, παρουσιάζουν χαρακτηριστική μορφολογία που αφορά τόσο το κυτταρόπλασμα όσο και τον πυρήνα. Τα κύτταρα είναι πολυγωνικά με άφθονο λεπτοκοκκιώδες κυτταρόπλασμα, έχουν πορφυρή χροιά στις χρώσεις Romanowsky (May-Grünwald Giemsa / Diff Quic) και πράσινη ή πορτοκαλί στη χρώση κατά Παπανικολάου (οξύφιλο). Διακρίνεται αύξηση του πυρηνικού μεγέθους, ανισομεγέθεια, συχνά διπυρήνωση και προέχον πυρήνιο.

### **6.6.1. Ογκοκυτταρικές αλλοιώσεις κυτταρολογικά καλοήθεις**

Θυρεοειδίτιδα Hashimoto: τα κύτταρα Hürthle συνυπάρχουν με άφθονα λεμφοκύτταρα, αποτελώντας σημαντικό διαγνωστικό στοιχείο της αλλοίωσης.

Οζώδης βρογχοκήλη : τα κύτταρα Hürthle συνυπάρχουν με κολλοειδές και ομάδες τυπικών θυλακικών κυττάρων σε μακροθυλάκια, υποδεικνύοντας ογκοκυτταρική τροπή επί υπερπλαστικής οζώδους βρογχοκήλης.

Κυτταρομορφολογικοί χαρακτήρες :

- ετερογένεια κυτταρικού πληθυσμού
- συνήθως καλή κυτταρική συνοχή και διάταξη σε ταπήτια (ογκοκύτταρα)
- πιθανότητα κυτταρικού πλειομορφισμού (ποικιλία μεγέθους)
- απουσία μακροπυρηνίου

### **6.6.2. Ογκοκυτταρικές αλλοιώσεις κυτταρολογικά ύποπτες**

Η αποκλειστική ή σχεδόν αποκλειστική παρουσία ογκοκυτταρικού πληθυσμού στα επιχρίσματα, ενισχύει την πιθανότητα παρουσίας νεοπλασματικού όζου. Η ταξινόμηση των κυτταρολογικών ευρημάτων στην ύποπτη διαγνωστική κατηγορία, οδηγεί σε χειρουργική εξαίρεση του όζου, για να προσδιοριστεί παθολογοανατομικά εάν πρόκειται για ογκοκυτταρικό αδένωμα ή καρκίνωμα.

Κυτταρομορφολογικοί χαρακτήρες :

- επίχρισμα συνήθως υψηλής κυτταροβρίθειας
- μονομορφία κυτταρικού πληθυσμού (κύτταρα Hürthle)
- - μεμονωμένα κύτταρα, λόγω απώλειας της κυτταρικής συνοχής και σπανιότερα χαλαρές κυτταρικές αθροίσεις ή κυτταρικοί σωροί με συνωστισμό των πυρήνων
- παρουσία μακροπυρηνίου

- έκκεντρη θέση του πυρήνα (πλασματοκυτταροειδής) και διπυρήνωση αποτελούν συχνό εύρημα
- ελάχιστη παρουσία ή απουσία κολλοειδούς
- απουσία λεμφοκυττάρων και φυσιολογικών θυλακικών κυττάρων

Από την κατηγορία των ογκοκυτταρικών νεοπλασμάτων θυλακιάδους αρχιτεκτονικής πρέπει να διαχωρίζονται νεοπλασματικές παθήσεις που παρουσιάζουν παρόμοια κυτταρομορφολογία.

Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει:

### **6.6.3. Θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς (ογκοκυτταρική ποικιλία και υψηλοκυτταρική ποικιλία)**

Αμφότερες οι περιπτώσεις παρουσιάζουν κυτταρικό πληθυσμό με μορφολογία ογκοκυτταρικού τύπου. Ωστόσο, υπάρχουν κριτήρια που διαφοροποιούν μεταξύ τους το θηλώδες καρκίνωμα από το ογκοκυτταρικό νεόπλασμα.

- 1 Η χαρακτηριστική πυρηνική μορφολογία του θηλώδους καρκινώματος (πυρηνικές πτυχές, διαυγείς και ωοειδείς πυρήνες αλληλοεπικαλυπτόμενοι ή αλληλοαπωθούμενοι, κυτταροπλασματικά ψευδοέγκλειστα), απουσιάζει από το ογκοκυτταρικό νεόπλασμα
- 2 Το αρχιτεκτονικό πρότυπο του ογκοκυτταρικού νεοπλάσματος (μεμονωμένα κύτταρα) διαφέρει από την διάταξη των κυττάρων στο θηλώδες καρκίνωμα.

Ενίοτε, τα νεοπλάσματα από κύτταρα Hürthle μπορεί να έχουν προέχουσα θηλώδη αρχιτεκτονική που δυσκολεύει περισσότερο τον διαχωρισμό από το θηλώδες καρκίνωμα και ιδιαίτερα από τον υψηλοκυτταρικό τύπο. Όμως και στην περίπτωση αυτή τα πυρηνικά χαρακτηριστικά αποτελούν διαφοροδιαγνωστικό κριτήριο.

### **6.6.4. Μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς**

Τόσο το μυελοειδές καρκίνωμα όσο και το ογκοκυτταρικό νεόπλασμα χαρακτηρίζονται από την παρουσία στα επιχρίσματα μεμονωμένων κυττάρων με πλασματοκυτταροειδή μορφολογία.

Ειδικότερα, στις περιπτώσεις μυελοειδούς καρκινώματος ογκοκυτταρικού τύπου η ομοιότητα με κύτταρα Hürthle είναι σημαντική. Επιπλέον, και στους δύο όγκους πιθανόν να υπάρχουν, πολυπυρήνωση και ενδοπυρηνικά ψευδοέγκλειστα.

Στον διαχωρισμό μεταξύ των δύο νεοπλασματικών αλλοιώσεων, σημαντικό μορφολογικό κριτήριο αποτελεί η παρουσία προέχοντος κεντρικού πυρηνίου στα περισσότερα από τα κύτταρα του ογκοκυτταρικού νεοπλάσματος, ενώ αντίθετα στο μυελοειδές καρκίνωμα αποτελεί σπάνιο εύρημα.

Τα κυτταροπλασματικά κοκκία σε χρώσεις Romanowsky, είναι ερυθρά στις περιπτώσεις μυελοειδούς καρκινώματος και μπλέ όταν αφορούν τα κύτταρα Hürthle, τα οποία επιπλέον παρουσιάζουν αντίστοιχα ανοσοθετικότητα ή αρνητική έκφραση σε χρώση θυρεοσφαιρίνης και καλσιτονίνης, που αποτελεί και την πλέον καθοριστική μέθοδο διαχωρισμού των δύο νεοπλασμάτων. Σημειώνεται ότι, και οι δύο όγκοι μπορεί να είναι ανοσοθετικοί στο αντίσωμα TTF-1.

#### **6.6.5. Μεταστατικό νεφροκυτταρικό καρκίνωμα**

Συνήθως αναφέρεται το ιστορικό, στους ασθενείς με καρκίνωμα του νεφρού. Η πλέον ασφαλής μέθοδος διαχωρισμού των δυο νεοπλασμάτων είναι η εφαρμογή ανοσοκυτταροχημικών χρώσεων για θυρεοσφαιρίνη και TTF-1, όπου αμφότερες είναι θετικές στα ογκοκυτταρικά νεοπλάσματα και αρνητικές στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα.

#### **6.6.6. Αδένωμα παραθυρεοειδούς**

Οι περιπτώσεις αδενωμάτων με ογκοκυτταρικά χαρακτηριστικά πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στη διαφορική διάγνωση των νεοπλασμάτων Hürthle, τα οποία έχουν αρκετά μεγαλύτερους πυρήνες, συχνότερα προέχοντα πυρήνια, την τάση να διατάσσονται ως μεμονωμένα κύτταρα και θετική έκφραση στην ανοσοκυτταροχημική χρώση για θυρεοσφαιρίνη. Επιπλέον κλινικά, αναφέρεται ιστορικό υπερασβεσταιμίας στους ασθενείς.

● Κυτταρολογικά ευρήματα στα επιχρίσματα από αδένωμα παραθυρεοειδούς :

- Συνήθως κυτταροβριθές δείγμα
- Απουσία κολλοειδούς
- Συμπαγείς αθροίσεις μικρών κυττάρων που συνωστίζονται
- Λίγα μικροαδένια
- Στρογγυλοί πυρήνες με αδροκοκκώδη χρωματίνη
- Ογκοκυτταρικό ή διαυγές κυτταρόπλασμα

● Ανοσοκυτταροχημικό προφίλ : Θυρεοσφαιρίνη (-), Παραθορμόνη (+), Χρωμογρανίνη (+) (Clark and Faquin, 2005).

## **6.7. Μορφολογικά κριτήρια κακόηθων αλλοιώσεων**

### **6.7.1. Θηλώδες καρκίνωμα**

Η παρακέντηση με λεπτή βελόνα κατέχει σημαντική θέση στη διάγνωση του θηλώδους καρκινώματος. Το συγκεκριμένο νεόπλασμα είναι το μοναδικό μεταξύ των κακοηθειών του θυρεοειδούς που μπορεί να διαγνωστεί κυτταρολογικά με βάση την πυρηνική μορφολογία των κυττάρων (Πίνακας 7), ανεξάρτητα από τους κυτταροπλασματικούς χαρακτήρες και το αρχιτεκτονικό πρότυπο) (Baloch et al., 2008). Η δυνατότητα αυτή αφορά τις περισσότερες περιπτώσεις θηλώδους καρκινώματος. Ωστόσο, ορισμένοι υπότυποι του νεοπλασματος μπορεί να προκαλούν διαγνωστικές δυσκολίες. (Oertel, 1997, Kini, 1996)

#### Μικροσκοπικά ευρήματα

- Συνήθως το δείγμα είναι κυτταροβριθές και τα νεοπλασματικά κύτταρα διατάσσονται σε θηλώδεις ομάδες ή τρισδιάστατες αθροίσεις, σε μονοεπίπεδες ομάδες ή και μεμονωμένα. Στα περισσότερα δείγματα συνδυάζονται περισσότερα του ενός πρότυπα.
- Στο υπόστρωμα του επιχρίσματος πιθανά να υπάρχουν, κολλοειδές, μακροφάγα κύτταρα και ιστοτεμαχίδια στρωματικού ιστού. Αρκετά συχνά παρατηρούνται πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα.
- Συνήθως το κολλοειδές είναι πυκνό και ανευρίσκεται με την μορφή στρογγυλών ή ωοειδών εναποθέσεων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, το κολλοειδές σχηματίζει σχοινοειδείς ταινίες που συνδέουν πολλές κυτταρικές ομάδες και ορισμένοι συγγραφείς προσδίδουν τον όρο « κολλοειδές δίκην μασημένης μαστίχας ή chewing gum »
- Τα μακροφάγα κύτταρα, μπορεί να ανευρίσκονται σε ποικίλους αριθμούς, ανάλογα με τη συμμετοχή του κυστικού στοιχείου του όγκου στο υλικό της παρακέντησης.
- Τα στρωματικά στοιχεία, παρατηρούνται ως νηματοειδές ηωσινόφιλο υλικό που περιβάλλεται ή όχι από κύτταρα
- Τα νεοπλασματικά κύτταρα παρουσιάζουν αύξηση μεγέθους, είναι κυρίως ωοειδούς σχήματος, ενώ μπορεί, επίσης, να είναι στρογγυλά
- Το κυτταρόπλασμα συνήθως είναι ηωσινόφιλο σε παρασκευάσματα με χρώσεις Romanowsky, ενώ σε παρασκευάσματα μονιμοποιημένα σε αλκοόλη και χρωσθέντα κατά Παπανικολάου το κυτταρόπλασμα συνήθως διακρίνεται ελάχιστα.



- Οι χαρακτήρες των πυρήνων αποτελούν παθογνωμονικό εύρημα για την διάγνωση του θηλώδους καρκινώματος.

Συνήθως παρουσιάζουν επιμήκυνση, ανώμαλη πάχυνση της πυρηνικής μεμβράνης, διαύγαση της χρωματίνης, πτύχωση και παρουσία ψευδοεγκλείστων. Τα πυρήνια συνήθως είναι μικρά με έκκεντρη θέση. Στις περισσότερες περιπτώσεις, οι πτυχώσεις εκτείνονται σε όλο το μήκος του μεγαλύτερου πυρηνικού άξονα. Τα πυρηνικά ψευδοέγκλειστα ποικίλουν σε μέγεθος και αριθμό και καταλαμβάνουν κεντρική θέση ή εμφανίζονται έκκεντρα. Το περίγραμμα των εγκλείστων, συνήθως είναι περιγραπτό και ευδιάκριτο.

Παρουσία χαρακτήρων ομοίων προς ενδοπυρηνικές πτυχές ή ψευδοέγκλειστα σε άλλες καλοήθειες και κακοήθειες αλλοιώσεις του θυρεοειδούς αδένα

- Αδενωματώδης όζος
- Θυρεοειδίτιδα Hashimoto
- Υαλοειδοποιημένο Δοκιδώδες Αδένωμα
- Ογκοκυτταρικά νεοπλάσματα (διαχωρισμός από ογκοκυτταρικό τύπο θηλώδους Ca)
- Μυελοειδές καρκίνωμα

Ιδιαίτερα μικροσκοπικά ευρήματα σε υπότυπους του καρκινώματος

### **6.7.2. Θυλακιώδης τύπος του θηλώδους καρκινώματος (FVPTC)**

Η ερμηνεία των χαρακτήρων του νεοπλάσματος σε κυτταρολογικά επιχρίσματα, μπορεί να είναι δυσχερής. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όπου απουσιάζουν τα πυρηνικά χαρακτηριστικά του θηλώδους καρκινώματος, οι αλλοιώσεις μπορεί να εκληφθούν ως υπερπλαστικοί όζοι.

Συνήθη μικροσκοπικά ευρήματα στα επιχρίσματα :

- Τα νεοπλασματικά κύτταρα διατάσσονται σε μονοεπίπεδες ομάδες και σε θυλακιώδεις σχηματισμούς.
- Παρουσία πυκνού κολλοειδούς σε ποσοστό που ποικίλει, εν τούτοις σε πολύ μικρότερη ποσότητα από ότι στον κλασσικό τύπο του θηλώδους καρκινώματος.
- Τα κύτταρα παρουσιάζουν επιμήκεις πυρήνες, διαύγαση της χρωματίνης και πάχυνση της πυρηνικής μεμβράνης, ενώ η παρουσία επιμήκων πυρηνικών πτυχών και πυρηνικών ψευδοεγκλείστων είναι σπάνια.. Εν τούτοις, η διαύγαση της

χρωματίνης και η παχεία πυρηνική μεμβράνη, παρατηρείται πάντοτε. (El Hag and Kollur, 2004, Wu et al., 2003, Baloch et al., 1999b, Zacks et al., 1998, Mesonero et al., 1998).

### **6.7.3. Υψηλοκυτταρικός τύπος (tall cell) του θηλώδους καρκινώματος**

Παρουσιάζει επιθετική βιολογική συμπεριφορά και μπορεί να σχετίζεται με τοπικές υποτροπές, και απομακρυσμένες μεταστάσεις. Η πιθανότητα αναγνώρισης του συγκεκριμένου τύπου σε δείγματα παρακέντησης με λεπτή βελόνα, συνεισφέρει σημαντικά στη διαγνωστική διερεύνηση.

Συνήθη μικροσκοπικά ευρήματα στα επιχρίσματα :

- Επιμήκη κύτταρα με σαφές κυτταροπλασματικό όριο, κοκκιδώδες ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και ποικίλου μεγέθους πυρήνες που παρουσιάζουν μορφολογικούς χαρακτήρες θηλώδους καρκινώματος.
- Τα πυρηνικά χαρακτηριστικά, συνήθως υπάρχουν σε αφθονία στα επιχρίσματα, συγκρινόμενα με εκείνα που παρατηρούνται στον κλασικό τύπο του νεοπλασματος. Οι επιμήκεις πυρηνικές πτυχές και τα πυρηνικά ψευδοέγκλειστα αναγνωρίζονται με ευχέρεια.

Η μορφή αυτή του θηλώδους καρκινώματος, μπορεί να συγχέεται με τα ογκοκυτταρικά νεοπλασμάτα, λόγω της μορφολογίας του κυτταροπλάσματος. Συνεπώς, η προσπάθεια αναγνώρισης των πυρηνικών χαρακτηριστικών του θηλώδους καρκινώματος διευκολύνει σημαντικά στην διαφορική διάγνωση μεταξύ των δύο νεοπλασμάτων (Bocklage et al., 1997, Solomon et al., 2002).

### **6.7.4. Θηλώδες καρκίνωμα προσομοιάζον με τον όγκο Warthin των σιελογόνων αδένων (Warthin-like)**

Στα επιχρίσματα, πιθανόν να παρατηρηθούν ιστοτεμαχίδια με θηλώδη διαμόρφωση ή κυτταρικές ομάδες που διηθούνται από λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα. Επιπλέον, τα νεοπλασματικά κύτταρα έχουν κυτταροπλασματικούς χαρακτήρες ογκοκυττάρων και πυρηνική μορφολογία θηλώδους καρκινώματος του θυρεοειδούς.

Η εικόνα που παρατηρείται στα επιχρίσματα αυτού του τύπου καρκινώματος, μπορεί να συγχέεται με εκείνη της χρόνιας λεμφοκυτταρικής θυρεοειδίτιδας. Η διαφορική διάγνωση στηρίζεται, στην ανεύρεση κυττάρων με ευδιάκριτους πυρήνες θηλώδους καρκινώματος που τα διαχωρίζουν από τα κύτταρα Hürthle (Fadda et al., 1998, Vasei et al., 1998).

## **6.8. Χαμηλής διαφοροποίησης καρκίνωμα**

Το **νησιδιακό καρκίνωμα (insular)**, αντιπροσωπεύει την κλασσική μορφή των χαμηλά διαφοροποιημένων καρκινωμάτων του θυρεοειδούς. Τα επιχρίσματα συνήθως είναι κυτταροβριθή, αποτελούμενα από συνωστιζόμενες αθροίσεις θυλακικών κυττάρων λίγα μικροθυλάκια και πιθανώς μεμονωμένα κύτταρα σε υπόστρωμα με ελάχιστο κολλοειδές ή χωρίς κολλοειδές. Οι κυτταρικές αθροίσεις μπορεί να είναι αρκετά μεγάλες και σφαιρικές (φωλεές) ή δοκιδώδεις, με πιθανή παρουσία ινώδους περιβλήματος. Τα κύτταρα είναι μικρά και σχετικώς μονόμορφα ή ενίοτε πλασματοκυτταροειδή, με ελάχιστο εύθραυστο κυτταρόπλασμα και υψηλή πυρηνική/ κυτταροπλασματική αναλογία. Διακρίνονται πυρήνες εν γένει στρογγυλοί, με βαθυχρωμασία και κοκκίωση της χρωματίνης. Τα πυρήνια είναι δυσδιάκριτα. Επιπλέον, η παρουσία νεκρωτικού υποστρώματος, νεκρωτικών αλλοιώσεων στα κύτταρα και μιτώσεων, αποτελούν κυτταρολογικές ενδείξεις που συνηγορούν στη διάγνωση του χαμηλά διαφοροποιημένου ή νησιδιακού καρκινώματος, επιχειρώντας τον διαχωρισμό από την κατάταξή του γενικά ως θυλακιδώδες νεόπλασμα. (Clark and Facquin, 2005)

Στην διαφορική διάγνωση περιλαμβάνονται :

- 1 Θυλακιδώδες νεόπλασμα
- 2 Μυελοειδές καρκίνωμα
- 3 Θηλώδες καρκίνωμα
- 4 Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα
- 5 Μεταστατικό καρκίνωμα

Γενικά στο νησιδοειδές καρκίνωμα, δεν διακρίνονται πυρήνες με στικτή διάταξη της χρωματίνης δίκην «αλατοπίπερου» και αμυλοειδές που παρατηρούνται στο μυελοειδές καρκίνωμα, δεν υπάρχει η χαρακτηριστική πυρηνική μορφολογία του θηλώδους καρκινώματος, ούτε διακρίνεται ή έντονη πυρηνική ατυπία του αδιαφοροποίητου καρκινώματος. Ανοσοκυτταροχημικά, διαχωρίζεται από το μυελοειδές καρκίνωμα ή το μεταστατικό καρκίνωμα μέσω της έντονα θετικής έκφρασης στη θυρεοσφαιρίνη και της αρνητικής έκφρασης στην καλσιτονίνη.

### **6.8.1. Αδιαφοροποίητο (Αναπλαστικό) καρκίνωμα**

Στα επιχρίσματα, συνήθως δεν υπάρχουν διαγνωστικές δυσκολίες, λόγω του έντονου κυτταρικού πλειομορφισμού και των εμφανών χαρακτηριστικών κακοήθειας.

Σε υπόστρωμα με νέκρωση και φλεγμονή, παρατηρούνται επιθηλιοειδή και ατρακτοειδή καρκινικά κύτταρα, ως και γιγαντοκύτταρα του τύπου των οστεοκλαστών με αναπλαστικούς

χαρακτήρες. Τα κύτταρα συνήθως διηθούνται από ουδετερόφιλα πολυμορφύρηνα λευκοκύτταρα.

Σε ορισμένες περιπτώσεις που συνοδεύονται από εκσεσημασμένη νέκρωση και σκλήρυνση, πιθανά να προκύψει μη διαγνωστικό δείγμα στο υλικό της FNA.

Κυτταρομορφολογικοί χαρακτήρες (Clark and Facquin, 2005)

- Συνήθως υπερκυτταρικό επίχρισμα
- Εμφανώς κακοήθεις πυρηνικοί χαρακτήρες
  - πυρηνικός πλειομορφισμός
  - ευμεγέθεις πυρήνες με ανώμαλη πυρηνική μεμβράνη
  - συσσωρεύσεις χρωματίνης
  - μακροπυρήνια
  - άτυπες μιτωτικές μορφές
  - ψευδοέγκλειστα (ενίοτε)
- Ο τύπος των κακοήθων κυττάρων ποικίλει (επιδερμοειδή,ατρακτοειδή, πολυπύρηνα γιγαντοκύτταρα ή συνδυασμός αυτών)
- Συνήθως τα κύτταρα είναι μεμονωμένα και σε σωρούς
- Πιθανά να παρατηρηθεί διαφοροποίηση προς πλακώδη κύτταρα συμπεριλαμβάνοντας τον σχηματισμό κερατίνης.
- Σε ορισμένες περιπτώσεις με αφθονία κυτταρικού υλικού, πιθανόν να παρατηρηθεί κυτταρολογική ένδειξη διαφοροποιημένου καρκινώματος (θηλώδες ή θυλακιώδες)

### **6.8.2. Μυελοειδές καρκίνωμα**

Στις περισσότερες περιπτώσεις δειγμάτων με επάρκεια υλικού, τα επιχρίσματα είναι κυτταροβριθή και χαρακτηρίζονται από πληθυσμό επιθηλιακών κυττάρων χωρίς συνοχή και σφαιροειδείς σχηματισμούς αμυλοειδούς. Το πρότυπο που επικρατεί είναι εκείνο των μεμονωμένων κυττάρων, μολονότι μπορεί να υπάρχουν κυτταρικές αθροίσεις και ενίοτε θηλώδεις ή επιπλέον θυλακιώδεις και ψευδοθυλακιώδεις σχηματισμοί. Οι πυρήνες είναι

ωοειδείς ή επιμήκεις με χαρακτηριστική αδροκοκκώδη δίκην «αλατοπίπερου» χρωματίνη, ενδεικτική νευροενδοκρινούς διαφοροποίησης. Τα πυρήνια είναι συνήθως μικρά και δυσδιάκριτα και σπανίως μπορεί να είναι ευδιάκριτα και ηωσινόφιλα.. Ενίοτε παρατηρούνται κύτταρα με πυρηνικό ψευδοέγκλειστο (Πίνακας 8). Συνήθως το κυτταρόπλασμα είναι μέτριο προς άφθονο, λεπτό, κοκκιώδες, ηωσινόφιλο.

Οι συνήθεις τύποι περιλαμβάνουν, πλασματοκυτταροειδείς μορφές κυττάρων με έκκεντρη θέση του πυρήνα και πολυγωνικά κύτταρα ογκοκυτταρικής μορφής, ενώ έχουν παρατηρηθεί και υπότυποι από διαυγή κύτταρα, μικρά κύτταρα, γιγαντοκύτταρα και επιδερμοειδή κύτταρα.

#### **6.8.2.1. Τύποι μυελοειδούς καρκινώματος**

- Πλασματοκυτταροειδής
- Ογκοκυτταρικός
- Γιγαντοκυτταρικός
- Ατρακτοειδής
- Αναπλαστικός
- Μικροκυτταρικός
- Διαυγοκυτταρικός
- Θηλώδης ή Θυλακιώδης (αμιγής ή μικτός)
- Με επικράτηση του αμυλοειδούς

Μολονότι δεν έχει κλινική σημασία, η αναγνώριση των ποικίλων υποτύπων μυελοειδούς καρκινώματος σε κυτταρολογικά δείγματα, θεωρείται ότι βοηθά στην αποφυγή διαγνωστικού σφάλματος (Πίνακας 9). Ανοσοκυτταροχημικά, εκτός της καλσιτονίνης, παρατηρείται θετική έκφραση στο καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο, στη χρωμογρανίνη, στη συναπτοφυσίνη και στο CD56

Στο 80% των περιπτώσεων μυελοειδούς καρκινώματος ανευρίσκεται αμυλοειδές ως άμορφο πυκνό υλικό στο υπόστρωμα , που ομοιάζει αρκετά με το πυκνό κολλοειδές όπως φαίνεται σε επιχρίσματα με την χρώση κατά Παπανικολάου. Ο διαχωρισμός μεταξύ των δύο είναι ευχερής με την ειδική κυτταροχημική χρώση ερυθρού του Κογκό.

Οι περιπτώσεις όπου το καρκίνωμα είναι υποκυτταρικό και περιέχει κυρίως αμυλοειδές, πρέπει να διαχωρίζονται από την αμυλοειδή βρογχοκήλη μέσω προσεκτικής διερεύνησης για την παρουσία νευροενδοκρινικών κυττάρων.

Η μέτρηση των επιπέδων καλσιτονίνης ορού στους ασθενείς, μπορεί να επιβεβαιώσει τη διάγνωση μυελοειδούς καρκινώματος, σε περιπτώσεις όπου η κυτταρικότητα του δείγματος είναι περιορισμένη.

### **6.8.3. Λέμφωμα**

Στα επιχρίσματα, το λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα Β τύπου αναγνωρίζεται με σχετική ευχέρεια ενώ αντίθετα, η κυτταρολογική διάγνωση λεμφωμάτων χαμηλού βαθμού κακοήθειας από μικρού ή ενδιάμεσου μεγέθους κύτταρα είναι αρκετά δυσκολότερη.

Στην πρώτη περίπτωση, τα επιχρίσματα είναι κυτταροβριθή αποτελούμενα από μεγάλα άτυπα λεμφοειδή κύτταρα, διάσπαρτα. Τα κύτταρα συνήθως είναι δύο έως τρεις φορές μεγαλύτερα από τα ώριμα λεμφοκύτταρα. Διακρίνονται πυρήνες υποχρωματικοί με ευδιάκριτα πυρήνια. Οι γυμνοί πυρήνες και τα σφαιροειδή σωματίδια που αναγνωρίζονται στο υπόστρωμα, διευκολύνουν μορφολογικά τον αποκλεισμό επιθηλιακών νεοπλασμάτων. Είναι εμφανής η απουσία θυλακικών κυττάρων στα περισσότερα επιχρίσματα.

Στα λεμφώματα χαμηλού βαθμού κακοήθειας από μικρού ή ενδιάμεσου μεγέθους κύτταρα, ο πληθυσμός των λεμφοειδών κυττάρων στα επιχρίσματα είναι ετερογενής και αποτελείται από μικρά λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, ανοσοβλάστες και μεγάλα λεμφοειδή κύτταρα. Τα επιχρίσματα είναι κυτταροβριθή και γενικά απουσιάζουν τα μακροφάγα. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης επιτυγχάνεται μέσω της ανοσοκυτταροχημείας, της κυτταρομετρίας ροής και μοριακών τεχνικών, που μπορούν να εφαρμοστούν στο υλικό της παρακέντησης με λεπτή βελόνα.

## **7. Κυτταρολογία Υγρής Φάσης**

Η διαγνωστική ακρίβεια της κυτταρολογικής εξέτασης στηρίζεται σημαντικά στη τεχνική που χρησιμοποιείται για την επεξεργασία των δειγμάτων. Η υψηλή ποιότητα των επιχρισμάτων εξαρτάται από την επιλογή μίας παρασκευαστικής τεχνικής που αφενός ελαχιστοποιεί την απώλεια υλικού και αφετέρου διατηρεί τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων, ώστε να επιτυγχάνεται αξιόπιστη διάγνωση. Η μέθοδος της επίστρωσης σε λεπτή στριβάδα με τεχνική υγρής φάσης, αποτελεί μία νέα διαδικασία, η οποία ήδη εφαρμόζεται σε πολλά κυτταρολογικά εργαστήρια με σκοπό τη βελτίωση της διαγνωστικής δυνατότητας που παρέχεται μέσω της συγκεκριμένης τεχνικής, συγκριτικά με τις διαγνωστικές δυνατότητες της συμβατικής μεθόδου επίστρωσης των δειγμάτων. Η τεχνική της κυτταρολογίας υγρής φάσης χρησιμοποιήθηκε αρχικά στην διαδικασία της επεξεργασίας δειγμάτων από τον τράχηλο της μήτρας για την εξέταση κατά Παπανικολάου, με έκπλυση όλου του ληφθέντος υλικού της σπάτουλας ή της βούρτσας σε φιαλίδιο με μονιμοποιητικό διάλυμα αλκοόλης. Η νέα τεχνική άρχισε να χρησιμοποιείται με στόχο, την άριστη μονιμοποίηση και καλύτερη διατήρηση των κυττάρων, την δυνατότητα ομοιόμορφης κατανομής σε λεπτή επίστρωση και την ελαχιστοποίηση της επικάλυψης των διαγνωστικών κυττάρων από αίμα, φλεγμονώδη στοιχεία ή βλέννα, ώστε να ελαττωθεί το ποσοστό της κυτταρολογικής υποεκτίμησης των επιχρισμάτων λόγω χαμηλής ποιότητας. Επιπλέον, στόχος ήταν να ελαττωθεί ο χρόνος μικροσκόπησης λόγω της μεγαλύτερης ευκρίνειας των κυτταρικών χαρακτηριστικών και του μικρότερου πεδίου ελέγχου, αλλά και η δυνατότητα εφαρμογής ανοσοκυτταροχημικών χρώσεων ή μοριακών διαγνωστικών τεχνικών σε κυτταρικό υλικό από το ίδιο δείγμα.

Από την Διεύθυνση Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) των ΗΠΑ έχουν πιστοποιηθεί δύο συστήματα Κυτταρολογίας Υγρής Φάσης (liquid- based cytology /LBC), τα οποία εφαρμόζονται στα περισσότερα εργαστήρια (Hoda, 2007) :

### **7.1. Μέθοδος Surepath® (Becton Dickinson/ Tripath, Burlington, USA )**

Είναι πιστοποιημένη από το 1999. Το δείγμα συλλέγεται σε φιαλίδιο που περιέχει μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση την αιθανόλη. Στο εργαστήριο πραγματοποιείται ομογενοποίηση του εναιωρήματος μέσω της διόδου από ένα σωλήνα που περιέχει κύλινδρο σακχαρόζης με διαβαθμισμένη πυκνότητα, ώστε να επιτευχθεί ελάττωση του αίματος και των φλεγμονωδών στοιχείων. Το τελικό κυτταρικό εναιώρημα καταλήγει με καθίζηση λόγω βαρύτητας πάνω σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα, όπου σχηματίζεται κυκλική περιοχή διαμέτρου 13mm με κυτταρικό υλικό σε μονοεπίπεδη επίστρωση.

## **7.2. Μέθοδος ThinPrep® (Hologic, Marlborough, USA)**

Η τεχνική υγρής φάσης ThinPrep®, άρχισε να πραγματοποιείται από την εταιρεία Cytec Corporation μετά το 1987, αποδίδοντας κύτταρα ευδιάκριτα σε καθαρό υπόστρωμα, περιοριζόμενα σε μία καθορισμένη περιοχή. Έτσι προέκυψε μία βελτιωμένη παρασκευαστική τεχνική, αρχικά σε κολποτραχηλικά επιχρίσματα. Η μέθοδος ThinPrep® πιστοποιήθηκε το 1996, για να χρησιμοποιείται επιπλέον σε μη γυναικολογικά κυτταρολογικά δείγματα συμπεριλαμβανομένων εκείνων από παρακέντηση με λεπτή βελόνα.

Η τεχνική περιλαμβάνει την άμεση συλλογή του δείγματος σε ένα φιαλίδιο που περιέχει συγκεκριμένο ρυθμιστικό μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση τη μεθανόλη (Cytolyt®), το οποίο περιέχει αιμολυτικούς και βλεννολυτικούς παράγοντες. Στην συνέχεια το δείγμα φυγοκεντρείται, απορρίπτεται το υπερκείμενο υγρό και το ίζημα μεταφέρεται σε ένα δεύτερο φιαλίδιο με διάλυμα μεθανόλης (PreservCyt®). Το φιαλίδιο τοποθετείται σε συσκευή επεξεργασίας, όπου ένας κύλινδρος ο οποίος στο ένα άκρο φέρει πολυκαρβονικό λεπτό φίλτρο, εισάγεται στο διάλυμα και περιστρέφεται ήπια. Η ανάδευση δημιουργεί ένα μικρό ρεύμα που κατανέμει τα κύτταρα τυχαία μέσα στο υγρό. Ακολούθως, εφαρμόζεται κενό αέρος στον κύλινδρο. Τα ερυθροκύτταρα και φλεγμονώδη κύτταρα που περισσεύουν διέρχονται μέσω των πόρων του φίλτρου ως απόβλητα ενώ τα διαγνωστικά κύτταρα προσκολλώνται στην επιφάνειά του. Το λογισμικό του μηχανήματος ρυθμίζει ηλεκτρονικά την πυκνότητα των στοιχείων στο φίλτρο. Όταν η συλλογή κυττάρων είναι επαρκής ώστε να προκύπτει επίχρισμα, η εφαρμογή του κενού αέρος στο φίλτρο παύει να υφίσταται. Στην συνέχεια ο κύλινδρος εξέρχεται από το φιαλίδιο, αντιστρέφεται και πιέζεται ελαφρά επάνω σε μία θετικά φορτισμένη αντικειμενοφόρο πλάκα, όπου εφαρμόζεται ήπια θετική εξωτερική πίεση ώστε να διασφαλιστεί η προσκόλληση των κυττάρων στο πλακίδιο. Με τον τρόπο αυτό προκύπτει ένα επίχρισμα σε κυκλική περιοχή διαμέτρου 20 χιλιοστών με ομοιόμορφη κατανομή των κυττάρων που εμπεριέχονται στο δείγμα (Zahniser and Sullivan, 1996). Η διαδικασία ολοκληρώνεται όταν η αντικειμενοφόρος πλάκα εμβαπτισθεί σε διάλυμα αιθανόλης 95%, εφόσον ακολουθήσει η χρώση κατά Παπανικολάου για τη μικροσκοπική αξιολόγηση.

### **7.2.1. Εφαρμογή της τεχνικής κυτταρολογίας υγρής φάσης ThinPrep® σε δείγματα FNA θυρεοειδούς**

Ο αριθμός των παρακεντήσεων με λεπτή βελόνα που διενεργούνται τόσο παγκόσμια όσο και στην Ελλάδα ως αρχική διαγνωστική διαδικασία στη διερεύνηση των όζων, έχει αυξηθεί εντυπωσιακά. Επιπλέον, παρατηρείται αύξηση των απαιτήσεων από τα κυτταρολογικά εργαστήρια όσον αφορά την διασφάλιση της διαγνωστικής επάρκειας των δειγμάτων και της υψηλής ποιότητας των κυτταρολογικών επιχρισμάτων. Η μέθοδος της υγρής φάσης δείχνει ότι ανταποκρίνεται σε αυτή την ανάγκη, αφού το σύνολο του υλικού της βελόνης μπορεί να συγκεντρωθεί, μετά από την έκπλυση του αυλού της σε φιαλίδιο με μονιμοποιητικό διάλυμα



και να προωθηθεί στο εργαστήριο. Εφόσον η ειδικότητα και η ευαισθησία που αφορούν τόσο τη συμβατική επίστρωση όσο και την τεχνική υγρής φάσης δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των δύο μεθόδων (Afify et al., 2001), στα πλεονεκτήματα της τεχνικής ThinPrep® προσμετρώνται :

1. Η απλοποιημένη διαδικασία συλλογής του υλικού της FNA θυρεοειδούς σε ένα φιαλίδιο μονιμοποιητικού διαλύματος μετά από έκπλυση της βελόνας
2. Η δυνατότητα μικροσκόπησης του υλικού σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα αντί των αρκετών επιχρισμάτων της συμβατικής επίστρωσης (Cochand-Priollet et al., 2003), που έχει σαν αποτέλεσμα την ελάττωση του συνολικού χρόνου εξέτασης του δείγματος (Stamataki et al., 2008)
3. Η άριστη διατήρηση των κυττάρων που οφείλεται στην άμεση και επαρκή μονιμοποίηση, ως και η ελάττωση των στοιχείων αιμορραγικής πρόσμιξης
4. Η ελάττωση τόσο του αριθμού των περιπτώσεων με ανεπαρκή επιχρίσματα όσο και των περιπτώσεων με ακαθόριστες διαγνώσεις (Fadda et al., 2006b).
5. Η δυνατότητα διενέργειας ειδικών διαγνωστικών τεχνικών (ανοσοκυτταροχημικές χρώσεις, μοριακές τεχνικές, κυτταρομετρία ροής),σε υλικό από το υπόλοιπο του δείγματος (Cochand-Priollet et al., 2003, Fadda et al., 2006b)

Στα μειονεκτήματα της μεθόδου αναφέρονται :

1. Η τροποποίηση της κυτταρικής μορφολογίας, που οφείλεται στην τεχνική μονιμοποίησης και απαιτεί μακρόχρονη εκπαίδευση των κυτταρολόγων όταν αποφασίζουν να αλλάξουν την μέθοδο επεξεργασίας των δειγμάτων από συμβατική σε κυτταρολογία υγρής φάσης.
2. Η αδυναμία άμεσης αξιολόγησης του υλικού της FNA με ταχεία χρώση, όταν η υγρή φάση χρησιμοποιείται ως αποκλειστική μέθοδος προπαρασκευής επιχρισμάτων (Afify et al., 2001).

### **7.3. Διαγνωστική ορολογία σε δείγματα FNA θυρεοειδούς**

Οι οζώδεις αλλοιώσεις, δημιουργούν ενίοτε κλινικά διλήμματα ως προς τον τρόπο διαχείρισης των ασθενών. Παρόλο που η εξέταση υλικού με παρακέντηση δια λεπτής βελόνης αποτελεί την πλέον αποτελεσματική μέθοδο προεγχειρητικής διάγνωσης, σε ποσοστά περίπου 60% και 15% (συνολικά 70-80%) οι αλλοιώσεις αναφέρονται αντίστοιχα ως καλοήθειες ή κακοήθειες (Yoder et al., 2006), με 92% αρνητική προγνωστική αξία για τις καλοήθειες διαγνώσεις και 100% θετική προγνωστική αξία για την κακοήθεια. Στο υπόλοιπο

20% των όζων, το κυτταρολογικό αποτέλεσμα είναι ακαθόριστο (Rabaglia et al., 2010). Τα ανεπαρκή (μη διαγνωστικά) αποτελέσματα αποτελούν περίπου το 10% των περιπτώσεων.

Ο σημαντικότερος ρόλος οποιουδήποτε διαγνωστικού σχήματος είναι ο σαφής καθορισμός της βλάβης, ώστε να παρέχεται η δυνατότητα εφαρμογής της διαγνωστικής πληροφορίας με σταθερό και αναπαραγώγιμο τρόπο στην κλινική πρακτική για τον

κατάλληλο χειρισμό του ασθενούς. Επιπλέον σημαντικά θεωρούνται, η ικανότητα του σχήματος να παρέχει την δυνατότητα ελέγχου των αποτελεσμάτων, να βελτιώνει τη διαγνωστική διαδικασία, να αναφέρει τον σχετικό κίνδυνο κακοήθειας που υποκρύπτεται, ανάλογα με τη διαγνωστική κατηγορία στην οποία ταξινομούνται τα κυτταρολογικά ευρήματα και να μπορεί να συγκριθεί με άλλα διαγνωστικά σχήματα που χρησιμοποιούνται διεθνώς. Επίσης, σημαντικό πλεονέκτημα για κάποιο διαγνωστικό σχήμα, αποτελεί η δυνατότητα αναπαραγωγιμότητας των διαγνωστικών κατηγοριών του μεταξύ διαφορετικών παρατηρητών που εξετάζουν τα επιχρίσματα (The Royal College of Pathologists. Guidance on the reporting of thyroid cytology specimens, 2009.)

Από τη δεκαετία του 1970, το υλικό FNA του θυρεοειδούς αδένος, αρχίζει να αποτελεί αντικείμενο δημοσίευσης επιστημονικών μελετών. Εκτοτε, εμφανίζονται στη βιβλιογραφία ποικίλες διαγνωστικές ορολογίες. Μέχρι σήμερα η ευρεία εφαρμογή ενός ενιαίου διαγνωστικού συστήματος ταξινόμησης των αλλοιώσεων, δεν έχει επιτευχθεί διεθνώς. Ωστόσο, έχουν προταθεί διάφορα σχήματα, είτε από επιστημονικές μελέτες που στηρίζονται σε προσωπική ή νοσοκομειακή εμπειρία των συγγραφέων και προτείνουν τη χρήση 3 έως 6 (ή περισσότερων) διαγνωστικών κατηγοριών (Wang, 2006, Redman et al., 2006), είτε από επιστημονικές οργανώσεις (Cooper et al., 2006, Wartofsky, 2009, Gharib et al., 2006). Το 1996, η κλινική οργάνωση **“Papanicolaou Society of Cytopathology”** και το 2006 οι οργανώσεις **“American Thyroid Association”** και **“American Association of Clinical Endocrinologists”** δημοσίευσαν αντίστοιχα, κατευθυντήριες οδηγίες για τη διαδικασία της FNA θυρεοειδούς και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της. Οι οδηγίες επισήμαιναν την ανάγκη, αφ'ενός της αναφοράς της επάρκειας του δείγματος και αφ'ετέρου της χρήσης σύντομης και σαφούς ορολογίας, ώστε να επιτρέπεται μία υψηλού βαθμού επικοινωνία μεταξύ του γιατρού κυτταρολόγου που ερμηνεύει το δείγμα και του κλινικού γιατρού ο οποίος παραλαμβάνει η κυτταρολογική έκθεση. (Πίνακας 10 )

Από το 2007 προτείνεται η εφαρμογή δύο νεότερων συστημάτων ταξινόμησης των κυτταρολογικών ευρημάτων της FNA θυρεοειδούς. Στο Ηνωμένο Βασίλειο έχει καθιερωθεί η ορολογία την οποία προτείνει ο οργανισμός **“British Thyroid Association(BTA) / Royal College of Pathologists(RCoP)”** αποτελούμενη από ένα σύστημα που ταξινομεί τα κυτταρολογικά ευρήματα σε πέντε κατηγορίες. (Πίνακας 11). Παράλληλα, το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου (NCI) των ΗΠΑ προτείνει την εφαρμογή της ορολογίας ενός νέου συστήματος ταξινόμησης που αναφέρεται ως **“The Bethesda System for Reporting**

**Thyroid Cytopathology (TBSRTC)** ” και αποτελείται από έξι διαγνωστικές κατηγορίες (Baloch et al., 2008). Η φιλοσοφία του συστήματος κατά Bethesda είναι ότι, κάθε διαγνωστική κατηγορία υποκρύπτει αναλογικά ένα ποσοστό κινδύνου κακοήθειας, συσχετίζοντας παράλληλα αυτή την πληροφορία με την οδηγία για την κατάλληλη κλινική διαχείριση του ασθενούς (Cibas and Ali, 2009) (Πίνακας 12 )

Μετά από ευρεία συζήτηση που έγινε το 2009 μεταξύ μελών της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Κυτταρολογικών Εταιρειών (European Federation of Cytology Societies) (Kocjan et al., 2010), η εφαρμογή του εν λόγω διαγνωστικού συστήματος βρίσκεται υπό εξέταση σε αρκετές Ευρωπαϊκές χώρες (Cochand-Priollet et al., 2011). Στην Ελλάδα, η διαγνωστική ορολογία κατά Bethesda χρησιμοποιείται προαιρετικά από το 2010, εν αναμονή της έκδοσης εθνικών κατευθυντήριων οδηγιών.

#### **7.4. Ανάλυση της διαγνωστικής σημασίας του συστήματος TBSRTC**

Το δείγμα της FNA, πρέπει να αντιπροσωπεύει απαραίτητα την υποκείμενη οζώδη βλάβη, προκειμένου να παρέχεται αξιόπιστη διαγνωστική πληροφορία. Ο βαθμός κυτταρικότητας ενός δείγματος, εξαρτάται όχι μόνο από την τεχνική της αναρρόφησης του υλικού αλλά και από τη φύση της αλλοίωσης, που αφορά τόσο την αναλογία μεταξύ κυτταρικών στοιχείων και κολλοειδούς όσο και την συμπαγή ή κυστική σύσταση του όζου.

##### **7.4.1. Ανεπαρκή δείγματα (μη διαγνωστικά) / TBS I**

Στις περιπτώσεις αυτές, επιβάλλεται η επανάληψη της διαδικασίας λήψης υλικού

- 1 Ο αριθμός των επιθηλιακών κυττάρων είναι μικρότερος του καθορισμένου κριτηρίου επάρκειας, δηλαδή < 6 αθροίσεις ανά επίχρισμα με 10 κύτταρα ανά ομάδα.
- 2 Απουσία θυλακικών κυττάρων ή ακυτταρικό δείγμα.
- 3 Ανεπαρκής χρώση των επιχρισμάτων ή άφθονα στοιχεία αίματος που αποκρύπτουν την κυτταρική μορφολογία
- 4 Εκφυλιστικές κυτταρικές αλλοιώσεις λόγω κακής μονιμοποίησης, ή παχείας επίστρωσης του υλικού.

##### **7.4.2. Αρνητικό για κακοήθεια / TBS II**

Η διαγνωστική κατηγορία περιλαμβάνει τις αλλοιώσεις που συναντώνται συχνότερα στην κυτταρολογική εξέταση των όζων του θυρεοειδούς. Καλύπτει ένα φάσμα αλλοιώσεων με όμοιους κυτταρομορφολογικούς χαρακτήρες, οι οποίες ταξινομούνται ιστολογικά, ως υπερπλαστικοί (αδενωματώδεις) ή κολλοειδείς, όζοι ή θυλακιώδη αδενώματα (κυρίως του

μακροθυλακιώδους τύπου). Η διάκριση μεταξύ αυτών των ιστολογικών αλλοιώσεων δεν είναι εφικτή κυτταρολογικά, όμως έχει σημασία η διαγνωστική τους ταξινόμηση, καθόσον ο κίνδυνος να υποκρύπτουν κακοήθεια δεν υπερβαίνει το 3%.

Στην ίδια διαγνωστική κατηγορία, ταξινομούνται και οι περιπτώσεις φλεγμονωδών παθήσεων του θυρεοειδούς. Η χρόνια λεμφοκυτταρική /Hashimoto, αποτελεί τον συχνότερο τύπο θυρεοειδίτιδας που ανευρίσκεται σε κυτταρολογικά δείγματα, σε περιπτώσεις οξέως αλλοίωσης. Οι υπόλοιποι τύποι θυρεοειδίτιδας ( Κοκκιωματώδης ή Υποξεία, Οξεία και Riedel's )δεν συναντώνται συχνά σε κυτταρολογικά δείγματα, καθόσον η διάγνωση είναι συνήθως κλινική και η παρακέντηση με λεπτή βελόνα διενεργείται μόνον όταν η οξεία αλλοίωση πιθανολογεί την ύπαρξη κακοήθειας.

Στην κατηγορία αυτή τα μικροσκοπικά ευρήματα ποικίλουν ανά περίπτωση και περιλαμβάνουν : ομαλές μονοεπίπεδες ομάδες θυλακικών κυττάρων, ελάχιστα μικροθυλάκια, λίγα ογκοκύτταρα (κύτταρα οξύφιλα ή Hürthle), απουσία πυρηνικής ατυπίας, φλεγμονώδη κύτταρα, ιστιοκύτταρα, κολλοειδές και ινοβλάστες.

#### **7.4.3. Ατυπία απροσδιόριστης σημασίας ή θυλακιώδης βλάβη απροσδιόριστης σημασίας / TBS III ( Atypia of Undetermined Significance “AUS” )**

Η διαγνωστική κατηγορία αφορά δείγματα που περιέχουν κύτταρα με άτυπη διάταξη ή /και άτυπη πυρηνική μορφολογία. Τα μικροσκοπικά ευρήματα δεν πληρούν τα κριτήρια που απαιτούνται ώστε τα δείγματα να ταξινομηθούν ως ύποπτα ή θετικά για κακοήθεια. Ωστόσο, ο βαθμός ατυπίας είναι σημαντικός τόσο που δεν μπορεί να αποδοθεί με βεβαιότητα σε καλοήθεις παθήσεις. Εκτιμάται ότι σε ποσοστό 5-15% οι περιπτώσεις αφορούν κακοήθεια. Τα αναφερόμενα ευρήματα, εκφράζουν την ετερογένεια αυτής της κατηγορίας.

#### **7.4.4. Θυλακιώδες νεόπλασμα - υποψία για θυλακιώδες ή Hürthle νεόπλασμα / TBS IV**

Τα μορφολογικά κριτήρια για την ταξινόμηση στη συγκεκριμένη κατηγορία, αφορούν τόσο την διαταραχή της αρχιτεκτονικής (κυρίως μικροθυλάκια με πυρηνικό συνωστισμό) και τους πυρήνες (ποικίλου βαθμού ατυπία ) όσο και την σπανιότητα ή την απουσία κολλοειδούς.

Τα δείγματα είναι κυτταροβριθή, ενώ είναι αδύνατος κυτταρομορφολογικά ο διαχωρισμός της καλοήθους αλλοίωσης με θυλακιώδη αρχιτεκτονική (αδένωμα) από ένα θυλακιώδες καρκίνωμα. Αποτελεί ειδική διαγνωστική ταξινόμηση και αφορά όλα τα νεοπλάσματα με θυλακιώδες αρχιτεκτονικό πρότυπο καθώς και τα νεοπλάσματα από κύτταρα Hürthle ( αποκλειστική ή σχεδόν αποκλειστική παρουσία ογκοκυττάρων στο επίχρισμα). Στην κατάταξη δεν συμπεριλαμβάνονται, η ογκοκυτταρική και η θυλακιώδης ποικιλία του

θηλώδους καρκινώματος , εφόσον αναγνωριστούν τα ειδικά πυρηνικά χαρακτηριστικά του νεοπλάσματος. Το ποσοστό κακοήθειας στις περιπτώσεις αυτές, είναι 15-30%.

#### **7.4.5. Υποψία για κακοήθεια / TBS V**

Για τα περισσότερα πρωτοπαθή κακοήθη νεοπλάσματα του θυρεοειδούς αδένου, υπάρχουν συγκεκριμένα μικροσκοπικά μορφολογικά χαρακτηριστικά και επομένως αναγνωρίζονται εύκολα στα κυτταρολογικά επιχρίσματα. Μολονότι τα κυτταρολογικά χαρακτηριστικά του θηλώδους και του μυελοειδούς καρκινώματος ή του λεμφώματος είναι καθορισμένα, σε κάποια δείγματα τα κριτήρια μπορεί να είναι ποσοτικά ή /και ποιοτικά ανεπαρκή για την οριστική διάγνωση κακοήθειας.

Τα αίτια που προκαλούν την διαγνωστική αμφιβολία περιλαμβάνουν, αραιοκυτταρικά ή εκφυλισμένα δείγματα, κάποιο ασυνήθη τύπο θηλώδους ή μυελοειδούς καρκινώματος και την αλληλοεπικάλυψη μορφολογικών κριτηρίων μεταξύ κακοήθων και καλοήθων αλλοιώσεων του θυρεοειδούς. Συνεπώς, δημιουργείται η ανάγκη ώστε όλες αυτές οι περιπτώσεις να κατατάσσονται σε χωριστή κατηγορία όπου η κακοήθεια θεωρείται περισσότερο πιθανή. Ο σκοπός διαχωρισμού της « ύποπτης » από την « θετική για κακοήθεια » κατηγορίας είναι, να διατηρηθεί η πολύ υψηλή θετική προγνωστική αξία της δεύτερης χωρίς να διακινδυνεύεται η συνολική ευαισθησία της FNA (Ali and Cibas, 2010). Στην ύποπτη κατηγορία ο υποκρυπτόμενος κίνδυνος κακοήθειας ανέρχεται μέχρι και 75%.

#### **7.4.6. Θετικό για κακοήθεια / TBS VI**

Η πιθανότητα κακοήθειας στους ασθενείς αυτούς, κυμαίνεται μεταξύ 97-99%.

Περιλαμβάνονται οι περιπτώσεις, θηλώδους καρκινώματος με τους ποικίλους τύπους του, μυελοειδούς καρκινώματος, καρκινώματος χαμηλής διαφοροποίησης ή νησιδιακού (insular), αναπλαστικού καρκινώματος, λεμφώματος (NHL) από μεγάλα κύτταρα και μεταστατικών όγκων. Στις περιπτώσεις αυτές, τα αντίστοιχα κυτταρολογικά μορφολογικά κριτήρια είναι επαρκή, ώστε να επιτρέψουν την ανάλογη διαγνωστική ταξινόμηση κατά TBSRTC.

## 8. Πίνακες

Πίνακας 1: Παθολογικές αλλοιώσεις με παρουσία λεμφοκυττάρων στον θυροειδή αδένα

<p>Περιπτώσεις αυτοάνοσης αιτιολογίας</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● Διάχυτη τοξική βρογχοκήλη (νόσος Graves)</li><li>● Οζώδης τοξική βρογχοκήλη</li><li>● Αυτοάνοση θυροειδίτιδα (Hashimoto, Ατροφία του ιδιοπαθούς μυξοιδήματος )</li></ul>
<p>Περιπτώσεις με αμφίβολη αυτοάνοση αιτιολογία</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● μη τοξική οζώδης βρογχοκήλη</li><li>● θυροειδίτις από ακτινοβολία</li><li>● θυροειδίτις από φάρμακα</li><li>● περινεοπλασματική θυροειδίτις</li></ul>
<p>Μη αυτοάνοσες θυροειδικές αλλοιώσεις</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● Υποξεία κοκκιωματώδης θυροειδίτις</li><li>● Νόσος του Riedel</li><li>● Ουλώδης φάση της οξείας θυροειδίτιδας , μετατραυματική ή μετεγχειρητική</li><li>● Υπολείμματα τελοβραγχιακού σωματίου</li><li>● Θύμος / θύμωμα</li><li>● Πιθανά υπολείμματα βραγχιακής κύστης</li><li>● Κακόηθες Λέμφωμα</li></ul>

Πίνακας 2: Παθήσεις με Hürthle κύτταρα όπου απαιτείται διαφορική διάγνωση (Kini, 1996)

1. Οξύφιλα (Hürthle) νεοπλάσματα
2. Οξύφιλοι όζοι ( υπόστροφες ή μη νεοπλασματικές αλλοιώσεις) <ul style="list-style-type: none"><li>● Αυτοάνοση (Hashimoto's) θυροειδίτις</li><li>● Υπερπλασία (αδενωματώδης βρογχοκήλη)</li><li>● Νόσος του Graves</li></ul>

Πίνακας 3:Κύριοι τύποι υπερπλαστικών αλλοιώσεων του θυλακικού επιθηλίου

ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ	ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ (ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ)	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
ΔΥΣΟΡΜΟΝΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΡΟΓΧΟΚΗΛΗ (ΟΙΚΟΓΕΝΗΣ)	Γενετική διαταραχή μεταβολισμού των ορμονών	Οζώδης (συχνότερα) ή διάχυτη υπερπλασία	Υποθυρεοειδισμός
ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ GRAVES	αυτοάνοσος	Διάχυτη υπερπλασία	Υπερθυρεοειδισμός
<b>ΟΖΩΔΗΣ ΥΠΕΡΠΛΑΣΙΑ</b>			
Ενδημική βρογχοκήλη	έλλειψη ιωδίου	Οζώδης υπερπλασία μετά από μια παροδική φάση διάχυτης υπερπλασίας	Συνήθως ευθυρεοειδικό άτομο και ενίοτε υποθυρεοειδισμός
Σποραδική βρογχοκήλη	άγνωστη αιτιολογία	Οζώδης υπερπλασία	Συνήθως ευθυρεοειδικό άτομο, ενίοτε υπερθυρεοειδισμός ή υποθυρεοειδισμός

Rosai J. Thyroid gland. In: Rosai and Ackerman's surgical pathology. 9<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby; 2004, 524

Πίνακας 4: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των ποικίλων παρασκευαστικών τεχνικών

ΜΕΘΟΔΟΣ / ΧΡΩΣΗ	ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤ Α	ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ
Αμεση Επίστρωση		
<i>Ξήρανση</i> και χρώσεις Diff-Quik ή May Grünwald Giemsa Μονιμοποίηση σε αιθανόλη Χρώση κατά Pap	Ανάδειξη κολλοειδούς & αμυλοειδούς Ταχεία αξιολόγηση υλικού Ανάδειξη πυρηνικών χαρακτηριστικών	Περιορισμένη δυνατότητα αξιολόγησης πυρήνων Απαιτείται επιδεξιότητα στην επίστρωση Δυσκολία αναγνώρισης λεπτόρρευστου κολλοειδούς
Κυτταροφυγόκεντρος Χρώση κατά Pap	Συγκέντρωση υλικού - Ανάδειξη πυρηνικών χαρακτηριστικών	Απώλεια λεπτόρρευστου κολλοειδούς
Εγκλεισμός σε παραφίνη Χρώση Αιματοξυλίνης-Ηωσίνης	Δυνατότητα ανοσοκυτταροχημείας	Περιορισμός αξιολόγησης του συνολικού υλικού λόγω παραμονής στον κύβο παραφίνης
Παρασκευάσματα λεπτής επίστρωσης (Υγρή φάση) Χρώση κατά Pap	Αυτοματοποιημένη επίστρωση Ευκολία μεταφοράς δειγμάτων Μείωση αριθμού πλακιδίων	Απώλεια λεπτόρρευστου κολλοειδούς Μεταβολή πυρηνικής μορφολογίας Μικρότερο μέγεθος κυτταρικών αθροίσεων

Essentials in Cytopathology. D.P Clark and W.C Faquin: Thyroid Cytopathology, Springer, 2005



## 8.1. Αξιολόγηση κυτταρολογικών δειγμάτων

Πίνακας 5: Πιθανά αίτια ανεπαρκών δειγμάτων

1	Σκληρυντικές αλλοιώσεις Ινώδης μορφή της θυρεοειδίτιδας Hashimoto Θυρεοειδίτιδα Riedel's Νεοπλάσματα με εκσεσημασμένη δεσμοπλασία
2	Παχεία, ινώδης, σκληρυντική, αποτιτανωμένη κάψα
3	Ευμεγέθεις αλλοιώσεις με κυστική εκφύλιση
4	Χρονίζουσες κυστικές αλλοιώσεις
5	Νεκρωτικές αλλοιώσεις, Απόστημα, Εμφρακτο, Νέκρωση του όγκου
6	Εντόνως αγγειοβριθή νεοπλάσματα
7	Σφάλμα λήψης του δείγματος- ανεπιτυχής είσοδος της βελόνης στην αλλοίωση
8	Εσφαλμένη τεχνική λήψης- υπερβολική ή ανεπαρκής αναρρόφηση

Πίνακας 6: Οδηγίες για την εκτίμηση της επάρκειας του υλικού FNA

1	Απαιτείται η ελάχιστη παρουσία 5-6 θυλακιοκυτταρικών ομάδων, κάθε μία περιέχοντας τουλάχιστον 10 κύτταρα
2	Δείγματα με άφθονο κολλοειδές και ελάχιστα θυλακικά κύτταρα, θεωρούνται ως κατώτερα του κριτηρίου επάρκειας, αλλά συνηγορητικά καλοήθους κολλοειδούς όζου
3	Δείγματα αποτελούμενα αποκλειστικά από μακροφάγα κύτταρα και στοιχεία κυστικού περιεχόμενου, θεωρούνται μη διαγνωστικά
4	Ποσοστό μη διαγνωστικών δειγμάτων > 20% πιθανά αποτελεί ένδειξη εσφαλμένης τεχνικής στην λήψη του υλικού και στην παρασκευή επιχρισμάτων
5	Οποιοδήποτε δείγμα περιέχει άτυπα κύτταρα δεν πρέπει να θεωρείται ανεπαρκές

Πίνακας 7: Διαγνωστικά κυτταρολογικά κριτήρια θηλώδους καρκινώματος

Μείζονα κριτήρια
<ul style="list-style-type: none"><li>- Κυτταροβρίθεια</li><li>-Μονοεπίπεδες κυτταρικές αθροίσεις με πυρηνικό συνωστισμό και αποδιοργάνωση αρχιτεκτονικής</li><li>- Ευμεγέθης, ωσειδής και ανώμαλος πυρήνας</li><li>-Εκκεντρα, συχνά πολλαπλά, πυρήνια</li><li>-Λεπτή / ωχρή χρωματίνη(πυρηνική διαύγεια)</li><li>- Πυρηνικές πτυχές κατά τον επιμήκη άξονα</li><li>-Ενδοπυρηνικά κυτταροπλασματικά ψευδοέγκλειστα</li></ul>
Δευτερεύοντα κριτήρια
<ul style="list-style-type: none"><li>- Θηλώδης αρχιτεκτονική</li><li>- Μονοεπίπεδα συγκύτια</li><li>- Πυκνό, επιδερμοειδούς τύπου κυτταρόπλασμα</li><li>- Κολλοειδές δίκην μαστίχας</li><li>- Ψαμμώδη σωματία</li><li>-Πολυπύρηνια γιγαντοκύτταρα</li><li>-Ιστιοκυτταροειδή κύτταρα</li></ul>

Thyroid cytopathology in: Essentials in Cytopathology, Clark and Facquin, 2005

**Πίνακας 8: Διαγνωστικά κυτταρολογικά κριτήρια μυελοειδούς καρκινώματος**

Μείζονα κριτήρια
<ul style="list-style-type: none"><li>● Μονόμορφος πληθυσμός μεμονωμένων κυττάρων</li><li>● Χρωματίνη δίκην «αλατοπίπερου»</li><li>● Αμυλοειδές στο υπόστρωμα</li><li>● Συνήθεις κυτταρικές μορφές<ul style="list-style-type: none"><li>- πλασματοκυτταροειδής</li><li>- ατρακτοειδής</li><li>- πολυγωνική</li></ul></li></ul>
Ελάσσονα κριτήρια
<ul style="list-style-type: none"><li>● Κυτταροβριθές επίχρισμα</li><li>● Απουσία κολλοειδούς</li><li>● Πυρηνικά ψευδοέγκλειστα</li><li>● Διπυρήνωση και πολυπυρήνωση</li><li>● Ερυθρά νευροεκκριτικά κοκκία (χρώσεις MGG/ Diff-Quik)</li></ul>

Thyroid cytopathology in: Essentials in Cytopathology, Clark and Facquin, 2005

Πίνακας 9: Διαφορική διάγνωση μυελοειδούς καρκινώματος

1	Συχνότερες περιπτώσεις
	- Ογκοκυτταρικά (Hürthle) νεοπλάσματα
2	Ενδοθυρεοειδικές αλλοιώσεις
	- Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα
	- Θηλώδες καρκίνωμα
	- Νησιδιακό(insular) καρκίνωμα
	- Αμυλοειδής βρογχοκήλη
3	Μεταστατικοί όγκοι
	- Κακήθες μελάνωμα
	- Πλασματοκύττωμα
	- Ατρακτοκυτταρικό καρκίνωμα
	- Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα
	- Μικροκυτταρικό καρκίνωμα
	- Νευροενδοκρινικό καρκίνωμα

Thyroid cytopathology in: Essentials in Cytopathology, Clark and Facquin, 2005

## 8.2. Συνοπτική παρουσίαση συστημάτων διαγνωστικής ορολογίας

Πίνακας 10: Ποικίλα διαγνωστικά συστήματα ταξινόμησης FNA θυρεοειδούς

Papanicolaou Society of Cytopathology Task Force on Standards of Practice, 1997	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ανεπαρκές/ Μη ικανοποιητικό δείγμα</li> <li>2. Αρνητικό για κακοήθεια</li> <li>3. Παρουσία ατύπων κυττάρων</li> <li>4. Υποπτο για κακοήθεια</li> <li>5. Θετικό για κακοήθεια</li> </ol>
Diagnostic Terminology Scheme Proposed by American Thyroid Association, 2006	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ανεπαρκές δείγμα</li> <li>2. Θετικό για κακοήθεια</li> <li>3. Απροσδιόριστης διαγνωστικής σημασίας κύτταρα <ul style="list-style-type: none"> <li>• Υποπτο για νεόπλασμα</li> <li>• Υποπτο για καρκίνωμα</li> </ul> </li> <li>4. Αρνητικό για κακοήθεια</li> </ol>
Diagnostic Terminology Scheme Proposed by American Association of Clinical Endocrinologists & Associazione Medici Endocrinologi, 2006	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Αρνητικό για κακοήθεια</li> <li>2. Υποπτο ή Θετικό για κακοήθεια</li> <li>3. Θυλακιώδες νεόπλασμα</li> <li>4. Μη διαγνωστικό δείγμα /υπερηχοτομογραφικά ύποπτο.</li> </ol>

Baloch et al. Diagn. Cytopathol. 2008; 36: 425- 437.

Πίνακας 11: Διαγνωστικό σύστημα κατά ΒΤΑ/RCoP

Ανεπαρκές για διάγνωση	Thy1 Thy 1c Κυστικό υγρό (μόνο μακροφάγα)
Μη νεοπλασματική αλλοίωση	Thy 2 Thy 2c Κυστικό υγρό με κολλοειδές
Πιθανό νεόπλασμα	Thy 3f Θυλακιώδες νεόπλασμα Thy 3a Ατυπία κυττάρων
Υποπτο για κακοήθεια	Thy 4
Κακοήθεια	Thy 5

British Thyroid Association RCoP. Guidelines for the management of thyroid cancer, 2<sup>nd</sup> edn. Report of the Thyroid Cancer Guidelines Update Group. London: RCP 2007

Πίνακας 12: Διαγνωστικό σύστημα κατά Bethesda (TBSRTC) 2009

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ (%)	ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ
Μη διαγνωστικό δείγμα (Ανεπαρκές) /TBS I	---	Επανάληψη FNA
Καλοήθης αλλοίωση /TBS II	0-3	Κλινική παρακολούθηση
Ατυπία απροσδιόριστης σημασίας ή θυλακιάδης βλάβη απροσδιόριστης σημασίας /TBS III (AUS)	~ 5-15	Επανάληψη FNA
Θυλακιάδες νεόπλασμα - υποψία για θυλακιάδες ή Hürthle νεόπλασμα /TBS IV	15-30	Λοβεκτομή
Υποψία για κακοήθεια /BS V	60-75	Λοβεκτομή ή ολική θυρεοειδεκτομή
Κακοήθεια /TBS VI	97-99	Ολική θυρεοειδεκτομή

The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology: Definitions, Criteria and Explanatory Notes. Editors Syed Z. Ali & Edmund S. Cibas N. York USA 2010

## 9. Δέντρα ταξινόμησης

Ένα δέντρο ταξινόμησης επιμερίζει το χώρο εισόδου (επίσης γνωστό ως χώρο των χαρακτηριστικών – featurespace) ενός συνόλου δεδομένων (dataset) σε αμοιβαία αποκλειόμενες περιοχές, σε κάθε μια από τις οποίες αντιστοιχίζει μια ετικέτα ή μια τιμή. Ο μηχανισμός είναι ευδιάκριτος διότι μπορούμε να ακολουθήσουμε μια δενδρική δομή εύκολα και να εξηγήσουμε πώς λαμβάνεται κάποια απόφαση. Γι' αυτό και η μέθοδος δέντρων απόφασης έχει χρησιμοποιηθεί κατά κόρον στα πεδία της μηχανικής μάθησης, έμπειρων συστημάτων και πολυμεταβλητής ανάλυσης. Ίσως μάλιστα να είναι και η πιο καλά ανεπτυγμένη τεχνική για τη δημιουργία κανόνων από ένα σύνολο δειγμάτων

### 9.1. Ορισμοί

- Ένα **δέντρο απόφασης** είναι μια δενδροειδής μορφή αποτελούμενη από εσωτερικούς και εξωτερικούς κόμβους συνδεδεμένους με κλαδιά.
- Ένας **εσωτερικός κόμβος** είναι μια μονάδα λήψης αποφάσεων που υπολογίζει μια συνάρτηση απόφασης για να αποφασίσει ποιον θυγατρικό κόμβο να επισκεφτεί μετά.
- Αντιθέτως, ένας **εξωτερικός κόμβος**– γνωστός και ως τερματικός κόμβος ή φύλλο- δεν έχει θυγατρικούς κόμβους και χαρακτηρίζεται με μια ετικέτα ή τιμή που περιγράφει τα δεδομένα που οδήγησαν σε αυτόν.

Γενικά, ένα δέντρο απόφασης το χρησιμοποιούμε ως εξής. Πρωτίστως, του παρουσιάζουμε ένα διάνυσμα εισόδων στον αρχικό κόμβο ή κόμβο-ρίζα. Ανάλογα με το αποτέλεσμα μιας συνάρτησης απόφασης που χρησιμοποιεί ένας εσωτερικός κόμβος, θα μας οδηγήσει σε έναν από τους θυγατρικούς κόμβους του έως ότου φθάσουμε σε ένα τερματικό κόμβο και είτε μια τιμή είτε μια ετικέτα αποδοθεί στο συγκεκριμένο διάνυσμα εισόδου.

### 9.2. Δυαδικά δένδρα

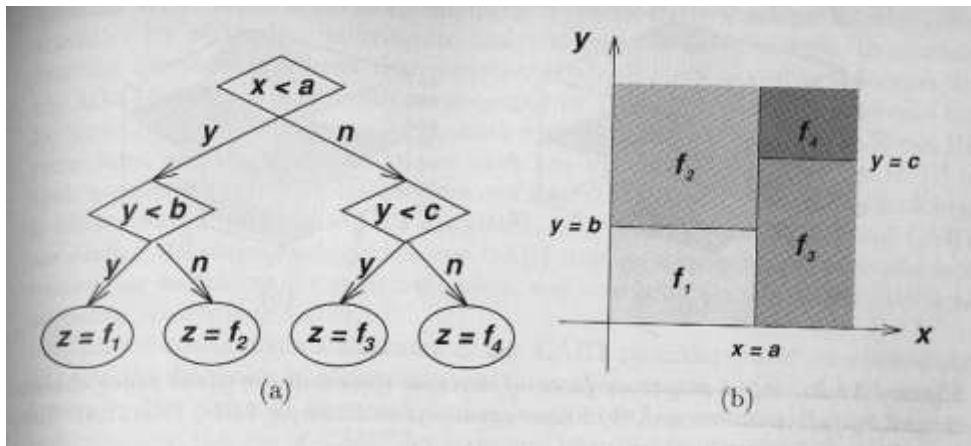
Στην περίπτωση ενός δυαδικού δέντρου ταξινόμησης, κάθε εσωτερικός κόμβος έχει ακριβώς δύο θυγατρικούς και έτσι η συνάρτηση απόφασης μπορεί πάντα να ερμηνευθεί ως Σωστό/Λάθος.

Τα δυαδικά δένδρα για προβλήματα ταξινόμησης καλούνται συχνά απλώς **δέντρα ταξινόμησης** και κάθε τερματικός κόμβος περιέχει μια ετικέτα που υποδηλώνει την εκτιμώμενη κατηγορία ενός διανύσματος εισόδου. Με την ίδια συλλογιστική, τα δέντρα απόφασης που χρησιμοποιούνται σε προβλήματα εκτίμησης συνάρτησης ονομάζονται **δέντρα παλινδρόμησης** και οι ετικέτες των τερματικών τους κόμβων μπορεί να είναι σταθερές ή εξισώσεις που δηλώνουν την εκτιμώμενη τιμή εξόδου ενός δοσμένου

διανύσματος εισόδου. Στο Σχήμα 1(α) απεικονίζεται ένα τυπικό δυαδικό δέντρο ταξινόμησης με δύο αριθμητικές εισόδους  $x$  και  $y$  και μια λεκτική έξοδο  $z$ . Το άξιο προσοχής είναι ότι το δέντρο χωρίζει το χώρο εισόδου σε τέσσερις μη επικαλυπτόμενες ορθογώνιες περιοχές, κάθε μια εκ των οποίων αντιστοιχεί σε μια ετικέτα  $f_i$  που αναπαριστά την εκτιμώμενη έξοδο, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1(β).

Παρατηρείστε ότι κάθε τερματικός κόμβος έχει ένα μοναδικό μονοπάτι που αρχίζει με τον κόμβο ρίζα και τελειώνει στον τερματικό κόμβο. Το μονοπάτι αντιστοιχεί σε έναν κανόνα απόφασης που είναι ουσιαστικά η τομή (ΚΑΙ) πολλών συνθηκών ελέγχου. Είναι σημαντικό να παρατηρήσουμε ότι για κάθε ένα δεδομένο διάνυσμα εισόδου, ένα και μόνο ένα μονοπάτι θα ακολουθηθεί.

Σχήμα 1: (α) Δυαδικό δέντρο ταξινόμησης και (β) ο διαμερισμός του χώρου εισόδου

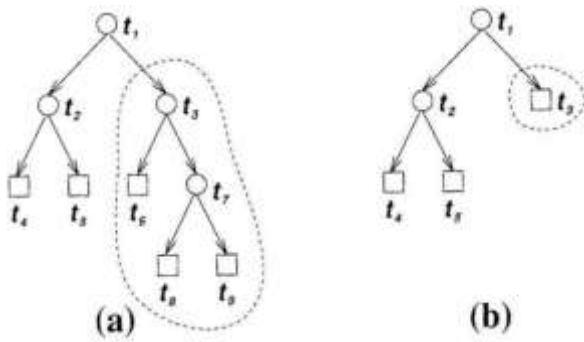


### 9.3. Συμβολισμοί

Πριν από την περιγραφή του δέντρου ταξινόμησης είναι σημαντικό να καθορίσουμε χρήσιμους συμβολισμούς. Ένα τυπικό δυαδικό δέντρο, σαν κι αυτό στο Σχήμα 2(α), συχνά συμβολίζεται με  $T$ , με κόμβο-ρίζα  $t_1$ . Ένας εσωτερικός κόμβος του  $T$  συμβολίζεται με  $t$  και το υποδένδρο με ρίζα τον  $t$  συμβολίζεται με  $T_t$ , όπως φαίνεται και στο Σχήμα 2(α), όπου  $t=t_3$ . Χρησιμοποιούμε το  $T$  για να δηλώσουμε το σύνολο των τερματικών κόμβων σε ένα δέντρο  $T$ . Ο αριθμός των τερματικών κόμβων είναι  $|T|$  (και ίσος με πέντε στην περίπτωση στο Σχήμα 2. Προκύπτει εύκολα ότι σε ένα πλήρες δυαδικό δέντρο, όπου δηλαδή κάθε κόμβος έχει μηδέν ή δύο θυγατρικούς, ο αριθμός των τερματικών κόμβων είναι πάντα ένας παραπάνω από τον αριθμό των εσωτερικών.



Σχήμα 2: (α) Ένα τυπικό δέντρο  $T$  με κόμβο-ρίζα  $t_1$  και υποδένδρο  $T_{t_3}$  (β) Το δέντρο  $t_1$  μετά τον εκφυλισμό το υποδένδρου  $T_{t_3}$  στον τερματικό κόμβο  $t_3$



Ένα παράδειγμα ψαλιδισμού είναι να εκφυλιστεί το υποδένδρο  $T$  της εικόνας σε έναν τερματικό κόμβο. Το δέντρο που προκύπτει συμβολίζεται με  $T$ -υποσύνολο του αρχικού.

#### 9.4. Αλγόριθμος κατασκευής του δέντρου

Η χρήση δέντρων ταξινόμησης ξεκινά από το AID (*Automatic Interaction Detection*). Μέθοδοι για δημιουργία δέντρων απόφασης από δεδομένα –γνωστές και ως «αναδρομικός μερισμός του χώρου»–έχουν από τότε γίνει ένα σημαντικό πεδίο έρευνας στην τεχνητή νοημοσύνη, ιδιαίτερος στη μηχανική μάθηση και στη στατιστική, κυρίως στον τομέα της ανάλυσης πολλών μεταβλητών. Παρόμοια προβλήματα αντιμετωπίστηκαν από τους στατιστικολόγους περίπου την ίδια εποχή και η πιο γνωστή εργασία δημοσιεύτηκε από τους Breiman et al (Breiman, 1984).στη μονογραφία τους με τίτλο «Classification And Regression Trees ».Γι 'αυτό και η μεθοδολογία τους αναφέρεται ως ο αλγόριθμος CART, που εντάσσεται στο επιστημονικό πεδίο της στατιστικής. Ακολουθεί μια συνοπτική παρουσίαση του αλγορίθμου που επικεντρώνεται σε δυαδικά μόνο δέντρα.

Για να κατασκευάσει ένα κατάλληλο δένδρο απόφασης, ο CART πρώτα αναπτύσσει το δέντρο διεξοδικά βασιζόμενος σε ένα σύνολο δειγμάτων (ή δεδομένα εκπαίδευσης) και μετά «κλαδεύει» το δέντρο προς τα πίσω με βάση μια αρχή ελαχιστοποίησης της πολυπλοκότητάς του. Το αποτέλεσμα είναι μια σειρά από δέντρα με ποικίλα μεγέθη .Το τελικό δέντρο που θα επιλεγεί είναι αυτό που επιτυγχάνει καλύτερη επίδοση στην εξέταση ενός ανεξάρτητου συνόλου δεδομένων ελέγχου. Συνοπτικά, η μεθοδολογία περιλαμβάνει δύο στάδια:

1)Μεγάλωμα του δένδρου

2)Κλάδεμα

#### 9.4.1. Μεγάλωμα (ανάπτυξη) του δέντρου

Ο CART αναπτύσσει ένα δέντρο απόφασης δημιουργώντας μια διαδοχή από διαχωριστικά (ή όρια εναλλαγής) που χωρίζουν τα δεδομένα εκπαίδευσης σε υποσύνολα. Αρχίζοντας από τον κόμβο-ρίζα που περιέχει όλα τα δεδομένα εκπαίδευσης, διεξάγεται μια εξονυχιστική έρευνα για να βρεθεί εκείνη η τιμή διαχωρισμού που ελαχιστοποιεί ένα μέτρο του λάθους (ή συνάρτηση κόστους). Όταν βρεθεί το διαχωριστικό, το σύνολο των δεδομένων διαμοιράζεται σε δύο ξεχωριστά υποσύνολα, σύμφωνα με την τιμή διαχωρισμού. Τα υποσύνολα παριστάνονται με δύο θυγατρικούς κόμβους που ξεκινούν από τη ρίζα, και η αυτή μέθοδος εφαρμόζεται και σε αυτούς. Η αναδρομική διαδικασία τερματίζεται είτε όταν το μέτρο του λάθους σε έναν κόμβο πέσει κάτω από ένα όριο ανοχής, είτε όταν η μείωση του λάθους που προκύπτει από επιπλέον διαχωρισμό του κόμβου δεν υπερβαίνει ένα κατώφλι.

Τα δέντρα ταξινόμησης χρησιμοποιούνται για την επίλυση αντίστοιχων προβλημάτων, όπου τα χαρακτηριστικά ενός αντικειμένου χρησιμοποιούνται για να καθορίσουν την κλάση όπου ανήκει. Για το μέγαλωμα του δέντρου χρειαζόμαστε ένα μέτρο του λάθους  $E(t)$  που ποσοτικοποιεί την επίδοση ενός κόμβου  $t$  ως προς την ικανότητά του να διαχωρίζει δεδομένα διαφορετικών κλάσεων. Το μέτρο του λάθους για δέντρα ταξινόμησης αναφέρεται συχνά ως «συνάρτηση ανομοιογένειας» (*impurityfunction*). Για έναν δεδομένο κόμβο (ή ισοδύναμα για συγκεκριμένο σύνολο δεδομένων) πρέπει να ισούται με μηδέν όταν όλα τα δεδομένα ανήκουν στην ίδια κλάση και να μεγιστοποιείται όταν τα δεδομένα κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλες τις πιθανές κλάσεις.

Ένας αυστηρός ορισμός της συνάρτησης ανομοιογένειας για ένα πρόβλημα  $J$  κλάσεων είναι ο εξής:

**Ορισμός 1.** Συνάρτηση ανομοιογένειας για προβλήματα  $J$  κλάσεων

Η συνάρτηση ανομοιογένειας  $\phi$  είναι μια συνάρτηση  $J$  μεταβλητών που αντιστοιχίζει τα

ορίσματα εισόδου της  $p_1, p_2, \dots, p_J$   $\sum_{j=1}^J p_j = 1$  σε έναν μη αρνητικό πραγματικό αριθμό ούτως ώστε

$$\varphi\left(\frac{1}{J}, \frac{1}{J}, \dots, \frac{1}{J}\right) = \text{maximum} \quad \text{και} \quad \varphi(1, 0, 0, \dots, 0) = \varphi(0, 1, 0, \dots, 0) = \varphi(0, 0, 0, \dots, 1) = 0$$

Τα ορίσματα εισόδου  $p_j, j=1:J$ , είναι η πιθανότητα ότι ένα δεδομένο στον κόμβο ανήκει στην κλάση  $j$ . Συνεπώς, η συνάρτηση ανομοιογένειας για δεδομένο κόμβο μεγιστοποιείται όταν όλες οι κλάσεις είναι ισόποσα αναμεμιγμένες στον κόμβο, και ελαχιστοποιείται όταν ο κόμβος περιέχει δεδομένα μιας μόνο κλάσης. Χρησιμοποιώντας λοιπόν τη συνάρτηση ανομοιογένειας  $\varphi$ , το μέτρο της «καθαρότητας» ενός κόμβου  $t$  είναι  $E(t) = \varphi(p_1, p_2, \dots, p_J)$ , όπου  $p_j$  είναι τα ποσοστά των περιπτώσεων στον κόμβο που ανήκουν στην κλάση  $j$ .

Όμοια, το μέτρο καθαρότητας ολοκλήρου του δέντρου είναι

$$E(T) = \sum_{t \in \tilde{T}} E(t)$$

$T$  είναι το σύνολο των τερματικών κόμβων του δέντρου  $T$ .

Τρεις είναι οι πιο γνωστές συναρτήσεις ανομοιογένειας:

1. Συνάρτηση εντροπίας:

$$\phi_e(p_1, \dots, p_J) = - \sum_{j=1}^J p_j \cdot \ln p_j$$

2. Gini index:

$$\phi_g(p_1, \dots, p_J) = \sum_{i \neq j} p_i p_j = 1 - \sum_{j=1}^J p_j^2$$

3. Twoingrule:

$$\frac{p_l p_r}{4} \left[ \sum_j p_j(t_l) p_j(t_r) \right]^2$$

Δοθείσης μιας συνάρτησης ανομοιογένειας για τον υπολογισμό του κόστους ενός κόμβου, η ρουτίνα ανάπτυξης του δέντρου προσπαθεί να βρει έναν βέλτιστο τρόπο να χωρίσει τα

δείγματα στον κόμβο ούτως ώστε η μείωση του κόστους να είναι μέγιστη. Για δυαδικό δέντρο, η αλλαγή στην ομοιογένεια λόγω της διάσπασης είναι

$$\Delta E(s, t) = E(t) - p_l E(t_l) - p_r E(t_r)$$

Όπου  $t$  είναι ο κόμβος που διασπάται,  $E(t)$  είναι η ομοιογένειά του,  $E(t_l)$  και  $E(t_r)$  είναι οι συναρτήσεις ανομοιογένειας του αριστερού και δεξιού θυγατρικού κόμβου και τέλος  $p_l$  και  $p_r$  τα ποσοστά των δειγμάτων που διακλαδίζονται αριστερά και δεξιά αντίστοιχα. Χρησιμοποιώντας συμβολική αναπαράσταση, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η ρουτίνα ανάπτυξης του δέντρου προσπαθεί να βρει ένα σημείο διάσπασης για τον κόμβο  $t_l$  τέτοιο που η διάσπαση να επιφέρει τη μέγιστη μείωση στη συνάρτηση ανομοιογένειας.

#### 9.4.2. Κλάδεμα του δέντρου

Το δέντρο που παράγει η προηγούμενη διαδικασία είναι συχνά πολύ μεγάλο και πολωμένο στα δεδομένα εκπαίδευσης. Έτσι, εμφανίζει έναν απαράδεκτα υψηλό βαθμό ακρίβειας στο να δίνει τις αναμενόμενες εξόδους από τα δεδομένα εκπαίδευσης. Με άλλα λόγια, ίσως αντιμετωπίσουμε το γνωστό πρόβλημα της υπερεκπαίδευσης και της υπερεξειδίκευσης στα δεδομένα εκπαίδευσης, ενώ το δέντρο δεν θα γενικεύει καλά σε νέα, άγνωστα δεδομένα. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για την εύρεση του μεγέθους του δέντρου που δίνει την καλύτερη εκτίμηση του πραγματικού μέτρου του λάθους. Μία από τις πιο αποτελεσματικές βασίζεται στην αρχή της ελαχιστοποίησης του συνδυασμού **κόστους-πολυπλοκότητας (minimum cost-complexity)** ή αλλιώς αφαίρεση του πιο **αδύναμου υποδέντρου**. Το πρώτο βήμα είναι να μεγαλώσουμε ένα πλήρως ανεπτυγμένο δέντρο  $T_{\max}$  που έχει ένα αρκετά χαμηλό μέτρο λάθους όσον αφορά τα δεδομένα εκπαίδευσης. Όμως συνήθως ένα τέτοιο δέντρο είναι πολύ μεγάλο και θέλουμε να το κλαδέψουμε προς τα πίσω με κάποιο συνεπή τρόπο, βρίσκοντας το πιο αδύναμο υποδέντρο του. Αυτό μπορεί να βρεθεί αν πάρουμε τόσο την τιμή του σφάλματος εκπαίδευσης όσο και τον αριθμό των τερματικών κόμβων, που θεωρούνται ένα μέτρο της πολυπλοκότητας του δέντρου.

#### 9.5. Εισαγωγή-τοποθέτηση του προβλήματος

Τα δέντρα ταξινόμησης είναι μια μη παραμετρική μεθοδολογία για επίλυση προβλημάτων ταξινόμησης. Μπορούν να επεξεργαστούν συνεχείς ή κατηγοριοποιημένες εξαρτώμενες μεταβλητές. Και στις δύο αυτές περιπτώσεις κύριος στόχος είναι να μας δώσουν ένα ακριβές σύνολο από καταναμημένα –τακτοποιημένα δεδομένα. Βοηθάει στην κατανόηση των μεταβλητών ή των αλληλεπιδράσεων των μεταβλητών οι οποίες είναι υπεύθυνες για ένα συγκεκριμένο φαινόμενο το οποίο παρατηρείται.

Το πρόβλημα ήταν το εξής : αφού ο υπολογιστής από μόνος του δε μπορεί να αποφασίσει ποιός είναι ο σωστός διαχωρισμός για να κάνει , θα πρέπει κάποιος να του δίνει οδηγίες σε κάθε στάδιο για το τι ακριβώς να κάνει. Το πρόγραμμα όμως αυτό εκπαιδεύει τον υπολογιστή ώστε όταν βρίσκει προβλήματα παρόμοια με κάτι που έχει συναντήσει και στο παρελθόν, να ανταποκρίνεται με τον ίδιο τρόπο.

- Περιγραφή του μοντέλου

Η προβλεπτική ακρίβεια του CART

Η ακρίβεια είναι ένα από τα σημαντικότερα στοιχεία ενός δέντρου ταξινόμησης, αλλά συνήθως ,όπως και σε άλλες διαδικασίες έχουμε σημαντικά σφάλματα.

Ο Breiman (Breiman, 1984) πρότεινε τρεις διαδικασίες για τον προσδιορισμό της ακρίβειας των δέντρων.

**c(x)** **c**= Ο ταξινομητής για τη δημιουργία του δέντρου. Το(**x**) είναι ένα διάνυσμα των χαρακτηριστικών μεταβλητών που περιγράφουν την παρατήρηση.

**R[c(x)]**= Το ποσοστό σφάλματος του ταξινομητή.

**L**= Το δείγμα δεδομένων βάση του οποίου θα κατασκευαστεί το δέντρο.

Κύριος στόχος των παρακάτω διαδικασιών είναι πρώτα η κατασκευή του δέντρου, **c(x)**, και δεύτερο η εύρεση μιας εκτίμησης για το **R[c(x)]**.

(1) Υπολογισμός της ακρίβειας του ποσοστού σφάλματος **R[c(x)]**

Κατασκευάζεται ένα δέντρο ταξινόμησης από το δείγμα **L**. Εφαρμόζονται στο δέντρο αυτό τα δεδομένα που έχουν συλλεχθεί από την παρατήρηση και υπολογίζουμε το ποσοστό σφάλματος. Δηλαδή γίνεται έλεγχος της ακρίβειας του ταξινομητή εφαρμόζοντας τον σε παρατηρήσεις των οποίων η ταξινόμηση είναι γνωστή. Το λάθος όμως το οποίο χαρακτηρίζει το συγκεκριμένο υπολογισμό ,είναι ότι παράγεται από τα δεδομένα από τα οποία έχει φτιαχτεί και το δέντρο.

(2) Εκτίμηση ποσοστού σφάλματος με το **τέστ - δείγματος**.

Αυτό εφαρμόζεται αν το δείγμα είναι μεγάλο. Διαιρούνται οι παρατηρήσεις από το δείγμα δεδομένων (**L**) σε δύο τυχαίες ομάδες L1 και L2,κατασκευάζεται ο ταξινομητής χρησιμοποιώντας το σύνολο L1 και επάνω σε αυτόν εφαρμόζονται οι παρατηρήσεις του L2.Απο αυτά τώρα μπορεί να βρεθεί το ποσοστό σφάλματος.

### (3) Διασταυρωμένη αξιολόγηση **k-fold**.

Αυτή προτείνεται για μικρά δείγματα. Αρχικά γίνεται διαχωρισμός των δειγμάτων ( $L$ ) σε  $k$  ίσα κομμάτια ( $L_1, L_2, \dots, L_k$ ). Φτιάχνεται ένας ταξινομητής  $c(x)$  από τα  $k-1$  υπο-δείγματα και αφήνεται απ' έξω το  $L_k$ . Εφαρμόζεται πάνω στο  $c(x)$  το  $L_k$  και γίνεται εκτίμηση του  $R[c(x)]$  σαν αναλογία του σφάλματος των παρατηρήσεων, το οποίο γράφεται σαν  $R^{ts}[c^k(x)]$  όπου  $k$  είναι το **k-fold** της διασταυρωμένης αξιολόγησης και το  $ts$  είναι το test sample. Επαναλαμβάνονται τα βήματα αυτά, χρησιμοποιώντας όλα τα υποδείγματα εκτός από το  $L_{k-1}$ , το οποίο τώρα γίνεται test sample, μέχρι όλα τα υποδείγματα να χρησιμοποιηθούν από μια φορά σαν κατασκευαστές του  $c(x)$  και μια σαν test sample. Τελικά θα έχουμε

$$R^{ts}[c^k(x)], R^{ts}[c^{k-1}(x)], \dots, R^{ts}[c^1(x)]$$

τα οποία προσθέτοντάς τα:  $R^{ck}(c) = 1/k \sum_{k=1} R^{ts}[c^k]$

Αυτό είναι ένας μέσος όρος από τα ποσοστά σφάλματος. Αν π.χ. το  $k=10$  τότε ο μέσος όρος είναι πάνω από τα 10 testsample.

- Μεθοδολογία κατασκευής ενός Δέντρου Ταξινόμησης.

Το CART κάνει χρήση προηγούμενων πιθανοτήτων (priors). Στη διάθεση του έχει τρεις διαφορετικούς τύπους: δεδομένα priors, ίσα priors και ανάμεικτα priors.

$N$  = ο αριθμός των περιπτώσεων στο δείγμα

$N_j$  = ο αριθμός των περιπτώσεων που έχουμε τάξης  $j$  στο δείγμα

$\pi_j$  = προηγούμενη πιθανότητα για περίπτωση τάξης  $j$

Στα δεδομένα priors εκτιμάται ότι  $\pi_j = N_j / N$ , στα ίσα priors υποτίθεται ότι αν για παράδειγμα η εξαρτημένη μεταβλητή στο δείγμα έχει δύο περιπτώσεις τότε

πιθανότητα 1 = πιθανότητα 2 = 1/2 και στα ανάμεικτα priors υπάρχει μια μείξη των δύο περιπτώσεων.

$$\Delta i(s, t) = i(t) - p_L[i(t_L)] - p_R[i(t_R)]$$

$s$  = ένας συγκεκριμένος διαχωρισμός

$p_L$  = η αναλογία των περιπτώσεων στο κόμβο  $t$  που πάει στον αριστερό θυγατρικό κόμβο  $t_L$

$p_R =$  η αναλογία των περιπτώσεων στο κόμβο  $t$  που πάει στον δεξιό θυγατρικό κόμβο  $t_R$

$i(t_L)$  =ανακρίβεια του αριστερού κόμβου

$i(t_R)$  =ανακρίβεια του δεξιού κόμβου

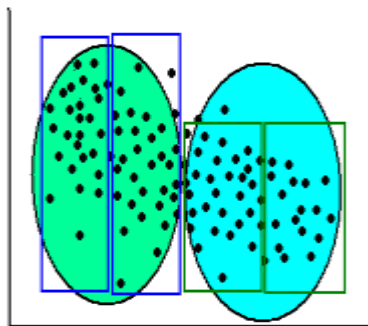
Για να γίνει όμως αυτό πιο κατανοητό παρακάτω παρουσιάζεται ένα παράδειγμα.

Ας πούμε ότι υπάρχει ένα σύνολο από διαφορετικά είδη εντόμων τα οποία πρέπει να διαχωριστούν και να ταξινομηθούν (Σχήμα 3). Σαν πρώτο κριτήριο επιλογής ,καθορίζεται να είναι οι πτέρυγες τους .Δηλαδή ζητείται από αυτό να διαχωρίσει αυτά που φέρουν διαφανείς πτέρυγες από αυτά που φέρουν αδιαφανείς (Σχήμα 4). Κατόπιν, αυτά τα οποία φέρουν αδιαφανείς πτέρυγες, του ζητείται να τα διαχωρίσει σε άλλα δύο τμήματα, στα οποία το ένα θα περιέχει αυτά τα οποία οι κεραίες τους θα είναι σε μορφή δέσμης και αυτά που οι κεραίες τους είναι ανεξάρτητες ,ενώ αυτά τα οποία φέρουν διαφανείς πτέρυγες, να τα χωρίσει σε αυτά που έχουν ίσια ταρσικά τμήματα και σε αυτά που έχουν δίλοβα (Σχήμα 5). Οι δύο όμως αυτοί διαχωρισμοί θα γίνουν καθορίζοντας διαφορετικά κριτήρια για τον καθένα όπως είπαμε.

Σχήμα 3: Παράδειγμα προβλήματος διαχωρισμού ομάδων με δέντρα ταξινόμησης

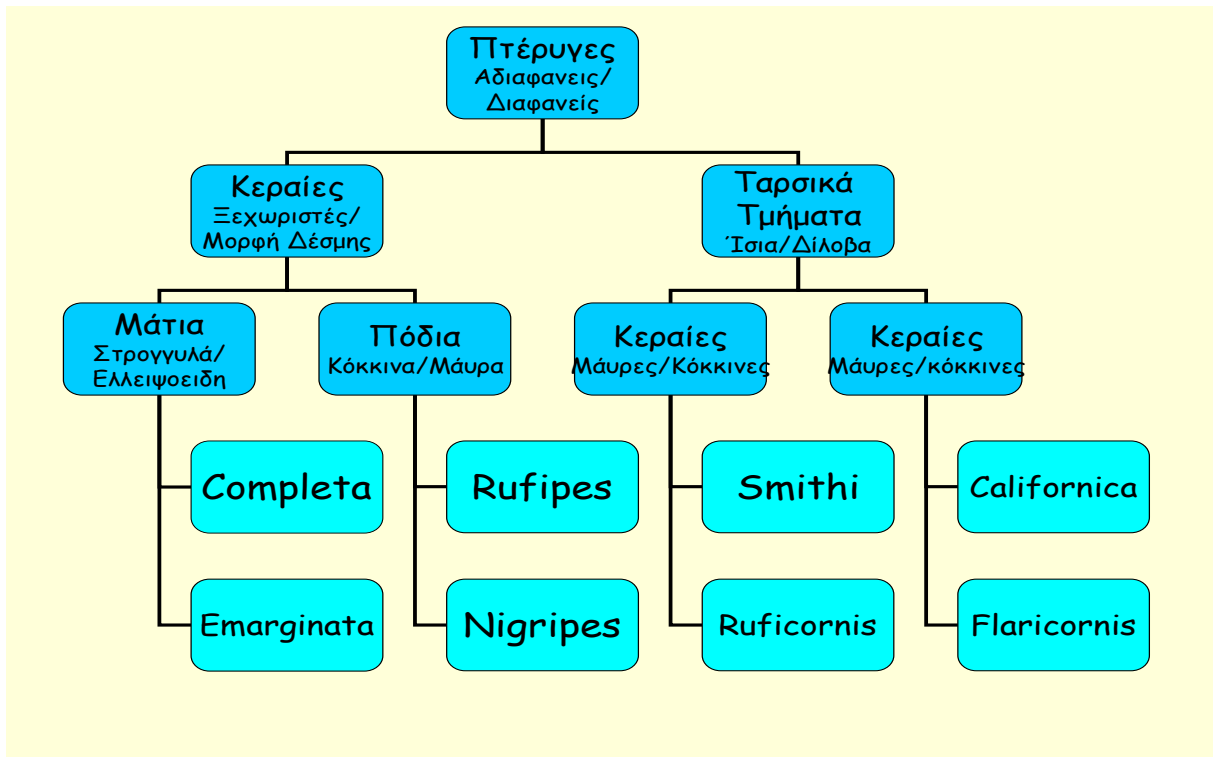


Σχήμα 4: Διαμερισμός του χώρου ταξινόμησης





Σχήμα 5: Τελικό δέντρο ταξινόμησης



Γενικά κάποια συστατικά που απαιτούνται για την κατασκευή του είναι:

- 1) Ερωτήσεις πάνω στις οποίες θα βασιστεί για να κάνει το διαχωρισμό.
- 2) Κανόνες διαχωρισμού για το πόσο αυστηρός θα είναι ο διαχωρισμός.
- 3) Κανόνες για τον καθορισμό μιας τάξης σε κάθε τελικό κόμβο.

Παρέχοντας του τα χαρακτηριστικά μιας παρατήρησης ,προσπαθεί να βρει αν αυτή συμπίπτει σε κάποια προϋπάρχουσα κατηγορία ή όχι. Αν οι μεταβλητές είναι κατηγοριοποιημένες και εξαρτημένες ,τότε θα μας δώσει δέντρο ταξινόμησης, ενώ αν είναι συνεχείς ,θα μας δώσει δέντρο κατηγοριοποίησης .

Οι κύριοι κανόνες του CART είναι:

- 1) Να οριστεί πως ακριβώς θα γίνεται ο διαχωρισμός
- 2) Κριτήρια για την επιλογή ενός βέλτιστου ή ενός τελικού δέντρου για ανάλυση.

Σε περίπτωση πολύ συμπυκνωμένων μορφών πρέπει να γίνονται πολύ μεγάλα δενδρογράμματα, συνδυασμός κάποιων κλάδων και δημιουργία υποδέντρων και τέλος επιλογή ενός διακριτού δέντρου για την οποία όμως επιλογή πρέπει να καθοριστούν κάποια "μέτρα ακρίβειάς" του.

### **9.6. Δυνατότητες –Πλεονεκτήματα**

- Μπορεί να αντεπεξέλθει αποτελεσματικά σε μεγάλο αριθμό δεδομένων και πολυδιάστατα προβλήματα και μάλιστα χρησιμοποιώντας ένα μικρό αριθμό μεταβλητών.
- Καμιά μεταβλητή δεν υποθέτετε ότι θα ακολουθήσει κάποια στατιστική πορεία.
- Οι μεταβλητές μπορούν να είναι ένα μίγμα από κατηγοριοποιημένες και συνεχείς.
- Μπορεί να εντοπίζει και να αποκαλύπτει τις αλληλεπιδράσεις μεταβλητών μέσα στα δεδομένα.
- Δεν ποικίλλει κάτω από ένα μονότονο μετασχηματισμό ανεξάρτητων μεταβλητών και αυτό γιατί ο μετασχηματισμός των αυτών σε λογάριθμους ή τετράγωνα ή τετραγωνικές ρίζες δεν έχει επίδραση στο σχηματισμό του δέντρου.
- Αν και η όλη διαδικασία για την κατασκευή του δέντρου είναι πολύπλοκη και απαιτούνται γνώσεις ,τα δέντρα που σχηματίζει είναι απλά και κατανοητά από τον καθένα.

Εκτός όμως απο τα πλεονεκτήματα το CART έχει και ένα σημαντικό περιορισμό. Σε σχέση με άλλες στατιστικές και αναλυτικές τεχνικές ,αυτό είναι ένα αμβλύ όργανο. Για κάθε διαχωρισμό, κάθε υποδιαίρεση που κάνει, χρησιμοποιεί μόνο ένα κριτήριο .Δηλαδή θα ήταν προτιμότερο ένα μοντέλο το οποίο θα μπορούσε να χρησιμοποιήσει περισσότερα από ένα κριτήριο ταυτόχρονα.

### **9.7. Πιθανές επεκτάσεις και γενικεύσεις**

Εκτός όμως από το CART υπάρχουν και άλλα παρόμοια μοντέλα. Τέτοια είναι το AID, τοTHAID, τοCHAID, τοDiscriminantanalysis, το Kerneldensityestimation κ.α.

Όλα αυτά όμως σε αντίθεση με το CART ,δεν έχουν την ικανότητα να διανέμουν ελεύθερα τα στοιχεία που τους παρέχονται, αλλά περιλαμβάνουν συγκεκριμένα τέστ πάνω στις παραμέτρους πρόβλεψης για να δημιουργήσουν τους κόμβους διαχωρισμού και να καθορίσουν το μέγεθος του δέντρου.

Έχει αποδειχτεί μέσα από πολλές συγκριτικές αναλύσεις του CART και του DiscriminantAnalysis ότι το CART αποδίδει καλύτερα. Αλλά σε περιπτώσεις όπου τα δεδομένα χαρακτηρίζονται από γραμμική δομή και κανονικότητα το CART υστερούσε.

Σύμφωνα με τον Breimanetal (1984) καλό θα ήταν να μην αποκλείονται οι άλλες μέθοδοι επειδή χρησιμοποιούμε το CART ,αλλά να γίνεται ένας συνδυασμός των μεθόδων αυτών.

### **9.8. Συμπεράσματα**

Η χρήση τεχνικών εκπαίδευσης μηχανής για την πρόβλεψη, όπως είναι τα CART γίνεται όλο και πιο έγκυρη λόγω της διαθεσιμότητας κατάλληλων Βάσεων Δεδομένων, προηγμένων τεχνικών κατασκευής μοντέλων και των συνεχώς αυξανόμενων δυνατοτήτων των ηλεκτρονικών υπολογιστών. Τα δέντρα ταξινόμησης και κατηγοριοποίησης αποδεδειγμένα διαθέτουν υψηλές δυνατότητες για την κατασκευή οικολογικών μοντέλων πρόβλεψης και είναι δυνατόν να καταλήξουν σε αξιόπιστες προβλέψεις οικολογικής σημασίας.

Προσφέρουν τη δυνατότητα διερεύνησης των οικολογικών απαιτήσεων, οργανισμών με ιδιαίτερη ευαισθησία στη ρύπανση και στις τροποποιήσεις του ενδιαιτήματος ,απαιτείται όμως μεγάλος αριθμός δεδομένων .

## 10. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων μορφολογικών χαρακτηριστικών της κυτταρολογικής εξέτασης σε δείγματα FNA θυρεοειδούς αδένου

### **10.1. Εισαγωγή**

Η επίπτωση του καρκίνου του θυρεοειδούς αδένου στον γενικό πληθυσμό υπολογίζεται σε μία ετήσια συχνότητα που κυμαίνεται από 1 μέχρι 10 περιπτώσεις ανά 100.000, ενώ η αντίστοιχη αναλογία σε ασθενείς με οζώδεις αλλοιώσεις ανέρχεται μέχρι 5% (Orlandi et al., 2005), (Wartofsky, 2010). Από μελέτες που έγιναν στην Βόρεια Αμερική, αναφέρεται ότι η ανεύρεση ψηλαφητών όζων του θυρεοειδούς ποικίλει στον πληθυσμό σε ποσοστό 3-7% (Gharib et al., 2006). Ωστόσο, νεκροτομικά και υπερηχοτομογραφικά στοιχεία δείχνουν ότι, η συχνότητα της παρουσίας όζων σε κλινικώς υγιή άτομα υπολογίζεται περίπου στο 50% (Gharib et al., 2006). Παρά την αυξημένη συχνότητα, η πλειονότητα στους ενήλικες αφορά καλοήθεις αλλοιώσεις. Ωστόσο, ποσοστό 3-16% των ασθενών που υποβάλλονται σε θυρεοειδεκτομή για καλοήγη πάθηση, παρουσιάζουν κατά την παθολογοανατομική εξέταση κακοήθεις αλλοιώσεις που συνήθως αφορούν μικροθηλώδη καρκινώματα (Miccoli et al., 2006), τα περισσότερα των οποίων θεωρούνται μικρής κλινικής σημασίας. Εφόσον το ποσοστό των όζων που υποκρύπτουν κακοήθεια είναι περίπου 5%, η εξαίρεση όλων δεν είναι απαραίτητη. Συνεπώς, ο κατάλληλος χειρισμός των ασθενών απαιτεί την ανάγκη εφαρμογής μίας αποτελεσματικής διαγνωστικής δοκιμασίας, για την προεγχειρητική αξιολόγηση των ψυχρών όζων.

Η παρακέντηση με λεπτή βελόνα του θυρεοειδούς, θεωρείται υψίστης σημασίας για την επιλογή των ασθενών που χρήζουν θυρεοειδεκτομής και εμπλέκεται στην διαγνωστική διαδικασία από την 10ετία του 1950 (Webb, 2001). Η μέθοδος πληρεί τις απαιτήσεις (Oertel et al., 2002), παρουσιάζοντας υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, 57-98% και 70-100% αντίστοιχα. Η διεξαγωγή της υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση ενισχύει την ευαισθησία της. Σημαντικό στοιχείο αποτελεί το γεγονός ότι, πριν από την καθιέρωσή της ως εξέταση ρουτίνας, το ποσοστό των κακοήθων όζων που εξαιρέθηκαν, έφθανε μέχρι 14% (Hamberger et al., 1982) ενώ μετά την εισαγωγή της στην καθημερινή πρακτική, το αντίστοιχο ποσοστό ανήλθε στο 50% (Yassa et al., 2007).

**Οι ψυχροί όζοι του θυρεοειδούς αδένα** απαντώνται αρκετά συχνά και στον ελληνικό πληθυσμό. Η διάκριση της καλοήθειας από την κακοήθεια με τη βοήθεια της κυτταρολογικής εξέτασης, φτάνει σε πολύ υψηλά ποσοστά όταν η λήψη και η αξιολόγηση του υλικού γίνεται από έμπειρους ιατρούς. Εν τούτοις, τα ψευδώς θετικά ή τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα είναι δυνατόν να αποδοθούν όχι μόνο σε επιχρίσματα πτωχής κυτταρικότητας αλλά και σε εσφαλμένη εκτίμηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών των κυττάρων του επιχρίσματος. Η κυτταρολογική αξιολόγηση είναι μία χρονοβόρα διαδικασία στηριζόμενη κατά περιπτώσεις σε υποκειμενικά κριτήρια, δεδομένου ότι μετρητικές διαδικασίες δεν έχουν εισαχθεί στην καθημερινή διαγνωστική πρακτική, στα επιχρίσματα που παρασκευάζονται με τη συμβατική τεχνική επίστρωσης. Για να διατηρήσει η FNA του θυρεοειδούς το χαρακτηρισμό της ως απλή διαγνωστική δοκιμασία με την μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα, απαιτείται συνεχώς η εξασφάλιση επιχρισμάτων που παρέχουν δυνατότητες υψηλής διαγνωστικής ακρίβειας. Αυτό θα εξαρτηθεί από την επιλογή μίας μεθόδου παρασκευής επιχρισμάτων που διατηρεί ευκρινείς τους κυτταρομορφολογικούς χαρακτήρες στο υλικό και παρέχει την δυνατότητα ερμηνείας των διαγνωστικών κριτηρίων με σαφή, σταθερό και αναπαραγωγίμο τρόπο. Τόσο η επιλογή μίας τυποποιημένης τεχνικής επεξεργασίας των δειγμάτων όσο και η χρήση συστηματοποιημένης διαγνωστικής ορολογίας, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ασφαλή απόδοση της σημασίας των κυτταρολογικών ευρημάτων στους κλινικούς γιατρούς που εμπλέκονται στη θεραπευτική αντιμετώπιση του ασθενούς.

**Η μέθοδος της Κυτταρολογίας Υγρής Φάσης ThinPrep®** αποτελεί μία σύγχρονη και ευρέως αποδεκτή τεχνική παρασκευής επιχρισμάτων τόσο σε δείγματα αποφολιδωτικής Κυτταρολογίας όσο και σε δείγματα υλικού παρακέντησης με λεπτή βελόνα. Είναι σχεδιασμένη έτσι, ώστε να διατηρεί τους μορφολογικούς χαρακτήρες των κυττάρων και να αντιπαρέρχεται αρκετούς παράγοντες που περιορίζουν την δυνατότητα της κυτταρολογικής αξιολόγησης σε συμβατικά επιχρίσματα. Επιπλέον, ο τρόπος συλλογής μονιμοποίησης και φύλαξης των δειγμάτων, τα καθιστά κατάλληλα για την εφαρμογή ανοσοχρώσεων και μοριακών τεχνικών.

## **10.2. Σκοπός**

Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην ανάπτυξη μιας μεθοδολογίας για την αντικειμενοποίηση της διαγνωστικής διαδικασίας σε δείγματα FNA θυρεοειδούς αδένα και περιλαμβάνει δυο στάδια:

1. Τον καθορισμό και την αξιολόγηση των κυτταρικών χαρακτηριστικών λειτουργικής κυτταρολογίας που μπορεί να είναι σημαντικά για τη διάγνωση.
2. Την αξιολόγηση των χαρακτηριστικών αυτών με στατιστικές μεθόδους, προκειμένου να παρέχεται μια αντικειμενική διαγνωστική πρόταση.

Η μελέτη περιγράφει τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας των δεδομένων κυτταρολογικής εξέτασης του θυρεοειδούς. Τα διαθέσιμα δεδομένα προήλθαν από 521

οζίδια, τα οποία εξετάστηκαν κυτταρολογικά και στην συνέχεια επιβεβαιώθηκαν με ιστολογική εξέταση.

Εντός του άρθρου αυτού εξετάζουμε την δυνητική εφαρμογή Δέντρων Ταξινόμησης και Κατηγοριοποίησης (CARTs) και συγκεκριμένα επικεντρωνόμαστε σε τρία θέματα:

1. Ποιά είναι η καλύτερη μέθοδος χρήσης των κυτταρομορφολογικών κριτηρίων, ώστε να δημιουργηθεί ένας απλός και ανθρώπινα κατανοητός αλγόριθμος καθημερινής χρήσης τους κατά τη διάρκεια της κυτταρολογικής εξέτασης των δειγμάτων που ελήφθησαν από ασθενείς με ψηλαφητές ή υποκλινικές οζώδεις αλλοιώσεις του θυρεοειδούς αδένος ;
2. Ποιά είναι η τιμή του κάθε μεμονωμένου κριτηρίου;
3. Είναι δυνατό τα κυτταρομορφολογικά κριτήρια να προβλέψουν με ακρίβεια το ιστολογικό αποτέλεσμα;

### **10.3. Υλικό και Μέθοδοι**

#### **10.3.1. Δεδομένα**

Το υλικό της μελέτης αποτελούν 521 όζοι, οι οποίοι εξετάστηκαν κυτταρολογικά. Κατά τη διάρκεια της εξέτασης κάθε περίπτωσης ξεχωριστά, καταγράφηκαν τα κυτταρομορφολογικά τους χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τον πυρήνα, το κυτταρόπλασμα , τις ομάδες των κυττάρων και επιπρόσθετα άλλες πληροφορίες που σχετίζονται με παρατηρήσεις κατά την μικροσκοπική ανάλυση τους.

Υπήρξε ιστολογική επιβεβαίωση για όλες τις περιπτώσεις και σε ότι αφορά την κυτταρολογία, κατηγοριοποιήθηκαν σε μία από τις 6 κατηγορίες TBS (The Bethesda System - TBS).

Τα κυτταρομορφολογικά χαρακτηριστικά αναφέρονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 13: Κατάλογος κυτταρομορφολογικών χαρακτηριστικών που αξιολογήθηκαν**

Αρ.	Κυτταρομορφολογικά Χαρακτηριστικά
1	ΚΥΤΤΑΡΟΒΡΙΘΕΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
2	ΚΟΛΛΟΕΙΔΕΣ
3	ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ
4	ΠΟΛΥΠΥΡΗΝΑ ΓΙΓΑΝΤΟΚΥΤΤΑΡΑ
5	ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ
6	ΑΛΛΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ
7	ΜΑΚΡΟΘΥΛΑΚΙΑ
8	ΜΙΚΡΟΘΥΛΑΚΙΑ
9	ΜΟΝΟΕΠΙΠΕΔΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΘΥΛΑΚΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ
10	ΘΥΛΩΔΗΣ ΑΡΧΙΤΕΚΤΟΝΙΚΗ
11	ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΑ ΚΥΤΤΑΡΑ
12	ΜΕΓΕΘΟΣ ΠΥΡΗΝΑ /ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΩΡΙΜΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ
13	ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ
14	ΠΥΡΗΝΙΚΕΣ ΠΤΥΧΩΣΕΙΣ
15	ΕΝΔΟΠΥΡΗΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΑ ΨΕΥΔΟΕΓΚΛΕΙΣΤΑ
16	ΑΝΙΣΟΠΥΡΗΝΩΣΗ
17	ΠΥΡΗΝΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ
18	ΠΥΡΗΝΙΟ
19	ΣΥΝΩΣΤΙΣΜΟΣ/ ΑΛΛΗΛΕΠΙΚΑΛΥΨΗ ΠΥΡΗΝΩΝ
20	ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ ΠΥΡΗΝΩΝ /ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑ

Τα χαρακτηριστικά όλων των μετρήσιμων χαρακτηριστικών και η διανομή τους στις διάφορες κατηγορίες TBS παρουσιάζονται στο Πίνακα 14, όπου υποδεικνύονται οι διαθέσιμες επιλογές για κάθε χαρακτηριστικό ξεχωριστά.



**Πίνακας 14: Τιμές Κυτταρομορφολογικών χαρακτηριστικών σύμφωνα με τις κατηγορίες TBS**

ρ.	Χαρακτηριστικό	Τμή Χαρακτηριστικό (ανά μορφή απόκτησης)	Ταξινόμηση TBS				
			1	2	3	4	
	ΚΥΤΤΑΡΟΦΘΙΘ ΕΙΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΑΥΣΙΜΕΝΗ	5	6	4	7	
		ΑΝΕΠΑΡΚΗΣ					
		ΕΠΙΡΚΗΣ	39	6	4	7	
		ΧΑΜΒΙΑΗ					
		ΛΙΟΥΣΙΑ	3	4	1	0	
	ΚΟΛΛΟΙΔΕΣ	ΛΙΟΥΣΙΑ	3	2	0	4	
		ΑΘΩΟΝΟ	0				
		ΜΕΤΡΟ	9	7	3	7	
		ΑΡΚΕΤΟ	4				
		ΕΛΑΧΙΣΤΟ	1	9	2	2	
	ΜΑΚΡΟΒΑΦΑ	ΛΙΟΥΣΙΑ	0	3	9	07	
		ΑΘΩΟΝΑ	9			2	
		ΜΕΤΡΙΑ	9	0			
		ΑΡΚΕΤΑ	9				
		ΕΛΑΧΙΣΤΑ	1				
	ΠΟΛΥΠΥΡΙΝΑ ΠΓΑΝΤΟΚΥΤΤΑΡΑ	ΟΧΙ	4	17	1	5	9
		ΝΑΙ	1	2	3	7	
	ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΔΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	ΑΘΩΟΝΑ					
		ΜΕΤΡΙΑ	2		1	7	
		ΟΧΙ	3	63	8	3	5
		ΑΡΚΕΤΑ	1	0		4	
		ΕΛΑΧΙΣΤΑ					
	ΑΛΛΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	ΙΣΤΟΚΥΤΤΑΡ Α					
		ΟΧΙ	4	26	3	6	22
		ΦΑΜΜΕΛΗ					
		ΣΩΜΑΤΙΑ ΣΥΓΚΥΤΙΑΚΑ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΑ					
	ΙΑ ΜΑΚΡΟΒΥΛΑΚ	ΑΘΩΟΝΑ	0				
		ΜΕΤΡΙΑ	0	4			
		ΟΧΙ	2	1	7	3	35
		ΑΡΚΕΤΑ					
		ΕΛΑΧΙΣΤΑ	25	1			
	Α ΜΙΚΡΟΒΥΛΑΚΙ	ΑΘΩΟΝΑ					
		ΜΕΤΡΙΑ	2	3		4	
		ΟΧΙ	2	94	7	2	16
		ΑΡΚΕΤΑ					
	Σ ΔΕΦΘΟΙΣ	ΟΧΙ	3	0	1	2	
		ΝΑΙ	20	3	7	69	
0	ΘΥΛΑΔΗ/ΕΛΑΡΧΙ ΤΕΚΤΟΝΙΚΗ	ΟΧΙ	4	27	8	9	6
		ΝΑΙ			5	9	20

ρ.	Χαρακτηριστικό	Τμή Χαρακτηριστικό (ανά μορφή απόκτησης)	Ταξινόμηση TBS				
			1	2	3	4	
1	ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΜΟΝΩΜΕΝΑ	ΑΘΩΟΝΑ					
		ΜΕΤΡΙΑ	7	5	0	6	
		ΟΧΙ	30	5	9	3	
		ΑΡΚΕΤΑ	8	0		9	
		ΕΛΑΧΙΣΤΑ					
2	ΜΕΓΕΘΟΣ ΑΝΑΛΟΓΙΑ ΔΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΥΡΙΝΑ/ ΩΡΙΜΩΝ	1	0	39			
		1 προς 2		9	8	6	8
		1 προς 3				0	2
		1 προς 4					
		2			5	5	
		2 προς 3			5	4	
		2 προς 4					
		3					
		3 προς 4					
		3 προς 5					
3	ΧΡΗΜΑΤΙΝΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗ	ΔΕΥΡΟΚΟΚΚΙΔΙΩΣΗ					
		ΑΚΙΤΤΟ ΚΟΚΚΙΔΙΩΣΗ	98	1			
		ΛΕΙΠΤΟ ΚΟΚΚΙΔΙΩΣΗ					
		ΚΟΚΚΙΔΙΩΣΗ	3	9			
		ΔΙΑΥΤΗΣ			2	2	
		ΔΙΑΥΤΗΣ ΚΟΚΚΙΔΙΩΣΗ				2	
4	ΠΥΡΙΝΙΚΕΣ ΠΥΛΩΣΕΙΣ	ΔΙΑΥΤΗΣ ΚΟΚΚΙΔΙΩΣΗ			4		
		ΟΧΙ	28	6	9	0	
5	ΕΝΔΟΠΥΡΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΟΓΙΑΣΜΑΤΙΚΑ ΦΕΥΛΟΓΚΑΙΕΤΑ	ΟΧΙ	28	1	6	3	
		ΝΑΙ			2	03	
6	ΑΝΙΣΟΠΥΡΙΝΩΣΗ	ΕΠΙΕΠΙΜΑΣΜΕΝΟΣ				3	
		ΗΕΣΩΝ			8	6	6
		ΟΧΙ	19	1			
		ΕΜΦΑΝΙΣΗ					
		ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ				3	4
7	ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΣΧΗΜΑ ΠΥΡΙΝΙΚΗΣ	ΜΕΓΑΛΗ ΑΝΙΣΟΜΑΛΙΑ			4	26	
		ΜΙΚΡΗ ΑΝΙΣΟΜΑΛΙΑ		3	3	0	
		ΚΑΝΟΝΙΚΗ	22	9			
8	ΠΥΡΙΝΙΑ	ΑΘΑΝΗΣ	1	4	0	3	
		ΟΧΙ	33	1	4	7	
		ΕΜΦΑΝΙΣΗ					
9	ΣΥΝΘΕΤΕΜΟΣ/ ΑΛΛΗΛΕΙΚΑΛΥΨΗ	ΟΧΙ	18	1	2	3	
		ΟΧΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΣ		8	1	8	
		ΝΑΙ			5	05	
0	ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ ΠΥΡΙΝΩΝ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	ΑΝΙΣΟΜΑΛΟΣ			7	28	
		ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΣ/ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ					
		ΜΙΚΡΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥ		6	9		
		ΜΕΤΡΙΑ ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΥ	26	7			

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζονται οι μήτρες σύγχυσης (κυτταρολογική vs. ιστολογική διάγνωση).

**Πίνακας 15: Συσχέτιση κυτταρολογικής και παθολογοανατομικής διάγνωσης**

Κωδικοποιημένη Ιστολογική Διάγνωση	Ταξινόμηση TBS						Σύνολο
	1	2	3	4	5	6	
ΚΑΛΟΗΘΗΣ-Μη Νεοπλασματική Οζώδης Αλλοίωση	10	202	40	6	2	1	261
ΘΥΛΑΚΙΩΔΕΣ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑ (ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ)		2	1	1			4
ΚΑΚΟΗΘΗΣ	5	26	23	1	66	135	256
Σύνολο	15	230	64	8	68	136	521

Οι τέσσερις περιπτώσεις οι οποίες δεν καθορίστηκαν απόλυτα ιστολογικά, έχουν εξαιρεθεί από την μελέτη. Επιπρόσθετα, για να υπολογιστεί η ακρίβεια της κυτταρολογικής διάγνωσης, χρησιμοποιώντας ως χρυσό κανόνα την ιστολογική διάγνωση, η κατηγορία TBS I έχει εξαιρεθεί από τις εκτιμήσεις και συμπληρωματικά δημιουργήσαμε τα στατιστικά στοιχεία με τη χρήση τριών μεθόδων:

α) Χρήση της κατηγορίας TBS III ως κυτταρολογικό όριο αποκοπής (δηλαδή η κατηγορία TBS III (συμπεριλαμβανομένης και της TBS III) και πάνω θεωρήθηκε κακοήθης)

β) Χρήση της κατηγορίας TBS IV ως κυτταρολογικό όριο αποκοπής (δηλαδή η κατηγορία TBS IV (συμπεριλαμβανομένης και της TBS IV) θεωρήθηκε κακοήθης)

γ) Δημιουργία καμπυλών ROC

Σε όλες τις μεθόδους, οι 15 περιπτώσεις TBS I δεν έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή των στατιστικών στοιχείων. Προφανώς, η κατηγορία TBS III είναι μια κατηγορία που επιφέρει αβεβαιότητα ( $40/63=63.5\%$  των περιπτώσεων της κατηγορίας TBS III είναι ιστολογικά καλοήθεις και  $23/63=36.5\%$  των περιπτώσεων ήταν ιστολογικά κακοήθεις).

**Πίνακας 16: Ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις, εξαιρουμένων των ασαφών ιστολογικών αποτελεσμάτων και των ανεπαρκών κυτταρολογικών αποτελεσμάτων.**

Ιστολογική Διάγνωση	Αριθμός κατηγορίας TBS					Σύνολο
	2	3	4	5	6	
ΚΑΛΟΗΘΕΙΑ	202	40	6	2	1	251
ΚΑΚΟΗΘΕΙΑ	26	23	1	66	135	251
Σύνολο	228	63	7	68	136	502

Ο αριθμός των αληθώς θετικών ή αρνητικών και των ψευδώς θετικών ή αρνητικών περιπτώσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 17, για τις παρακάτω τιμές ορίου αποκοπής.

**Πίνακας 17: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις.**

Όριο αποκοπής	AΘ(TP)	ΑΑ(TN)	ΨΘ(FP)	ΨΑ(FN)	Σύνολο
TBS III	225	202	49	26	502
TBS IV	202	242	9	49	502

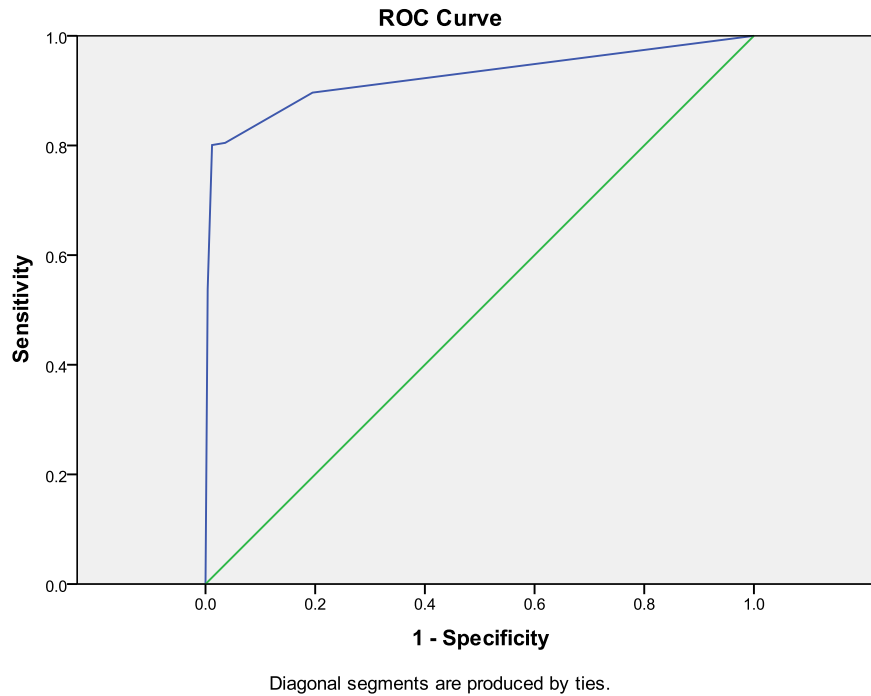
Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, η ειδικότητα, ευαισθησία και οι λεπτομέρειες των άλλων στατιστικών στοιχείων παρουσιάζονται στον Πίνακα 18.

**Πίνακας 18: Ειδικότητα, ευαισθησία της κυτταρολογικής διάγνωσης σύμφωνα με την τιμή ορίου αποκοπής**

Όριο αποκοπής	TBS III	TB S IV
Ευαισθησία	89.64%	80.48%
Ειδικότητα	80.48%	96.41%
Θετική Προγνωστική αξία (PPV)	82.12%	95.73%
Αρνητική Προγνωστική Αξία (NPV)	88.60%	83.16%
Αναλογία Ψευδώς Θετικών (FPR)	19.52%	3.59%
Αναλογία Ψευδώς Αρνητικών(FNR)	10.36%	19.52%
Διαγνωστική Ακρίβεια(OA)	85.06%	88.45%

Η τρίτη μέθοδος για την αξιολόγηση της κυτταρολογικής διάγνωσης είναι μέσω της χρήσης Καμπυλών ROC (Γράφημα 1). Τα χαρακτηριστικά αυτής της καμπύλης, η οποία δημιουργήθηκε με βάση 502 περιπτώσεις) είναι: περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC)=0.924, S.E.=0.013 Χαμηλότερο όριο=0.899, Υψηλότερο όριο=0.950 (C.I.=95%)

Γράφημα 1: Καμπύλη ROC της Κυτταρολογικής διάγνωσης εξαιρουμένων των περιπτώσεων TBS I.



## 10.1. Μέθοδοι

### 10.1.1. Προ-επεξεργασία

Για λόγους επεξεργασίας, όλες οι απαντήσεις σχετικά με τα κυτταρομορφολογικά χαρακτηριστικά έχουν κωδικοποιηθεί, με τη χρήση προκαθορισμένου πεπερασμένου αριθμού χαρακτηρισμών για εκείνες τις υποθέσεις για τις οποίες δεν υπήρχε αριθμητική απάντηση. Η κυτταρολογική απάντηση, σύμφωνα με το TBS, είναι αριθμητικά κωδικοποιημένη, όπου ένας μεγαλύτερος αριθμός στην απάντηση σημαίνει υψηλότερος κίνδυνος για κακοήθεια. Η κωδικοποίηση που χρησιμοποιήθηκε παρουσιάζεται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 19: Αριθμητική κωδικοποίηση των απαντήσεων TBS**

Απάντηση	Αριθμητική Κωδικοποίηση
TBS I	1
TBS II	2
TBS III	3
TBS IV	4
TBS V	5
TBS VI	6

### **10.1.2. Δέντρα Ταξινόμησης και Κατηγοριοποίησης**

Ανάμεσα στις διάφορες τεχνικές λήψης αποφάσεων που χρησιμοποιούνται στην ιατρική, τα Δέντρα Ταξινόμησης και Κατηγοριοποίησης (CART) [1, 2] έχουν συχνά χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν [3, 4]. Τα CARTs είναι μια θελκτική στατιστική προσέγγιση για την εξαγωγή γνώσης από τα δεδομένα, μια και είναι εύκολα στην κατασκευή τους, παρέχουν στατιστικές μετρήσεις σε όλα τα επίπεδα αποφάσεων και είναι δυνατό να ενσωματωθούν αρμονικά στις καθημερινές εργαστηριακές πρακτικές, δεδομένου ότι δημιουργούν κανόνες οι οποίοι είναι εύκολα κατανοητοί από τους κυτταρολόγους και γενικά το ευρύ κοινό.

## **10.2. Αποτελέσματα**

### **10.2.1. Αποτελέσματα Δέντρου Ταξινόμησης και Κατηγοριοποίησης (CART)**

Σε αυτή την μελέτη αξιολογήθηκαν τρία Δέντρα ταξινόμησης και κατηγοριοποίησης. Το Μοντέλο-1α-CART και το Μοντέλο-1β-CART χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των κυτταρομορφολογικών κριτηρίων, ώστε να αξιολογηθεί ο ρόλος τους στην αναπαραγωγή της κυτταρολογικής διάγνωσης και το Μοντέλο-2-CART χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της δυνατότητας πρόβλεψης της ιστολογικής διάγνωσης, βάσει της κυτταρομορφολογίας της παρακέντησης του θυρεοειδούς με λεπτή βελόνη (FNA).

#### **10.2.1.1. Μοντέλο-1α-CART**

Αυτό το μοντέλο χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της κατηγορίας TBS.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου CART με βάση τα κυτταρομορφολογικά κριτήρια και με σκοπό την πρόβλεψη της έκβασης της κυτταρολογικής εξέτασης παρουσιάζονται στον Πίνακα 20. Οι περιπτώσεις με ταξινόμηση TBS I (ανεπαρκές) στην ιστολογία εξαιρέθηκαν, καθώς τα κυτταρομορφολογικά χαρακτηριστικά τους δεν είναι δυνατόν να ολοκληρωθούν. Η αρχιτεκτονική του δέντρου είχε διαμόρφωση Αυτόματου Ανιχνευτή Αλληλεπίδρασης CHAID-20-2-5, δηλαδή περισσότερες από 20 περιπτώσεις ανά γονικό κόμβο και επιπρόσθετα

εξαναγκάστηκε να επιτρέψει μέχρι και 2 περιπτώσεις ανά τερματικό κόμβο, καθώς οι περιπτώσεις που ανήκουν στην κατηγορία TBS IV σε αυτή τη μελέτη περιορίζονται σε επτά.

**Πίνακας 20: Αποτελέσματα δέντρου ταξινόμησης & κατηγοριοποίησης (CART) για την πρόβλεψη του κυτταρολογικού αποτελέσματος**

Πραγματική κατηγορία TBS	Προβλεπόμενη κατηγορία TBS					
	2	3	4	5	6	Ορθό ποσοστό
2	224	3	0	1	0	98.25%
3	14	39	0	10	0	61.90%
4	0	4	3	0	0	42.86%
5	1	7	0	27	33	39.71%
6	0	0	0	11	125	91.91%
Συνολικό ποσοστό	47.61 %	10.56 %	0.60 %	9.76 %	31.47 %	83.27%

Οι σχετικές περιπτώσεις Α.Θ., Α.Α., Ψ.Θ., Ψ.Α. για τα επιλεγμένα όρια παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 21: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1- CART της προσέγγισης της κυτταρολογικής έκβασης (το κυτταρολογικό αποτέλεσμα θεωρείται ο χρυσός κανόνας).**

Όρια αποκοπής	ΑΘ	ΑΑ	ΨΘ	ΨΑ	Συνολικά
TBS III	259	224	4	15	502
TBS IV	199	280	11	12	502

Συμφώνα με τα εν λόγω δεδομένα, η ειδικότητα, η ευαισθησία και άλλα στατιστικά στοιχεία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 22: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1-CART σε σύγκριση με την Κυτταρολογική διάγνωση**

	Μοντέλο-1α-CART	
Όριο αποκοπής	TBS III	TBS IV
Ευαισθησία	94.53%	94.31%
Ειδικότητα	98.25%	96.22%
PPV	98.48%	94.76%
NPV	93.72%	95.89%
FPR	1.75%	3.78%
FNR	5.47%	5.69%
ΟΑ	96.22%	95.42%

Η αξιολόγηση του Μοντέλου-1-CART έναντι της ιστολογικής διάγνωσης παρουσιάζεται στους επόμενους τρεις πίνακες.

- Πίνακας 22<sup>α</sup> : Απόδοση του Μοντέλου-1-CART σε σύγκριση με την ιστολογική διάγνωση.

	Ανατεθείσα κατηγορία Μοντέλου-1-CART					Σύνολο
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	2	3	4	5	6	
ΚΑΛΟΗΘΕΙΑ	210	29	3	8	1	251
ΚΑΚΟΗΘΕΙΑ	29	24		41	157	251
Σύνολο	239	53	3	49	158	502

**Πίνακας 23: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1- CART της προσέγγισης της Ιστολογικής διάγνωσης.**

Όριο αποκοπής	AΘ	AA	ΨΘ	ΨΑ	Σύνολο
TBS III	222	210	41	29	502
TBS IV	198	239	12	53	502



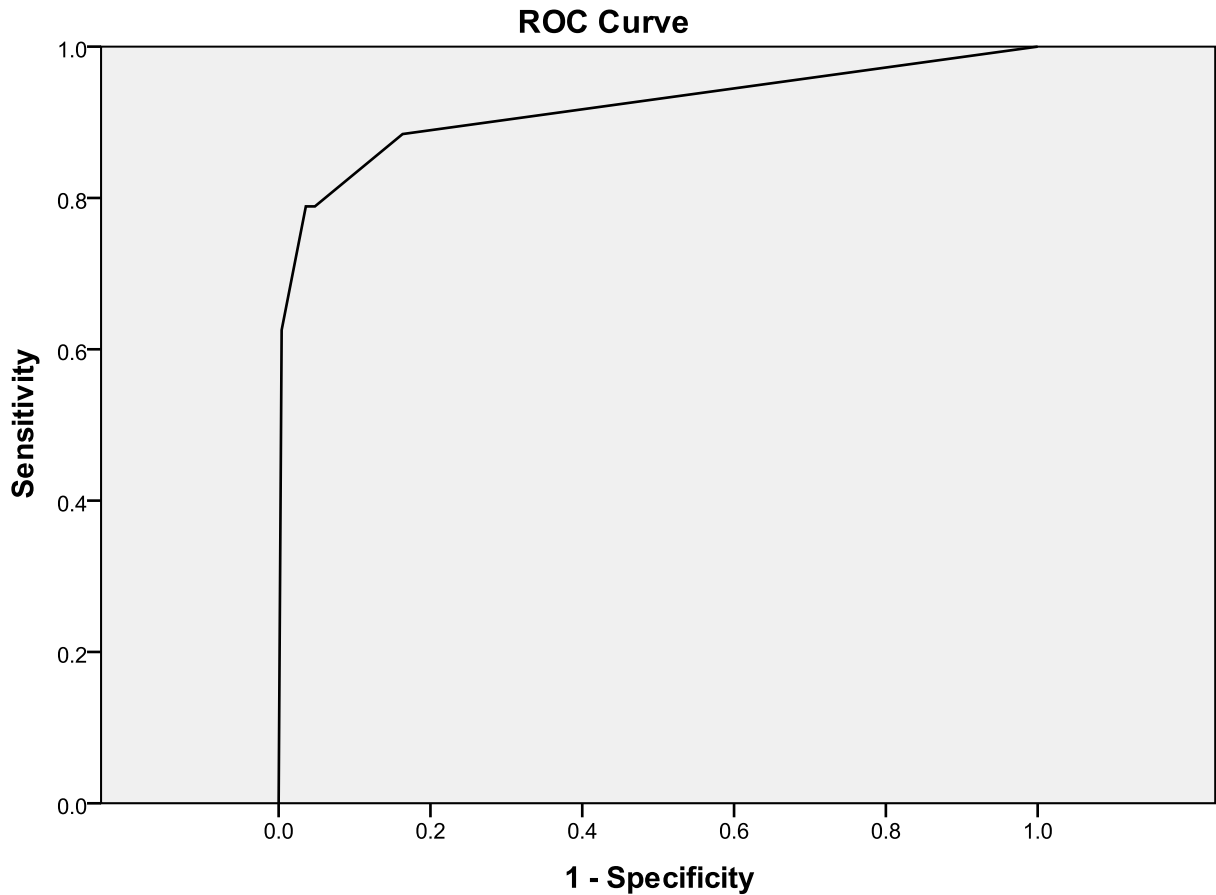
Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, η ειδικότητα, η ευαισθησία και άλλα στατιστικά στοιχεία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 24: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1-CART σε σύγκριση με την Ιστολογική διάγνωση, (η απόδοση της κυτταρολογικής διάγνωσης για τις ίδιες τιμές αποκοπής παρουσιάζονται για λόγους πληρότητας)**

	Μοντέλο-1α-CART			Κυτταρολογία	
	TBS III	TBS IV		TBS III	TBS IV
Όριο αποκοπής					
Ευαισθησία	88.45%	78.88%		89.64%	80.48%
Ειδικότητα	83.67%	95.22%		80.48%	96.41%
PPV	84.41%	94.29%		82.12%	95.73%
NPV	87.87%	81.85%		88.60%	83.16%
FPR	16.33%	4.78%		19.52%	3.59%
FNR	11.55%	21.12%		10.36%	19.52%
OA	86.06%	87.05%		85.06%	88.45%

Τέλος, η καμπύλη ROC του Μοντέλου-1-CART παρουσιάζεται στο Γράφημα 2. Τα χαρακτηριστικά αυτής της καμπύλης δημιουργήθηκαν βάσει των 502 περιπτώσεων και είναι: περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC)=0.918, S.E.=0.014 Χαμηλότερο όριο=0.892, Ανώτερο όριο=0.945 (C.I.=95%). Η σύγκριση των δύο καμπύλων ROC για την Κυτταρολογική διάγνωση και του Μοντέλου-1-CART, όπως δημιουργήθηκαν έναντι της ιστολογικής διάγνωσης (δεδομένου ότι είναι ο χρυσός κανόνας) αποδεικνύει πως δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο προσεγγίσεων (Διαφορά=0.006, Τυπικό σφάλμα 0.0191, z για τον στατιστικό έλεγχο =0.314 και p = 0.7535).

Γράφημα 2: Καμπύλη ROC της έκβασης του Μοντέλου-1-CART.

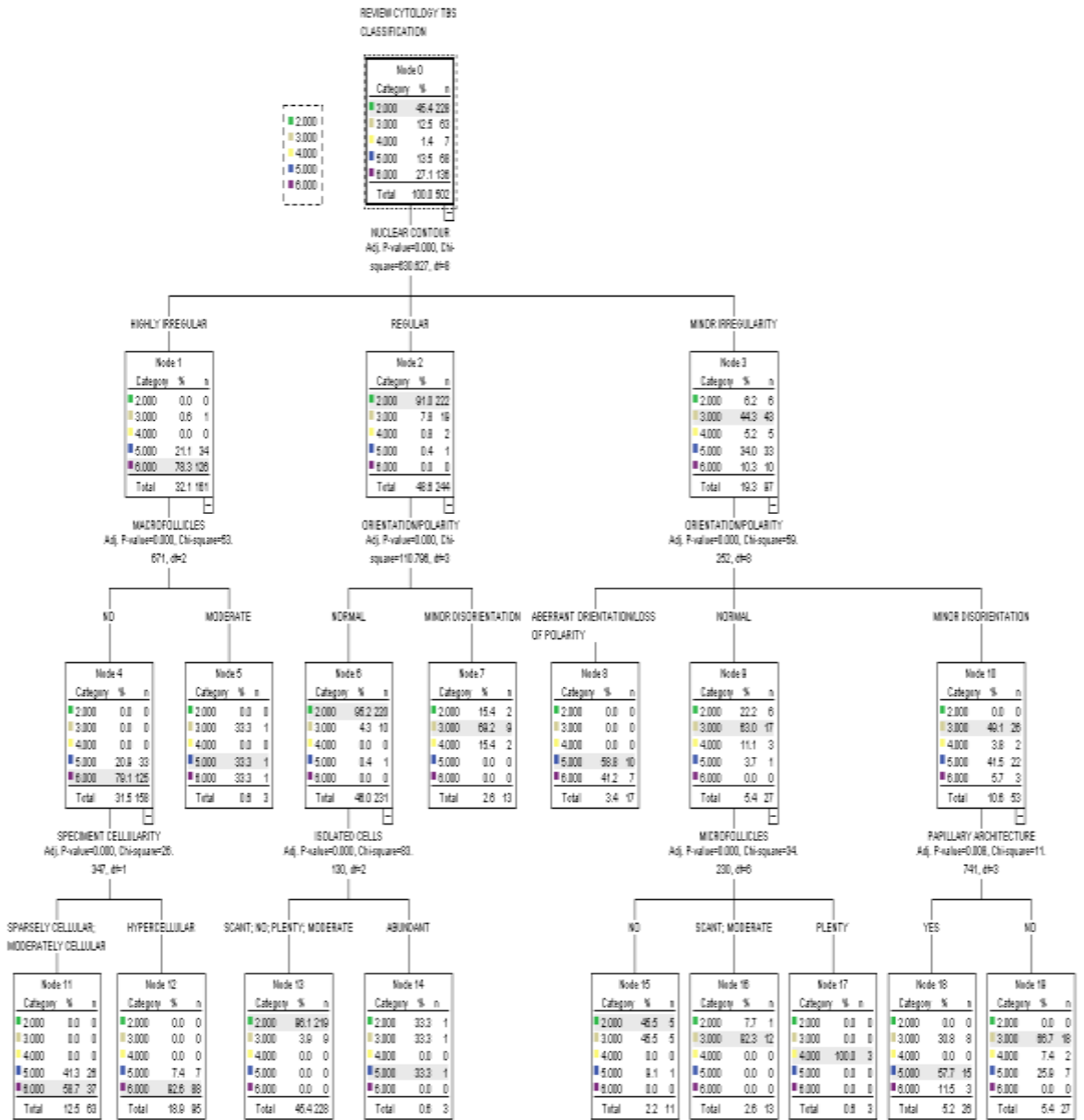


Diagonal segments are produced by ties.

#### 10.2.1.2. Πως χρησιμοποιείται το δέντρο

Το δέντρο που δημιουργήθηκε παρουσιάζεται στο Γράφημα 3. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν αρκετά κυτταρομορφολογικά κριτήρια που εμπλέκονται στη διαδικασία λήψης αποφάσεως και στο τέλος είναι ήδη γνωστές οι πιθανότητες που υπάρχουν για κάθε περίπτωση να ανήκει σε μία ξεχωριστή κατηγορία .

Γράφημα 3: Μοντέλο-1α-CART, για πρόβλεψη της κυτταρολογικής έκβασης.



### 10.3. Μοντέλο-1β-CART

Το δεύτερο μοντέλο δέντρου ταξινόμησης και κατηγοριοποίησης (CART) χρησιμοποιείται για να προβλεφθεί η κατηγορία TBS, ομοίως με το Μοντέλο-1α-CART, χρησιμοποιώντας, όμως, διαφορετική αρχιτεκτονική δέντρου και προσέγγιση αλγόριθμου. Η συγκεκριμένη προσέγγιση επιτρέπει πιο περίπλοκες και βαθιές δομές, επιταχύνοντας καλύτερη συνολική ακρίβεια με κίνδυνο, όμως, χαμηλότερης δυνατότητας γενίκευσης των αποτελεσμάτων.

Τα αποτελέσματα του Μοντέλου-1β-CART εμφανίζονται στον Πίνακα 25. Οι περιπτώσεις με ταξινόμηση TBS I (ανεπαρκές) στην ιστολογία εξαιρέθηκαν, καθώς τα κυτταρομορφολογικά χαρακτηριστικά τους δεν ήταν δυνατό να ολοκληρωθούν. Η αρχιτεκτονική του δέντρου είχε διαμόρφωση CRT-10-2-8.

Πίνακας 25: Αποτελέσματα Μοντέλου-1β-CART για πρόβλεψη κυτταρολογικών αποτελεσμάτων

Σημειωθέν	Προβλέφθηκαν					Ποσοστό ορθότητας
	2	3	4	5	6	
2	223	5	0	0	0	97.81%
3	5	51	4	3	0	80.95%
4	0	0	7	0	0	100.00%
5	1	7	0	52	8	76.47%
6	0	0	0	12	124	91.18%
Συνολικό ποσοστό	45.62%	12.55%	2.19%	13.35%	26.29%	91.04%

Οι σχετικές ΑΘ, ΑΑ, ΨΘ και ΨΑ περιπτώσεις εμφανίζονται για τα επιλεγμένα όρια στον

Πίνακας 26: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1β-CART της προσέγγισης της κυτταρολογικής έκβασης (το κυτταρολογικό αποτέλεσμα θεωρείται ο χρυσός κανόνας)

Όριο αποκοπής	ΑΘ	ΑΑ	ΨΘ	ΨΑ	Σύνολο
TBS III	268	223	5	6	502
TBS IV	203	284	7	8	502

Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, η ειδικότητα, η ευαισθησία και άλλα στατιστικά στοιχεία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 27: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1β-CART σε σύγκριση με την Κυτταρολογική διάγνωση**

Όριο αποκοπής	Μοντέλο-1β-CART	
	TBS III	TBS IV
Ευαισθησία	97.81%	96.21%
Ειδικότητα	97.81%	97.59%
PPV	98.17%	96.67%
NPV	97.38%	97.26%
FPR	2.19%	2.41%
FNR	2.19%	3.79%
OA	97.81%	97.01%

Η αξιολόγηση του Μοντέλου-1β-CART έναντι στην ιστολογική διάγνωση παρουσιάζεται στους επόμενους δύο πίνακες/

**Πίνακας 28: Απόδοση Μοντέλου-1β-CART σε σύγκριση με την ιστολογική διάγνωση.**

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	Ανατεθείσα κατηγορία Μοντέλου-1β-CART					Σύνολο
	2	3	4	5	6	
ΚΑΛΟΗΘΕΙΑ	200	37	9	4	1	251
ΚΑΚΟΗΘΕΙΑ	29	26	2	63	131	251
Σύνολο	229	63	11	67	132	502

**Πίνακας 29: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-1β-CART της προσέγγισης της Ιστολογικής διάγνωσης.**

Όριο αποκοπής	AΘ	ΑΑ	ΨΘ	ΨΑ	Σύνολο
TBS III	222	200	51	29	502
TBS IV	196	237	14	55	502

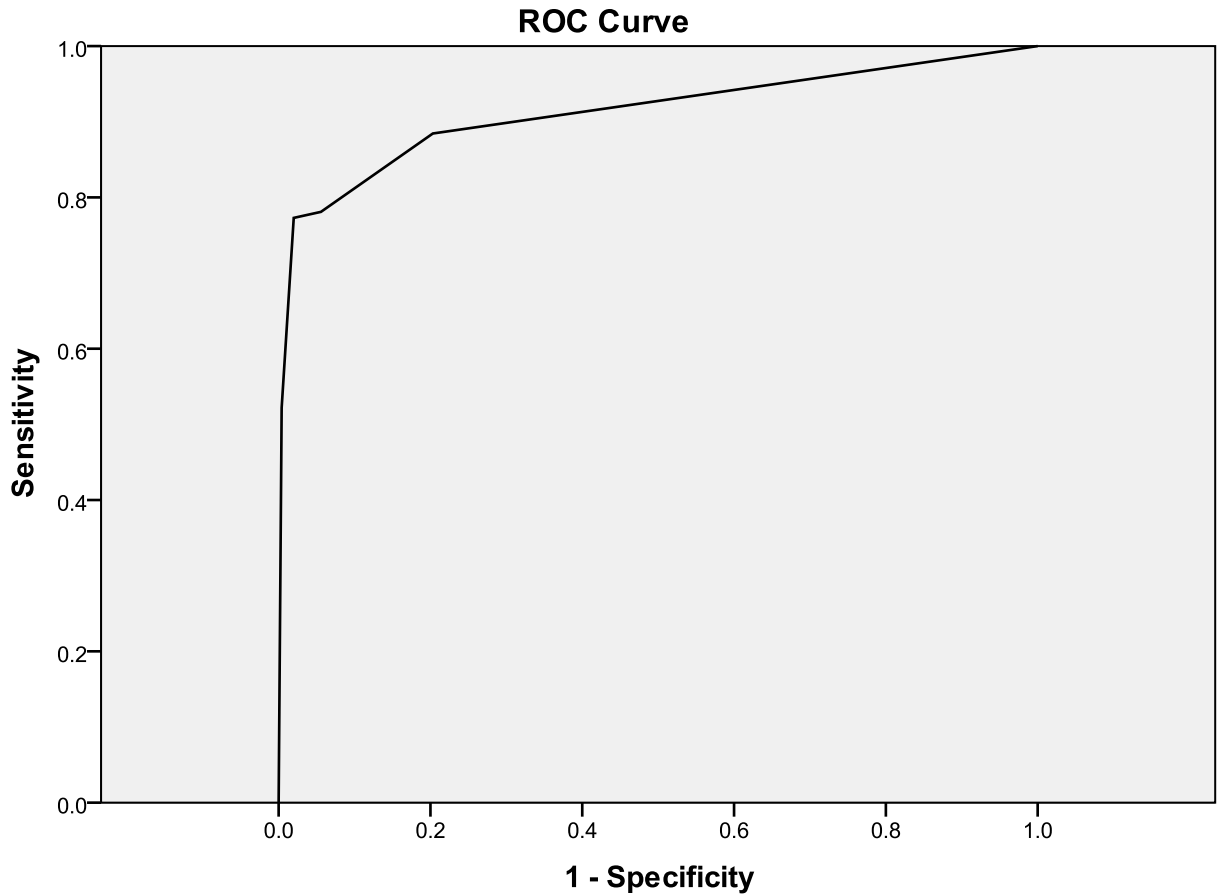
Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, η ειδικότητα, η ευαισθησία και άλλα στατιστικά στοιχεία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 30: Ειδικότητα, ευαισθησία του Μοντέλου-1β-CART σε σύγκριση με την ιστολογική διάγνωση, (η απόδοση της κυτταρολογικής διάγνωσης για τις ίδιες τιμές αποκοπής παρουσιάζονται για λόγους πληρότητας)**

Όριο αποκοπής	Μοντέλο-1β-CART		Κυτταρολογία	
	TBS III	TBS IV	TBS III	TBS IV
Ευαισθησία	88.45%	78.09%	89.64%	80.48%
Ειδικότητα	79.68%	94.42%	80.48%	96.41%
PPV	81.32%	93.33%	82.12%	95.73%
NPV	87.34%	81.16%	88.60%	83.16%
FPR	20.32%	5.58%	19.52%	3.59%
FNR	11.55%	21.91%	10.36%	19.52%
OA	84.06%	86.25%	85.06%	88.45%

Τέλος, η καμπύλη ROC του Μοντέλου-1β-CART εμφανίζεται στο Γράφημα 4. Τα χαρακτηριστικά αυτής της καμπύλης βάσει των 502 περιπτώσεων είναι: περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC)=0.913, S.E.=0.014 Χαμηλότερο όριο=0.885, Υψηλότερο όριο=0.940 (C.I.=95%). Η σύγκριση μεταξύ των δύο καμπύλων ROC για την Κυτταρολογική διάγνωση και του Μοντέλου-1-CART, όπως αυτή δημιουργήθηκε έναντι της ιστολογικής διάγνωσης (η οποία αποτελεί τον χρυσό κανόνα) αποδεικνύει πως δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο προσεγγίσεων (Διαφορά=0.011, Τυπικό σφάλμα 0.0231, z για τον στατιστικό έλεγχο =0.476 και p = 0.6340).

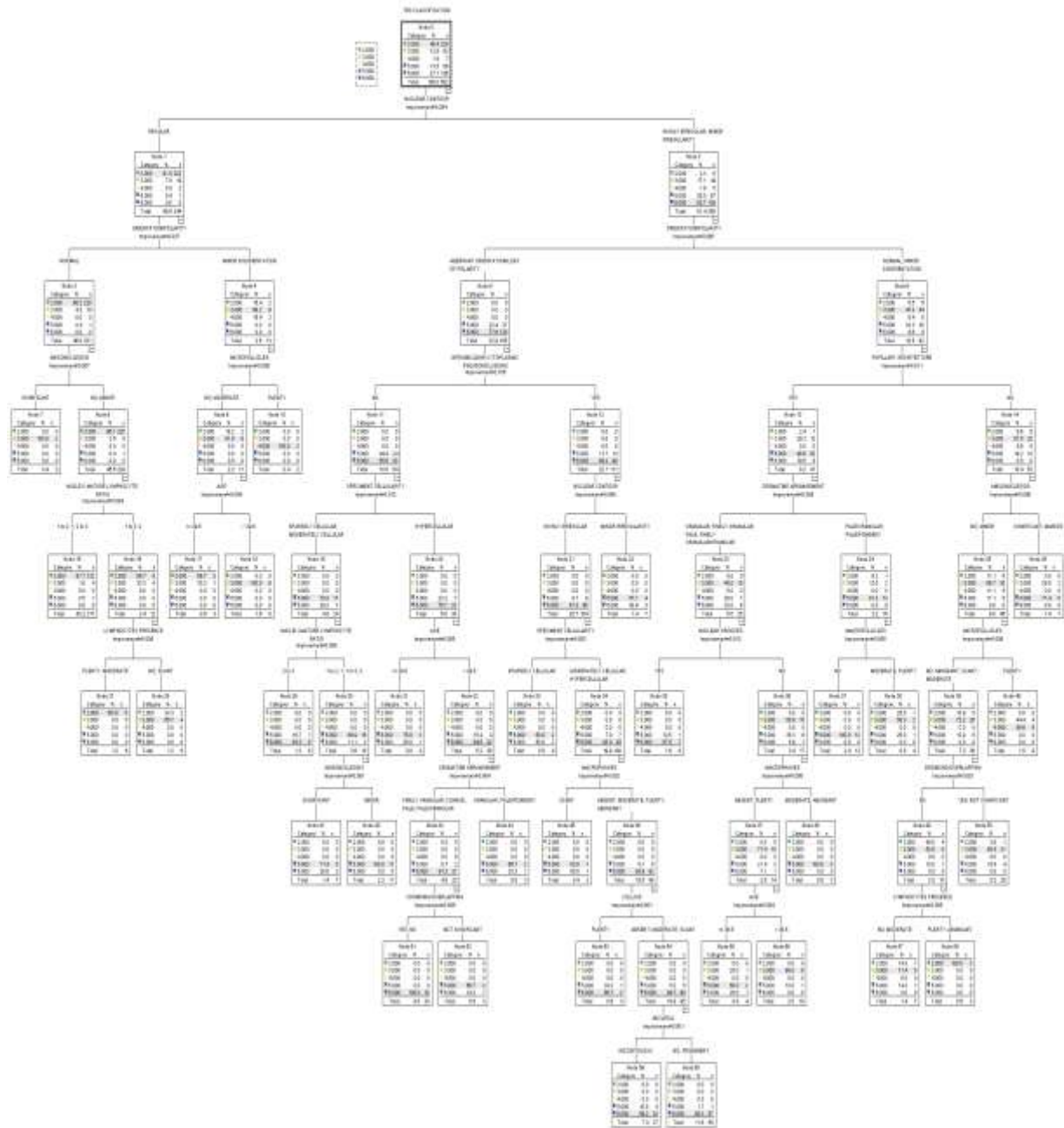
Γράφημα 4: Καμπύλη ROC της έκβασης του Μοντέλου-1β- CART.



Diagonal segments are produced by ties.

Το δέντρο που δημιουργείται παρουσιάζεται στο Γράφημα 5. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν διάφορα κυτταρομορφολογικά κριτήρια που εμπλέκονται στη διαδικασία λήψης απόφασης και στο τέλος του κάθε ένα, οι πιθανότητες για μια περίπτωση να ανήκει σε μια συγκεκριμένη κατηγορία είναι ήδη γνωστές.

Γράφημα 5: Μοντέλο-1β-CART, για την πρόβλεψη της κυτταρολογικής έκβασης.





### 10.3.1.1. Μοντέλο-2-CART

Το Μοντέλο-2-CART είναι καταρτισμένο χρησιμοποιώντας ως στόχο τις δύο ιστολογικές κατηγορίες (καλοήθης και κακοήθης). Ομοίως με το Μοντέλο-1-CART, αυτό το μοντέλο βασίζεται στα κυτταρομορφολογικά κριτήρια και χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της ιστολογικής έκβασης. Η απόδοση του Μοντέλου-2-CART παρουσιάζεται στον επόμενο πίνακα (το δέντρο είχε διαμόρφωση CRT-10-2-10).

**Πίνακας 31: Αποτελέσματα Μοντέλου-2-CART για πρόβλεψη του ιστολογικού αποτελέσματος**

Σημειωθέν	Προβλέφθηκαν		
	ΚΑΛΟΗΘΗΣ	ΚΑΚΟΗΘΗΣ	Ποσοστό ορθότητας
ΚΑΛΟΗΘΗΣ	235	16	93.6%
ΚΑΚΟΗΘΗΣ	19	232	92.4%
Συνολικό Ποσοστό	50.6%	49.4%	93.0%

Οι σχετικές ΑΘ, ΑΑ, ΨΘ και ΨΑ περιπτώσεις εμφανίζονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 32: Αληθώς θετικές, αληθώς αρνητικές και ψευδώς θετικές και αρνητικές περιπτώσεις για το Μοντέλο-2-CART.**

ΑΘ	ΑΨ	ΨΘ	ΨΑ	Σύνολο
232	235	16	19	502

Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, η ειδικότητα, η ευαισθησία και άλλα στατιστικά στοιχεία παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα.

**Πίνακας 33: Ειδικότητα, ευαισθησία της Κυτταρολογικής διάγνωσης**

Ευαισθησία=	92.43%
Ειδικότητα=	93.63%
PPV=	93.55%
NPV=	92.52%
FPR=	6.37%
FNR=	7.57%
OA=	93.03%

Το δέντρο που δημιουργήθηκε παρουσιάζεται στο Γράφημα 6. Αξίζει να σημειωθεί πως ο προσανατολισμός είναι το κύριο προτεινόμενο διαγνωστικό στοιχείο και επιπρόσθετα, η χρωματίνη, οι πυρηνίσκοι, η παρουσία μονοκυττάρων και η ηλικία του ασθενή αποτελούν

σημαντικά στοιχεία του δέντρου. Επιπρόσθετα, η συνολική ακρίβεια του δέντρου δεν είναι στατιστικά σημαντικά διαφορετική από την συνηθισμένη κυτταρολογική διάγνωση.

**Πίνακας 34: Σύγκριση Κυτταρολογικής διάγνωσης και Μοντέλου-2-CART**

	Μοντέλο-2-CART	Κυτταρολογικό όριο αποκοπής TBS III	Κυτταρολογικό όριο αποκοπής TBS IV
Ευαισθησία	92.43%	89.64%	80.48%
Ειδικότητα	93.63%	80.48%	96.41%
PPV	93.55%	82.12%	95.73%
NPV	92.52%	88.60%	83.16%
FPR	6.37%	19.52%	3.59%
FNR	7.57%	10.36%	19.52%
OA	93.03%	85.06%	88.45%



#### **10.4. Συζήτηση αποτελεσμάτων**

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας το Μοντέλο-1-CART έχει όμοια απόδοση με την κυτταρολογική προσέγγιση, εισάγοντας, όμως, πιο απλοποιημένους κανόνες για τη διαδικασία διάγνωσης. Οι προτεινόμενοι από αυτό το μοντέλο κανόνες είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν σε καθημερινή πρακτική.

Το Μοντέλο-2-CART για την πρόβλεψη της ιστολογικής έκβασης είχε καλύτερη ακρίβεια από την κυτταρολογική διάγνωση.

# 11. Περίληψη

## 11.1. **Εισαγωγή**

Η παρούσα μελέτη περιγράφει τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας των δεδομένων κυτταρολογικής εξέτασης του θυρεοειδούς. Τα διαθέσιμα δεδομένα προήλθαν από 521 οζίδια, τα οποία εξετάστηκαν κυτταρολογικά και στην συνέχεια επιβεβαιώθηκαν με ιστολογική εξέταση.

Εντός του άρθρου αυτού εξετάζουμε την δυνητική εφαρμογή Δέντρων Ταξινόμησης και Κατηγοριοποίησης (CARTs) και συγκεκριμένα επικεντρωνόμαστε σε τρία θέματα:

1) Ποιά είναι η καλύτερη μέθοδος χρήσης των κυτταρομορφολογικών κριτηρίων, ώστε να δημιουργηθεί ένας απλός και ανθρώπινα κατανοητός αλγόριθμος καθημερινής χρήσης τους κατά τη διάρκεια της κυτταρολογικής εξέτασης των δειγμάτων που ελήφθησαν από ασθενείς με ψηλαφητές ή υποκλινικές οζώδεις αλλοιώσεις του θυρεοειδούς αδένου; 2) Ποιά είναι η τιμή του κάθε μεμονωμένου κριτηρίου; 3) Είναι δυνατό τα κυτταρομορφολογικά κριτήρια να προβλέψουν με ακρίβεια το ιστολογικό αποτέλεσμα;

## 11.2. **Υλικό και μέθοδοι**

Το υλικό της μελέτης αποτελούν 521 όζοι, οι οποίοι εξετάστηκαν κυτταρολογικά. Κατά τη διάρκεια της εξέτασης κάθε περίπτωσης ξεχωριστά, καταγράφηκαν τα κυτταρομορφολογικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τον πυρήνα, το κυτταρόπλασμα, τις ομάδες κυττάρων και επιπρόσθετα άλλες πληροφορίες που σχετίζονται με παρατηρήσεις κατά την μικροσκοπική ανάλυση τους.

Υπήρξε ιστολογική επιβεβαίωση για όλες τις περιπτώσεις και σε ότι αφορά την κυτταρολογία, κατηγοριοποιήθηκαν σε μία από τις 6 κατηγορίες TBS (The Bethesda System - TBS).

## 11.3. **Αποτελέσματα**

Σε αυτή την μελέτη αξιολογήθηκαν τρία Δέντρα ταξινόμησης και κατηγοριοποίησης. Το Μοντέλο-1α-CART και το Μοντέλο-1β-CART χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των κυτταρομορφολογικών κριτηρίων, ώστε να αξιολογηθεί ο ρόλος τους στην αναπαραγωγή της κυτταρολογικής διάγνωσης και το Μοντέλο-2-CART χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της δυνατότητας πρόβλεψης της ιστολογικής διάγνωσης, βάσει της κυτταρομορφολογίας της παρακέντησης του θυρεοειδούς με λεπτή βελόνη (FNA).

#### **11.4. Συμπεράσματα**

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας το Μοντέλο-1-CART έχει όμοια απόδοση με την κυτταρολογική προσέγγιση, εισάγοντας, όμως, πιο απλοποιημένους κανόνες για τη διαδικασία διάγνωσης. Οι προτεινόμενοι από αυτό το μοντέλο κανόνες είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν σε καθημερινή πρακτική.

Το Μοντέλο-2-CART για την πρόβλεψη της ιστολογικής έκβασης είχε καλύτερη ακρίβεια από την κυτταρολογική διάγνωση.

## **12. Summary**

### **12.1. Introduction**

This paper describes the results of the statistical processing of thyroid cytological examination data. The available data come from 521 nodules that were both cytologically examined and subsequently had a histological confirmation.

Within this article we examine the potential application of Classification and Regression Trees (CARTs) and specifically we focus into three topics:

1. What is the best method to use the cytomorphological criteria, and produce a simple human comprehensible algorithm for their everyday use during cytological screening of thyroid specimens
2. What is the value of each individual criterion
3. Could cytomorphological criteria predict accurately the histological result?

### **12.2. Material and Methods**

The available material consists of 521 nodules, being cytological examined. During the examination of each case there were recorded cytomorphological characteristics related to the cell nucleus, cell cytoplasm, cell groups and additionally other information related to slide observations.

All the cases had histological confirmation and in relation to cytology there were assigned to one of the 6 TBS categories.

For processing reasons all the answers for the cytomorphological characteristics have been coded using a predefined finite number of characterizations for the cases that numeric answer could not be provided. The cytological answer according to TBS was numerically coded, a higher number in the response corresponds to a higher risk for malignancy. Among the various decision taking techniques applied in medicine, Classification And Regression Trees (CART) [1, 2] have been often used in the past [3, 4]. CARTs are an attractive statistical approach to extract knowledge from data as they are straight forward to construct, they provide statistical measures in all levels of decisions and they can be smoothly integrated into the everyday laboratory practice, as they create easy to understand by cytopathologists and humans in general rules.

### **12.3. CART results**

Three classification and regression trees have been evaluated in this study, CART-model-1a and CART-model-1b were used to evaluate the cytomorphological criteria in order to evaluate their role in the reproduction of the cytological diagnosis, and

CART-model-2 used to evaluate the potential of forecasting the histological diagnosis based on the thyroid FNA cytomorphology.

#### **12.4. Conclusions**

According to our results CART-Model-1 has an equal to the cytological approach performance, however introducing more simplified rules for the diagnostic procedure. The proposed rules by this model may be used in the everyday practice.

CART-Model-2 for the prediction of the histological outcome had better accuracy from the cytological diagnosis.

Key words: thyroid, cytopathology, cytology, reporting system, cytomorphological characteristics, CART, CART results



## 13. Βιβλιογραφία

AFIFY, A. M., LIU, J. & AL-KHAFAJI, B. M. 2001. Cytologic artifacts and pitfalls of thyroid fine-needle aspiration using ThinPrep: a comparative retrospective review. *Cancer*, 93, 179-86.

ALI, S. Z. & CIBAS, E. S. 2010. The Bethesda system for reporting thyroid cytopathology: definitions, criteria, and explanatory notes, New York, Springer.

BALOGH, Z. W., ABRAHAM, S., ROBERTS, S. & LIVOLSI, V. A. 1999a. Differential expression of cytokeratins in follicular variant of papillary carcinoma: an immunohistochemical study and its diagnostic utility. *Hum Pathol*, 30, 1166-71.

BALOGH, Z. W., FLEISHER, S., LIVOLSI, V. A. & GUPTA, P. K. 2002. Diagnosis of "follicular neoplasm": a gray zone in thyroid fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol*, 26, 41-4.

BALOGH, Z. W., GUPTA, P. K., YU, G. H., SACK, M. J. & LIVOLSI, V. A. 1999b. Follicular variant of papillary carcinoma. Cytologic and histologic correlation. *Am J Clin Pathol*, 111, 216-22.

BALOGH, Z. W. & LIVOLSI, V. A. 2000. Warthin-like papillary carcinoma of the thyroid. *Arch Pathol Lab Med*, 124, 1192-5.

BALOGH, Z. W., LIVOLSI, V. A., ASA, S. L., ROSAI, J., MERINO, M. J., RANDOLPH, G., VIELH, P., DEMAY, R. M., SIDAWY, M. K. & FRABLE, W. J. 2008. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol*, 36, 425-37.

BOCKLAGE, T., DITOMASSO, J. P., RAMZY, I. & OSTROWSKI, M. L. 1997. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: cytologic features and differential diagnostic considerations. *Diagn Cytopathol*, 17, 25-9.

CERISE, E. J., RANDALL, S. & OCHSNER, A. 1952. Carcinoma of the thyroid and nontoxic nodular goiter. *Surgery*, 31, 552-61.

CIBAS, E. S., ALEXANDER, E. K., BENSON, C. B., DE AGUSTIN, P. P., DOHERTY, G. M., FAQUIN, W. C., MIDDLETON, W. D., MILLER, T., RAAB, S. S., WHITE, M. L. & MANDEL, S. J. 2008. Indications for thyroid FNA and pre-FNA requirements: a synopsis of the National Cancer Institute Thyroid Fine-Needle Aspiration State of the Science Conference. *Diagn Cytopathol*, 36, 390-9.

CIBAS, E. S. & ALI, S. Z. 2009. The Bethesda System For Reporting Thyroid Cytopathology. *Am J Clin Pathol*, 132, 658-65.

CLARK & FACQUIN 2005. *Thyroid Cytopathology*, Springer.

CLARK, D. P. & FAQUIN, W. C. 2005. *Thyroid Cytopathology*, New York, Springer.

COCHAND-PRIOU, B., PRAT, J. J., POLIVKA, M., THIENPONT, L., DAHAN, H., WASSEF, M. & GUILLAUSSEAU, P. J. 2003. Thyroid fine needle aspiration: the morphological features on ThinPrep slide preparations. Eighty cases with histological control. *Cytopathology*, 14, 343-9.

COCHAND-PRIOU, B., SCHMITT, F. C., TOTSCH, M. & VIELH, P. 2011. The Bethesda terminology for reporting thyroid cytopathology: from theory to practice in Europe. *Acta Cytol*, 55, 507-11.

COLE, W. H., MAJARAKIS, J. D. & SLAUGHTER, D. P. 1949. Incidence of carcinoma of the thyroid in nodular goiter. *J Clin Endocrinol Metab*, 9, 1007-11.

COOPER, D. S., DOHERTY, G. M., HAUGEN, B. R., KLOOS, R. T., LEE, S. L., MANDEL, S. J., MAZZAFERRI, E. L., MCIVER, B., SHERMAN, S. I. & TUTTLE, R. M. 2006. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*, 16, 109-42.

CROCKFORD, P. M. & BAIN, G. O. 1974. Fine-needle aspiration biopsy of the thyroid. *Can Med Assoc J*, 110, 1029-32.

DELIGEORGI-POLITI, H. 1987. Nuclear crease as a cytodiagnostic feature of papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsies

*Diagn Cytopathol* 3, 307-310.

EL HAG, I. A. & KOLLUR, S. M. 2004. Benign follicular thyroid lesions versus follicular variant of papillary carcinoma: differentiation by architectural pattern. *Cytopathology*, 15, 200-5.

FADDA, G., MULE, A., ZANNONI, G. F., VINCENZONI, C., ARDITO, G. & CAPELLI, A. 1998. Fine needle aspiration of a Warthin-like thyroid tumor. Report of

a case with differential diagnostic criteria vs. other lymphocyte-rich thyroid lesions. *Acta Cytol*, 42, 998-1002.

FADDA, G., ROSSI, E. D., RAFFAELLI, M., MULE, A., PONTECORVI, A., MIRAGLIA, A., LOMBARDI, C. P. & VECCHIO, F. M. 2006b. Fine-needle aspiration biopsy of thyroid lesions processed by thin-layer cytology: one-year institutional experience with histologic correlation. *Thyroid*, 16, 975-81.

GHARIB, H., PAPINI, E., VALCAVI, R., BASKIN, H. J., CRESCENZI, A., DOTTORINI, M. E., DUICK, D. S., GUGLIELMI, R., HAMILTON, C. R., JR., ZEIGER, M. A. & ZINI, M. 2006. American Association of Clinical Endocrinologists and Associazione Medici Endocrinologi medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocr Pract*, 12, 63-102.

GONZALEZ, J. L., WANG, H. H. & DUCATMAN, B. S. 1993. Fine-needle aspiration of Hurthle cell lesions. A cytomorphologic approach to diagnosis. *Am J Clin Pathol*, 100, 231-5.

HODA, R. S. 2007. Non-gynecologic cytology on liquid-based preparations: A morphologic review of facts and artifacts. *Diagn Cytopathol*, 35, 621-34.

KEEBLER, C. M., REAGAN, J. W., AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL PATHOLOGISTS. & NATIONAL COMMITTEE FOR CAREERS IN MEDICAL TECHNOLOGY. 1977. *A Manual of cytotechnology*, Chicago, American Society of Clinical Pathologists.

KINI, S. 1996. *Guides to clinical aspiration biopsy*, New York, Igaku-Shoin.

KOCJAN 2010. *Diagnostic Cytopathology* Churchill Livingstone, Elsevier.

KOSS, L. G., WOYKE, S. & OLSZEWSKI, W. O. 1984. *Aspiration biopsy : cytologic interpretation and histologic bases*, New York, Igaku-Shoin.

MARTIN, H. E. & ELLIS, E. B. 1930. Biopsy by Needle Puncture and Aspiration. *Ann Surg*, 92, 169-81.

MESONERO, C. E., JUGLE, J. E., WILBUR, D. C. & NAYAR, R. 1998. Fine-needle aspiration of the macrofollicular and microfollicular subtypes of the follicular variant of papillary carcinoma of the thyroid. *Cancer*, 84, 235-44.

MILLER, J. M. 1955. Carcinoma and thyroid nodules; the problem in an endemic goiter area. *N Engl J Med*, 252, 247-51.

MILLER, J. M., HAMBURGER, J. I. & KINI, S. 1979. Diagnosis of thyroid nodules. Use of fine-needle aspiration and needle biopsy. *JAMA*, 241, 481-4.

OERTEL, Y. C. 1997. Fine-Needle Aspiration in the Evaluation of Thyroid Neoplasms. *Endocr Pathol*, 8, 215-224.

ORELL, S. R. 1992. *Manual and atlas of fine needle aspiration cytology*, Edinburgh; New York, Churchill Livingstone.

PAPANICOLAOU G. N., 1941. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. *Am J Ob Gyn*, 42, 193-206.

PAPANICOLAOU, G. N. 1949. Cytologic diagnosis of uterine cancer by examination of vaginal and uterine secretions. *Am J Clin Pathol*, 19, 301-8.

PAPINI 2002. Risk of malignancy in nonpalpable thyroid nodules: predictive value of ultrasound and color-Doppler features. *J Clin Endocrinol Metab*, 87, 1941-1946.

RABAGLIA, J. L., KABBANI, W., WALLACE, L., HOLT, S., WATUMULL, L., PRUITT, J., SNYDER, W. H. & NWARIAKU, F. E. 2010. Effect of the Bethesda system for reporting thyroid cytopathology on thyroidectomy rates and malignancy risk in cytologically indeterminate lesions. *Surgery*, 148, 1267-72; discussion 1272-3.

REDMAN, R., YODER, B. J. & MASSOLL, N. A. 2006. Perceptions of diagnostic terminology and cytopathologic reporting of fine-needle aspiration biopsies of thyroid nodules: a survey of clinicians and pathologists. *Thyroid*, 16, 1003-8.

RENSHAW, A. A. 2002. Hurthle cell carcinoma is a better gold standard than Hurthle cell neoplasm for fine-needle aspiration of the thyroid: defining more consistent and specific cytologic criteria. *Cancer*, 96, 261-6.

SODERSTROM, N. 1952. Puncture of goiters for aspiration biopsy. *Acta Med Scand*, 144, 237-44.

SOLOMON, A., GUPTA, P. K., LIVOLSI, V. A. & BALOCH, Z. W. 2002. Distinguishing tall cell variant of papillary thyroid carcinoma from usual variant of papillary thyroid carcinoma in cytologic specimens. *Diagn Cytopathol*, 27, 143-8.

STAMATAKI, M., ANNINOS, D., BROUNTZOS, E., GEORGOULAKIS, J., PANAYIOTIDES, J., CHRISTONI, Z., PEROS, G. & KARAKITSOS, P. 2008. The role of liquid-based cytology in the investigation of thyroid lesions. *Cytopathology*, 19, 11-8.

STEWART, F. W. 1933. The Diagnosis of Tumors by Aspiration. *Am J Pathol*, 9, 801-812 3.

SUEN 1996. Guidelines of the Papanicolaou Society of Cytopathology for the Examination of Fine-Needle Aspiration Specimens from Thyroid Nodules. *Diagnostic Cytopathology* 15, 84-89.

TAN, G. H. & GHARIB, H. 1997. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging. *Ann Intern Med*, 126, 226-31.

TSELENI-BALAFOUTA, S., KYROUDI-VOULGARI, A., PAIZI-BIZA, P. & PAPACHARALAMPOUS, N. X. 1989. Lymphocytic thyroiditis in fine-needle aspirates: differential diagnostic aspects. *Diagn Cytopathol*, 5, 362-5.

VASEI, M., KUMAR, P. V., MALEKHOSEINI, S. A. & KADIVAR, M. 1998. Papillary Hurthle cell carcinoma (Warthin-like tumor) of the thyroid. Report of a case with fine needle aspiration findings. *Acta Cytol*, 42, 1437-40.

WANG, H. H. 2006. Reporting thyroid fine-needle aspiration: literature review and a proposal. *Diagn Cytopathol*, 34, 67-76.

WARTOFSKY, L. 2009. Highlights of the American Thyroid Association Guidelines for patients with thyroid nodules or differentiated thyroid carcinoma: the 2009 revision. *Thyroid*, 19, 1139-43.

WEBB, A. J. 1974. Through a glass darkly. (The development of needle aspiration biopsy). *Bristol Med Chir J*, 89, 59-68.

WU, H. H., JONES, J. N., GRZYBICKI, D. M. & ELSHEIKH, T. M. 2003. Sensitive cytologic criteria for the identification of follicular variant of papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsy. *Diagn Cytopathol*, 29, 262-6.

YODER, B. J., REDMAN, R. & MASSOLL, N. A. 2006. Validation of a five-tier cytodiagnostic system for thyroid fine needle aspiration biopsies using cytohistologic correlation. *Thyroid*, 16, 781-6.

ZACKS, J. F., DE LAS MORENAS, A., BEAZLEY, R. M. & O'BRIEN, M. J. 1998. Fine-needle aspiration cytology diagnosis of colloid nodule versus follicular variant of papillary carcinoma of the thyroid. *Diagn Cytopathol*, 18, 87-90.

ZAHNISER, D. J. & SULLIVAN, P. J. 1996. CYTYC Corporation. *Acta Cytol*, 40, 37-44.

ΔΕΛΗΓΕΩΡΓΗ-ΠΟΛΙΤΗ, Ε.-. 2000. Ατλας και εγχειρίδιο των παθήσεων του θυρεοειδούς με FNA βιοψία Αθήνα.

L. BREIMAN, Classification and regression trees. Belmont, Calif.: Wadsworth International Group, 1984.

J. P. M. D. SÁ, *Applied statistics : using SPSS, Statistica, MATLAB, and R*, 2nd ed. Berlin ; New York: Springer, 2007.

M. TZIVRAS, T. M. MEGALOPOULOU, A. POULIAKIS, A. E. GIAHNAKI, I. G. KARAITIANOS, S. ARCHONDAKIS, J. GEORGOULAKIS, AND P. KARAKITSOS, "The potential of tree classifiers on the cytological examination of gastric lesions," *Archives of the Balkan Medical Union*, vol. 43, pp. 239-244, 2008.

P. KARAKITSOS, A. POULIAKIS, C. MERISTOUDIS, N. MARGARI, D. KASSANOS, M. KYRGIU, J. G. PANAYIOTIDES, AND E. PARASKEVAIDIS, "A preliminary study of the potential of tree classifiers in triage of high-grade squamous intraepithelial lesions," *Anal Quant Cytol Histol*, vol. 33, pp. 132-40, Jun 2011.