



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ & ΠΟΛΥΜΕΣΩΝ

**MEDIA CYBERNETICS IMAGE PRO PLUS:
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΟΔΙΚΑΣΤΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ
ΤΗΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Κορναράκη Γεωργία Ευαγγελία
Νικητάκης Αντώνης**

Επιβλέποντες:

Β.Ζαχαρόπουλος, Καθηγητής Τμήματος Εφ.Πληροφορικής & Πολυμέσων

Εμμ.Μιχαλοδημητράκης, Καθηγητής Ιατροδικαστικής

Α.Παπαβδή, Ειδικευόμενη Ιατρός Ιατροδικαστικής

(Μέλη του Εργαστηρίου Ιατροδικαστικών Επιστημών & Τοξικολογίας-ΠΑΓΝΗ)

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην εργασία που ακολουθεί θα προσπαθήσουμε αρχικά να έρθουμε σε μία πρώτη επαφή με την εφαρμογή προγραμμάτων πληροφορικής, αλλά και του ευρύτερου κλάδου της συγκεκριμένης επιστήμης στην ιατρική πράξη.

Βασικό εργαλείο για την πραγματοποίηση των μετρήσεων και την διεκπεραίωση της έρευνάς μας θα αποτελέσει η εφαρμογή του προγράμματος IMAGE PRO PLUS, το οποίο αποτελεί τον κύριο λόγο ύπαρξης της συγκεκριμένης εργασίας. Με τη βοήθεια του παραπάνω προγράμματος θα προσπαθήσουμε να μετρήσουμε τα νεκροτομικά ευρήματα, να συσχετίσουμε και να συγκρίνουμε τα μετρούμενα ποσοστά, ώστε να καταλήξουμε στα επιθυμητά συμπεράσματα.

Στη συνέχεια θα μιλήσουμε για τα χαρακτηριστικά του προγράμματος, την κατασκευή του, τον τρόπο λειτουργίας του, και θα προσπαθήσουμε να εντοπίσουμε στη βιβλιογραφία παρόμοιες εφαρμογές και χρήσεις του προγράμματος σε παλαιότερες εργασίες.

Ένα μέρος της εργασίας θα αφιερωθεί στην επεξήγηση της έννοιας του στεφανιαίου θανάτου και τις θεωρίες σχηματισμού της αθηρωματικής πλάκας.

Κεντρικό άξονα της έρευνας συνιστά η διεξοδική ανάλυση της μεθοδολογίας, που θα ακολουθηθεί και των μέσων που θα χρησιμοποιηθούν, καθώς και η σταδιακή πορεία της κατά την εφαρμογή του προγράμματος IMAGE PRO PLUS. Επίσης, θα παρατίθενται τα δεδομένα της έρευνας, τα αποτελέσματα τόσο των μικροσκοπικών όσο και των ψηφιακών μετρήσεων.

Τα τελευταία κεφάλαια της εργασίας θα αφιερωθούν στο συσχετισμό των ευρημάτων των μετρήσεων και στη γένεση των βασισμένων σε αυτά συμπερασμάτων.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Σκοπός Εργασίας	2
Πίνακας Περιεχομένων	3
Περιεχόμενα Εικόνων	5
Περιεχόμενα πινάκων και γραφημάτων	7
1. Εφαρμογή Πληροφορικής στην Ιατρική Επιστήμη	8
1.1 Η Ιατρική πληροφορική	9
1.1.1 Το αντικείμενο της Ιατρικής πληροφορικής	9
1.1.2 Παραδείγματα Εφαρμογών Ιατρικής Πληροφορικής στην Κλινική Ιατρική	10
1.2 Εφαρμογή Προγραμμάτων Ιατρικής Πληροφορικής στην Ελλάδα	10
2. Η Αθηρωματοσκληρηντική Νόσος	11
2.1 Ορισμός	13
2.2 Παθογένεση	14
2.3 Παράγοντες Παθογένεσης Αθηροσκλήρωσης	17
2.4 Θεραπεία της νόσου	19
3 Μέσα και Μεθοδολογία της Έρευνας	20
3.1 Λήψη και Προετοιμασία του δείγματος της έρευνας	21
3.2 Διαδικασία Δειγματοληψίας - Επεξεργασίας	23
3.3 Προβλήματα που παρουσιάστηκαν κατά η διενέργεια της έρευνας	25
3.4 Διαδικασία Επιλογής Δειγμάτων	27
4. Ψηφιακή Απεικονιστική Μορφομετρία	29
4.1 Η Ψηφιακή Εικόνα	29
4.2 Επεξεργασία Ψηφιακής Εικόνας	30
4.3 Εξαγωγή Χαρακτηριστικών	32
5. Το Πρόγραμμα Image Pro Plus	33
5.1 Χαρακτηριστικά του προγράμματος	33
5.2 Δυνατότητες και Λειτουργίες του Image Pro Plus	34
5.3 Σύγκριση του Image Pro Plus με άλλα Προγράμματα Επεξεργασίας Εικόνας	34

5.4 Εργασίες στις οποίες έχει χρησιμοποιηθεί σαν Εργαλείο Μετρήσεων το Image Pro Plus	36
6. Πορεία Έρευνας και Εφαρμογή του Image Pro Plus.....	39
6.1 Αναλυτική πορεία Μετρήσεων	39
6.2 Μετρήσεις με τη Βοήθεια των Macro Εντολών	49
6.3 Αποτελέσματα και Σχολιασμός Μετρήσεων	56
7. Συμπεράσματα	67
8. Επίλογος.....	70
9. Βιβλιογραφία.....	71

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1 : Τοιχώματα Αρτηρίας και Χοληστερίνη	12
Εικόνα 2 : Απόφραξη αρτηρίας Μέσω Συσσώρευσης Χοληστερίνης	14
Εικόνα 3 : Ακατάλληλο δείγμα αγγείου	26
Εικόνα 4 : Κατάλληλο προς επεξεργασία δείγμα αγγείου	26
Εικόνα 5 : Τυπικό δείγμα αγγείου με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης	27
Εικόνα 6 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με τριχρωματική Masson's (i).....	27
Εικόνα 7 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με τριχρωματική Masson's (ii).....	28
Εικόνα 8 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με τριχρωματική Masson's (iii).....	28
Εικόνα 9 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με τριχρωματική Masson's (iv).....	29
Εικόνα 10 : Άνοιγμα εικόνας στο Image Pro Plus	40
Εικόνα 11 : Χρήση εργαλείου magic ward στο Image Pro Plus	40
Εικόνα 12 : Χρήση εργαλείου trace στο Image Pro Plus	41
Εικόνα 13 : Επιλογή του συνολικού αυλού στο Image Pro plus	41
Εικόνα 14 : Προσθήκη της επιλεγμένης περιοχής του συνολικού αυλού στο multiple AOI εργαλείου του Image Pro Plus	42
Εικόνα 15 : Επιλογή του ελεύθερου αυλού του αγγείου στο Image Pro Plus	43
Εικόνα 16 : Επιλογή fill στο Image Pro Plus (i).....	43
Εικόνα 17 : Επιλογή fill στο Image Pro Plus (ii)	44
Εικόνα 18 : Επιλογή fill στο Image Pro Plus (iii)	44
Εικόνα 19 : Επιλογή segmentation στο Image Pro Plus	45
Εικόνα 20 : Η καρτέλα color cube based στο Image Pro Plus	45
Εικόνα 21 : Η καρτέλα color cube based στο Image Pro Plus και οι δυνατότητες της (ακρίβεια επιλογής επιφάνειας).....	46
Εικόνα 22 : Η καρτέλα color cube based στο Image Pro Plus και οι δυνατότητες της(εφαρμογή white on black).....	46
Εικόνα 23 : Επιλογή apply mask στο Image Pro Plus	47
Εικόνα 24 : Η εικόνα μετά την εφαρμογή του apply mask στο Image Pro Plus	47
Εικόνα 25 : Επιλογή display range στο Image Pro Plus	48

Εικόνα 26 : Αποτέλεσμα επί % ποσοστού του ελεύθερου αυλού σε σχέση με το συνολικό αγγείο στο Image Pro Plus.....	48
Εικόνα 27 : Επιλογή Macro στο Image Pro Plus.....	53
Εικόνα 28 : Επιλογή συνάρτησης metrisi3() που θα «τρέξει» στο Image Pro Plus	54
Εικόνα 29 : Άνοιγμα του Macro Editor για να «τρέξει» η επιλεγμένη συνάρτηση στο Image Pro Plus	55
Εικόνα 30 : Αποτέλεσμα επί % ποσοστού του ελεύθερου αυλού σε σχέση με το συνολικό αγγείο στο Image Pro Plus με τη λειτουργία των Macro εντολών	55

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 : Συγκριτικός πίνακας του image Pro Plus με άλλα προγράμματα επεξεργασίας εικόνας	35
Πίνακας 2 : Συγκεντρωτικός πίνακας για το ποσοστό στένωσης του αυλού που μετρήθηκε και το αντίστοιχο ποσοστό της περιεχόμενης χοληστερόλης,	56
Πίνακας 3 : Πίνακας για τη φυλετική κατανομή των ασθενών.....	59
Πίνακας 4 : Πίνακας για το ποσοστό της στένωσης με διαβαθμίσεις.....	60
Πίνακας 5 : Πίνακας για το ποσοστό της χοληστερόλης με διαβαθμίσεις	61
Πίνακας 6 : Πίνακας με το ποσοστό απόκλισης της μετρούμενης στένωσης με το πρόγραμμα και της στένωσης η οποία υπολογίσθηκε κατά την απλή μικροσκόπηση	64
Γράφημα 1 : Γράφημα για τη φυλετική κατανομή των ασθενών	59
Γράφημα 2 : Γράφημα για το το ποσοστό της στένωσης με διαβαθμίσεις.....	60
Γράφημα 3 : Γράφημα για το ποσοστό της χοληστερόλης με διαβαθμίσεις	62
Γράφημα 4 : Γράφημα της σχέσης που έχει το ποσοστό της στένωσης με την περιεχόμενη στην πλάκα χοληστερόλη.....	63
Γράφημα 5 : Γράφημα για την αναλυτική απεικόνιση της ίδιας σχέσης στην κατηγορία ασθενών με στένωση έως 75%.....	63
Γράφημα 6 : Γράφημα για την αναλυτική απεικόνιση της ίδιας σχέσης στην κατηγορία ασθενών με στένωση μεγαλύτερη του 75,1 %	64

1. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗ

Η ταχύτατη εξάπλωση των νέων τεχνολογιών πληροφορικής και επικοινωνιών σε όλο το φάσμα των καθημερινών δραστηριοτήτων του ανθρώπου, δημιουργεί μία νέα κοινωνική επανάσταση, που έχει οδηγήσει στην «κοινωνία της πληροφορίας». Ήδη οι φορείς παροχής υπηρεσιών υγείας χρησιμοποιούν εκτενώς δίκτυα υπολογιστών, με ψηφιακά αποθηκευτικά μέσα και υψηλής τεχνολογίας σταθμούς εργασίας, όπου άνθρωποι και μηχανές συνεργάζονται με στόχο την ολοκλήρωση πολύμορφων ιατρικών δεδομένων και την άμεση και έγκαιρη διάθεση της ιατρικής εξειδίκευσης και εμπειρίας σε όλους τους πολίτες.

Το εύρος των εφαρμογών της πληροφορικής παρουσιάζεται τεράστιο και συνδυάζοντας ένα πλούσιο υλικό από κείμενα, εικόνες, ήχους και άλλης μορφής δεδομένα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν με αποδοτικό και επικοδομητικό τρόπο σε πολλές περιπτώσεις ποικίλων διαδικασιών. Μία από τις πολλές περιπτώσεις τέτοιων εφαρμογών αποτελεί η χρήση των νέων τεχνολογιών και της πληροφορικής στην ιατρική διαδικασία.

Σήμερα, υπάρχει διεθνώς η τάση να χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο οι υπολογιστές και το διαδίκτυο στην Ιατρική, τόσο στη διδασκαλία της και στη γενικότερη υποστήριξη της ιατρικής πράξης, όσο και στην οργάνωση και διοίκηση του ευρύτερου χώρου παροχής υπηρεσιών υγείας. Η πρακτική αυτή είναι ήδη γνωστή στον ιατρικό κόσμο της Ελλάδας και αναμένεται να ανθίσει περισσότερο, καθώς χρηματοδοτείται και προάγεται ενεργά σε εθνικό και ευρωπαϊκό επίπεδο η εκτεταμένη χρήση των τεχνολογιών της πληροφορικής και των επικοινωνιών σε όλους τους τομείς της κοινωνίας.

Όσο η τεχνολογία εξελίσσεται, και τα δίκτυα αποκτούν μεγαλύτερες ταχύτητες, τόσο πιο πολλές εφαρμογές των πολυμέσων εμφανίζονται. Πολλές από αυτές είναι εντελώς πρωτοποριακές, και άλλες βασίζονται σε παλιότερες ανάγκες, που μέχρι τώρα εξυπηρετούνταν με άλλες λύσεις. Η χρήση της τεχνολογίας και της πληροφορικής αποτελεί βασική δεξιότητα στην ιατρική, την περίθαλψη και την έρευνα. Στους σκοπούς της Ιατρικής Πληροφορικής περιλαμβάνεται η εξοικείωση των ιατρών-επιστημόνων στην αξιοποίηση των δυνατοτήτων των Η/Υ, των τηλεπικοινωνιών και του Internet για την εξόρυξη ιατρικών πληροφοριών και δεδομένων από βάσεις γνώσης, δεδομένων και ιατρικών πληροφοριών, που είναι προσπελάσιμες στον παγκόσμιο ιστό. Γίνονται εφαρμογές συστημάτων πληροφορικής, τα οποία χρησιμοποιούνται σήμερα για τη διακίνηση της ιατρικής γνώσης, τη διαχείριση της ιατρικής πληροφορίας, τη χρήση ηλεκτρονικού φακέλου για τους ασθενείς και την υποστήριξη της ιατρικής απόφασης.

1.1 Η ΙΑΤΡΙΚΗ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ

1.1.1 ΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

Η ιατρική πληροφορική αποτελεί μία επιστήμη, η οποία αναπτύσσει θεωρητικές μεθόδους και πρακτικά εργαλεία για την υποστήριξη και βελτιστοποίηση της ιατρικής ανακάλυψης, της ιατρικής εκπαίδευσης, της ιατρικής πράξης και της οργάνωσης υπηρεσιών υγείας.

Ο όρος "Ιατρική Πληροφορική" ("Informatique Medicale") δημιουργήθηκε στη Γαλλία και ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του 1960 ιδρύθηκαν πανεπιστημιακά τμήματα με αυτό τον τίτλο στην Γαλλία, Βέλγιο και Ολλανδία. Στην δεκαετία του 1970 αντίστοιχες ερευνητικές μονάδες και ο όρος "Ιατρική Πληροφορική" έκαναν την εμφάνισή τους στην Γερμανία, Πολωνία, και ΗΠΑ (ως "Medizinische Informatik", "Informatyki Medycnej" και "Medical Informatics" αντίστοιχα).

Στα χρόνια που μεσολάβησαν μεταξύ της μοντέρνας υπολογιστικής τεχνολογίας και θεωρίας, η Ιατρική Πληροφορική απέκτησε ένα σύνθετο περιεχόμενο. Μπορούμε να ορίσουμε την Ιατρική Πληροφορική σαν το βιοϊατρικό κλάδο που μελετά εφαρμογές της πληροφορικής και συναφών επιστημών στην ιατρική με σκοπό την βελτιστοποίηση των διαδικασιών:

- ιατρικής ανακάλυψης,
- μετάδοσης και διδασκαλίας της ιατρικής γνώσης,
- καταγραφής, αποθήκευσης, ανάκλησης και μετάδοσης των ιατρικών δεδομένων, και
- λήψης ιατρικών αποφάσεων, άσκησης ιατρικών παρεμβάσεων, και οργάνωσης των υπηρεσιών υγείας.

Η Ιατρική Πληροφορική χρησιμοποιεί μεθόδους από πολλές επιστήμες όπως:

- Επιστήμη Πληροφοριών
- Επιστήμη Υπολογιστών
- Βιοϊατρική Τεχνολογία
- Επιστήμη Γνωστικών Λειτουργιών
- Οργάνωση και Διοίκηση Επιχειρήσεων
- Στατιστική
- Μαθηματικά
- Τεχνητή Νοημοσύνη
- Επιχειρησιακή Έρευνα
- Οικονομικά

Η Ιατρική Πληροφορική έχει κατά συνέπεια περιεχόμενο βασικής έρευνας, κλινικής ιατρικής, και οργάνωσης υπηρεσιών υγείας. Τα τελευταία χρόνια έχει ξεφύγει από τα στενά πλαίσια του σχεδιασμού και εφαρμογής πληροφοριακών συστημάτων και αποτελεί μια ολοκληρωμένη, αναλυτική, και ορθολογιστική μέθοδο προσέγγισης της ιατρικής έρευνας και πράξης.

1.1.2 ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ

1.Σύστημα HELP (Kuperman et al. "HELP: A Dynamic Hospital Information System", 1991):

- Πλήρες κλινικό πληροφοριακό σύστημα
- Υποστήριξη διοικητικών - οικονομικών λειτουργιών
- Υποστήριξη κλινικών αποφάσεων βασισμένων σε πρωτόκολλα και τεχνολογία εμπείρων συστημάτων
- Μελέτες ιατρικού και οικονομικού αποτελέσματος

2.Τηλεϊατρική :

- Τηλεπαρακολούθηση
- Γρήγορη πρόσβαση σε λειτουργούς υγείας
- Εκπαίδευση και ενημέρωση ασθενών
- Διασύνδεση πρωτοβάθμιας με νοσοκομειακή φροντίδα
- Έσο- και δια-νοσοκομειακή επικοινωνία

3.Ιατρική διάγνωση (π.χ., σύστημα INTERNIST).

1.2 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Σύμφωνα με τον καθηγητή Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και πρόεδρο του Ελληνικού Ιδρύματος Καρδιολογίας (ΕΛΙΚΑΡ) κ. **Π. Τούτουζα** ένα μεγάλο μέρος του ιατρό-τεχνολογικού εξοπλισμού τείνει πλέον να απομακρυνθεί από τα νοσοκομεία και τα χέρια των γιατρών. Οι πρόοδοι της τεχνολογίας και η εφαρμογή της πληροφορικής στην υγεία, σε συνδυασμό με τις εξελίξεις στη φαρμακευτική αντιμετώπιση των νοσημάτων, έχουν μειώσει, σύμφωνα με τον κ. Τούτουζα, τη διάρκεια νοσηλείας και παραμονής των ασθενών στο νοσοκομείο. *«Οι τεχνολογικές πρόοδοι»*, επισημαίνει ο πρόεδρος του ΕΛΙΚΑΡ, *«βοηθούν τον γιατρό τόσο ως προς τη διάγνωση όσο και ως προς τη θεραπεία δίδοντάς του ανά πάσα στιγμή μια ολοκληρωμένη εικόνα της κατάστασης του ασθενούς»*. Βεβαίως ο κ. Τούτουζας υπογραμμίζει, ότι σε περιπτώσεις πολύ σοβαρών

περιστατικών, όπως το οξύ έμφραγμα, η ταχύτερη προσέλευση του ασθενούς στο νοσοκομείο είναι απαραίτητη και μπορεί να αποδειχθεί σωτήρια.

Η διείσδυση των τεχνολογιών του Διαδικτύου στην ιατρική αναμένεται να συμβάλει στην άρση αρκετών εμποδίων για την παροχή ικανοποιητικών υπηρεσιών, αλλά και σε βελτίωση της ποιότητας των υπηρεσιών που απολαμβάνουν σήμερα οι πολίτες. Τον τελευταίο καιρό αυξάνονται και στην Ελλάδα οι σχετικές πρωτοβουλίες για την εφαρμογή προγραμμάτων τηλεϊατρικής, κυρίως στο χώρο των ιδιωτικών νοσηλευτικών ιδρυμάτων.

Πρόσφατα ξεκίνησε και επίσημα τη λειτουργία του το Ιατρικό Portal www.asklipios.org, που αποτελεί τη Δικτυακή Πύλη του Ινστιτούτου Ψηφιακής Ιατρικής, ενός Ινστιτούτου με σκοπό την μελέτη, την έρευνα και την υλοποίηση εφαρμογών και υπηρεσιών της ψηφιακής ιατρικής στο σύνολό τους.

Η πύλη αυτή, που απευθύνεται σε όλους τους γιατρούς ανά την Ελλάδα, έχει σκοπό να υποστηρίξει τους γιατρούς αλλά και τους ασθενείς τους να αξιοποιήσουν με τον καλύτερο δυνατό τρόπο τις δυνατότητες που παρέχονται μέσω των πολλών εφαρμογών του Internet και της πληροφορικής.

2. Η ΑΘΗΡΩΜΑΤΟΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ

Από τους πρόποδες της ιατρικής επιστήμης, ο τομέας της καρδιολογίας ξεχώρισε για τη γοητεία της εξερεύνησης του κρισιμότερου οργάνου για το συντονισμό όλων των λειτουργιών. Η ελάχιστη δυσλειτουργία που τυχόν παρουσιαστεί σε κάθε μεμονωμένο μυοκύτταρο επηρεάζει άμεσα την ομοιόσταση αλλά και τη λειτουργία των υπολοίπων οργάνων. Σε γενικές γραμμές, οι καρδιακές παθήσεις έχουν ως σημείο αναφοράς τα στεφανιαία αγγεία, τα μεγάλα αγγεία - αορτή και πνευμονική αρτηρία -, τις καρδιακές βαλβίδες -τριγλώχινα και διγλώχινα -, τις καρδιακές κοιλότητες, τις μυοκαρδιακές συνάψεις αλλά και τις μεταβολές στα ίδια τα μυοκύτταρα, τη λειτουργικότητα του ερεθισματοαγωγού συστήματος, την αντίδραση της καρδιάς με το περιεχόμενο του περικαρδιακού σάκου (περικαρδίτιδες), αλλά και των μυοκαρδιακών κυττάρων με φλεγμονώδεις ή μη παράγοντες που έρχονται σε επαφή. Από το σύνολο των καρδιολογικών παθήσεων, εξέχουσα θέση καταλαμβάνει η στεφανιαία νόσος, τόσο για το γεγονός ότι αποτελεί τη συχνότερη σε εμφάνιση νόσο στο σύγχρονο κόσμο, αλλά και τις συνεχώς νέες απόψεις και θεωρίες που διατυπώνονται για την παθογένεια αλλά και την εξέλιξή της.

Η αθηρωματική νόσος αποτελεί την πρωτεύουσα αιτία θνητότητας και θνησιμότητας στο σύγχρονο βιομηχανοποιημένο κόσμο. Ειδικότερα, η θνητότητα της ισχαιμικής καρδιακής νόσου στις ΗΠΑ είναι 6 φορές μεγαλύτερη απ ότι στην Ιαπωνία, αν και έχει αποδειχθεί ότι πληθυσμοί με μικρότερη ανάπτυξη μετακομίζοντας στις ΗΠΑ ή ανάλογης βιομηχανοποίησης

χώρα, υιοθετώντας τις δυτικές συνήθειες και τρόπο διατροφής και ζωής ,εξισώνουν τους δείκτες της ισχαιμικής νόσου.



Εικόνα 1 : Τοιχώματα Αρτηρίας και Χοληστερίνη

Στην Αυστραλία, κάθε 10 λεπτά ένας ντόπιος πεθαίνει από αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. Ένας στους 6 νοσεί κάποια στιγμή στη ζωή του, ενώ το ποσοστό αυτό αναμένεται να φτάσει το 1 στους 4 το έτος 2050. Κατά τις τελευταίες 10ετίες παρακολουθούμε μια σημαντική μείωση, σε ορισμένες χώρες, των θανάτων που οφείλονται στη στεφανιαία καρδιοπάθεια. Είναι χαρακτηριστικό πως κατά την εικοσαετία 1980-2000 παρατηρήθηκε στις ΗΠΑ μείωση των θανάτων από στεφανιαία νόσο κατά 40%, που σημαίνει στην πράξη 341.000 λιγότεροι θάνατοι. Προσπαθώντας να εξακριβώσουν τα αίτια αυτής της μείωσης, διαφάνηκε ότι στο μεγαλύτερο ποσοστό (44%) αποδόθηκε στις μεταβολές των παραγόντων κινδύνου, ήτοι: μείωση της χοληστερόλης (24%), μείωση της αρτηριακής πίεσης (20%), μείωση του καπνίσματος (12%) και σωματική άσκηση (5%), παρά το γεγονός ότι οι μειώσεις αυτές αντισταθμίζονταν σε έναν βαθμό από την αύξηση του σωματικού βάρους και του σακχαρώδους διαβήτη.

Να σημειωθεί ότι οι θεραπείες επαναγγείωσης για τη χρόνια στηθάγχη (αγγειοπλαστική και by pass) συνέβαλαν κατά 5% στη μείωση των θανάτων, ενώ η δευτερογενής πρόληψη και η επαναγγείωση, ύστερα από έμφραγμα κατά 11%. Παρόμοια είναι και τα ευρήματα σε άλλες χώρες (π.χ. Φινλανδία, Αγγλία κ.λπ.), ενώ σε χώρες όπου παρατάθηκε αύξηση των καρδιαγγειακών νοσημάτων (π.χ. Πεκίνο), αυτή αποδόθηκε στην επιδείνωση των παραγόντων κινδύνου και κυρίως της χοληστερόλης.

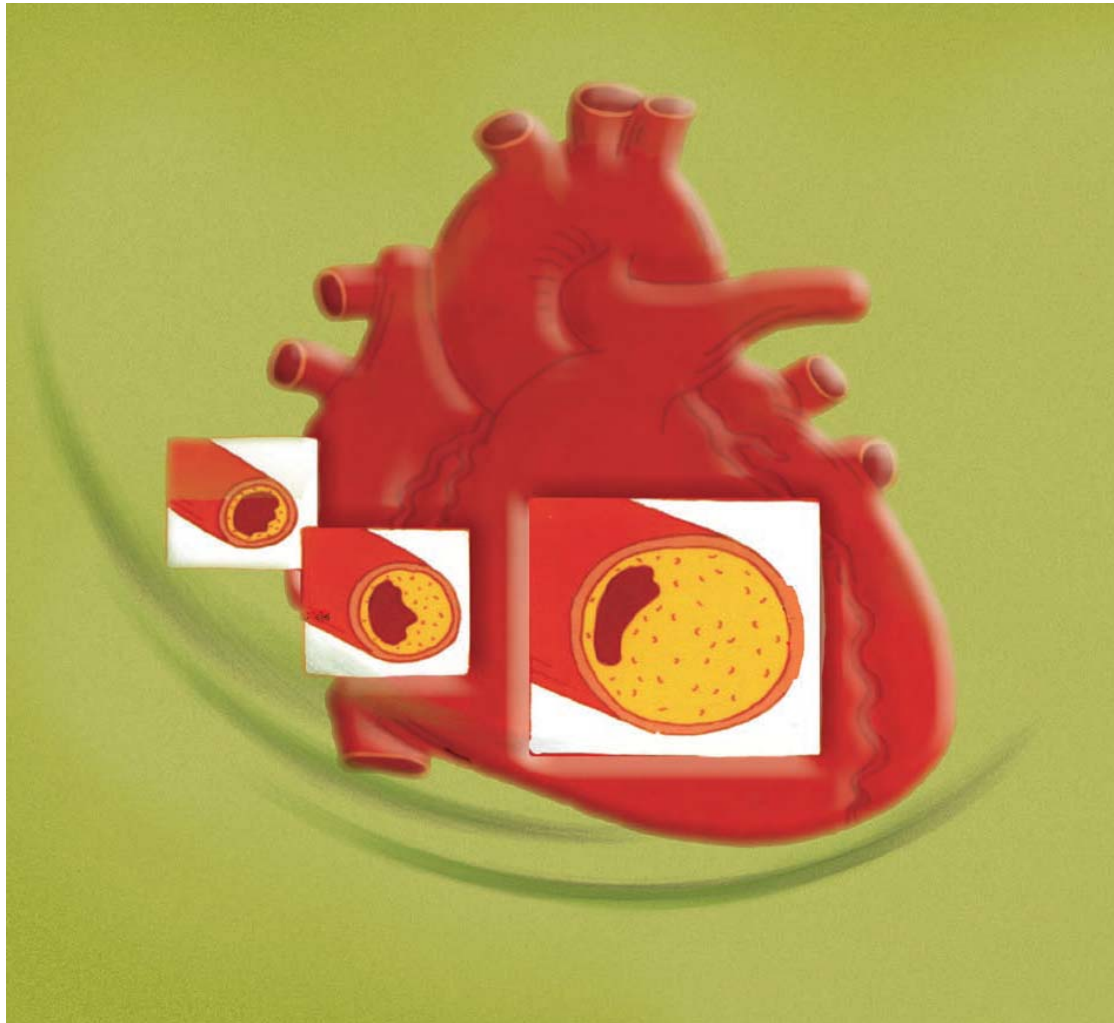
Αναφερόμενοι στο γεωγραφικό χώρο της Ευρώπης, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 15 χώρες, συμπεριλαμβανομένου και της Ελλάδας, το 21% των Ευρωπαίων ασθενών ανήκει στο καπνιστικό κοινό παρά την ήδη διαγνωσθείσα νόσο, 1 στους 3 είναι παχύσαρκος ενώ πάνω από το 50 % παρουσιάζει αυξημένη LDL ή έχει ιστορικό διαβήτη. Ειδικότερα, η Ελλάδα έχει το υψηλότερο ποσοστό καπνιστών μετά την Ισπανία, και όλα αυτά όταν οι δείκτες δείχνουν ότι ένας στους δύο πεθαίνει από ισχαιμική καρδιακή νόσο. Για τα ελληνικά δεδομένα, έχει παρατηρηθεί ότι η στεφανιαία νόσος πλέον εκδηλώνεται ολοένα και νωρίτερα. Ενώ πριν από 20 χρόνια η ηλικία που η συμπτωματολογία έκανε αρχικά την εμφάνισή της ήταν η δεκαετία των 60 και άνω, τώρα στα 50 ή και νωρίτερα ακόμα υπάρχουν πρώιμες και ισχυρές εκδηλώσεις της νόσου. Η μείωση αυτή της ηλικίας αποδίδεται στο κάπνισμα, την κακή διατροφή και τη κατανάλωση αλκοόλ.

Η επίπτωση της στεφανιαίας νόσου λαμβάνοντας υπ όψιν την κατανομή της ηλικίας στον ελληνικό πληθυσμό, εκτιμήθηκε ότι είναι 10 θάνατοι ανά 100000 άτομα. Κάθε μέρα στη χώρα μας καταγράφονται 65 εμφράγματα, από τα οποία 27 είναι θανατηφόρα, ενώ περίπου 17000 άτομα αποβιώνουν κάθε χρόνο από ισχαιμία του μυοκαρδίου. Και ενώ η εμφάνιση στεφανιαίας νόσου στις γυναίκες δεν ήταν συχνό φαινόμενο, σύμφωνα με τις τελευταίες έρευνες, ολοένα και αυξάνεται ο αριθμός των νοσούντων γυναικών, και αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι οι γυναίκες λόγω του καθημερινού stress, καπνίσματος και λήψης αντισυλληπτικών σκευασμάτων, έχουν χάσει την ασπίδα που τα οιστρογόνα τους προσέφεραν τη γόνιμη περίοδο της ζωής τους.

Εκτός από το πλήγμα σε ανθρώπινο δυναμικό, η αθηρωματοσκληρυντική νόσος αποτελεί σοβαρή πληγή για το σύστημα υγείας και οικονομίας, λόγω της επιβάρυνσης που δέχονται αμφότεροι οι τομείς προκειμένου να αντιμετωπιστεί η κάλυψη της ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης των νοσούντων και νοσηλευόμενων.

2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Η αθηρωμάτωση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος η οποία έχει τόσο γενετικό υπόβαθρο όσο και άμεση και ευθεία εξέλιξη με τον τρόπο ζωής των εκάστοτε ατόμων. Με τον όρο αθηρωμάτωση εννοούμε την εναπόθεση λιπιδίων στο τοίχωμα των αρτηριών και στην προκειμένη περίπτωση των στεφανιαίων αρτηριών, όπου προοδευτικά προκαλούν στένωση του ελεύθερου αυλού, με επακόλουθο τη μείωση της αιματικής ροής προς το μυοκάρδιο, και τελικά την εμφάνιση ισχαιμικών επεισοδίων, με προεξέχουσα τη στηθάγχη (σταθερή ή ασταθής) και το έμφραγμα του μυοκαρδίου.



Εικόνα 2 : Απόφραξη αρτηρίας Μέσω Συσσώρευσης Χοληστερίνης

2.2 ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ

Η αθηρωματοσκλήρυνση είναι μια νόσος η οποία αφορά τις μεγάλες και του μέσου μεγέθους αρτηρίες του σώματος. Εκτός των στεφανιαίων, κυριότερη εντόπιση είναι στις έσω/έξω καρωτίδες, τις εγκεφαλικές, την κοιλιακή και ανιούσα αορτή και τις λαγόνιες αρτηρίες.

Δύο έχουν υπάρξει στο παρελθόν και ειδικότερα τη τελευταία εκατονταετία οι σημαντικότερες θεωρίες της παθογένεσης της αθηρωματικής πλάκας, η θεωρία της θρομβογονικότητας της πλάκας και η λιπιδική. Σύμφωνα με την πρώτη, η έσω στιβάδα των στεφανιαίων αγγείων παχύνεται, μετά από σχηματισμό ινικής από ινοβλάστες και σε δεύτερο στάδιο πρόσληψη ελεύθερων κυκλοφορούντων λιπιδίων. Σύμφωνα με τη λιπιδική θεωρία, η εισροή λιπιδίων μεταξύ των χιτώνων των αρτηριών έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη κυτταρική περιεκτικότητα σε λιπίδια, η οποία προκύπτει από διαταραχή του μηχανισμού ο οποίος είναι υπεύθυνος για τη ρύθμιση της πρόσληψης και αποβολής των λιπιδίων. Η

σημερινή επικρατούσα θεωρία έχει ως αφετηρία τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και το τελικό αποτέλεσμα είναι η δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας.

Το ενδοθήλιο έχει ένα από τους ζωτικότερους ρόλους στη διαδικασία της αιμόστασης. Βλάβη του, η οποία προκαλείται κατά κύριο λόγο από τη μειωμένη παραγωγή NO, ή αυξημένα επίπεδα LDL πρωτεϊνών οδηγούν στον τραυματισμό και του υποκείμενου λείου μυϊκού ιστού του τοιχώματος των αρτηριών. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η είσοδος εστέρων χοληστερόλης σε μακροφάγα φλεγμονώδη κύτταρα, τα οποία μετατρέπονται σε αφρώδη. Αξίζει να σημειωθεί ότι ανάλογες μεταβολές όσον αφορά τη λειτουργία και τη συμπεριφορά τους εμφανίζουν τόσο και τα φλεγμονώδη κύτταρα όσο και τα λεία μυϊκά κύτταρα, όσον αφορά το σχηματισμό και την εξέλιξη της αθηρωματικής πλάκας.

Η επικρατούσα ταξινόμηση των αθηρωματωδών πλακών όπως έχει συγκροτηθεί σήμερα από την AHA, περιλαμβάνει 6 τύπους πλακών, ο σχηματισμός της οποίας σηματοδοτείται από την πάχυνση της έσω στιβάδας και την παρουσία φλεγμονωδών μακροφάγων κυττάρων και ελαχίστων αφρωδών. Στη συνέχεια, μετατρέπεται σε fatty streak, και όταν τα ελεύθερα λιπίδια σχηματίσουν μια σαφώς αφοριζόμενη δεξαμενή της οποίας το περίβλημα παρουσιάζει ικανού βαθμού φλεγμονώδη διήθηση, τότε έχει σχηματιστεί ένα αθήρωμα, όπου στην πορεία της ανάπτυξής του αυξάνονται οι πιθανότητες για ρήξη ή θρόμβωσή του.

Τα φαινόμενα που προκαλεί η αθηρωματική νόσος ποικίλλουν ανάλογα με την εντόπιση των πασχουσών αρτηριών και το βαθμό που έχει προχωρήσει η νόσος. Έτσι, όταν η εντόπιση είναι στις στεφανιαίες αρτηρίες, εμφανίζεται με έμφραγμα ή στηθάγχη, μειωμένη ανταπόκριση όταν πλήττονται οι έσω καρωτίδες και οι εγκεφαλικές αρτηρίες, όπως επίσης και εγκεφαλικά επεισόδια. Εντόπιση στην αορτή μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό ανευρυσμάτων τα οποία προκαλούν άμεσο θάνατο στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, όταν αυτά ραγούν. Τέλος, εντόπιση σε περιφερικότερες αρτηρίες μπορεί να προκαλέσει γάγγραινα στους άκρους πόδες.

Από όλες τις πιθανές εντοπίσεις, τη μεγαλύτερη συχνότητα αλλά και θνησιμότητα παρουσιάζει η αθηρωματοσκληρυντική νόσος της καρδιάς ή στεφανιαία νόσος, η οποία είναι και το αντικείμενο της παρούσας έρευνας. Ο θάνατος σε έναν πάσχοντα της νόσου επέρχεται μετά από ένα μοιραίο ισχαιμικό επεισόδιο, όπου σε ένα εντυπωσιακό ποσοστό είναι και η πρώτη εκδήλωση της νόσου, χωρίς κανένα προγενέστερο προειδοποιητικό σύμπτωμα. Ο παθογενετικός μηχανισμός του θανατηφόρου γεγονότος είναι στην προκειμένη περίπτωση η μείωση της αιματικής ροής προς τον καρδιακό μυ, λόγω της μεγάλης στένωσης του αυλού της αρτηρίας, τη διαταραχή του ερεθισματοαγωγού συστήματος και τέλος την πρόκληση αρρυθμιών, εκ των οποίων μια είναι και η μοιραία. Τίθεται όμως το εξής ερώτημα. Ποιος είναι ο ουδός, τον οποίο όταν η στένωση του αυλού υπερβεί θεωρείται επαρκής για να προκαλέσει όλα αυτά τα επεισόδια?

Μέχρι σήμερα λοιπόν, ευρέως αποδεκτή ήταν η άποψη που δεχόταν ως αιτία θανάτου σε αιφνίδιο στεφανιαίο θάνατο τη στένωση του αυλού σε ποσοστό μεγαλύτερο του 75%. Στο παρελθόν έχουν υπάρξει διχογνωμίες όσον αφορά τη φύση του τελικού θανατηφόρου γεγονότος σ ένα τέτοιο περιστατικό . Ένας αριθμός συγγραφέων υποστηρίζει ότι η θρόμβωση της πλάκας (και το αποδεικνύουν με ανάλογες έρευνες) και η επόμενη απόφραξη του αυλού είναι ο καταλύτης για την έλευση του μοιραίου επεισοδίου, το οποίο συνοδεύεται από ρήξη ή διάβρωση της πλάκας

Η έτερη άποψη είναι ότι δεν υπάρχει κάποιο ξεχωριστό θορυβώδες γεγονός, όπως η προαναφερθείσα θρόμβωση, παρά μόνο η μεγάλη στένωση του αυλού σε ποσοστό άνω του 75%. Τέλος, στεφανιαίο θανατηφόρο φαινόμενο είναι και το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου , όπου ο μηχανισμός είναι και πάλι η έκλυση αρρυθμιών.

Σήμερα, οι αντιλήψεις για την καθοριστικότητα των παραγόντων της πλάκας όσον αφορά τις μεταβολές που συμβαίνουν στη δομή της και τη σταθερότητα της έχουν εξεταστεί. Έτσι, αθηρωματικές πλάκες οι οποίες παρουσιάζουν εξέγκωση, διάβρωση ή άλλες μεταβολές ονομάστηκαν "ευάλωτες". Η έννοια της ευάλωτης πλάκας και αργότερα του ευάλωτου ασθενούς έδωσε απαντήσεις σε ερωτήματα και κενά που άφηναν οι προηγούμενες θεωρίες. Συνοπτικά, τα χαρακτηριστικά που καθιστούν μια πλάκα ευάλωτη είναι ένα λεπτό ινώδες κάλυμμα, το οποίο περικλείει μια δεξαμενή πλούσια σε σταγονίδια λίπους και η διήθηση του τοιχώματος από φλεγμονώδη μακροφάγα κύτταρα. Ειδικότερα, όσο πιο λεπτή είναι η ινώδης κάψα και ιδιαίτερα στις πλευρικές της θέσεις , πιο πλούσια σε χοληστερόλη η δεξαμενή λιπιδίων και πιο εκτεταμένη η διήθηση του τοιχώματος (άρα και πιο ασταθές) τόσο πιο ευάλωτη καθίσταται η πλάκα. Η έρευνα έχει στηριχθεί πάνω σ αυτή την τελευταία θεωρία , και ο στόχος της είναι να αποδείξει ότι η χοληστερόλη είναι το πιο ασταθές συστατικό, αφ ενός λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας της εκλύει παράγοντες αλλά και το ότι εντείνεται αυτή η ιδιότητά της από τον ιστικό παράγοντα ο οποίος αποπίπτει από το υπόλειμμα των μακροφάγων του τοιχώματος.

Τις δύο τελευταίες κυρίως δεκαετίες επιστρατεύθηκαν όσα μέσα και μεθοδολογίες ήταν διαθέσιμα στην υπηρεσία της ιατρικής αλλά και όλων των επιστημονικών κλάδων συμπεριλαμβανομένου και της πληροφορικής, προκειμένου να αποδειχθεί η θεωρία της ευάλωτης πλάκας και στην πράξη. Τόσο ιστοπαθολογικές, ανοσοιστοχημικές αλλά και επεμβατικές μέθοδοι όπως η θερμογραφία και η στεφανιογραφία βρήκαν εφαρμογή στη μελέτη των στεφανιαίων αγγείων και την ερμηνεία των κλινικών φαινομένων που εμφανίστηκαν εν ζωή αλλά και του αιφνίδιου στεφανιαίου θανάτου συσχετίζοντάς το με τη σύσταση της πλάκας. Με την τελειοποίηση των προγραμμάτων των Η/Υ δόθηκε η ευκαιρία να γίνουν μελέτες της αθηρωματικής πλάκας , όχι μόνο για να υπολογιστεί με μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια ο βαθμός της στένωσης αλλά και το ποσοστό που καθένα από τα

συστατικά της καταλαμβάνει επί της συνολικής έκτασής της, όπως επίσης και το συσχετισμό των ποσοστών αυτών μεταξύ τους.

Σήμερα έχουμε στη διάθεσή μας σύγχρονες έρευνες και βιβλιοθήκες δεδομένων, όπως και εξειδικευμένα προγράμματα. Το πρόγραμμα το οποίο επιλέχθηκε για να αποδοθούν τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα στην συγκεκριμένη έρευνά είναι το IMAGE PRO PLUS. Κρίθηκε το καταλληλότερο πρόγραμμα για την πραγματοποίηση των μετρήσεων που προβλεπόντουσαν απ το πρωτόκολλο, τόσο για την ακρίβεια και τη δυνατότητα κατά το μέγιστο εφικτό να αποφευχθούν μεγάλες αποκλίσεις και σφάλματα, όσο και για την ευχρηστία του, που το καθιστούν προσιτό ακόμη και σε αρχάριους χρήστες. Μετά από πειραματικές μετρήσεις χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα, απεδείχθη ότι μπορεί να μετρήσει το εμβαδό επιφανειών αλλά και να συγκρίνει και να συσχετίσει τα αποτελέσματα αυτά μεταξύ τους. Επίσης, την έκταση που καταλαμβάνουν τα επιμέρους στοιχεία που την αποτελούν και να συγκρίνει τα ποσοστά που προκύπτουν, ώστε να αξιολογηθεί και να ερμηνευθεί ο ρόλος που διαδραματίζουν στην εμφάνιση των στεφανιαίων επεισοδίων.

2.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗΣ

Οι παθολογοανατόμοι του 19ου αιώνα, όταν εξέταζαν νεκροτομικό υλικό, δεν έδιναν μεγάλη προσοχή στην αθηρωματοσκληρυντική νόσο, αν και υπάρχουν αναφορές στα γραπτά τους. Το υλικό τους προερχόταν από άτομα που είχαν πεθάνει νέοι ή μεσήλικοι. Η επιβίωση άνω της ηλικίας των 60 ετών δεν ήταν πολύ συνηθισμένο φαινόμενο κατά τον 19ο αιώνα. Όταν ο αριθμός των θανάτων από στεφανιαία ανεπάρκεια και αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια άρχισε ν' αυξάνεται στα τέλη της δεκαετίας του '30 και τη δεκαετία του '40, οι γιατροί είχαν πολύ μικρή γνώση της αιτίας που προκάλεσε αυτή την αλλαγή. Άρχισαν να έχουν τις πρώτες ενδείξεις, όταν έκαναν ανασκόπηση των στοιχείων από τις συχνότερες θανάτων σε διάφορες χώρες.

Οι επιστήμονες παρατήρησαν ότι η καρδιοπάθεια ήταν πολύ συχνή σε μερικές προηγμένες χώρες, όπως οι ΗΠΑ, η Φινλανδία και η Μ. Βρετανία, ενώ ήταν πολύ λιγότερο συχνή σε άλλες σχεδόν εξίσου προηγμένες χώρες, όπως η Ιταλία και η Ιαπωνία. Παρατηρήθηκε όμως, ότι όταν οι Ιταλοί ή οι Γιαπωνέζοι μεταναστεύουν σε χώρες, όπως π.χ. οι ΗΠΑ, μέσα στην επόμενη γενιά οι απόγονοί τους έχουν το ίδιο υψηλή συχνότητα καρδιοπάθειας, όπως οι Αμερικάνοι. Ευρήματα σαν κι αυτό υποδηλούν ισχυρώς ότι οι μεγάλες διαφορές στη συχνότητα των καρδιοπαθειών οφείλονται κυρίως σε πολιτιστικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει κάτι στον τρόπο ζωής (ή κάτι περιβαλλοντικό) σε χώρες, όπως η Μ. Βρετανία, που προδιαθέτει σε καρδιακά νοσήματα. Χωρίς αμφιβολία, οι συνήθειες διατροφής παίζουν σημαντικό ρόλο. Σε χώρες όπως οι ΗΠΑ

και η Μ. Βρετανία, τα λίπη παρέχουν μέχρι το 40% της ενέργειας στη διατροφή ενός μέσου ανθρώπου. Στην Ιαπωνία, τα λίπη αποτελούν ένα πολύ μικρότερο ποσοστό της διατροφής και τα λίπη που καταναλώνονται είναι λιγότερο επιζήμια για την υγεία.

Εκτός από τους παράγοντες, που φαίνεται ότι επηρεάζουν τη συχνότητα των καρδιακών νοσημάτων σ' έναν ολόκληρο πληθυσμό, υπάρχουν ατομικοί παράγοντες που έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την εμφάνιση καρδιακών νοσημάτων. Η διατροφή του ατόμου είναι ένας παράγοντας το κάπνισμα είναι ένας άλλος σπουδαίος παράγοντας. Οι θάνατοι από καρδιακό νόσημα είναι πολύ συχνότεροι στους καπνιστές απ' ότι στους μη καπνιστές. Ο κίνδυνος αυξάνει με τον αριθμό των τσιγάρων που καπνίζει το άτομο ημερησίως και ελαττώνεται με τη διακοπή του καπνίσματος. Η υψηλή αρτηριακή πίεση, η έλλειψη σωματικής άσκησης, ο σακχαρώδης διαβήτης και η παχυσαρκία φαίνεται επίσης ότι αυξάνουν το ενδεχόμενο εμφάνισης της νόσου.

Αναφερόμενοι αρχικά στο γενετικό υπόβαθρο, επί του οποίου δρουν οι επίκτητοι παράγοντες, κυριότερες είναι η διαταραχή πρόσληψης των λιπιδίων από το ήπαρ, οπότε και τα λιπίδια μένουν να κυκλοφορούν ελεύθερα στο αίμα, καταλήγοντας εγκλωβισμένα στο τοίχωμα των αρτηριών. Συχνότερη οντότητα είναι η διαταραχή πρόσληψης χοληστερόλης ή αλλιώς η μη παραγωγή ή διαταραχή της σύνθεσης του υποδοχέα της χοληστερόλης. Η οικογενής υπερχοληστερολαιμία είναι από τις συχνότερες γενετικά μεταβιβαζόμενες ασθένειες, η οποία έχει συχνότητα εμφάνισης 1/ 500. Προκαλείται από τη μετάλλαξη στο γονίδιο που καθορίζει τον υποδοχέα της LDL, όπου συνδεδεμένη με αυτόν κυκλοφορεί κατά 70% όλου του ποσοστού της στο πλάσμα. Μη σχηματισμός ή ελάττωση του ποσού των υποδοχέων οδηγεί σε μεγάλη αύξηση των μορίων ελεύθερης χοληστερόλης. Συγκεκριμένα, το επιθυμητό όριο επιπέδου LDL χοληστερίνης στο αίμα είναι κάτω των 130 mg/dl, ενώ η HDL πρέπει να βρίσκεται πάνω από 60 mg/dl Υπολογίζεται ότι πάνω από 3 εκατομμύρια Έλληνες έχουν LDL πάνω από 200. Υπάρχουν πολλά γονίδια που έχουν εξεταστεί ως προς τη υπευθυνότητα για την εμφάνιση της νόσου, όπως και διάφοροι νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί. Γονίδια που εμπλέκονται στη ρύθμιση του μεταβολισμού των λιπιδίων είναι τα APOE, APOB, LPL, CETP, PAI1, GIIb, GIIA, FV, και γονίδια ρύθμισης της λειτουργίας του ενδοθηλίου (eNOs, MTHFR, ACE) των οποίων όμως η σχέση με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο είναι μέτρια, και γι αυτό τα υπάρχοντα γενετικά tests δε συμβάλλουν στη διάγνωση της νόσου.

Σημαντικός εξίσου παράγοντας είναι το οικογενειακό ιστορικό και η εμφάνιση της νόσου σε κάποιο απ τα εξ αίματος μέλη της οικογένειας. Παράγοντες κινδύνου οι οποίοι ανεβάζουν κατακόρυφα την πιθανότητα να νοσήσει το άτομο και κάνουν αρνητική την πρόγνωση σε ένα ήδη επιβαρυσμένο ιστορικό είναι το φύλο και η ηλικία. Η αθηρωματοσκλήρυνση δίνει συμπτωματολογία στη μέση ηλικία με peak την 20ετία μεταξύ 40-60 ετών, ενώ το αρσενικό φύλο εμφανίζεται λιγότερο ευνοημένο σε σχέση με τις γυναίκες,

καθώς εκδηλώσεις της αθηρωματοσκληρυντικής νόσου είναι σπάνιες σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, εξαιρώντας περιπτώσεις διαβητικών, υπερλιπιδαιμικών και υπερτασικών γυναικών. Η συχνότητα εμφάνισης στα δύο φύλα εξισώνεται στην 8^η-9^η δεκαετία της ζωής. Επίσης, έχει αποδειχθεί εκτός από τη διαταραχή της πρόσληψης της LDL που είναι πολυγονιδιακή, η διαταραχή του αιμοποιητικού συστήματος συμμετέχει στην εμφάνιση στεφανιαίων επεισοδίων όπως ο συσχετισμός των αυξημένων επιπέδων της Lpa ανεξαρτήτως παρουσίας υπερλιπιδαιμίας.

Στους ιδιαίτερης επικινδυνότητας παράγοντες συγκαταλέγονται το κάπνισμα, το οποίο μέσω των βλαπτικών ριζών (κυρίως οξειδίων) που απελευθερώνονται κατά την καύση του καπνού, προκαλεί ανεπανόρθωτη βλάβη στο ενδοθήλιο του έσω χιτώνα των αρτηριών, προκαλώντας έτσι έναν καταρράκτη αντιδράσεων και κινητοποίηση παραγόντων.

Τέλος ο διαβήτης, εν μέσω των άλλων ιστών που επηρεάζει πλην του παγκρεατικού, προκαλεί τη διαβητική μικροαγγειοπάθεια στους απώτερους κλαδίσκους των στεφανιαίων αρτηριών, ικανές να προκαλέσουν με την πάροδο του χρόνου μοιραία στεφανιαία επεισόδια.

Εν κατακλείδι, στο 24 % των Αυστραλών νοσούντων η υπέρταση αναδείχθηκε ως ο πλέον επιβαρυντικός παράγοντας, ενώ στο 21% και 20 % βρίσκονται η παντελής απουσία άσκησης και η υπερχοληστερολαιμία αντίστοιχα. Οι καπνιστές αντιπροσωπεύουν μόλις το 8%, ενώ για τα σημερινά δεδομένα για ένα 40χρονο καπνιστή του ενός πακέτου ημερησίως, το ποσοστό νόσησης μέχρι τα 64 χρόνια είναι 1 στους 3, ενώ για τους μη καπνιστές αντίστοιχο ποσοστό είναι 1 στους 7.

2.4 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Έχοντας ως δεδομένο το γεγονός ότι οι αλλοιώσεις της αθηρωματοσκλήρυνσης αρχίζουν να αναγνωρίζονται και να σχηματίζονται στις στεφανιαίες αρτηρίες από 10 ετών και στην κοιλιακή αορτή από 3 ετών στις περιπτώσεις οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας, αρχικά πρέπει να στοχεύσουμε σ αυτήν την κατηγορία ασθενών οι οποίοι φέρουν αυτό τον μη αναστρέψιμο επιβαρυντικό παράγοντα. Στα άτομα αυτά πρέπει να επιβάλλεται από νωρίς ειδικό διαιτολόγιο το οποίο να περιορίζει την κατανάλωση κεκορεσμένων και trans λιπαρών, τον συνεχή έλεγχο της χοληστερόλης με συνεχείς βιοχημικούς ελέγχους, διατήρηση του σωματικού βάρους σε σταθερά επίπεδα και παρακίνηση για καθημερινή άσκηση, αποφυγή άλατος και ζάχαρης επίσης. Σε μεγαλύτερης ηλικίας άτομα, επιβάλλεται διακοπή του καπνίσματος, του αλκοόλ και σωστή ρύθμιση του ινσουλινοεξαρτώμενου διαβήτη, όταν συνυπάρχει σαν νόσημα.

Φαρμακευτικές ουσίες που έχουμε στη διάθεσή μας γι'αυτό το σκοπό είναι οι ιοντοανταλλακτικές ρητίνες και οι στατίνες. Οι ρητίνες έχουν ως κύριους εκπροσώπους τη

χολεστουραμίνη και την κολεστιπόλη, με κύριο μηχανισμό δράσης την ελάττωση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα. Οι στατίνες δρουν με ανάλογο μηχανισμό, έχουν όμως πιο ισχυρή δράση, ασκώντας παράλληλα αντιφλεγμονώδη δράση που βελτιώνει τη λειτουργικότητα και μειώνει το πάχος του ενδοθηλίου των αγγείων. Δυστυχώς, οι τελευταίες παρουσιάζουν πολύ συχνά παρενέργειες, οι οποίες μπορεί να αναγκάσουν τον ασθενή να διακόψει τη λήψη τους.

Όσον αφορά ασθενείς με μεγαλύτερη ηλικία και διαγνωσθείσα νόσο, ειδικότερα σε προχωρημένο στάδιο, χρήζουν άμεσης δυναμικής παρέμβασης με κάποια επεμβατική χειρουργική μέθοδο. Μέχρι το 1976 η μοναδική επεμβατική μέθοδος ήταν το bypass, δηλαδή η αορτοστεφανιαία παράκαμψη. Με αυτή τη μέθοδο, απομονώνονται τα πάσχοντα φυσικά στεφανιαία του ασθενούς, ενώ αντικαθίστώνται από φλεβικά μοσχεύματα, τα οποία αποκαθιστούν την κυκλοφορία. Τα μοσχεύματα αυτά λαμβάνονται ως επί το πλείστον από τις έσω σαφηνείς φλέβες, ενώ δεν είναι λίγες οι φορές που χρησιμοποιούνται αρτηριακά μοσχεύματα, όπως η έσω μαστική αρτηρία. Μεταγενέστερα, η πιο πρόσφατη μέθοδος είναι η αγγειοπλαστική και η τοποθέτηση ενδοαυλικών προσθέσεων(stent). Η αγγειοπλαστική ή αλλιώς το γνωστό σε όλους μπαλονάκι γίνεται με την προώθηση ενός καθετήρα μέσα από τη μηριαία αρτηρία, ο οποίος φέρει στην άκρη του ένα μπαλονάκι, το οποίο όταν φτάσει στο σημείο της αλλοίωσης, φουσκώνει και ξεφουσκώνει εφαρμόζοντας πίεση στο σημείο. Εκτός του ότι κρύβει ένα μικρό ποσοστό κινδύνου, με την επέμβαση αυτή είναι πιθανό να επανεμφανιστεί η νόσος. Τέλος, τα stents αποτελούν απλούστερη μέθοδο, η οποία έχει ελαχιστοποιημένα ποσοστά κινδύνου αλλά και επανεμφάνισης της νόσου.

3. ΜΕΣΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Στο παρόν κεφάλαιο της εργασίας θα γίνει μία απόπειρα αναλυτικής επεξήγησης του τρόπου διεξαγωγής της έρευνας. Θα μιλήσουμε αναλυτικά για τα μέσα και το υλικό που θα χρησιμοποιηθεί, καθώς και για τη μεθοδολογία που θα ακολουθηθεί. Να διευκρινίσουμε ότι το υλικό, το οποίο θα μελετηθεί αποτελείται από ψηφιακές εικόνες στεφανιαίων αρτηριών. Στις παρακάτω σελίδες θα γνωρίσουμε το δείγμα μας, τη φύση του, τον τρόπο που λήφθηκε, την επεξεργασία που υπέστη στο ιατρικό εργαστήριο μέχρι να φτάσει στα χέρια μας και να ξεκινήσει η μορφομετρική του ανάλυση μέσω του προγράμματος του IMAGE PRO PLUS.

3.1 ΛΗΨΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Τις τελευταίες δεκαετίες, οι σημαντικότερες δύο έρευνες που έχουν γίνει με στόχο τον προσδιορισμό της σύστασης της αθηρωματικής πλάκας και το ποσοστό της στένωσης του αυλού των στεφανιαίων αρτηριών με μορφομετρική μέθοδο είναι: Morphometric analysis of coronary atherosclerosis, an accuracy and reliability study, Morphometric analysis of the composition of atherosclerotic plaques in the four major coronary epicardial arteries in acute myocardial infarction and sudden coronary death. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε πολλές προγενέστερες έρευνες έχουν αποπειραθεί να εκτιμήσουν την έκταση της αθηρωματοσκλήρυνσης των στεφανιαίων μέσω παρόμοιας μεθοδολογίας, το γεγονός όμως ότι δεν είχε συσταθεί ένας κοινός παρονομαστής αξιολόγησης – όπως εδώ η στένωση του αυλού- και η έλλειψη ποσοτικών μετρήσεων τις καθιστά αναξιόπιστες όσον αφορά την αξιοποίηση των αποτελεσμάτων και συμπερασμάτων. Τέλος, το γεγονός ότι πολλοί ερευνητές επιλέγουν ως μέθοδο εξέτασης των στεφανιαίων της επιμήκη διάνοιξή τους και όχι την εγκάρσια, αναπόφευκτα προκαλούν την απώλεια ευρημάτων και τη λανθασμένη εκτίμηση της έκτασης της νόσου. Βασιζόμενη στην έκταση της υπέγερσης του έσω χιτών-όπου είναι η παράμετρος που αξιολογείται σε αυτές τις έρευνες - εκτιμάται μόνο η ύπαρξη αθηρωμάτωσης ή όχι. Καταλήγοντας, η στεφανιογραφία αποτελεί ένα μη επεμβατικό και πρώιμο μέσο ανίχνευσης αθηρωματοσκληρυντικής νόσου, ωστόσο δίνει μη αξιόπιστα αποτελέσματα, καθότι υπολογίζει πολύ μικρότερο ποσοστό στένωσης του αυλού σε σχέση με το πραγματικό.

Λαμβάνοντας υπ' όψη τα πρωτόκολλα διεξαγωγής των προαναφερθεισών ερευνών του Kragel και την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των , πραγματοποιήσαμε μια έρευνα έχοντας ως διαθέσιμο υλικό προς δειγματοληψία τις στεφανιαίες αρτηρίες που ελήφθησαν από 60 ασθενείς , οι οποίοι είχαν σαν κοινό παρονομαστή το ότι απεβίωσαν μέσα σε μια ώρα από την έναρξη των συμπτωμάτων-περιλαμβάνονται ναυτίες, εμετοί, ζάλη, οπισθοστερνικό άλγος, μούδιασμα του αριστερού άνω άκρου- , σύμφωνα με τις μαρτυρίες των αυτόπτων μαρτύρων και τις πληροφορίες που ελήφθησαν από το παραϊατρικό προσωπικό που επιλήφθηκε κάθε περιστατικού και μετά την παροχή των πρώτων βοηθειών και καρδιοαναπνευστικής αναζωογόνησης, και η αιτία θανάτου ήταν η στένωση των στεφανιαίων αρτηριών με ποσοστό άνω του 75%. Κριτήρια για την επιλογή των ασθενών ήταν επίσης η απουσία οποιαδήποτε άλλης εμφανούς αιτίας θανάτου, η απουσία μακροσκοπικά ορατού πρόσφατου ή παλαιού εμφράγματος του μυοκαρδίου, προηγηθείσα επέμβαση στα στεφανιαία, όπως και η απουσία προηγούμενης αντιπηκτικής ή θρομβολυτικής αγωγής. 25 ακόμη ασθενείς επελέγησαν ως μάρτυρες, οι οποίοι απεβίωσαν λόγω εξωκαρδιακής αιτία θανάτου πχ αυτοκτονία, κακώσεις οδικών τροχαίων ατυχημάτων , επιληψία, κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις - και δεν παρουσίαζαν στοιχεία

αθηρωματοσκληρυντικής νόσου. Τα παραπάνω περιστατικά επελέγησαν για να γίνει η οπτική σύγκριση της σοβαρότητας της στένωσης με ένα υγιές αγγείο.

Η πηγή των περιστατικών ορίζεται ως εξής :

- Περιστατικά τα οποία εξετάζονται στην καθημερινή πράξη από το εργαστήριο ιατροδικαστικών επιστημών του Ηρακλείου, όπου από τα κατάλληλα περιστατικά συλλέγονται τα 3 στελέχη των στεφανιαίων αρτηριών, και μετέπειτα επιλέγεται η καταλληλότερη τομή
- Παλαιότερα περιστατικά- αναδρομική μελέτη- τα οποία έχουν διερευνηθεί στο ίδιο εργαστήριο και παραμένουν στο αρχείο του, όπου η αιτία θανάτου έχει καταγραφεί στην τελική ιατροδικαστική έκθεση σαν βαθμός στένωσης πάνω από 75%
- Ένας συγκεκριμένος αριθμός δειγμάτων ο οποίος παρασχέθηκε για το σκοπό αυτό από το Medical Examiners Office του Oakland County, Detroit, Michigan.

Τα δεδομένα αυτά θα υποβάλλονται σε τομές ανά 5 χιλιοστά. Αφού αφαιρωθούν, σε όποιες περιπτώσεις αυτό κριθεί αναγκαίο, ή απλά αποκλεισθούν από την έρευνα ως μη κατάλληλα δείγματα, επεξεργάζονται και χρωματίζονται με την κλασσική χρώση αιματοξυλίνης – ηωσίνης. Σ' αυτό το σημείο αξίζει να παραθέσουμε κάποιες συνοπτικές πληροφορίες για τη διαδικασία που ακολουθείται για τη χρώση των δειγμάτων με την αιματοξυλίνη-ηωσίνη. Η χρώση της αιματοξυλίνης- ηωσίνης είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος στην ιστολογική εξέταση. Περιλαμβάνει αρχικά την εφαρμογή της βασεόφιλης βαφής η οποία βάφει τις βασεόφιλες δομές μπλε-μωβ, ενώ η ηωσίνη βάφει τις ηωσινόφιλες δομές ροζ. Βασεόφιλες δομές είναι συνήθως αυτές οι οποίες περιέχουν νουκλειικά οξέα, όπως ριβοσώματα και πυρήνες πλούσιους σε χρωματίνη, όπως και περιοχές του κυτταροπλάσματος πλούσιες σε ρνα. Οι ηωσινόφιλες δομές συνιστώνται συνήθως από ενδοκυττάρια ή εξωκυττάρια πρωτεΐνες.

Παραδείγματα τέτοιων δομών είναι τα σωματίδια μαλλορυ, τα οποία συναντώνται σε τομές του ήπατος και είναι πλούσια σε ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα. Με τη συγκεκριμένη χρώση τα ερυθρά αιμοσφαίρια χρωματίζονται κόκκινα, ενώ οι υδρόφοβες δομές, όπως τα λιποκύτταρα τείνουν να μην προσλαμβάνουν τις χρωστικές και να παραμένουν καθαρές. Συνεχίζοντας τη διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος, ορισμένες από τις τομές, που θα κριθούν κατάλληλες και αντιπροσωπευτικές για τους ακριβέστερους υπολογισμούς θα υποβληθούν σε τριχρωματικές ή και πενταχρωματικές χρώσεις, οι οποίες έχουν επιλεχθεί, ώστε να διευκολύνουν την εξαγωγή πορισμάτων (Masson ή Gomori's ή Movat), λόγω ειδικής χρώσης του συνδετικού ιστού της αθηρωματικής πλάκας οπότε και πραγματοποιούνται ακριβέστερες μετρήσεις.

Αναλυτικότερα, η Masson's χρώση χρησιμοποιείται συνήθως, για να διαχωρίσει τις ίνες κολλαγόνου και τις λείες μυϊκές ίνες και να προσδιορίσουν την αύξηση του ινώδους ιστού σε νοσήματα, όπως η κίρρωση του ήπατος. Η χρώση ονομάστηκε τριχρωματική, λόγω

του ότι χρησιμοποιούνται, είτε συμπεριλαμβάνεται αυτή του πυρήνα είτε όχι, 3 χρώσεις. Οι τομές βάφονται πρώτιστα με οξύ, όπου οι ηωσινόφιλες δομές του ιστού, όπως είναι το κυτταρόπλασμα, ο μυς και το κολλαγόνο, συνδέονται με το οξύ. Οι τομές αυτές, στη συνέχεια υποβάλλονται σε επεξεργασία με phosphotungstic ή phosphomolybdic acid. Λόγω του ότι το κυτταρόπλασμα είναι λιγότερο διαπερατό από το κολλαγόνο τα ανωτέρω οξέα προκαλούν την έξοδο του δεσμευμένου οξέος από το κολλαγόνο, αλλά όχι και από το κυτταρόπλασμα. Τα οξέα έχουν πολλές όξινες ομάδες οι οποίες περισσότερο δρουν σαν σύνδεσμοι μεταξύ του αποχρωματισμένου κολλαγόνου το οποίο τελικά βάφεται με το aniline blue. Τελικό αποτέλεσμα είναι να βάφεται μαύρος ο πυρήνας, κόκκινο το κυτταρόπλασμα και οι μυϊκές ίνες και οι ίνες κολλαγόνου μπλε.

Όσον αφορά τη Movat's stain , οι τομές χρωματίζονται στη σειρά με Alcian blue, Alkaline alcohol, Orcein- Verheff, Woodstain scarlet - Acid Fuschin, Acetic acid, Phosphotungstic acid , Alcoholic saffron, xyline. Τελικά οι δομές χρωματίζονται ως εξής: οι πυρήνες μαύροι, το κυτταρόπλασμα κόκκινο, οι ελαστικές ίνες μωβ προς μαύρο, οι ίνες κολλαγόνου και ο οστίτης ιστός κίτρινοι ενώ οι μυϊκές ίνες κόκκινες.

Τέλος, με τη Gomori's stain οι δομές χρωματίζονται ως εξής: κόκκινες οι μυϊκές ίνες, μπλε οι ίνες κολλαγόνου και μπλε προς μαύρο οι πυρήνες .

Αφού οι συγκεκριμένες τομές εξεταστούν μικροσκοπικά με τη μέγιστη δυνατή ανάλυση, στη συνέχεια αναλύονται μορφομετρικά με το πρόγραμμα IMAGE PRO PLUS 4.5 (R Blatt, A Clark et al. 2004), (J. Francisco H. de Moraes, et al. 2004). Αυτό είναι και το σημείο στο οποίο εμπλέκεται η δική μας εργασία. Εμείς θα προσπαθήσουμε να πραγματοποιήσουμε την μορφομετρική ανάλυση των δεδομένων.

Κατά τη διεξαγωγή του κυρίου μέρους της μελέτης μας, θα εξετασθεί ειδικότερα η σχέση του Αιφνίδιου Στεφανιαίου Θανάτου με μορφομετρική ανάλυση της περιεκτικότητας της αθηρωματώδους πλάκας σε ινώδη συνδετικό ιστό, της έκτασης που καταλαμβάνει η 'δεξαμενή λιπιδίων' και το πάχος της ινώδους κάψας που την περικλείει, όπως επίσης και η παρουσία αθροίσεων φλεγμονωδών κυττάρων σε αυτή.

3.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ-ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η διαδικασία δειγματοληψίας εξελίχθηκε ως εξής:

Κατά τη διενέργεια των νεκροτομών , τα στεφανιαία αγγεία των αποβιωσάντων ασθενών αφαιρέθηκαν εξολοκλήρου και το ίδιο έγινε και με τα στεφανιαία των μαρτύρων. Ελήφθησαν τομές ανά 5 mm και επιλέχθηκε το καταλληλότερο για τη διεξαγωγή της έρευνας. Στη συνέχεια, αυτά τοποθετήθηκαν σε φορμόλη (συνήθως 10%) για να μονιμοποιηθούν. Υπάρχει ποικιλία στον τύπο της μονιμοποίησης, στους οποίους συμπεριλαμβάνεται η

φρέσκια ψύξη, όπου ο ιστός στην πραγματικότητα δεν τοποθετείται σε κάποιο μέσο διατήρησης. Ο τύπος της συντήρησης εξαρτάται από τον τύπο της χρώσης, (απλή ιστολογική αιματοξυλίνη-ηωσίνη, ανοσοιστοχημεία). Αφού τοποθετηθεί στο μέσο συντήρησης, δεσμοί σχηματίζονται μεταξύ των αμινομάδων του ιστού. Το διάστημα που χρειάζεται για την επαρκή μονιμοποίηση του ιστού είναι συνήθως μια μέρα, μεγαλύτερη αναμονή μπορεί να προκαλέσει artifacts σε μεγάλες μεγεθύνσεις κατά τη μικροσκοπική εξέταση. Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία αυτή, το δείγμα εμβαπτίζεται πριν παρθούν τομές σε ένα υλικό με παρόμοιες μηχανικές ιδιότητες, βήμα που επιτρέπει μετά στο υλικό να κόβεται πιο εύκολα. Αν το υλικό πρόκειται να επεξεργαστεί με μικροτόμο, τότε μπορεί να εμβαπτιστεί σε παραφίνη. Αν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί παραφίνη, τότε οι ιστοί αφυδατώνονται χρησιμοποιώντας βαθμιαία διαλύματα αλκοόλης, ξυλένιου και τέλος υγρή παραφίνη. Ρόλος του είναι να εκθέσουν σταδιακά το δείγμα σε αλλαγές υδροφοβικότητας ελαχιστοποιώντας την καταστροφή των κυττάρων. Μετά από ένα διάστημα παραμονής στην υγρή παραφίνη, ο ιστός τοποθετείται σε μπολ με περισσότερη παραφίνη και στερεοποιείται, φτιάχνοντας έτσι έναν κύβο, που μπορεί να κρατηθεί σ ένα μικροτόμο. Εκεί, το μηχάνημα διαθέτει μια αιχμηρή λεπίδα, η οποία γυρίζει και φέρνει τον κύβο κοντά της. Όσο γυρίζει, κόβει φέτες από την παραφίνη, οι οποίες περιλαμβάνουν και ιστό. Προσαρμόζεται ανάλογα το εύρος και η γωνία τομής. Αφού παρθεί η τομή, αφήνεται να επιπλεύσει σε ζεστό νερό, ώστε να μαλακώσει. Στη συνέχεια τοποθετείται πάνω σε ένα πλακάκι και στη συνέχεια, μέσα σε φούρνο για να ψήσει την παραφίνη. Τελικά, φυλάσσονται μέχρι τη χρήση τους.

Στη συνέχεια, αφού ολοκληρώθηκε το πρωτόκολλο επεξεργασίας - βαφής τους με αιματοξυλίνη - ηωσίνη, εξετάστηκαν οι τομές στο μικροσκόπιο και επιλέχθηκε εκείνη η οποία παρουσίαζε τη μεγαλύτερη στένωση Αρχικά να επισημανθεί ότι είχε προταθεί η αφαλάτωση ως μέσο να διευκολυνθεί η επεξεργασία τους, αλλά αργότερα αποδείχθηκε ότι η συγκεκριμένη διεργασία κατάστρεφε και σχεδόν αφαιρούσε ολόκληρη την πλάκα οπότε τα δείγματα αυτά ουσιαστικά αχρηστεύτηκαν.

Στη συνέχεια, οι επιλεγμένες τομές υποβλήθηκαν σε ειδική χρώση με την τριχρωματική Masson's , κίνηση η οποία αποσκοπούσε στο να διαγραφούν και μετέπειτα απεικονιστούν καλύτερα τα συστατικά ,μια και χρωματίζονται διαφορετικά.

Όσον αφορά τη Movat's stain , οι τομές χρωματίζονται στη σειρά με Alcian blue, Alkaline alcohol, Orcein- Verheff, Woodstain scarlet -Acid Fuschin, Acetic acid, Phosphotungstic acid , Alchoolic saffron, xyline. Τελικά οι δομές χρωματίζονται ως εξής :οι πυρήνες μαύροι, το κυτταρόπλασμα κόκκινο, οι ελαστικές ίνες μωβ προς μαύρο ,οι ίνες κολλαγόνου και ο οστίτης ιστός κίτρινοι ενώ οι μυϊκές ίνες κόκκινες.

Τέλος, με τη Gomoris stain οι δομές χρωματίζονται ως εξής κόκκινες οι μυϊκές ίνες, μπλε οι ίνες κολλαγόνου και μπλε προς μαύροι οι πυρήνες .

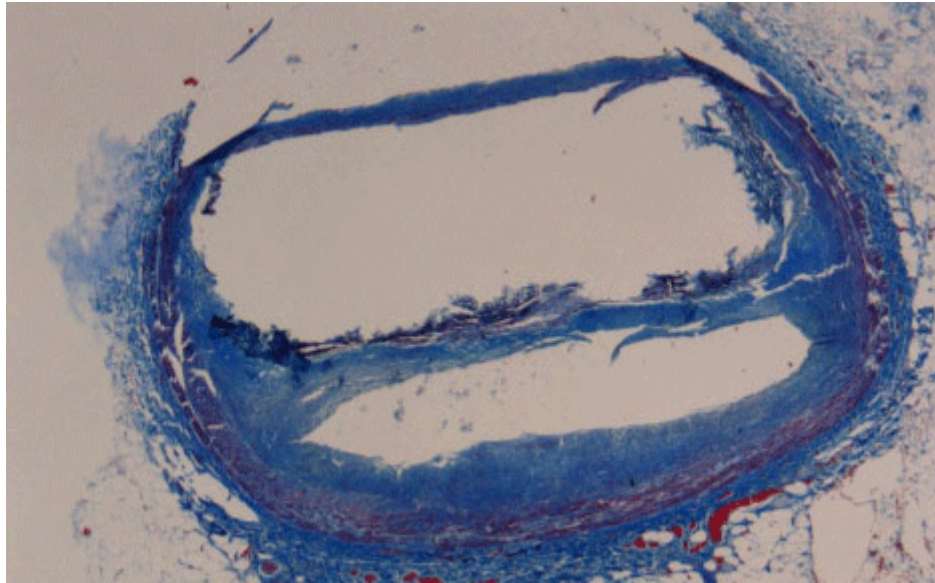
Έπειτα τα πλακάκια με τις χρωματισμένες τομές υποβλήθηκαν σε ηλεκτρονική φωτογράφιση και εφαρμογή των λήψεων στο image pro plus. Επισημαίνεται ότι η τόσο η απλή μικροσκόπηση όσο και η ηλεκτρονική φωτογράφιση έγιναν με μεγέθυνση 4X.

Αφού ολοκληρώθηκαν οι διαδικασίες , συγκεντρώθηκαν τα δείγματα και επιλέχθηκαν αυτά που θα έδιναν αντιπροσωπευτικότερα και εγκυρότερα αποτελέσματα. Στη συνέχεια, αφού φωτογραφήθηκαν , εφαρμόστηκαν οι λήψεις στο πρόγραμμα, όπου ακολουθώντας συγκεκριμένες εντολές και παραμέτρους οι οποίες περιγράφονται παρακάτω, καταφέραμε να μετρήσουμε τον ελεύθερο αυλό των τομών των στεφανιαίων αρτηριών , να προσδιορίσουμε το ποσοστό που καταλαμβάνει η χοληστερόλη στην πλάκα - θεωρώντας την ως το περισσότερο σε σχέση με τα υπόλοιπα υπεύθυνο συστατικό της πλάκας για την εμφάνιση στεφανιαίων επεισοδίων.

3.3 ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΤΗΚΑΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

- Ακατάλληλα δείγματα λόγω αποτιάνωσης, οπότε κατά την επεξεργασία με το μικροτόμο διαλυόταν , δε μετρίοταν το ασβέστιο και κατάστρεφε το πλακάκι
- Η μορφολογία της πλάκας ήταν τέτοια ώστε δεν ήταν δυνατό να αναγνωριστούν όλα τα χαρακτηριστικά της-διασκορπισμένη χοληστερόλη, ή η τομή που προέκυπτε δεν τα απέδιδε καλά
- Κακή και παραμελημένη κατάσταση, όπως οι τελείως αποτιτανωμένες αρτηρίες όπου δεν μπορούσε να γίνει ούτε η δειγματοληψία
- Η διαφορετική προέλευση των δειγμάτων είχε ως αποτέλεσμα και διαφορετικής ποιότητας επεξεργασία , οπότε και διαφορετική σαφήνεια και απόδοση των χαρακτηριστικών, ή σε μερικές περιπτώσεις αλληλοεπικάλυψη συστατικών μεταξύ τους
- Το ότι ήταν διασκορπισμένα κάποια όχι και τόσο συμπαγούς δομής συστατικά πχ τα μακροφάγα φλεγμονώδη κύτταρα και δεν μπορούσαν να διαχωριστούν σαν ξεχωριστή οντότητα και να μετρηθεί επακριβώς από το πρόγραμμα, όσο και αν εξαντλούνταν οι παράμετροι.

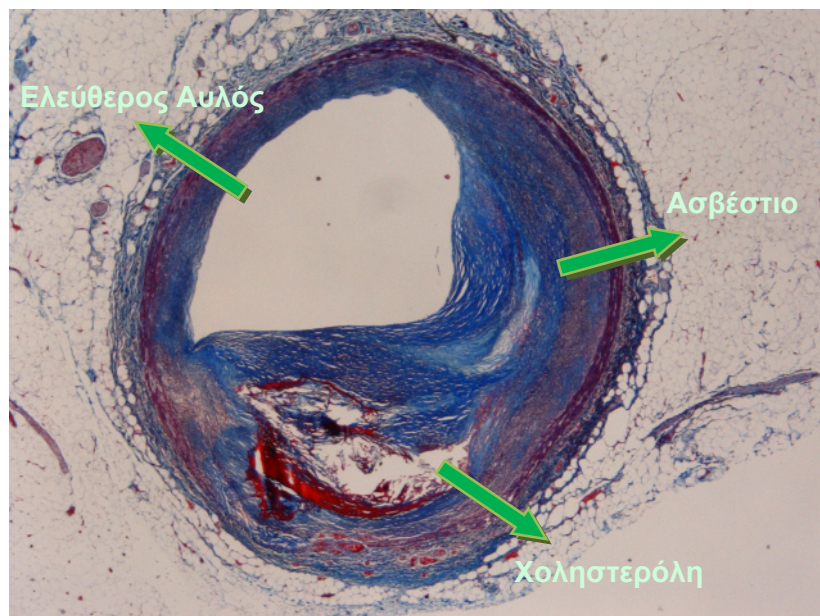
Ένα παράδειγμα αγγείου που έχει αχρηστευτεί και δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην έρευνά μας είναι το παρακάτω:



Εικόνα 3 : Ακατάλληλο δείγμα αγγείου

Όπως παρατηρούμε στο συγκεκριμένο αγγείο, το περίβλημα του αυλού έχει καταστραφεί στο «δρόμο» του από το πλακάκι του μικροσκοπίου μέχρι την ψηφιακή του μορφή. Έτσι αφού δεν είναι ευδιάκριτα τα όρια του αυλού δεν μπορούμε να κάνουμε ακριβείς μετρήσεις.

Σε αντιπαράθεση ένα δείγμα στο οποίο όχι μόνο μπορούμε με ευκολία να μετρήσουμε τον αυλό αλλά μπορούμε να διακρίνουμε και τα στοιχεία που περιέχει είναι το παρακάτω:

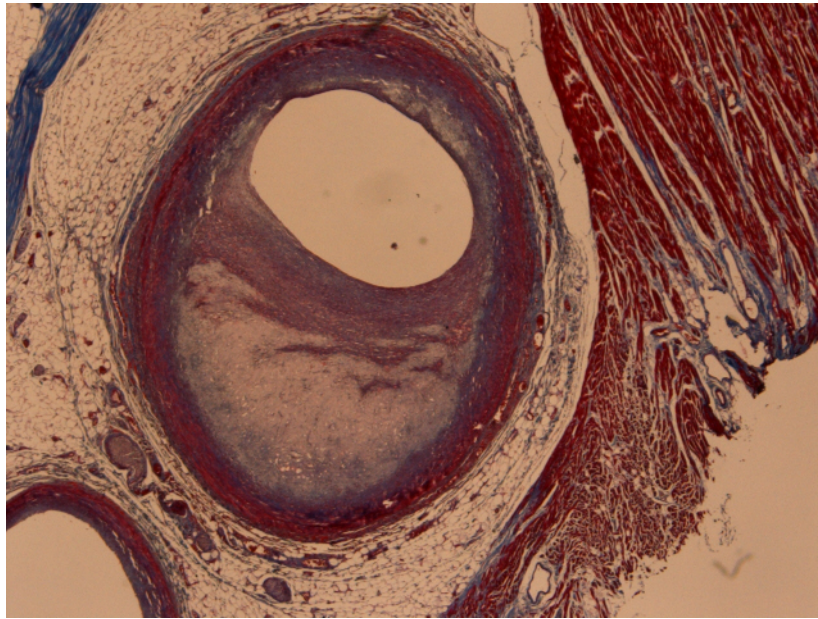


Εικόνα 4 : Κατάλληλο προς επεξεργασία δείγμα αγγείου

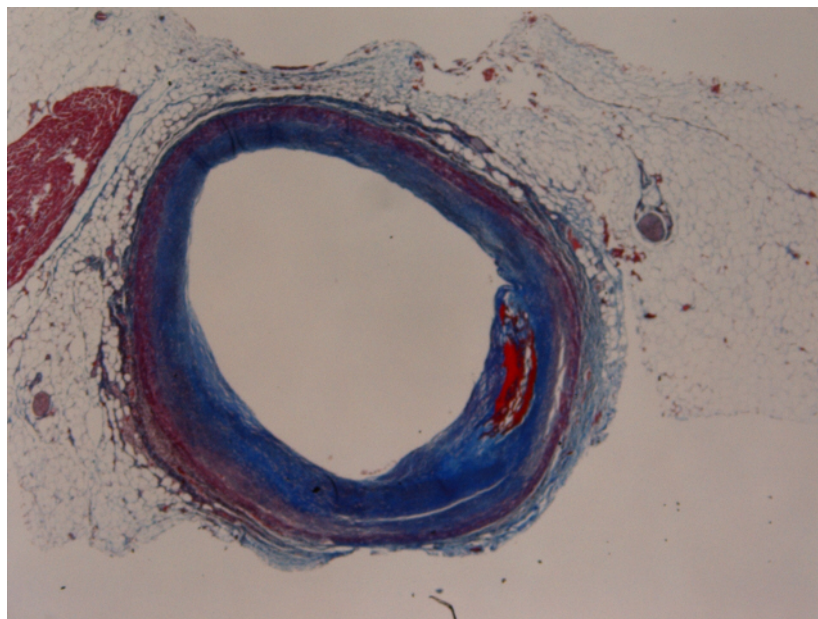
3.4 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΙΛΟΓΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Το γεγονός ότι εμείς θα έχουμε κάνει τις σωστές ενέργειες για να φτάσουν τα δείγματά μας από τα πλακάκια του μικροσκοπίου στην ψηφιακή φωτογραφία που θα επεξεργαστούμε, δε σημαίνει ότι θα έχουμε πάντα τα επιθυμητά αποτελέσματα. Έτσι η επιλογή των δειγμάτων μας πρέπει να γίνει με προσοχή για να είναι τα κατάλληλα προς επεξεργασία.

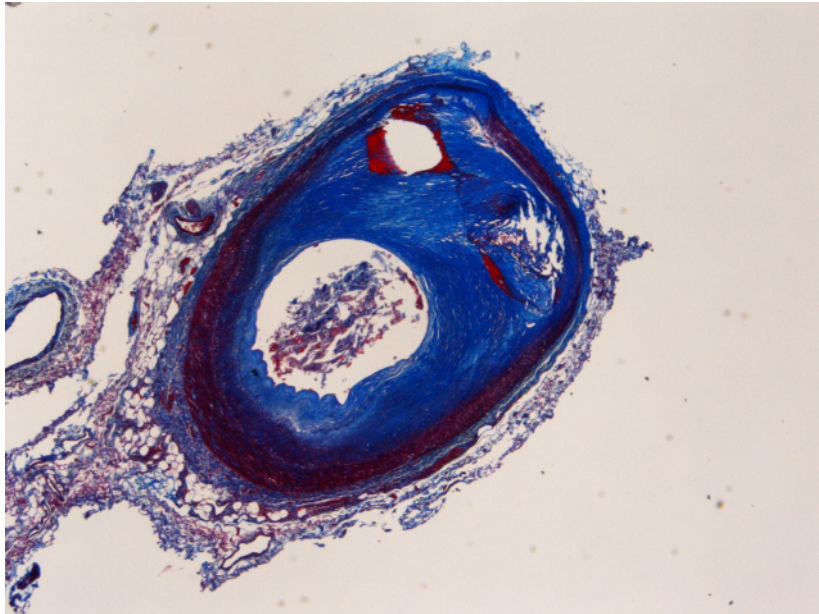
Παρακάτω παραθέτουμε κάποια ενδεικτικά δείγματα με διάφορες χρωστικές για να υπάρχει μια γενικότερη εικόνα του υλικού της εργασίας μας.



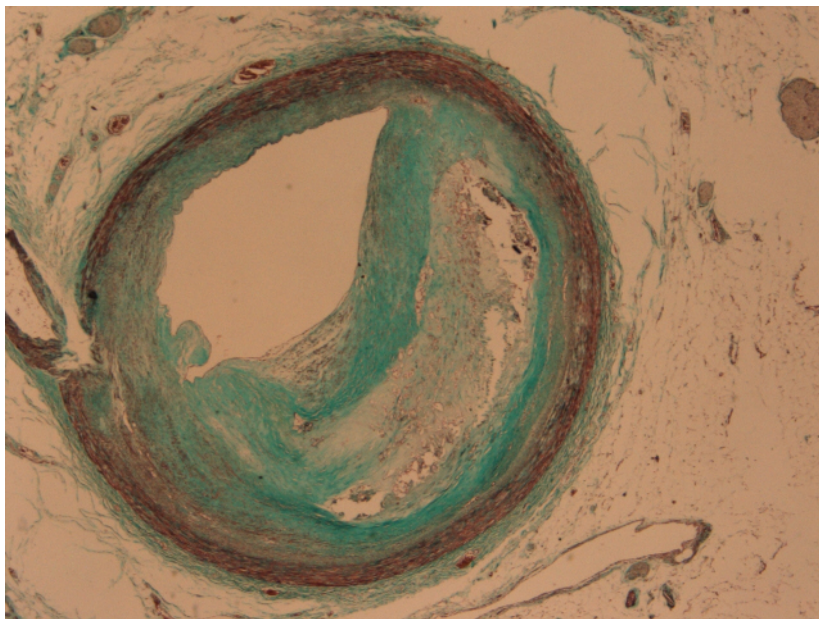
Εικόνα 5 : Τυπικό δείγμα αγγείου με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης



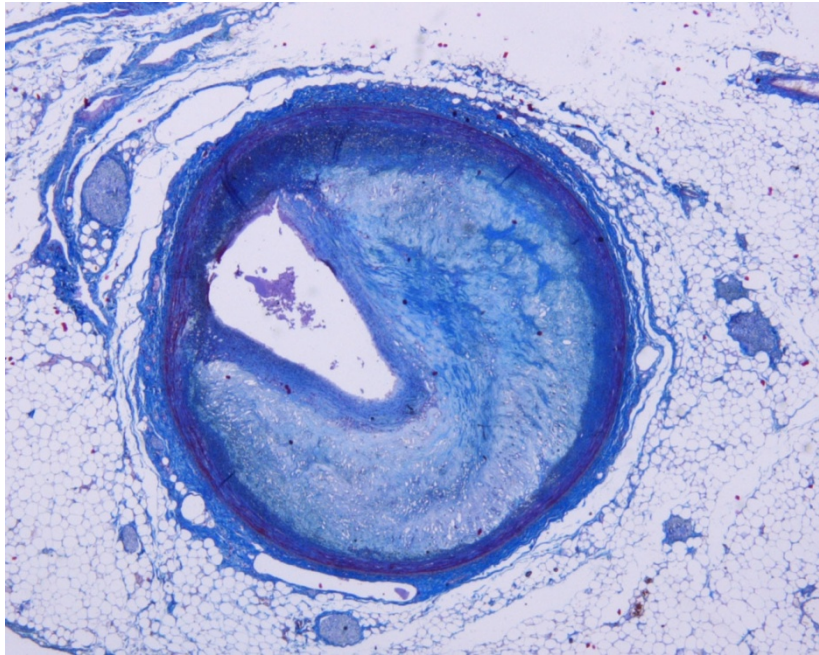
Εικόνα 6 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με Masson's (i)



Εικόνα 7 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με Masson's (ii)



Εικόνα 8 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με Masson's (iii)



Εικόνα 9 : Τυπικό δείγμα αγγείου επεξεργασμένο με Masson's (iv)

4. ΨΗΦΙΑΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑ

Η ανάλυση εικόνων ασχολείται με την εξαγωγή πληροφορίας από εικόνες. Η ανάλυση ψηφιακών εικόνων ασχολείται με την εξαγωγή ποσοτικής πληροφορίας από ψηφιακές εικόνες με τη χρήση υπολογιστών. Στην ψηφιακή απεικονιστική μορφομετρία, τα αντικείμενα μελέτης είναι εικόνες κυττάρων που έχουν ληφθεί από μικροσκόπιο, συνεπώς η ψηφιακή απεικονιστική μορφομετρία είναι η μέτρηση των ιδιοτήτων των κυττάρων με τη χρήση υπολογιστή.

4.1. Η ΨΗΦΙΑΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Οι εικόνες απεικονίζονται από τους υπολογιστές σε ψηφιακή μορφή (ψηφιακές εικόνες). Οι ψηφιακές εικόνες αποτελούνται από διακριτά στοιχεία, τα pixels. Το χρώμα του κάθε pixel περιγράφεται από έναν διακριτό αριθμό. Σε μία γκριζα εικόνα, η απόχρωση του γκρι κάθε pixel δίνεται από έναν αριθμό από το 0 ως το 255 που αντιστοιχεί στη φωτεινότητα (ή επίπεδο του γκριζου) του pixel. Στις έγχρωμες εικόνες, κάθε φασματικό κανάλι (συνήθως κόκκινο, πράσινο και μπλε) παριστάνεται από μία ξεχωριστή γκριζα εικόνα. Στις τρισδιάστατες εικόνες, η τρίτη διάσταση παριστάνεται από διακριτές τομές του απεικονιζόμενου όγκου. Στην περίπτωση αυτή, τα pixels αναφέρονται ως voxels. Στις δύο διαστάσεις, ένα pixel μπορεί να έχει γείτονες ως προς τις ακμές του ή ως προς τις γωνίες του, ενώ στις τρεις διαστάσεις, μπορεί να έχει γείτονες ως προς τις έδρες, τις ακμές και τις γωνίες του.

4.2 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΨΗΦΙΑΚΗΣ ΕΙΚΟΝΑΣ

Κατά την επεξεργασία μίας ψηφιακής εικόνας ακολουθείται μία διαδικασία, η οποία αποτελείται από τα ίδια βήματα, αν και οι εφαρμογές μπορεί να είναι πολύ διαφορετικές μεταξύ τους.

Το πρώτο από αυτά τα βήματα είναι φυσικά προετοιμασία του προς εξέταση αντικειμένου, που στην περίπτωση της ψηφιακής απεικονιστικής κυτταρομετρίας είναι ιστός που προέρχεται από βιοψία, οπότε η προετοιμασία περιλαμβάνει λήψη του ιστού και επεξεργασία του για να λάβουμε το επιθυμητό αποτέλεσμα (δηλαδή 'χρωματισμός' του πυρηνικού DNA των καρκινικών κυττάρων). Ακολουθεί η λήψη της εικόνας του αντικειμένου. Στο βήμα αυτό πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν και η απαιτούμενη ποιότητα της εικόνας. Το επόμενο βήμα είναι η προεπεξεργασία της εικόνας, δηλαδή η διόρθωση των ατελειών που δεν ήταν δυνατό να αποφευχθούν κατά τη λήψη της (π.χ. ανομοιομορφίες στην ένταση, περιστροφή της εικόνας). Έπειτα, κι αυτό είναι το πιο δύσκολο κομμάτι της διαδικασίας, πρέπει να γίνει διαχωρισμός των προς εξέταση αντικειμένων από το φόντο της εικόνας, κι αυτό θα γίνει κατά την κατάτμηση της εικόνας. Μετά την κατάτμηση, ακολουθεί η εξαγωγή χαρακτηριστικών των αντικειμένων ενδιαφέροντος (που είναι τα δεδομένα για το επόμενο βήμα) και τέλος γίνεται επεξεργασία των δεδομένων αυτών για την εξαγωγή συμπερασμάτων. Παρακάτω περιγράφονται τα στάδια επεξεργασίας της εικόνας από τον υπολογιστή, δηλαδή από την προεπεξεργασία της εικόνας μέχρι τη επεξεργασία των δεδομένων.

A) Προεπεξεργασία

Η προεπεξεργασία της εικόνας αποσκοπεί στη μείωση των ατελειών που εισήγαγε το σύστημα απεικόνισης. Κάποιες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην προεπεξεργασία εικόνας είναι η μείωση των ανομοιομορφιών της εικόνας, η εξομάλυνση για την απαλοιφή του θορύβου και όξυνση των ακμών της εικόνας.

Το στάδιο της προεπεξεργασίας είναι πολύ σημαντικό, αφού από το αποτέλεσμα του καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό η ποιότητα της κατάτμησης. Η εικόνα πρέπει να φιλτράρεται με τρόπο τέτοιο που να μειώνεται ο θόρυβος και να εξομαλύνεται η εσωτερική υφή των αντικειμένων ενδιαφέροντος, χωρίς όμως να επηρεάζονται τα όριά τους.

Ένας τρόπος να επιτευχθεί αυτό το φιλτράρισμα είναι η εφαρμογή στην εικόνα εναλλασσόμενων openings και closings, τα οποία βασίζονται στην ανακατασκευή (reconstruction). Τα φίλτρα ανακατασκευής ανήκουν στην τάξη των συνδεδεμένων τελεστών (connected operators), οι οποίοι έχουν την θεμελιώδη ιδιότητα της αλληλεπίδρασης με την εικόνα μέσω επίπεδων ζωνών. Δεν απομακρύνουν συνιστώσες συχνότητας (όπως κάνουν τα γραμμικά φίλτρα) και δεν επηρεάζουν το σχήμα (όπως συμβαίνει με την εφαρμογή ενός

απλού opening ή closing). Αυτό που ουσιαστικά κάνουν είναι να απομακρύνουν και να συγχωνεύουν επίπεδες ζώνες της εικόνας (δηλαδή ομοιόμορφες περιοχές).

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής: Έστω η εικόνα f κι ένας marker $m=f \ominus rB$, όπου $r=1,2,3,\dots$ και \ominus είναι το σύμβολο της erosion. Ο τελεστής reconstruction opening 'μεγαλώνει' συνεχώς το marker, μέχρι ανακατασκευαστούν όλα τα αντικείμενα της εικόνας f στα οποία ταιριάζει. Το reconstruction opening απομακρύνει φωτεινές περιοχές που είναι μικρότερες από το δομικό στοιχείο (structuring element, m), με αποτέλεσμα να γεμίζουν τα διάκενα στα αντικείμενα της εικόνας και αυτά να γίνονται ομοιόμορφα. Ομοίως, το reconstruction closing απομακρύνουν τις σκοτεινές περιοχές που είναι μικρότερες από το structuring element, απομακρύνουν το θόρυβο από το φόντο της εικόνας, κάνοντάς το ομοιόμορφο. Ο συνδυασμός των δύο φίλτρων ανακατασκευής (reconstruction filters) οδηγεί στην απαλοιφή του θορύβου από την εικόνα, χωρίς να επηρεαστούν τα όρια των περιοχών ενδιαφέροντος.

B) Κατάτμηση

Κατάτμηση είναι η διαδικασία κατά την οποία μία εικόνα χωρίζεται στα αντικείμενα, ή μέρη, από τα οποία αποτελείται και το φόντο της. Συνήθως είναι το πιο κρίσιμο και το πιο δύσκολο βήμα στην επεξεργασία εικόνας και είναι καθοριστικό για την επιτυχία ή μη της τελικής ανάλυσης. Για το λόγο αυτό, ο αριθμός των μεθόδων κατάτμησης εικόνας που έχουν αναπτυχθεί είναι σχεδόν ο ίδιος με τον αριθμό των προβλημάτων κατάτμησης που υπάρχουν. Η αυτόματη κατάτμηση πυρήνων κυττάρων σε δισδιάστατες ή τρισδιάστατες εικόνες επιτρέπει τη μελέτη των ανεξάρτητων πυρήνων κυττάρων στο φυσικό τους χώρο (δηλαδή μέσα στον ιστό). Η αυτόματη κατάτμηση εικόνων είναι προτιμότερη από τη 'χειροκίνητη' χάραξη των ορίων κάθε πυρήνα με τη χρήση ποντικιού, αφού είναι πιο αντικειμενική. Ένα άλλο πλεονέκτημα του αυτοματισμού είναι ότι αυξάνεται η ποσότητα των δεδομένων στα οποία μπορεί να εφαρμοστεί η κάθε μέθοδος, αφού ο ίδιος αλγόριθμος μπορεί να εφαρμοστεί σε όλες τις εικόνες, ανεξάρτητα από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους.

Παρ' όλα αυτά, συχνά εμφανίζονται προβλήματα στην αυτόματη κατάτμηση εικόνων κυττάρων στον ιστό, κι αυτά οφείλονται στις παρακάτω τρεις αιτίες.

1. Συνήθως η ένταση της φωτεινότητας του φόντου είναι ανομοιόμορφη, εξ αιτίας του πάχους του δείγματος και της ύπαρξης αντικειμένων σε επίπεδα κάτω από το επιφανειακό. Αυτή η ανομοιομορφία του φόντου καθιστά το διαχωρισμό φόντου-αντικειμένων δυσκολότερο από την ιδανική περίπτωση του απόλυτα ομοιόμορφου φόντου.
2. Οι μεταβολές της φωτεινότητας στο εσωτερικό των πυρήνων μπορεί να έχουν σαν αποτέλεσμα το διαχωρισμό ενός πυρήνα σε περισσότερα από ένα τμήματα κατά την κατάτμηση, με αποτέλεσμα την υπέρ-κατάτμηση (over-segmentation).

3. Τέλος, συνήθως οι πυρήνες των κυττάρων σχηματίζουν συσσωματώματα, δυσκολεύοντας (και συχνά καθιστώντας αδύνατο) το διαχωρισμό τους σε ανεξάρτητους πυρήνες.

4.3 ΕΞΑΓΩΓΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Αφού τα αντικείμενα ενδιαφέροντος έχουν διαχωριστεί από το φόντο της εικόνας, μπορεί κανείς να εξάγει έναν μεγάλο αριθμό χαρακτηριστικών που μπορεί να ενδιαφέρουν στην περαιτέρω ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά αυτά μπορεί να είναι:

- Μορφομετρικά, δηλαδή χαρακτηριστικά που έχουν σχέση με το σχήμα των αντικειμένων. Τα πιο απλά είναι το εμβαδόν και η περίμετρος του αντικειμένου. Επίσης, τέτοια χαρακτηριστικά είναι η κυκλικότητα (roundness) του αντικειμένου, που είναι ένας από τους δείκτες κατάληψης χώρου του αντικειμένου (compactness index), το εμβαδόν του μικρότερου κυρτού πολυγώνου (ή πολυέδρου για τις τρισδιάστατες εικόνες) που καλύπτει το αντικείμενο (convex area) και η περίμετρος του πολυγώνου αυτού (convex perimeter). Η εξαγωγή των χαρακτηριστικών αυτών βασίζεται μόνο στη θέση των pixels των αντικειμένων στην εικόνα.
- Χαρακτηριστικά της έντασης, που περιγράφουν μόνο τα επίπεδα του επιπέδου του γκριζου, χωρίς να ενδιαφέρει η θέση των pixels των αντικειμένων στην εικόνα. Τέτοια είναι η ολοκληρωμένη ένταση (δηλαδή το άθροισμα των τιμών των εντάσεων των pixels κάθε αντικειμένου), η μέση τιμή των τιμών των εντάσεων των pixels κάθε αντικειμένου και το εύρος των τιμών των εντάσεων κάθε αντικειμένου (δηλαδή η διαφορά της μικρότερης τιμής έντασης από τη μεγαλύτερη).
- Χαρακτηριστικά υφής ή δομής. Αυτά τα χαρακτηριστικά είναι πιο περίπλοκα, καθώς περιγράφουν συνδυασμό των παραπάνω χαρακτηριστικών (μορφομετρικά και χαρακτηριστικά της έντασης). Ένα παράδειγμα τέτοιου χαρακτηριστικού είναι το εύρος της έντασης της περιφέρειας του αντικειμένου.

Η επιλογή του χαρακτηριστικού που θα εξαχθούν εξαρτάται από το αντικείμενο της μελέτης. Μετά από την επιλογή των κατάλληλων χαρακτηριστικών, ακολουθεί η επεξεργασία τους για την εξαγωγή συμπερασμάτων.

Σκοπός της δικής μας εργασίας είναι να μετρηθεί το ποσοστό του αυλού του αγγείου, το οποίο πραγματικά καταλαμβάνεται από την αθηρωματώδη πλάκα με ακρίβεια, να εξεταστούν τα συστατικά που συνθέτουν την αθηρωματώδη πλάκα (συνδετικός ιστός, πυρήνες χοληστερόλης, λιπιδίων, αποπιτανώσεων, πάχος και πυκνότης φλεγμονωδών διηθήσεων φαγοκυττάρων, πάχος της ινώδους κάψας της πλάκας) και το ποσοστό που έкаστο καταλαμβάνει σε σχέση με τη συνολική επιφάνεια της πλάκας, να εξετασθεί ο

συσχετισμός των ποσοστών των συστατικών της πλάκας μεταξύ τους και να διερευνηθεί ποιο από τα συστατικά της είναι αυτό ή αυτά τα οποία συμβάλλουν περισσότερο στην εμφάνιση του αιφνιδίου θανάτου στεφανιαίας αιτιολογίας. Η μεθοδολογία που θα ακολουθηθεί περιλαμβάνει :

- Κατάτμηση εικόνων μικροσκοπίου και απομόνωση του αυλού της στεφανιαίας αρτηρίας.
- Μέτρηση του ποσοστού στένωσης ή απόφραξης του αυλού που προκαλείται από την αθηρωματική πλάκα καθώς και τη σύσταση αυτής.

5. ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ IMAGE PRO PLUS

5.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Το παρόν πρόγραμμα αποτελεί προϊόν της Media Cybernetics , και αυτή τη στιγμή αποτελεί ίσως το πιο πρωτοποριακό πρόγραμμα για την ανάλυση εικόνας ειδικότερα στον επιστημονικό κόσμο. Πρωτοεμφανίστηκε το 1985 και μέχρι τώρα έχει χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές, μηχανικούς και εργαστηριακούς τεχνικούς. Μπορεί να επεξεργαστεί και να αναλύει εικόνες σε ένα και μόνο υπολογιστή ή σε ένα ολόκληρο δίκτυο. Μερικοί από τους παραμέτρους που περιλαμβάνει είναι EDF (Extended Depth of Field) , Color Composite, LSF (Large Spectral Filters) Colocalization και Sequence Gallery.

Το EDF επιτρέπει στους χρήστες να συνδυάζουν πολλαπλές 2-stack εικόνες σε μια σύνθετη εικόνα,. Ερευνητές που αποκτούν εικόνες ευμεγεθών αντικειμένων που δεν μπορούν να εξεταστούν σε μια και μόνο λήψη όταν αυτή γίνεται μέσω μικροσκοπίου , το θεωρούν ως το εργαλείο –κλειδί.

Το Color Composite δημιουργεί και διαμορφώνει εικόνες με σύνθετα χρώματα, από εικόνες που έχουν δημιουργηθεί με πηγές που έχουν ως βάση ασπρόμαυρη/γκρίζα κλίμακα, γεγονός που εξυπηρετεί την έρευνα του Complex Fluorescence πεδίου και του Colocalization studies. Large Kernel φίλτρα υποστηρίζονται από LSF, το οποίο χρησιμοποιεί έναν αλγόριθμο που περιορίζει τους περισσότερους από τους πολλαπλασιασμούς και τις προσθήκες, που είναι συχνές στις προηγούμενες προσθήκες που έχουν τέτοιου τύπου φίλτρα.

Το Colocalization παράγει αμφότερες τις γραφικές και στατιστικές αναπαραστάσεις μέσω μιας εικόνας. Αυτό το ενιαίο πρότυπο δημιουργεί τόσο χρωματιστές, όσο και βασισμένες στη γκρίζα κλίμακα τρισδιάστατες αναπαραστάσεις.

Με το New Sequence Gallery οι χρήστες μπορούν να επισκοπήσουν μια συλλογή αλληλουχιών, σαν μια μόνη έκθεση από Thumbnail εικόνα. Αυτό μπορεί να χρησιμεύσει στο

να κάνει μια προεπισκόπηση όταν επιχειρούν να κάνουν ανάλυση εικόνας πριν τις εφαρμόσουν σε όλη την αποθήκη αλληλουχιών.

5.2 ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ IMAGE PRO PLUS

Το image pro plus παρέχει πολλές δυνατότητες ανάλυσης και επεξεργασίας εικόνας. Μερικές από αυτές αναφέρονται παρακάτω:

- Εισαγωγή εικόνων από μικροσκόπιο, ψηφιακή φωτογραφική μηχανή, ή σαρωτή.
- Ανάγνωση και εγγραφή δεδομένων εικόνας σε όλες τις τυπικές μορφές αρχείων εικόνας, συμπεριλαμβανομένων, TIFF, JPEG, BMP, TGA, και πολλά άλλα.
- Επεξεργασία εικόνας σε κλίμακα του γκρι 8, 12, 16, ή 32-bit και έγχρωμης σε 24, 36 και 48-bit. Μοντέλα χρώματος RGB, HSI, HSV or YIQ.
- Βελτίωση εικόνας με χρήση ισχυρών φίλτρων χρώματος και αντίθεσης όπως Fast Fourier Transforms (FFT), morphology, field flattening, background subtraction και άλλες χωρικές και γεωμετρικές πράξεις.
- Εύρεση και μέτρηση αντικειμένων σε χώρο, γωνία, περίμετρος, διάμετρος, ποσοστό. Βαθμονόμηση χωρικής κλίμακας σε οποιαδήποτε μονάδα μέτρησης.
- Συλλογή αριθμητικών δεδομένων, στατιστικά ή σε γραφική μορφή (ιστόγραμμα). Αποθήκευση των δεδομένων των μετρήσεων.
- Αυτοματοποίηση επαναλαμβανόμενων εργασιών και προσαρμογή του Image-Pro Plus ανάλογα τις εκάστοτε ανάγκες χρησιμοποιώντας Auto-Pro, ισχυρό εργαλείο με χρήση μακροεντολών που εξοικονομεί χρόνο.

5.3 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΟΥ IMAGE PRO PLUS ΜΕ ΑΛΛΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΕΙΚΟΝΑΣ

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί πολλά προγράμματα επεξεργασίας εικόνας. Στη δική μας όμως εργασία έχουμε την ιδιαιτερότητα ότι οι φωτογραφίες προέρχονται από το μικροσκόπιο. Έτσι έπρεπε να αποφασίσουμε ποίο πρόγραμμα είναι το καταλληλότερο για την εξαγωγή των επιθυμητών αποτελεσμάτων.

Μετά από διάφορες δοκιμές που κάναμε, καταλήξαμε στο Image Pro plus γιατί υπερείχε σε σχέση με τα υπόλοιπα σύμφωνα με τις δυνατότητες του που αναλύσαμε και παραπάνω.

Στον πίνακα που ακολουθεί μπορούμε να δούμε πιο αναλυτικά τα συγκριτικά στοιχεία των διάφορων προγραμμάτων.

Πίνακας 1 : Συγκριτικός πίνακας του image Pro Plus με άλλα προγράμματα επεξεργασίας εικόνας

Vendor	Package Name	Image Support	Supported Devices	Website
MVIA	Image Analysis Software	2D/3D	A	http://www.mvia.com
Clemex	Clemex Vision PE	2D/3D	A	http://www.clemex.com
MIS	Pax-It PI-M300A	2D	E	http://www.paxit.com
Media Cybernetics	Image-Pro Bundled Solutions Image-Pro AMS Image-Pro MDA Image-Pro MC Image-Pro 3D Suite	2D/3D	A, D	http://www.mediacy.com
iMTtechnology	iSolution DT	2D/3D	n/a	http://www.imt-digital.com
Dewinter Optical	Dewinter Caliper Pro Dewinter Biowizard Dewinter Material Plus Dewinter Foundry Plus Dewinter Micro Measurement Pro	2D	E	http://www.dewinterindia.com
MBF BioScience MicroBrightField	AutoNeuron Confocal SD ImageStackModule NeuroLucida SolidModelingModule SteroInvestigator VirtualSliceModule	2D/3D	C, D, E	http://www.mbfbioscience.com
Nascent Technology	MedicalPlus MeasurePro CapturePro	2D	A	http://www.nascentimage.com
Intelligent Perception	Pixcavator Image Analyzer	2D	n/a	http://inperc.com
GSA Bansemer & Scheel GbR	GSA Image Analyser	2D	n/a	http://www.gsa-online.de
Broad Institute	CellProfiler* CellVisualizer*	2D	n/a	http://www.cellprofiler.org
IMAS	CellObserver EliSpot Process	2D	A, D, E	http://www.imas.co.uk

		Analysis			
Wadsworth Center	Spider*	2D/3D	E		http://www.wadsworth.org
MCID	MCID Core	2D/3D	A, E		http://www.mcid.co.uk
ImageJ	ImageJ for Microscopy*	2D/3D	C, D		http://www.macbiophotonics.ca
Scion Corporation	Scion Imaging Software*	n/a	n/a		http://www.scioncorp.com

(*) Open source/freeware software packages

A = Automated microscope

B = Planar microscope

C = Confocal microscope

D = Functional microscope

E = Digital microscope

Gaining insight from microscopy images typically requires some level of processing and analysis. Both commercial and open source software packages are available that can supplement or totally drive microscope usage.

Kherlopian *et al.* *BMC Systems Biology* 2008 **2**:74 doi:10.1186/1752-0509-2-74

5.4 ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΕΧΕΙ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΣΑΝ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΟ IMAGE PRO PLUS

Παρακάτω παρατίθενται εργασίες στις οποίες έχει χρησιμοποιεί σαν εργαλείο μετρήσεων και ανάλυσης εικόνας:

1) Evaluation of the Image Pro Plus 4.5 software for automatic counting of labeled nuclei by PCNA immunohistochemistry, J S Francisco; H P de Moraes et al. Oral Pathology, Braz. oral res. vol.18 no.2 São Paulo Apr./June 2004

Στον τομέα της πυρηνικής ιατρικής για να συγκριθεί κατά πόσο η πρόσληψη και χορήγηση σε πειραματόζωα ουσιών μπορεί να επιδράσει στη βιοδιαθεσιμότητα άλλων ραδιενεργών βιοενώσεων, αλλά και για την αλλαγή στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των οργάνων.

2) Automated quantitative analysis of angiogenesis in the rat aorta model using Image Pro Plus 4.1 *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, Volume 75, Issue 1, Pages 75-79, R.Blatt, A. Clark, J.Courtney, C.Tully, A.Tucker

Προσδιορισμός της παρουσίας ή μη της ποσοστικής ανάπτυξης νεοαγγείωσης σε αορτή αρουραίων όταν αυτή εξαχθεί και εφαρμοσθεί σε κατάλληλο θρεπτικό υλικό, ώστε να αξιολογηθούν οι εξωτερικοί παράγοντες που συμβάλλουν στη διέγερση των ενδοθηλιακών κυττάρων και τη δημιουργία τους.

3) Computer- assisted fractal analysis of spontaneous canine mammary gland tumours on cytologic smears Veterinary Clinical Pathology .Volume 35 Issue 4, Pages 446 – 448, Radostin Simeonov ^a , Galina Simeonova ^a

Στο να προσδιοριστούν και να ταυτοποιηθούν τα χαρακτηριστικά των πυρήνων των εξαλλαγμένων κυττάρων στο βασικοκυτταρικό καρκίνωμα

4) Granularity measurement for printing quality analysis with image pro plus

Για να μειώσει το χρόνο και τα στάδια επεξεργασίας μιας εικόνας.

5) Morphometric variables of honeybees *Apis mellifera* used in ecotypes characterization in Argentina Ecological Modelling. Volume 214, Issue 1, 10 June 2008, Pages 53-58 C. Andere, C. García, C. Marinelli R. Cepeda, E.M. Rodríguez and A. Palacio (bibliografeia)

Για να κατατάξει σε είδος ανά περιοχή τις μέλισσες ανάλογα με τις διαστάσεις συγκεκριμένων ανατομικών μελών του σώματός τους.

6) Morphometric characteristics of first stage *Elaphostrongylus cervi* , larva from Bulgaria European Journal of Wildlife Research PublisherSpringer Berlin / Heidelberg ISSN1612-4642 (Print) 1439-0574 (Online) IssueVolume 54, Number 4 / October, 2008 Mariana Panayotova-Pencheva and Marin Alexandrov (bibliografeia)

Για να μετρήσει και να συγκρίνει διαστάσεις κατά την ανάπτυξη του στα μετέπειτα στάδια το έντομο larva.....

7) Correlation of Nuclear Morphometric Features with Animal and Human World Health Organization International Histological Classifications of Canine Spontaneous Seminomas Vet Pathol 41:608-611 (2004). © 2004 American College of Veterinary Pathologists

P. Maiolino, B. Restucci, S. Papparella, O. Paciello and G. De Vico (bibliografeia)

Να βρεθούν συσχετισμοί στις παραμέτρους των πυρήνων των κυττάρων στα canine σεμινώματα ανάμεσα σε ανθρώπους και ζώα

8) Morphologic and morphometric analysis of testis of *Pseudis limellum* (Cope, 1862) (Anura, Hylidae) during the reproductive cycle in the Pantanal, BrazilAdelina Ferreira¹, Mahmoud Mehanna^{1,2}, and Cynthia P. A. Prado³

1. Departamento de Biologia e Zoologia, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT),Brasil.

2. Departamento de Morfologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP- *Campus* de Botucatu), Brasil.

3. Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Un (bibliografeia)

Να εκτιμηθεί η δραστηριότητα και η ποιότητα/μέγεθος των κυττάρων των όρχεων κατά τη διάρκεια του παραγωγικού κύκλου του *pseudis limellus*.

9) Morphometric analysis of nucleus and nucleolar organizer regions in tongue squamous cell carcinoma Morphometric analysis of nucleus and nucleolar organizer regions in tongue squamous cell carcinoma / Analisis morfometrico de nucleos y regiones del organizador nucleolar en carcinomas de celulas escamosas de la lengua International Journal of Morphology, Sept, 2007 by J.A. Padovani, Jr., R. Monteiro, T. Zan, R. Azoubel, D. De Santi, S. Taboga, A. Martins (bibliografeia)

Να μελετηθούν τα κυτταρολογικά χαρακτηριστικά των εξαλλαγμένων κυττάρων στο πλακώδες καρκίνωμα της γλώσσας, όπως ο πυρήνας και οι οργανωτικές περιοχές του.

10) Morphometric analysis of pulpal myelinated nerve fibers in human teeth with chronic periodontitis and root sensitivity 1: Medicina (Kaunas). 2006;42(11):914-22 Vaitkeviciene I, Vaitkevicius R, Paipaliene P, Zekonis G. (bibliografeia)

Να εκτιμηθούν τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά κεντρικών ινών της περιοδοντικής περιοχής, έτσι ώστε να συσχετιστεί ή όχι η δομή και η ενδεχόμενη βλάβη τους με την εμφάνιση περιοδοντίτιδας και οδοντικής ευαισθησίας.

11) Embryo development and morphometry in the blue king crab Paralithodes platypus studied by using image and cluster analysis Embryo development and morphometry in the blue king crab Paralithodes platypus studied by using image and cluster analysis. Journal of Shellfish Research | August 1, 2006| Stevens, Bradley G. (bibliografeia)

Για να παρακολουθηθεί η ανάπτυξη και η αλλαγή των διαστάσεων ενός εμβρύου κάβουρα ανάλογα με τις μέρες ζωής του.

12) Morphometric characterization of staging categories in urothelial cancer of the urinary bladder (Guy Hidas et al, Curr Urol 2009, 3 76-81)

Αντικείμενο για να συσχετιστεί η έκταση της αλλαγής της μορφολογίας του πυρήνα των εξαλλαγμένων κυττάρων στο ουροθηλιακό καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης.

13) Progression of fibrosis in advanced chronic hepatitis C, Evaluation by morphometric image analysis epatology. 2007 Apr; 45(4):886-94. Goodman ZD, Becker RL Jr, Pockros PJ, Afdhal NH. (βιβλιογραφία)

Αντικείμενο για να εκτιμηθεί το ποσοστό που καταλαμβάνει ο ινώδης ιστός στα διάφορα στάδια της κίρρωσης του ήπατος.

14)Histopathology and morphometry of radial artery conduits, basic study and clinical application , The Annals of Thoracic Surgery Volume 78, Issue 5, November 2004, Pages 1614-1621 Histopathology and Morphometry of Radial Artery Conduits: Basic Study and Clinical Application. Ujjwal K. Chowdhury MCh^a Balram Airan MCh^a, Pankaj K. Mishra MCh^a, Shyam S. Kothari DM^b, Ganapathy K. Subramaniam MS^a, Ruma Ray MD^c, Rajvir Singh MS, PhD^d and Panangipalli Venugopal MCh^a U. K. Chowdhury et al, (bibliog)

Αντικείμενο για να καθοριστούν οι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης αθηρωματοσκληρυντικών φαινομένων στις radial αρτηρίες.

Κοινό χαρακτηριστικό των ανώτερων ερευνών , εκτός του κοινού παρονομαστή που είναι το πρόγραμμα και η εκμετάλλευση των απεριορίστων δυνατοτήτων που παρέχει, είναι η εφαρμογή τους προς μελέτη αντικειμένων σε μορφομετρικά πλαίσια. Τις εφαρμογές αυτές εκμεταλλευτήκαμε στην πορεία της διεξαγωγής της έρευνας αυτής.

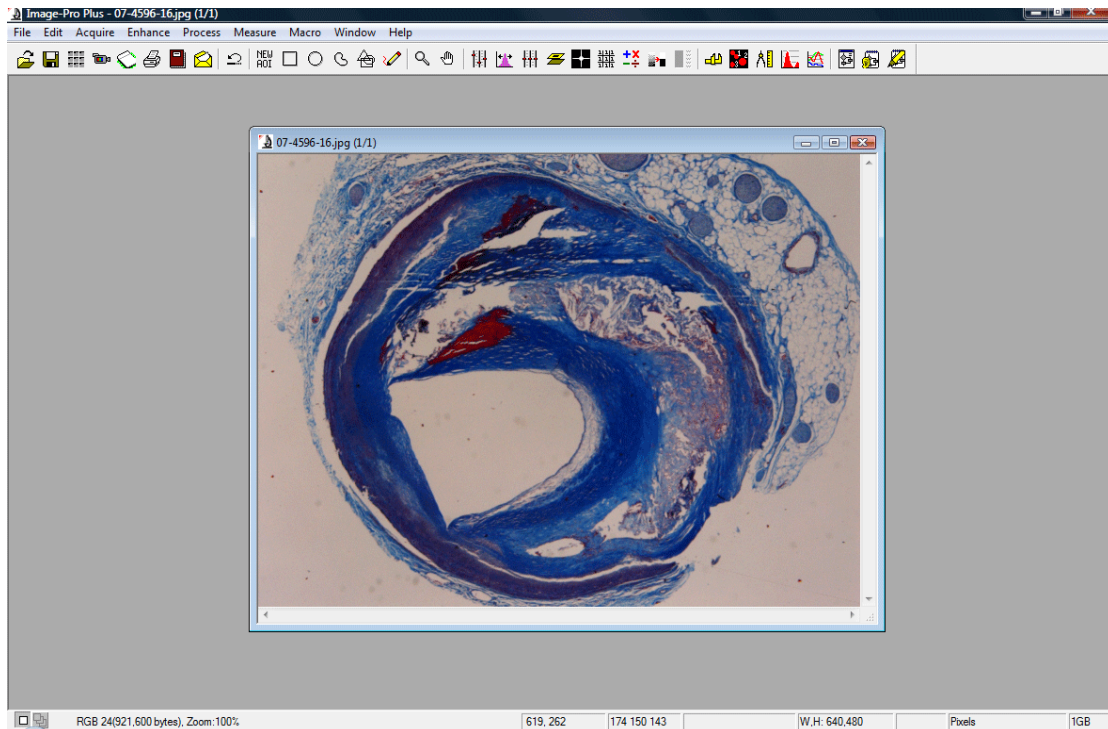
6. ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ


6.1 ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

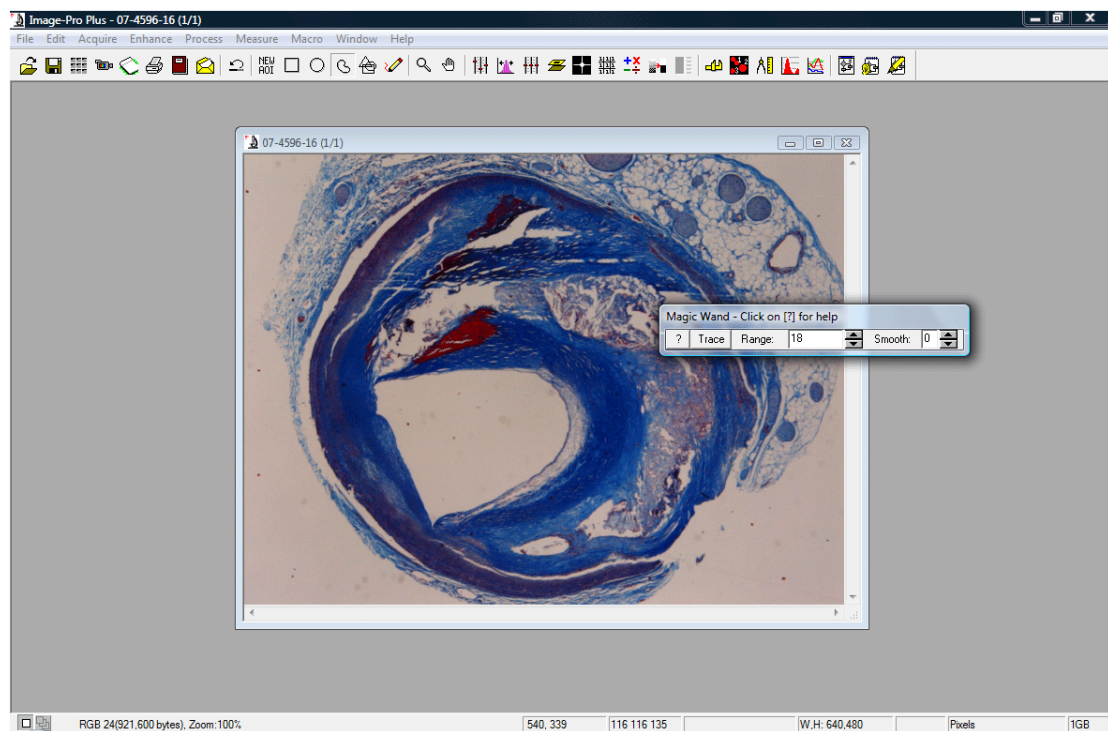
Το image pro plus μας δίνει την δυνατότητα να χρησιμοποιήσουμε πολλούς διαφορετικούς τρόπους για να επεξεργαστούμε τις εικόνες που έχουμε συγκεντρώσει από την έρευνα μας και να φτάσουμε στο επιθυμητό για μας αποτέλεσμα.

Τα βήματα που ακολουθήσαμε εμείς είναι τα παρακάτω:

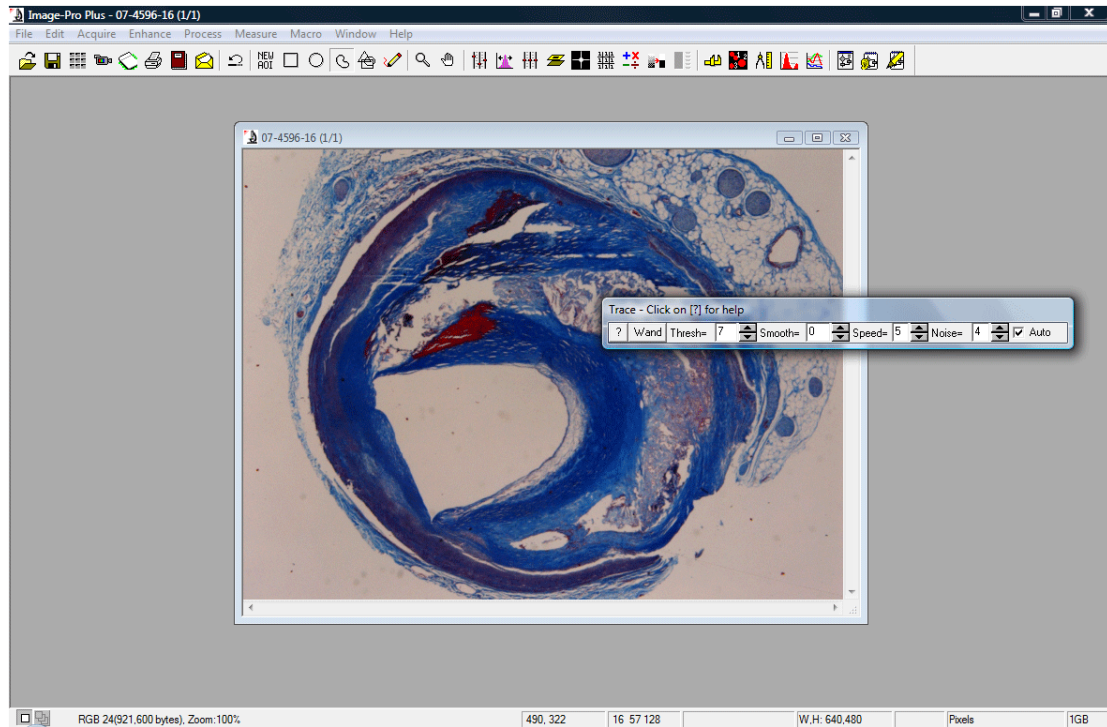
1) Ανοίγουμε την προς επεξεργασία εικόνα μας στο image pro (Οι εικόνες που επεξεργαζόμαστε είναι τομές αγγείων που παίρνουμε από το μικροσκόπιο και βάφουμε με χρωστικές ουσίες για καλύτερη ανάλυση.)



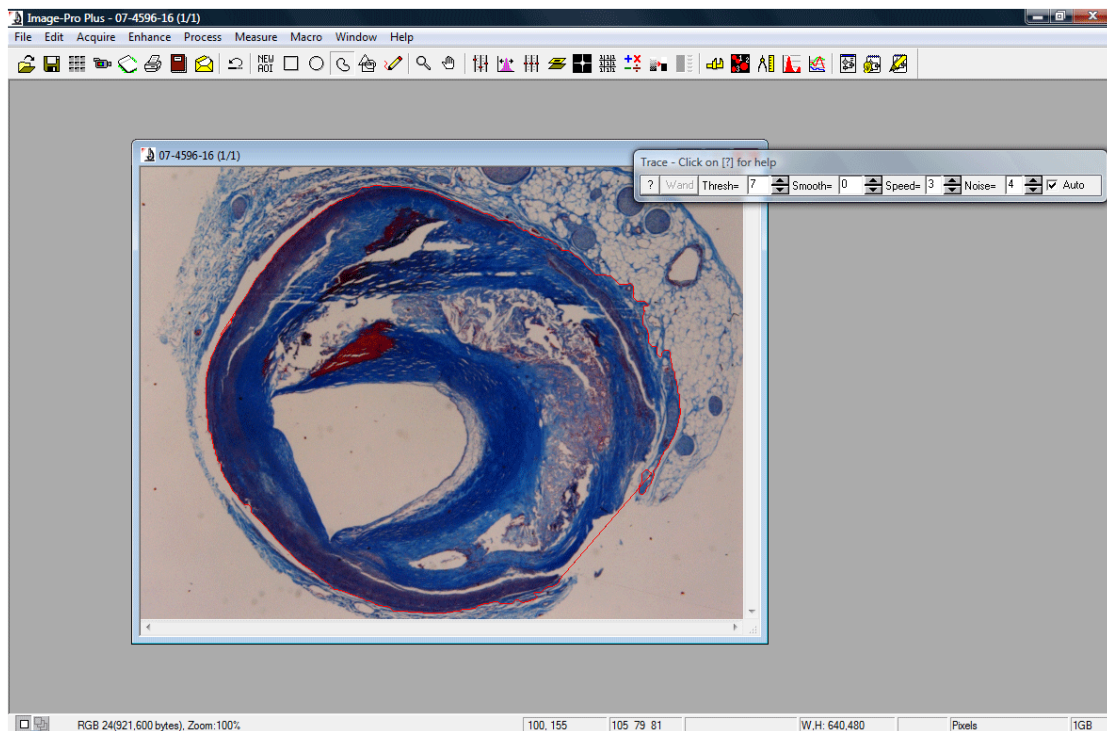
2) Με το εργαλείο irregular AOI από το menu του image pro προσπαθούμε να επιλέξουμε την συνολική περιοχή του αυλού. Αυτό μπορούμε να το κάνουμε είτε χρησιμοποιώντας το εργαλείο magic wand είτε το trace. Το magic ward επιλέγει μια περιοχή στο ίδιο χρωματικό επίπεδο. 



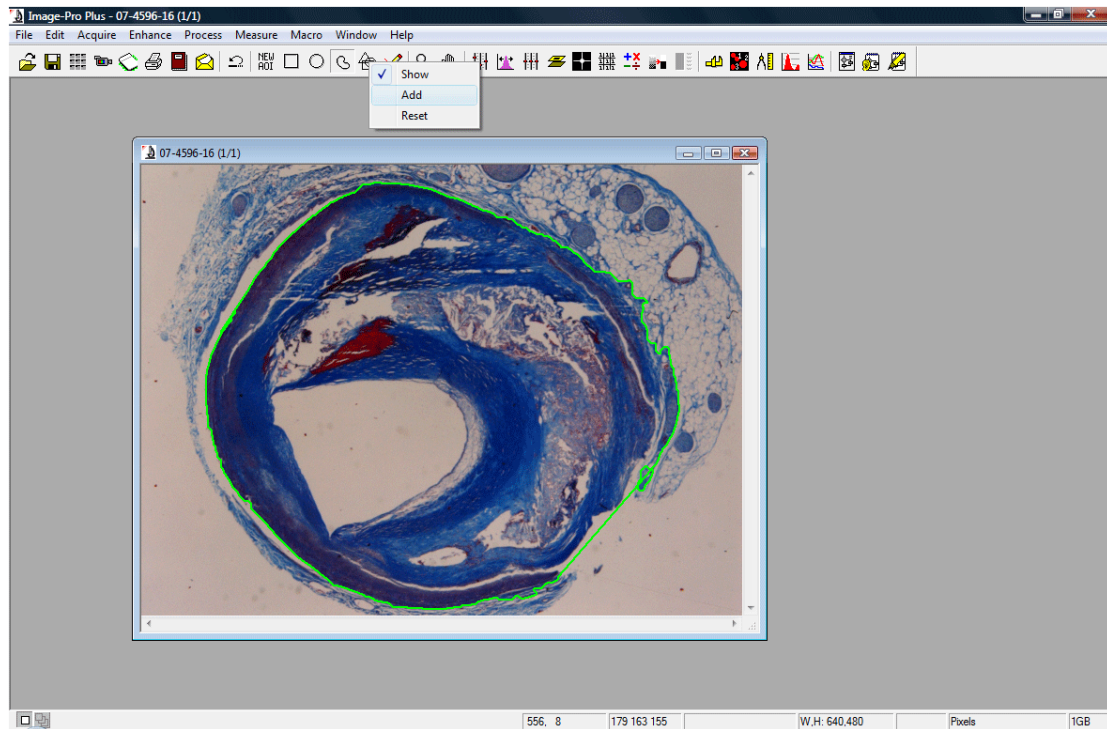
Το trace έχει και χειροκίνητη και αυτόματη επιλογή έτσι ώστε να μπορέσουμε να το «σύρουμε» προς την σωστή περιοχή.



Επιλέγουμε την περιοχή του συνολικού αυλού με όποιο τρόπο είναι ευκολότερο ανάλογα με το δείγμα που έχουμε.

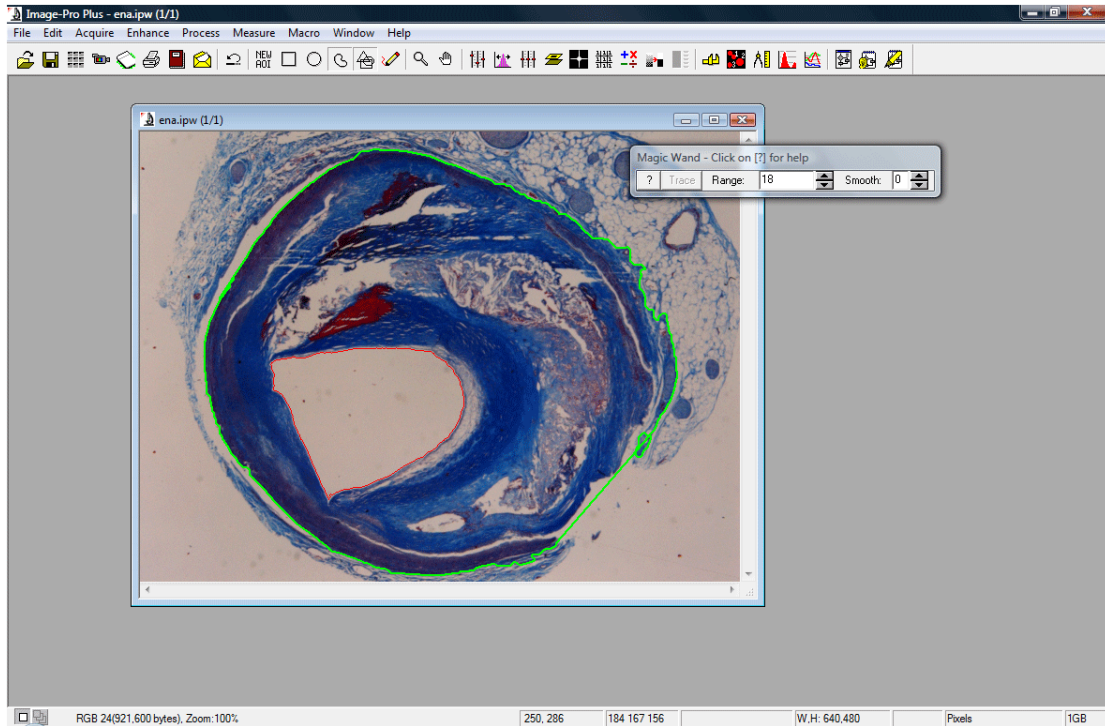


Τέλος πρέπει να προσθέσουμε την επιλεγμένη περιοχή στο multiple AOI εργαλείο με το add.

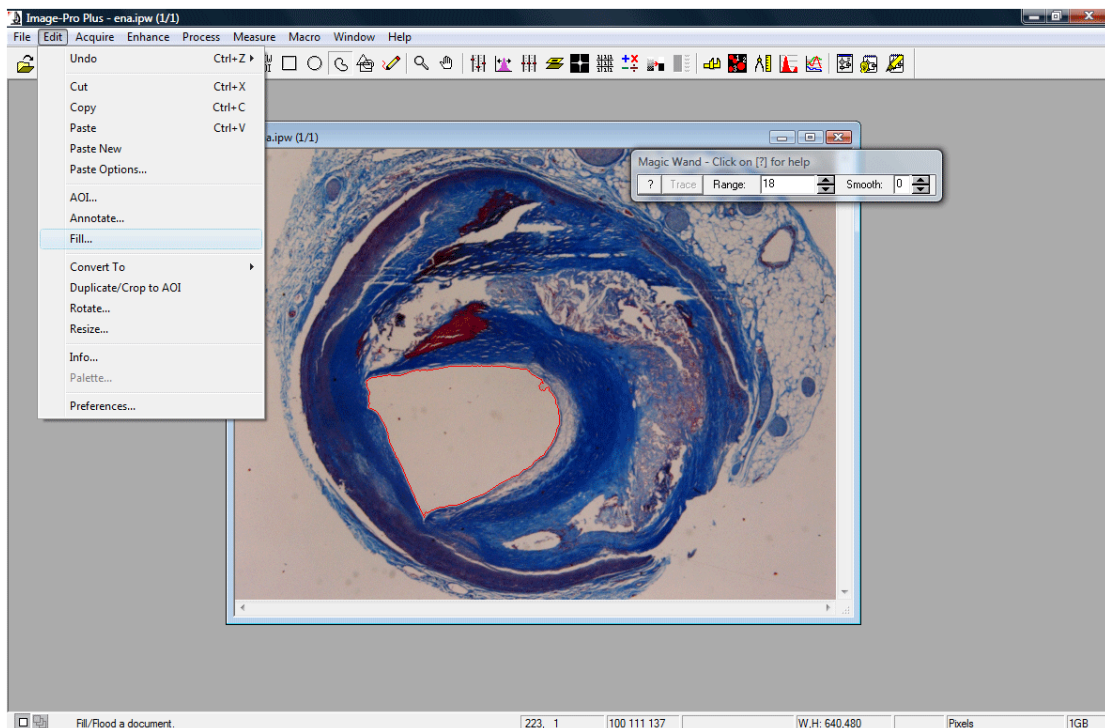


3) Αποθηκεύουμε την φωτογραφία μας σε μορφή .ipw . Αυτό μας δίνει την δυνατότητα να μπορούμε στην συνέχεια να κάνουμε δοκιμές και αλλαγές χωρίς να «χάσουμε» την αρχική περιοχή του αυλού που έχουμε μαρκάρει.

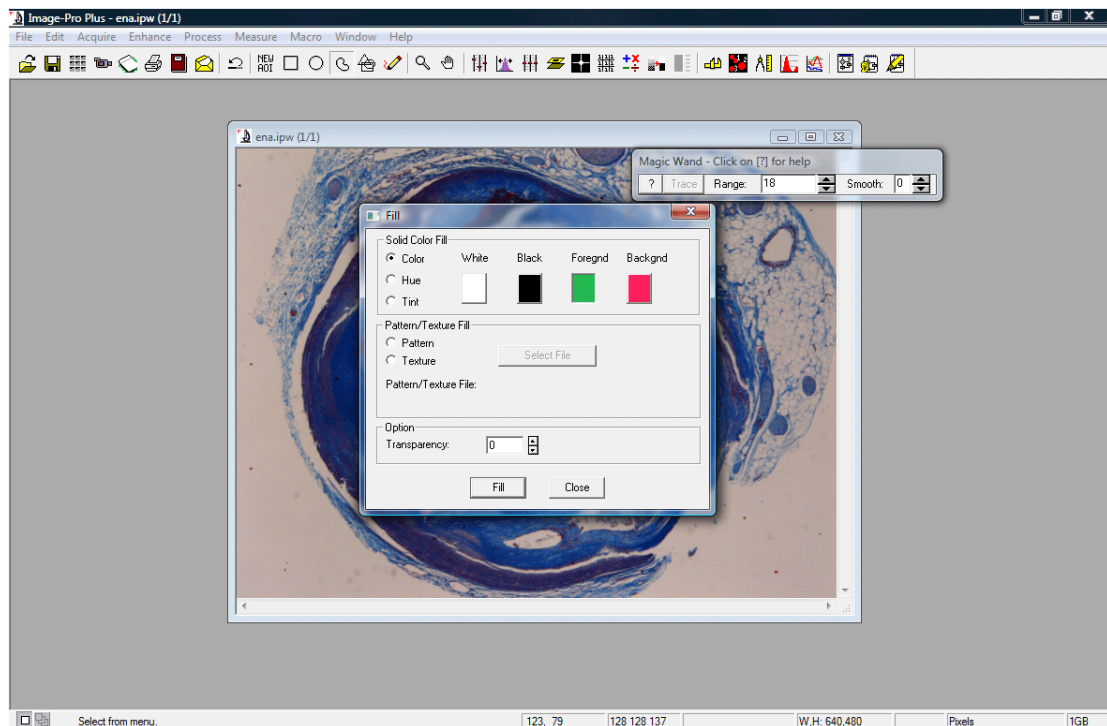
4) Το επόμενο βήμα για την έρευνα μας είναι να επιλέξουμε τον ελεύθερο αυλό στο αγγείο με τον τρόπο που το κάναμε και για τον συνολικό αυλό.



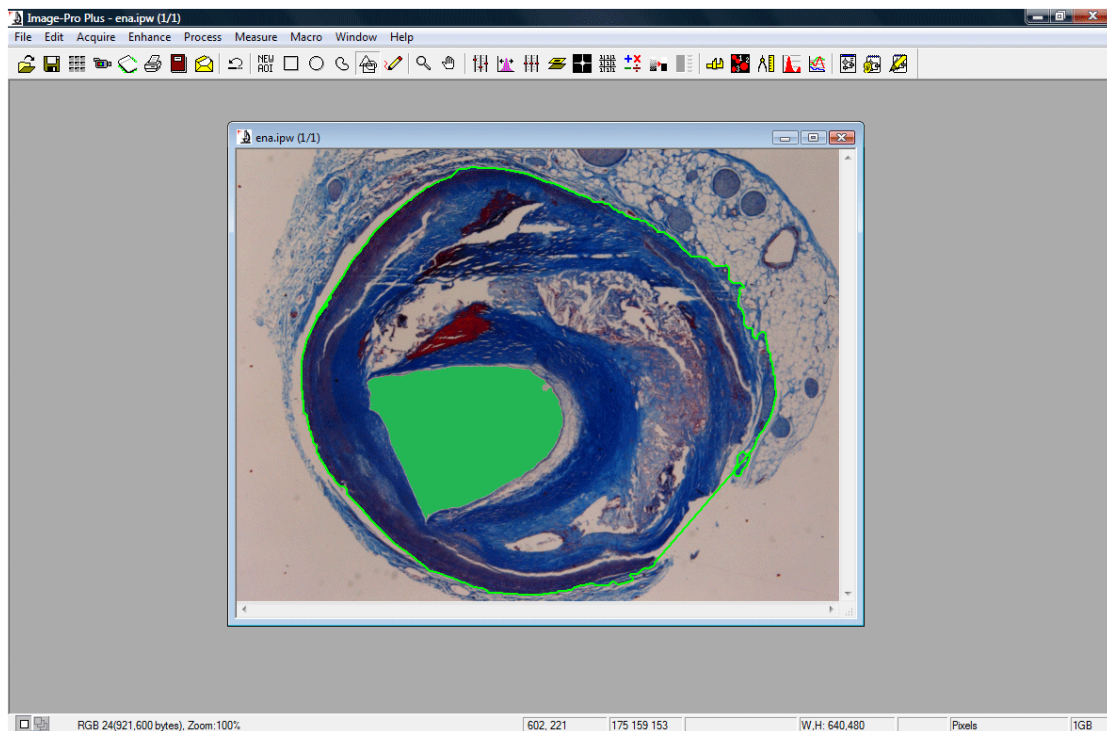
Για δική μας ευκολία θα μπορούσαμε να το χρωματίσουμε με κάποιο έντονο χρώμα για να μπορούμε να το επεξεργαστούμε καλύτερα. Αυτό θα το κάνουμε χρησιμοποιώντας την επιλογή fill από το menu edit



Διαλέγουμε ένα χρώμα που θα μας βοηθήσει και «γεμίζουμε» τον ελεύθερο αυλό.

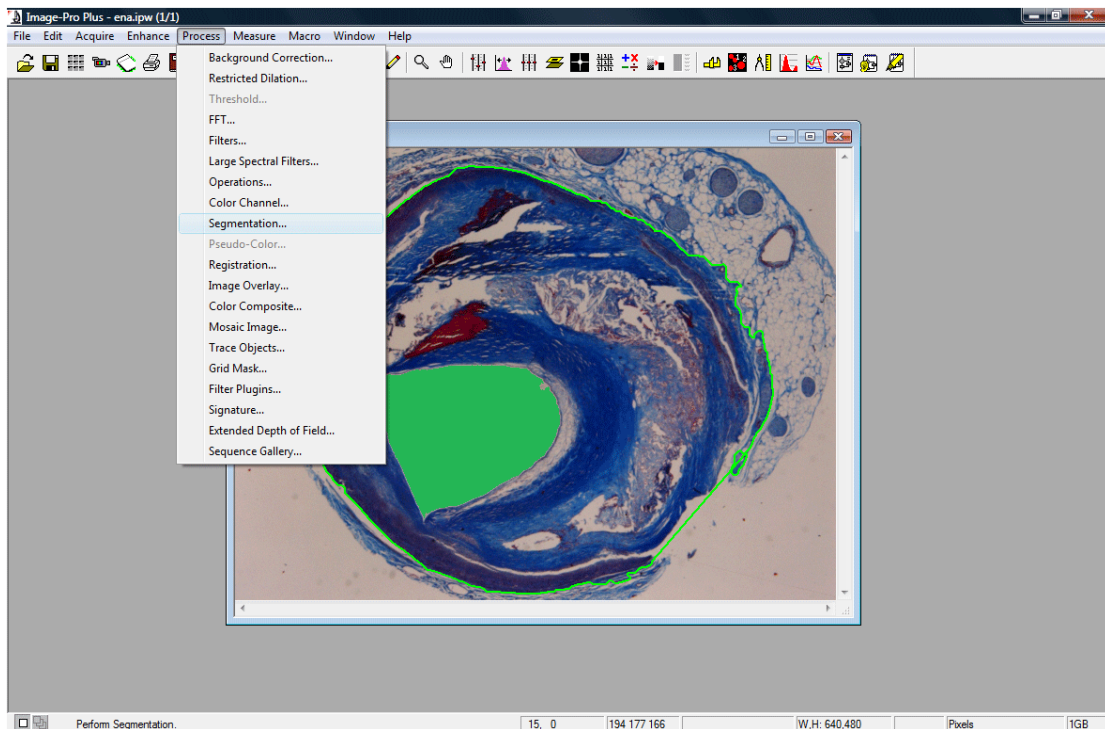


Αφού έχουμε φτάσει σε αυτή τη μορφή της επεξεργασίας προχωράμε στην ανάλυση μας.

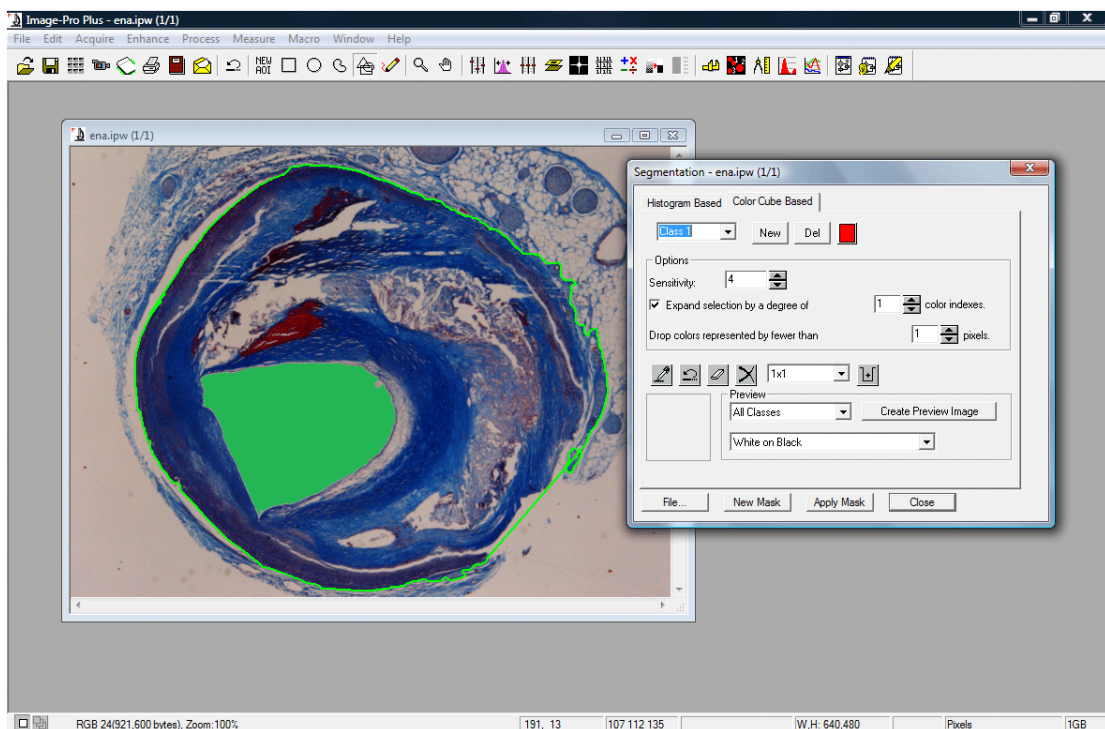


5) Από το μενού εργαλείων του image pro επιλέγουμε process και στη συνέχεια segmentation. Για μεγαλύτερη ευκολία μπορούμε απλά να επιλέξουμε το αντίστοιχο εικονίδιο

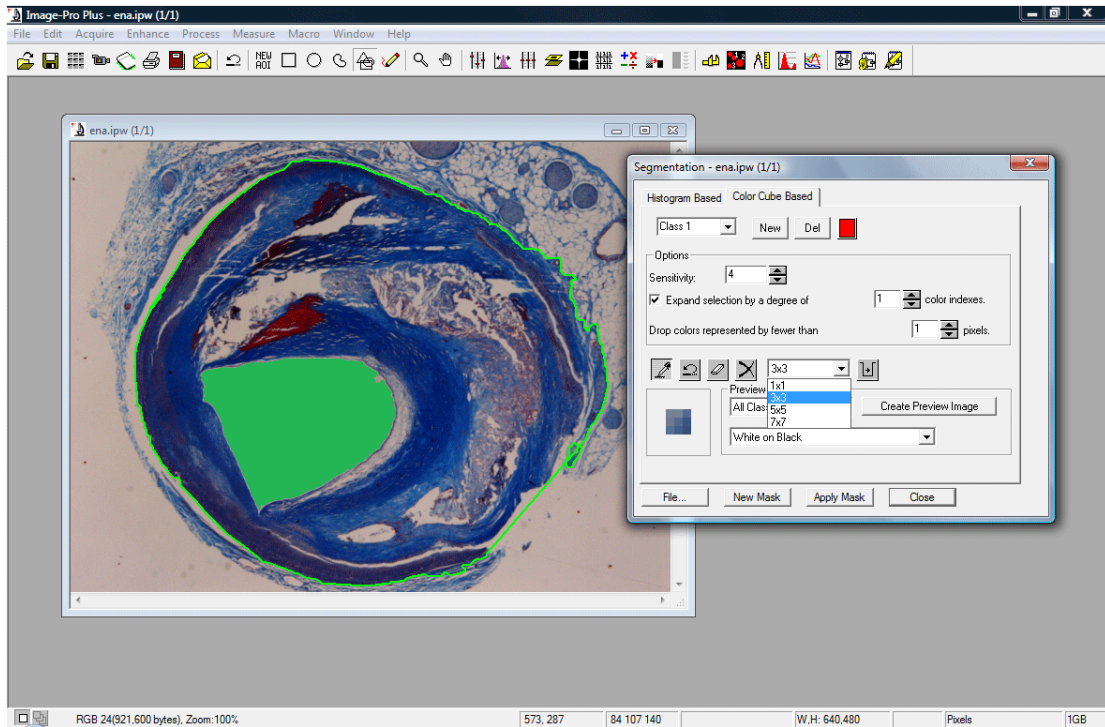
από την μπάρα εργαλείων.



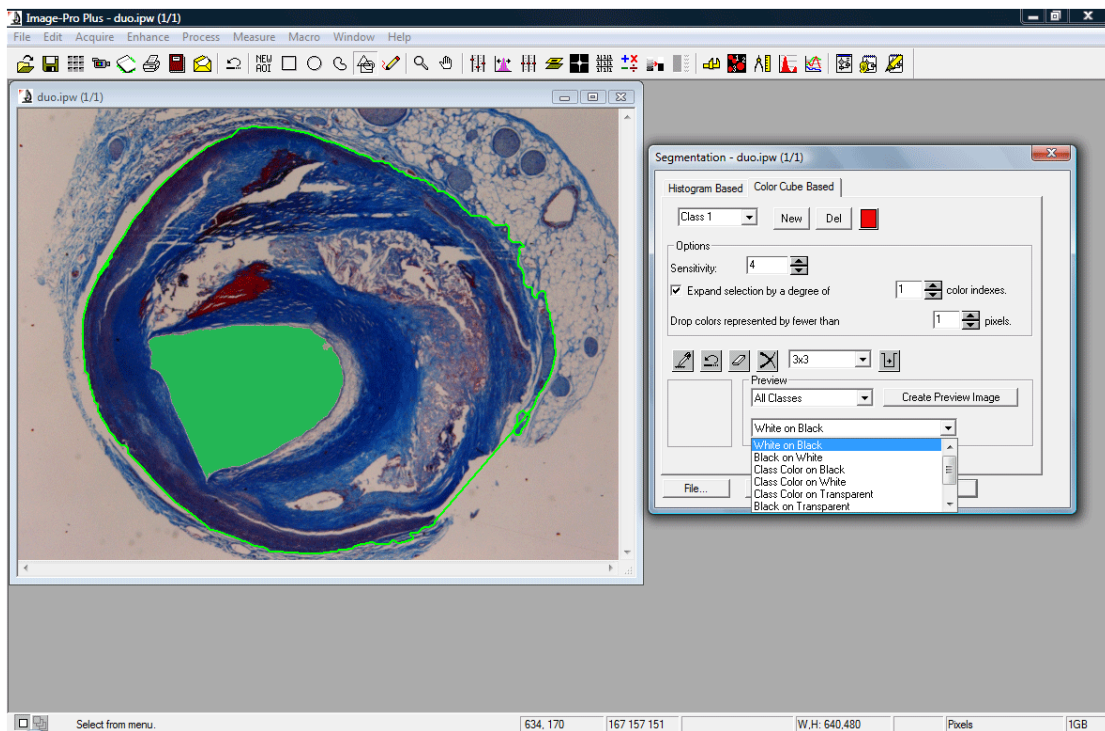
Ανοίγοντας την καρτέλα color cube based μπορούμε να επιλέξουμε την ακρίβεια της επιφάνειας που θέλουμε να μαρκάρουμε.



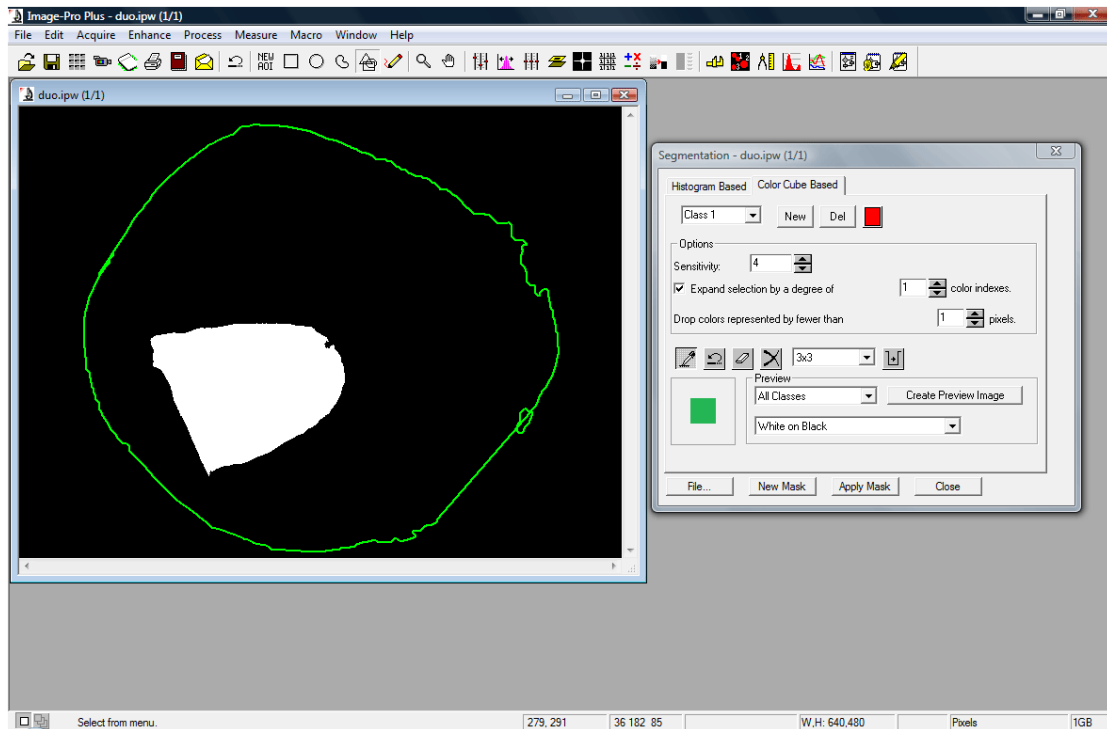
Οι δυνατότητες που έχουμε είναι : 1X1 3X3 5X5 7X7 . (όσο πιο μικρή επιφάνεια τόσο περισσότερη ακρίβεια)



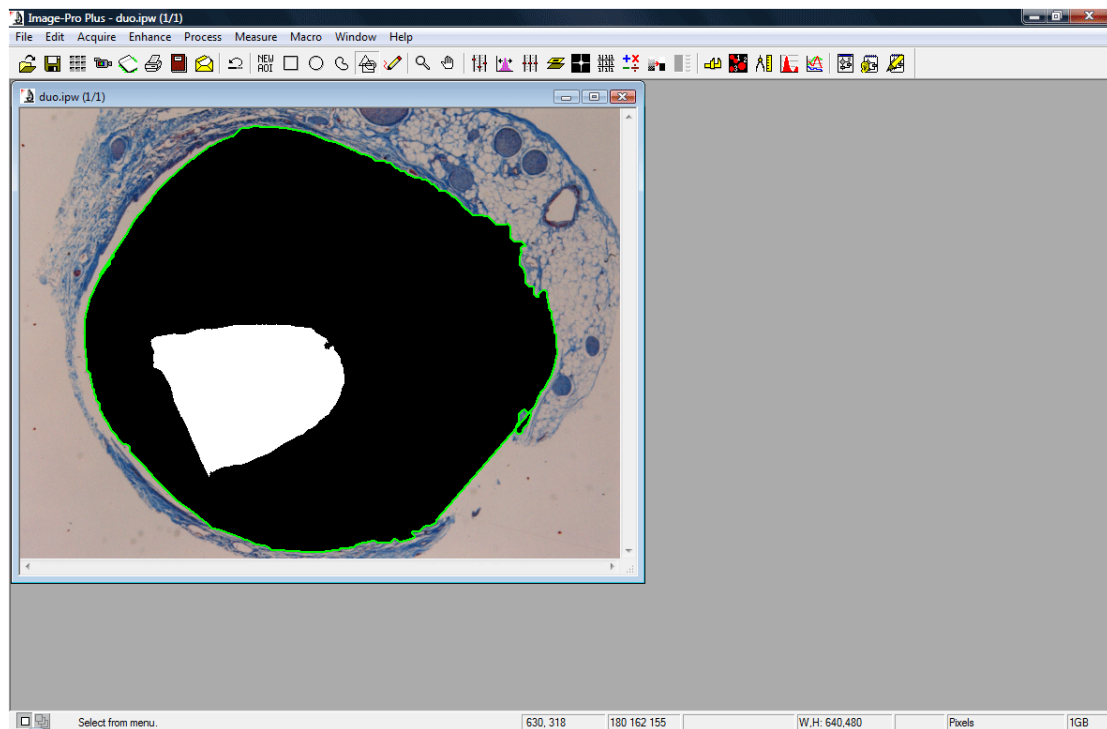
Στη συνέχεια από το scroll menu διαλέγουμε την εφαρμογή white on black και με το σταγονόμετρο μας επιλέγουμε την περιοχή του ελεύθερου αυλού που θέλουμε να μετρήσουμε.



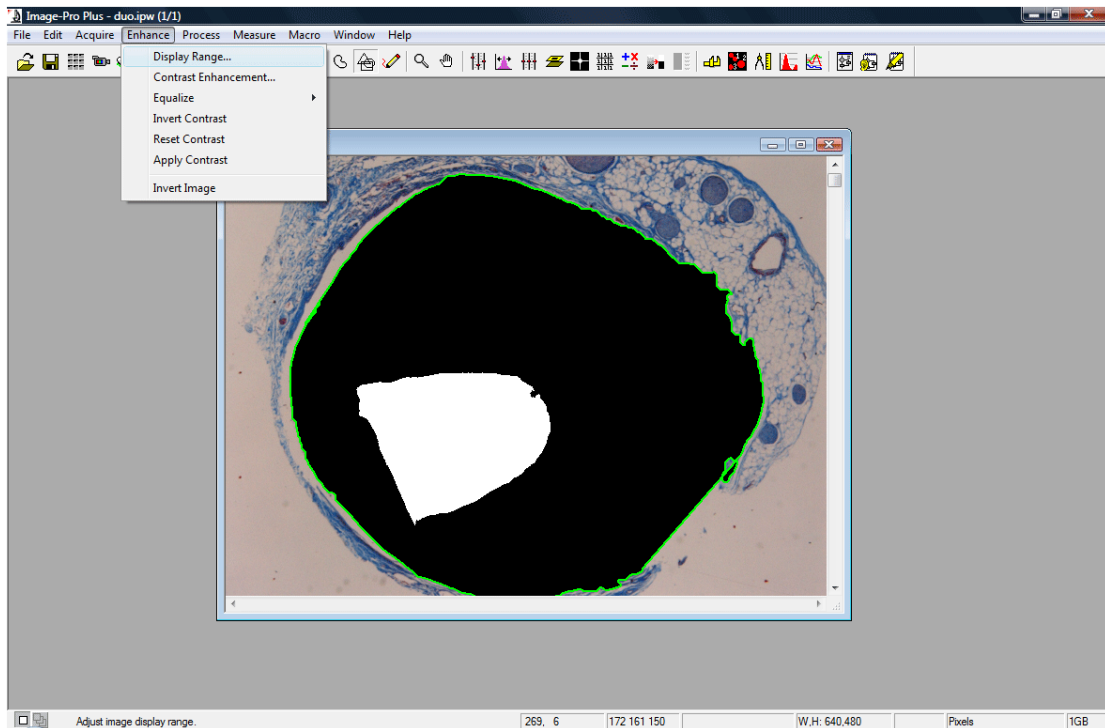
Έπειτα πατάμε apply mask και close.



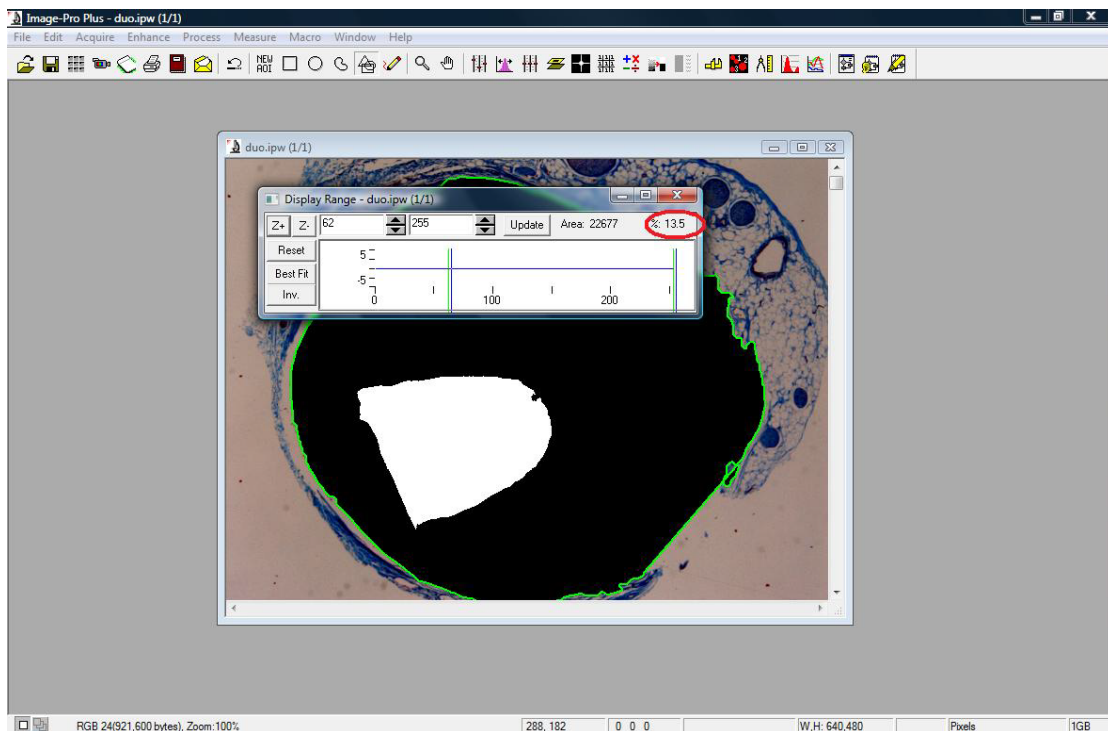
Αν θέλουμε αποθηκεύουμε και τη φωτογραφία σε αυτή μη μορφή για να έχουμε τα δείγματα της εργασίας μας.



6) Από το μενυ διαλέγουμε enhance και μετά display range. Με αυτόν τον τρόπο θα μάθουμε το ποσοστό της επιφάνειας του ελεύθερου αυλού σε σχέση με τον συνολικό αυλό. Αυτό δηλαδή που θέλουμε να μελετήσουμε.



Μετακινώντας τη μπάρα βλέπουμε το ποσοστό μας που μένει σταθερό.



Αν τώρα θέλουμε να μετρήσουμε κάποιο άλλο στοιχείο του αυλού επιστρέφουμε στην αρχική φωτογραφία που έχουμε αποθηκεύσει για να έχουμε το ίδιο μέτρο σύγκρισης σε σχέση με την περιοχή του συνολικού αυλού και ακολουθούμε την ίδια διαδικασία.

6.2 ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΤΩΝ MACRO ΕΝΤΟΛΩΝ

Οι παραπάνω μετρήσεις που κάναμε μπορούν να πραγματοποιηθούν και με τη βοήθεια των macro εντολών. Μάλιστα επειδή ο όγκος των δειγμάτων που έχουμε είναι αρκετά μεγάλος για να μπορέσουμε να έχουμε ασφαλή συμπεράσματα η διαδικασία με τις εντολές στον macro editor είναι γρηγορότερη.

Για τις βασικές μετρήσεις που θέλουμε, δηλαδή την σχέση του ελεύθερου αυλού με ολόκληρο το αγγείο, θα χρειαστούμε 3 συναρτήσεις, τις οποίες ονομάζουμε ενδεικτικά metrisi1, metrisi2 και metrisi3.

Την πρώτη συνάρτηση, όταν θα την «τρέξουμε» θα γεμίσουμε την περιοχή του ελεύθερου αυλού με κάποιο χρώμα για να μπορέσουμε να την επεξεργαστούμε καλύτερα στη συνέχεια. Ο κώδικας που χρειαζόμαστε είναι :

```
Sub metrisi1()  
  
    ret = IpAoiMultShow(0)  
  
    ret = IpWsFill(0, 0, 0)  
  
    ret = IpAoiShow(FRAME_NONE)  
  
End Sub
```

Με την δεύτερη συνάρτηση μας θα επιλέξουμε την περιοχή του ελεύθερου αυλού και από την επιλογή segmentation θα κάνουμε το apply mask για να μπορέσουμε να την μετρήσουμε. Ο κώδικας σε αυτή τη συνάρτηση είναι :

```
Sub metrisi2()  
  
    ret = IpDocMove(245, 28)  
  
    ret = IpDocMove(240, 28)  
  
    ret = IpDocMove(235, 28)  
  
    ret = IpDocMove(229, 28)  
  
    ret = IpDocMove(225, 29)
```

ret = IpDocMove(222, 30)
ret = IpDocMove(219, 30)
ret = IpDocMove(215, 32)
ret = IpDocMove(210, 32)
ret = IpDocMove(204, 34)
ret = IpDocMove(197, 34)
ret = IpDocMove(193, 35)
ret = IpDocMove(190, 35)
ret = IpDocMove(187, 36)
ret = IpDocMove(185, 37)
ret = IpDocMove(181, 38)
ret = IpDocMove(174, 40)
ret = IpDocMove(165, 41)
ret = IpDocMove(160, 41)
ret = IpDocMove(156, 42)
ret = IpDocMove(153, 42)
ret = IpDocMove(151, 42)
ret = IpDocMove(148, 42)
ret = IpDocMove(146, 42)
ret = IpDocMove(143, 42)
ret = IpDocMove(140, 42)
ret = IpDocMove(136, 42)
ret = IpDocMove(133, 42)
ret = IpDocMove(130, 43)

ret = IpDocMove(127, 43)
ret = IpDocMove(126, 44)
ret = IpDocMove(124, 44)
ret = IpDocMove(122, 44)
ret = IpDocMove(121, 44)
ret = IpDocMove(120, 44)
ret = IpDocMove(119, 44)
ret = IpDocMove(118, 44)
ret = IpDocMove(117, 44)
ret = IpDocMove(117, 43)
ret = IpDocMove(117, 42)
ret = IpDocMove(116, 40)
ret = IpDocMove(115, 35)
ret = IpDocMove(114, 31)
ret = IpDocMove(113, 27)
ret = IpDocMove(112, 22)
ret = IpDocMove(111, 19)
ret = IpDocMove(109, 16)
ret = IpDocMove(109, 14)
ret = IpDocMove(109, 11)
ret = IpDocMove(108, 11)
ret = IpDocMove(108, 10)
ret = IpDocMove(107, 10)
ret = IpAoiMultShow(1)

```
ret = IpAoiMultShow(0)

ret = IpAoiMultShow(1)

ret = IpAoiShow(FRAME_NONE)

ret = IpSegShow(2)

ret = IpSegSetAttr(SETCURSEL, 0)

ret = IpSegPreview(ALL_C_B)

ret = IpSegShow(1)

ret = IpSegSetAttr(SETCURSEL, 0)

ret = IpSegSetAttr(CHANNEL, 0)

ret = IpSegPreview(ALL_C_B)

ret = IpSegShow(2)

ret = IpSegSetAttr(SETCURSEL, 0)

ret = IpSegPreview(ALL_C_B)

ret = IpSegSelectArea (SEG_SELADD, 4, 261, 298, 1)

ret = IpSegPreview(ALL_C_B)

ret = IpSegCreateMask(5, 0, 1)

ret = IpSegShow(0)
```

End Sub

Τέλος με την τρίτη συνάρτησή μας θα υπολογίσουμε το ποσοστό του ελεύθερου αυλού σε σχέση με το ολόκληρο αγγείο με την επιλογή enhance και μετά display range. Ο κώδικάς μας είναι :

```
Sub metrisi3()

ret = IpDrShow(1)

ipLArray(0) = 121

ipLArray(1) = 255
```

```
ret = IpDrSet(DR_RANGE, 0, ipLArray(0))
```

```
ipLArray(0) = 0
```

```
ipLArray(1) = 255
```

```
ret = IpDrSet(DR_RANGE, 0, ipLArray(0))
```

```
ipLArray(0) = 33
```

```
ipLArray(1) = 255
```

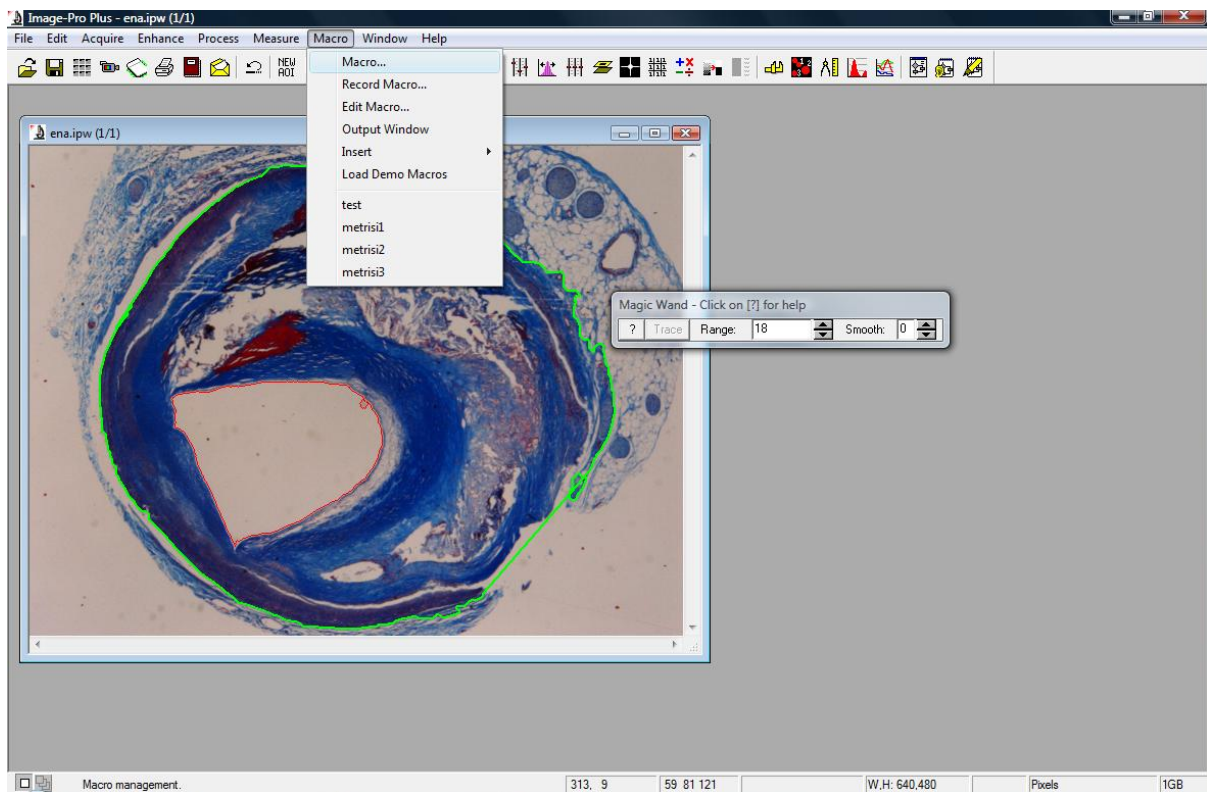
```
ret = IpDrSet(DR_RANGE, 0, ipLArray(0))
```

End Sub

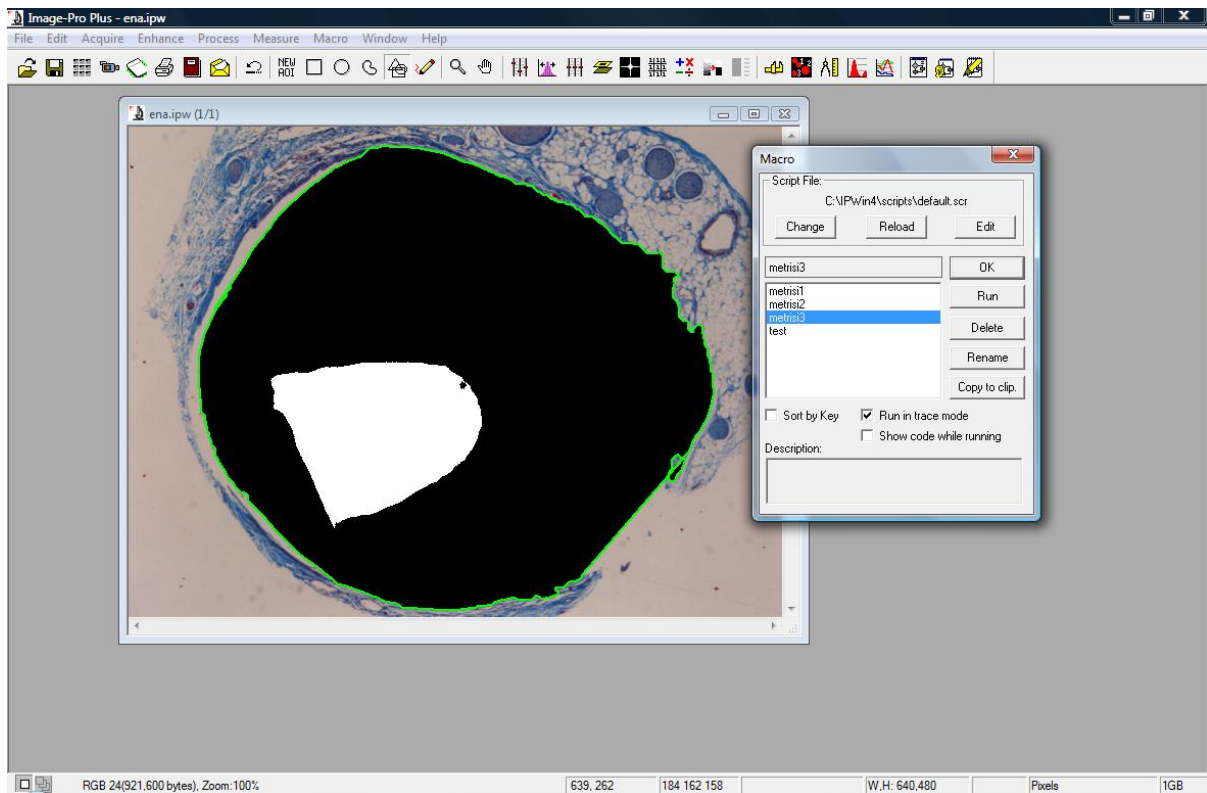
Οι macro εντολές μπορούν είτε να δημιουργηθούν μέσα από το image pro plus είτε γράφοντας τον κώδικα στον macro editor. Μπορούμε επίσης να χρησιμοποιήσουμε κάποιες εντολές από έτοιμο κώδικα που μπορούμε να «φορτώσουμε» στο πρόγραμμά μας.

Η χρησιμότητα αυτής της διαδικασίας είναι μεγάλη γιατί γλιτώνουμε κόπο και χρόνο εφαρμόζοντας τον κώδικα στα δείγματά μας χωρίς να κάνουμε τα ίδια και τα ίδια συνέχεια. Παρακάτω έχουμε και κάποιες επεξηγηματικές φωτογραφίες για την λειτουργία των macro εντολών.

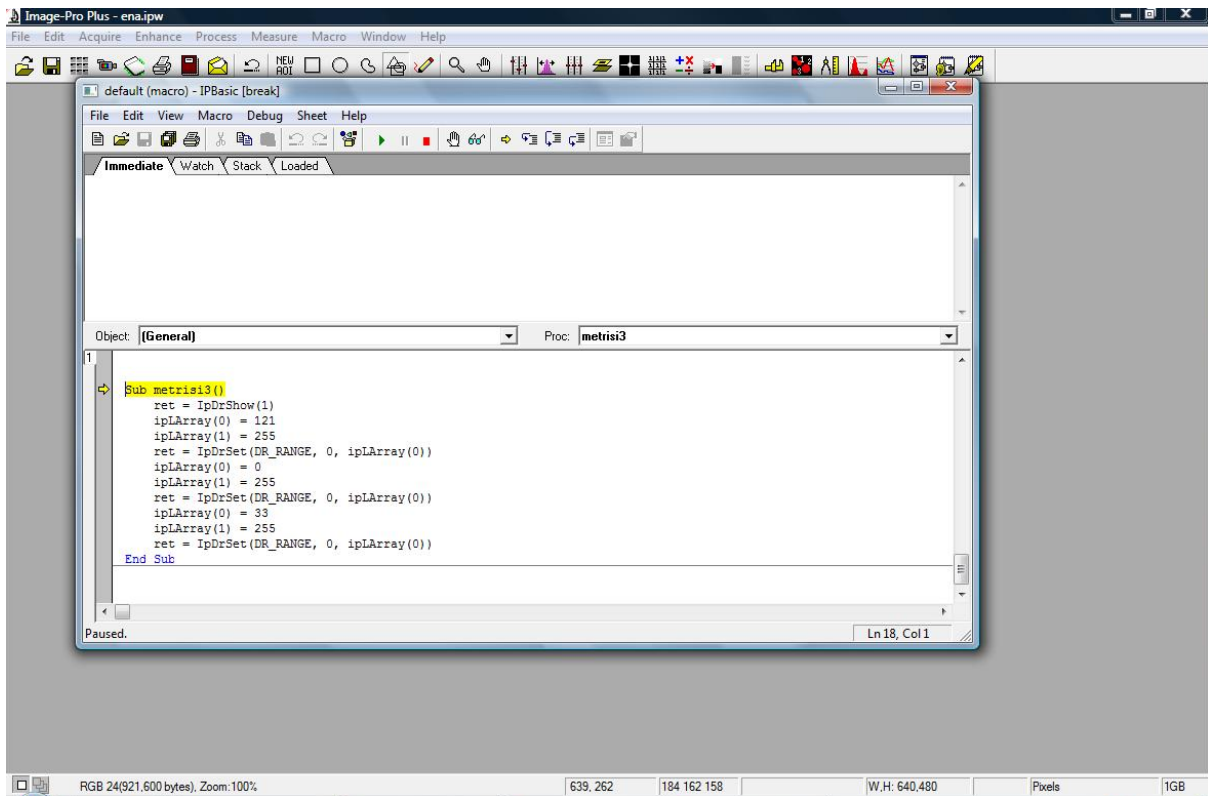
1) Από το μενυ εργαλειών επιλέγουμε Macro



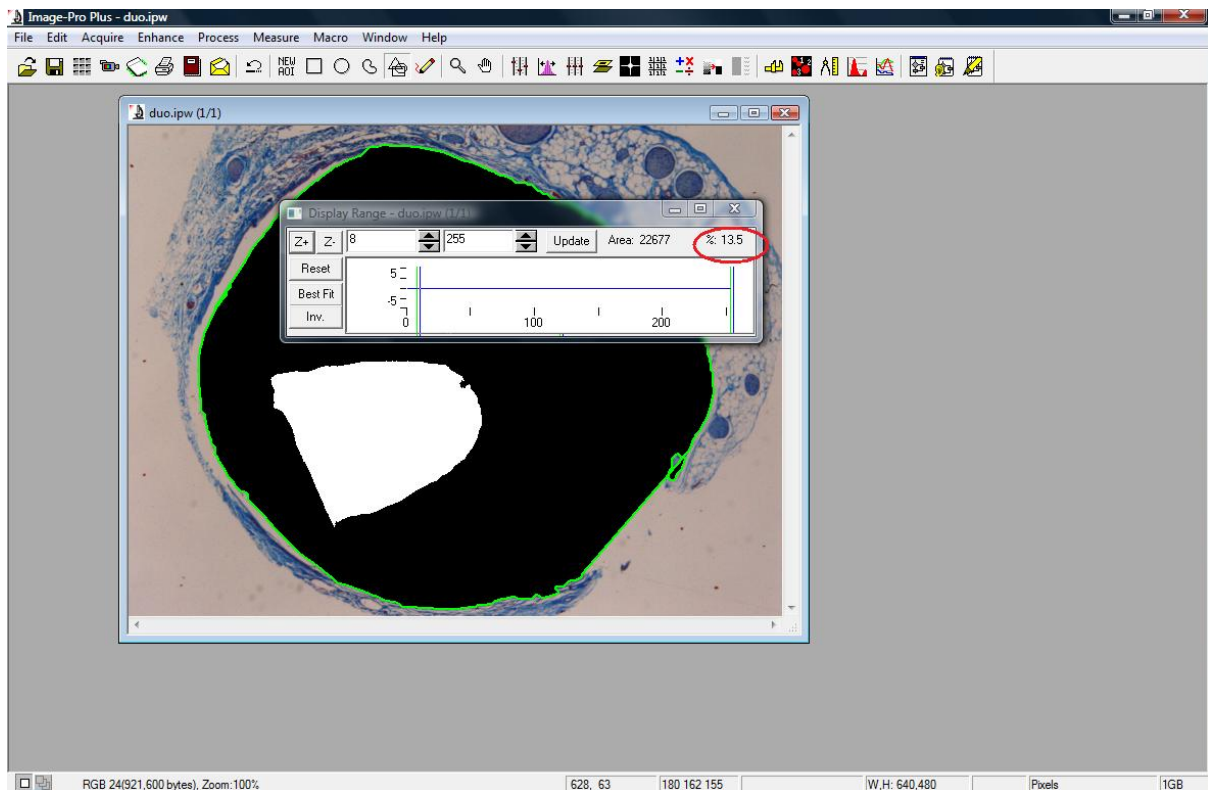
2) Στο παράθυρο που ανοίγει επιλέγουμε την συνάρτηση που θέλουμε να «τρέξουμε» κάθε φορά. Προσέχουμε να έχουμε κλικάρει την επιλογή Run in trace Mode για να λειτουργήσει η συνάρτησή μας στην συγκεκριμένη περιοχή που έχουμε διαλέξει.



3) Με το που θα πατήσουμε το Run ανοίγει το παράθυρο του Macro Editor και βλέπουμε τον κώδικα που τρέχει ανάλογα με τη συνάρτηση που έχουμε.



4) Τέλος μπορούμε να συγκρίνουμε το αποτέλεσμα της μέτρησης μας, με το αποτέλεσμα των μετρήσεων με τον προηγούμενο τρόπο που αναλύσαμε, αφού χρησιμοποιήσαμε το ίδιο δείγμα. Όπως αναμενόταν είναι το ίδιο. (13.5 %)



6.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

Μετά από την εξέταση ενός ικανού αριθμού δειγμάτων επιλέχθηκαν τα καταλληλότερα για την αξιόπιστη εξαγωγή αποτελεσμάτων και με το μικρότερο συντελεστή σφάλματος. Εισάγοντας την έννοια του συντελεστή σφάλματος, αναφερόμαστε στο μέσο όρο της απόκλισης του αποτελέσματος της μέτρησης μιας παραμέτρου μετά από 10 διαδοχικές μετρήσεις, αλλάζοντας κάθε φορά τιμή στο Range και το Smooth . Από τα 10 διαφορετικά αυτά αποτελέσματα, υπολογίστηκε η μέση τιμή, η οποία χαρακτηρίζει και αντιπροσωπεύει κάθε δείγμα, ενώ το ποσοστό σφάλματος και η μέση απόκλιση από την τιμή αυτή υπολογίστηκε σε 0, 05%.

Παρακάτω παρατίθεται ο συγκεντρωτικός πίνακας ο οποίος περιλαμβάνει για κάθε δείγμα τον αριθμό πρωτοκόλλου όπως αυτός έχει αποτυπωθεί από την εκάστοτε υπηρεσία που μας το παρείχε, το ποσοστό στένωσης του αυλού που μετρήθηκε, το αντίστοιχο ποσοστό της περιεχόμενης χοληστερόλης, το φύλο του ασθενούς και η ηλικία του.

Πίνακας 2 : Συγκεντρωτικός πίνακας για το ποσοστό στένωσης του αυλού που μετρήθηκε και το αντίστοιχο ποσοστό της περιεχόμενης χοληστερόλης

ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΤΕΝΩΣΗΣ ΑΥΛΟΥ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ	ΦΥΛΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ	ΗΛΙΚΙΑ
3	73.4	16	1	48
12	72	11	1	38
14	86.4	20	2	45
22	78.5	15	1	45
19	81	42	1	44
28	98.7		2	45
29	90.5	50	1	40
30	78	18.5	1	60
64	80.9	14	1	65
92-648-12	11		1	50

02-190-2	91.7		1	34
03-237-2	89.3	6.6	1	73
01-268-11	91.65	10.7	2	70
03-1438-5	97.2		2	65
04-879-13	86.4		1	73
04-2753	87.7		1	45
05-1604-9	90.2		1	51
05-3094-20	70	9	2	55
05-2442-18	92.6		2	67
05-4285-15	83		2	62
06-738-3	92.9	20	1	78
06-1921-14	74.8		1	35
06-2408-14	90.9		1	35
03-60-19	65.3		1	61
03-60-20	70.9	30.6	1	60
03-268-9	89.7	56	1	41
03-1666-16	99	18.1	1	65
03-2825-1	48.3		1	76
03-2830-1	76		1	47
04-503-7	74.5	29.8	1	71
04-2136-28	79	22	2	64
04-2477-9	58.7	14.8	2	64

04-3921-6	79.7	8.9	1	49
04-3999-13	69.4		2	64
04-4197-14	80.6	21.9	2	60
04-4435-13	44	10.4	2	62
05-345-9	65.6		2	43
05-519-1	81.1		2	88
05-519-1B	77.5		2	95
05-2109-5	68.9		1	45
05-400-22	78.9	31	2	91
05-4184-19	72		1	46
05-4394-5	70.2		1	77
06-1056-15	61.4		2	62
06-2389-11B	76.8	40	2	74
06-2408-14	99		1	77
06-2774-32	71.8		2	73
07-294-10	69		1	41
07-696-20B	70		1	45
07-1675-26	68		1	44
07-2183-26	63.2		1	51
2488A	72.3	23	2	63
2558B	78.9	31.2	1	49
2569B	85.1	31,1	2	61

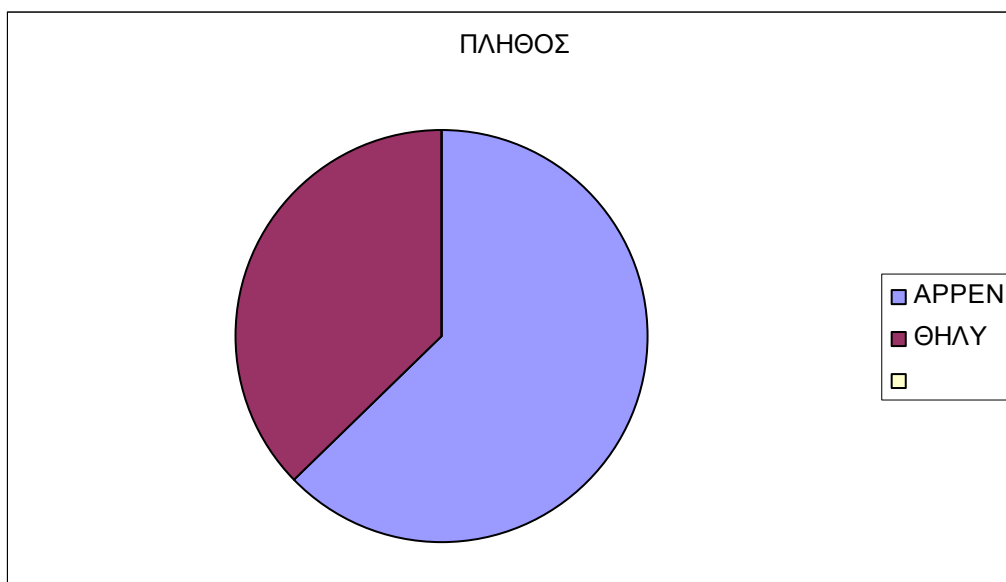
2611B	80.2		2	83
05-4764-16	65.6		1	44
06-1921-14	72.2		1	27
07-2799-7	80.8		1	46
2517	84.7	15.5	1	35

Αναφορικά στη φυλετική κατανομή των ασθενών, από τους 59 συνολικά οι 37 ήταν άντρες και οι 22 γυναίκες, όπου αυτό μεταφράζεται σαν 62% και 38% αντίστοιχα επί του συνολικού αριθμού

Πίνακας 3 : Πίνακας για τη φυλετική κατανομή των ασθενών

ΠΛΗΘΟΣ	ΑΡΡΕΝ - 1	ΘΗΛΥ - 2
		37

Γράφημα 1 : Γράφημα για τη φυλετική κατανομή των ασθενών



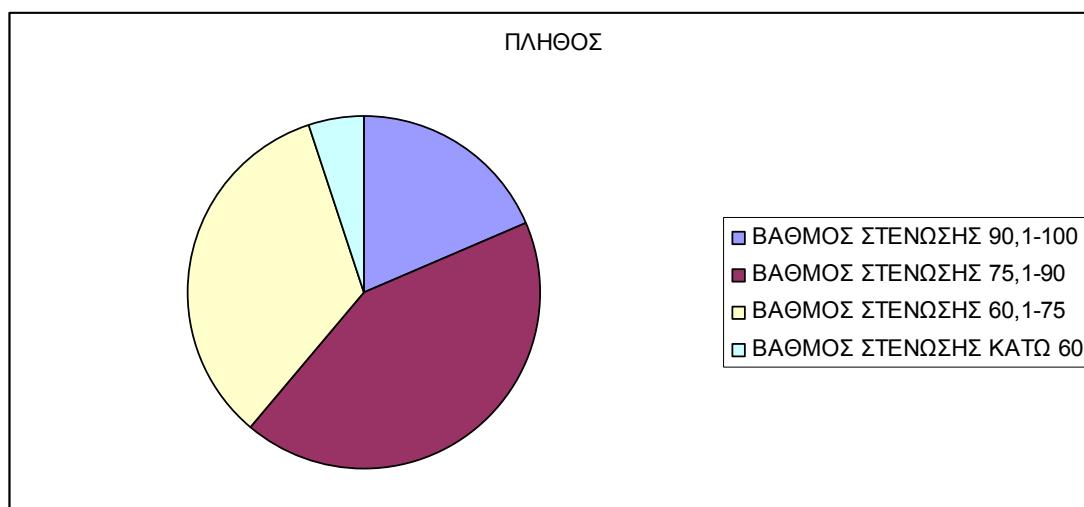
Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών είναι 57,8 ετών, ενώ τα ηλικιακά όρια ήταν 27-95 ετών. Ειδικότερα, για καθένα από τα δύο φύλα Όσον αφορά τους άντρες, ο μέσος όρος ανέρχεται στα 52 έτη ζωής με όρια τα 27-78 έτη, ενώ στις γυναίκες ο μέσος όρος ανέρχεται στα 66 έτη με ηλικιακά όρια 43-95 ετών. Είναι αξιοσημείωτη η 14ετής διαφορά του μέσου όρου ανάμεσα στα δύο φύλα, γεγονός που επιβεβαιώνει τον μέχρι σήμερα ισχύοντα γενικό κανόνα , ότι οι γυναίκες νοσούν και πλήττονται συμπτωματικά σε πιο προχωρημένη ηλικία από τους άντρες.

Στη συνέχεια παρατίθενται γραφικά το ποσοστό της στένωσης με διαβαθμίσεις, οι οποίες αφορούν ομαδοποιημένα τα αποτελέσματα σε κατηγορίες όπου ο βαθμός στένωσης είναι μεταξύ των τιμών λιγότερο του 60%, 60,1-75%, 75,1-90% και 90,1 και άνω.

Πίνακας 4 : Πίνακας για το ποσοστό της στένωσης με διαβαθμίσεις

ΒΑΘΜΟΣ ΣΤΕΝΩΣΗΣ	ΠΛΗΘΟΣ
90.1-100	11
75.1-90	25
60.1-75	20
ΚΑΤΩ 60	3

Γράφημα 2 : Γράφημα για το το ποσοστό της στένωσης με διαβαθμίσεις



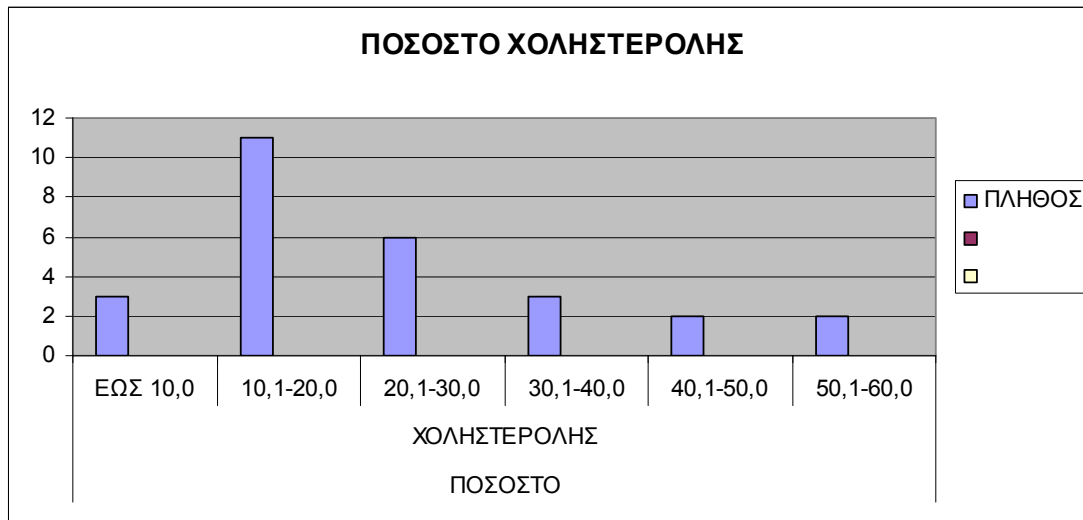
Όπως είναι εμφανές, η μεγαλύτερη διασπορά των αποτελεσμάτων είναι μεταξύ του 75,1-90%, ενώ αξιοσημείωτο είναι ότι 23 από τα δείγματα έχουν πραγματική στένωση κάτω του 75%! Αυτό ερμηνεύεται ότι το 38 % των ασθενών που νεκροτομικά διεγνώσθησαν με στένωση του αυλού άνω του 75% ενός τουλάχιστον των στεφανιαίων αρτηριών, είναι αλλοιώσεις των στεφανιαίων τέτοιες ,ικανές να προκαλέσου ένα θανατηφόρο γεγονός, που όμως δεν είχε να κάνει εξολοκλήρου με το ποσοστό στο οποίο η αθηρωματώδης πλάκα μείωνε τον ελεύθερο αυλό του αγγείου, αλλά με το πώς η ίδια αλληλεπιδρώντας με τους κυκλοφορούντες παράγοντες αφενός αλλά και τις ενδοπλακικές αλλαγές , προκαλεί διαταραχές στην αιμάτωση και λειτουργικότητα του μυοκαρδίου. Συγκεκριμένα, ο μέσος όρος του ποσοστού στένωσης είναι 76,9 % , με εύρος τιμών ανάμεσα στο 11% και 99%!

Μετά την αξιολόγηση του ποσοστού της στένωσης, έρχεται η σειρά της χοληστερόλης να υπολογιστεί το ποσοστό που περιλαμβάνει η αθηρωματώδης πλάκα καθενός από τα δείγματα. Το ποσοστό της περιεκτικότητας κατηγοριοποιήθηκε για λόγους ευχρηστίας σε λιγότερο από 10%, 10,1-20%, 20,1-30%, 30,1-40%, 40,1-50% και άνω του 50% .

Πίνακας 5 : Πίνακας για το ποσοστό της χοληστερόλης με διαβαθμίσεις

ΠΟΣΟΣΤΟ ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗΣ	ΠΛΗΘΟΣ
Έως 10.0	3
10.1 – 20	11
20.1 – 30	6
30.1 – 40	3
40.1 – 50	2
50.1 – 60	2

Γράφημα 3 : Γράφημα για το ποσοστό της χοληστερόλης με διαβαθμίσεις



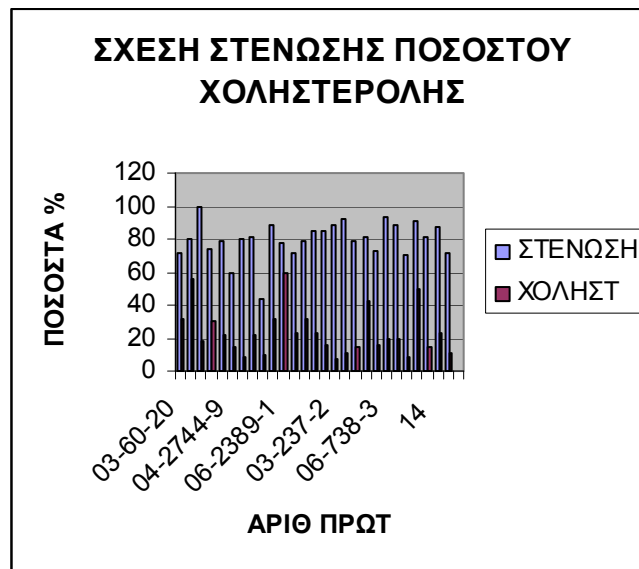
Όπως φαίνεται και από τον πίνακα, το πλήθος των δειγμάτων στα οποία μετρήθηκε η χοληστερόλη είναι μικρότερο απ' ό,τι ο συνολικός αριθμός των δειγμάτων μας. Αυτό συμβαίνει γιατί η χοληστερόλη δεν ήταν δυνατό να μετρηθεί σε όλα τα δείγματα. Αυτό είναι συμβατό με τα αναμενόμενα αποτελέσματα, λόγω της ποικιλομορφίας και της διαφορετικής μορφολογίας και διαφορετικής αναλογίας συστατικών που ισχύει για κάθε αθηρωματώδη πλάκα. Υπενθυμίζουμε σε αυτό το σημείο ότι ενώ ο μηχανισμός δημιουργίας και εξέλιξης μιας πλάκας είναι κοινός, ο ρυθμός αύξησης του μεγέθους της εξαρτώνται από πολλές παραμέτρους που έχουν να κάνουν με τον κάθε ασθενή άρα μιλάμε πλέον για εξατομικευμένους παράγοντες, όπως η πίεση του αίματος, η φλεγμονώδης συμμετοχή στο χτίσιμο της πλάκας, τυχόν θεραπευτικοί χειρισμοί κλπ. Καταλήγοντας, καμιά πλάκα δεν είναι πανομοιότυπη με κάποια δεύτερη, οπότε και η κατανομή των συστατικών και η μορφολογία τους δεν είναι πάντα συμβατή με το μοντέλο της ευάλωτης πλάκας, που εδώ είναι το κύριο σημείο αναφοράς.

Η χοληστερόλη ήταν δυνατό να μετρηθεί σε 27 από τα 59 δείγματα, ποσοστό που αγγίζει το 45% του συνόλου τους. Στο συγκεκριμένο σημείο πρέπει να τονίσουμε ότι ο παράγοντας σφάλματος εδώ ανέρχεται σε 0,5 % και αυτό επειδή είναι δυνατό κατά την επεξεργασία να απωλέσθη ποσοστό της, λόγω των λιπόφιλων αντιδραστηρίων, αλλά και επειδή ένα υπολογίσιμο ποσοστό της από το συνολικό βρίσκεται παγιδευμένο στις υπόλοιπες δομές και δεν είναι δυνατό να μετρηθεί. Τέλος, ένα μικρό συγκριτικά με το προηγούμενο ποσοστό χοληστερόλης; δεν μετράται λόγω ότι δεν χρησιμοποιήθηκαν ειδικές γι' αυτήν χρώσεις. Σε κάθε περίπτωση, οποιοδήποτε σφάλμα μέτρησης αφορά σε όλα τα δείγματα, οπότε τα αποτελέσματά μας παραμένουν αξιόπιστα στο ακέραιο. Ο μέσος όρος

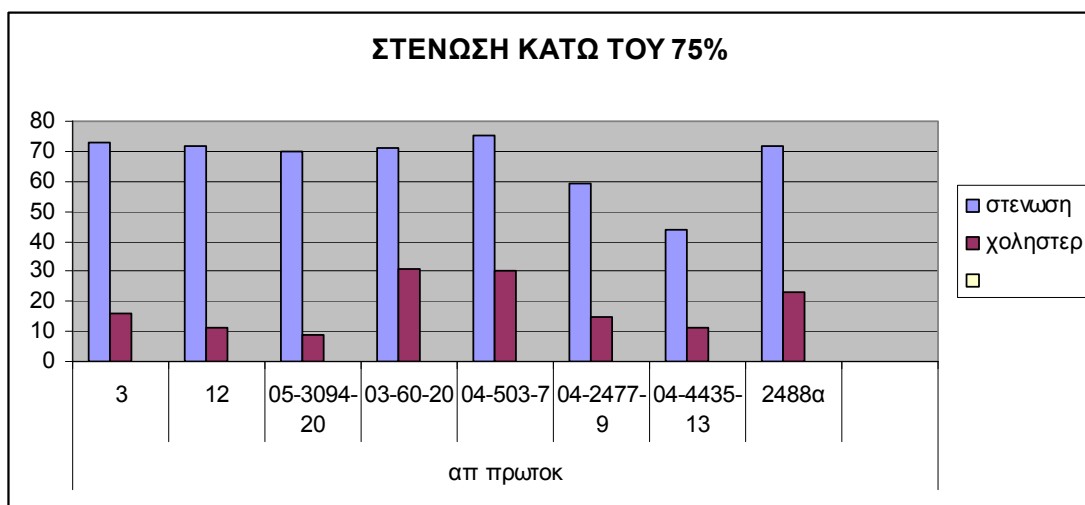
περιεκτικότητας σε χοληστερόλη υπολογίστηκε λοιπόν σε 22,8%, ενώ οι μισοί περίπου από τους ασθενείς έχουν ποσοστό περιεκτικότητας μεγαλύτερο από το μέσο όρο.

Στη συνέχεια, έγινε μια συγκριτική απεικόνιση μέσω γραφημάτων της σχέσης που έχει το ποσοστό της στένωσης με την περιεχόμενη στην πλάκα χοληστερόλη, όπως επίσης και αναλυτική απεικόνιση της ίδιας σχέσης σε δύο κατηγορίες ασθενών, αυτών με στένωση έως 75% και στους υπόλοιπους με στένωση μεγαλύτερη του 75,1 %

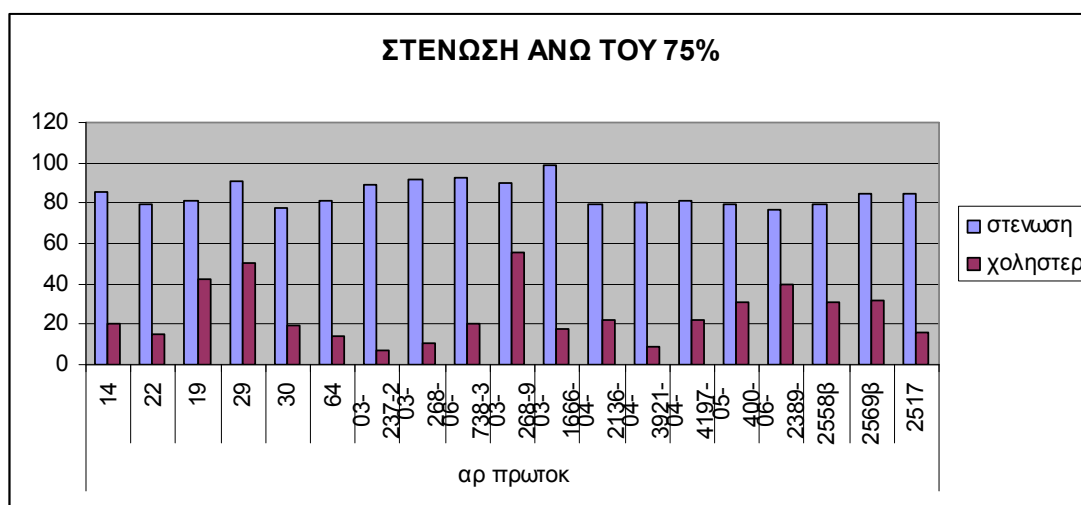
Γράφημα 4 : Γράφημα της σχέσης που έχει το ποσοστό της στένωσης με την περιεχόμενη στην πλάκα χοληστερόλη



Γράφημα 5 : Γράφημα για την αναλυτική απεικόνιση της ίδιας σχέσης στην κατηγορία ασθενών με στένωση έως 75%



Γράφημα 6 : Γράφημα για την αναλυτική απεικόνιση της ίδιας σχέσης στην κατηγορία ασθενών με στένωση μεγαλύτερη του 75,1 %



Ο μέσος όρος της περιεχόμενης χοληστερόλης στην κατηγορία με το ποσοστό στένωσης μικρότερο του 75% είναι 16,2 % επί της συνολικής έκτασης της πλάκας, ενώ στη δεύτερη κατηγορία είναι 27,3 %. Χαρακτηριστικό είναι ότι πλάκες με παρόμοιο ποσοστό στένωσης έχουν σημαντικές διαφορές στην περιέχουσα χοληστερόλη.

Παρακάτω παρατίθεται ένας πίνακας με το ποσοστό απόκλισης της μετρούμενης στένωσης με το πρόγραμμα και της στένωσης η οποία υπολογίσθηκε κατά την απλή μικροσκόπηση. Ο ουδός όπως έχει προαναφερθεί για αν επιλέξουμε ένα περιστατικό που πληρεί τα κριτήρια της έρευνας είναι το 75% και αυτό θα χρησιμοποιηθεί ως κοινό συγκριτικό σημείο αναφοράς.

Πίνακας 6 : Πίνακας με το ποσοστό απόκλισης της μετρούμενης στένωσης με το πρόγραμμα και της στένωσης η οποία υπολογίσθηκε κατά την απλή μικροσκόπηση

ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ	ΜΑΚΡΟ	ΜΙΚΡΟ	ΑΠΟΚΛΙΣΗ
3	75	73.4	-1.6
12	75	72	-3
14	75	86.4	16.4
22	75	78.5	3.5

19	75	81	6
28	75	98.7	23.7
29	75	90.5	15.5
30	75	78	3
64	75	80.9	15.9
92-648-12	75	11	-64
02-190-2	75	91.7	16.7
03-237-2	75	89.3	14.3
01-268-11	75	91.6	16.6
03-1438-5	75	97.2	17.2
04-879-13	75	86.4	11.4
04-2753	75	87.7	12.7
05-1604-9	75	90.2	15.2
05-1604-9	75	90.2	15.2
05-3094-20	75	70	-5
05-2442-18	75	92.6	17.6
05-4285-15	75	83	8
06-738-3	75	92.9	17.9
06-1921-14	75	74.8	0.2
06-2408-14	75	90.9	15.9
03-60-19	75	65.3	-9.7
03-60-20	75	70.9	-4.1

03-268-9	75	89.7	14.7
03-1666-16	75	99	24
03-2825-1	75	48.3	-26.7
03-2830-1	75	76	1
04-503-7	75	74.5	-0.5
04-2136-28	75	79	4
04-2477-9	75	58.7	-16.3
04-3921-6	75	79.7	4.7
04-3999-13	75	69.4	-5.6
04-4197-14	75	80.6	5.5
04-4435-13	75	44	-3.1
05-345-9	75	65.6	-9.4
05-519-1	75	81.1	6.1
05-519-1B	75	77.5	2.5
05-2109-5	75	68.9	-6.1
05-400-22	75	78.9	3.9
05-4184-19	75	72	-3
05-4394-5	75	70.2	-4.8
06-1056-15	75	61.4	-13.6
06-2389-11B	75	76.8	1.8
06-2408-14	75	99	24
06-2774-32	75	71.8	-3.2

07-294-10	75	69	-6
07-696-20B	75	70	-5
07-1675-26	75	68	-7
07-2183-26	75	63.2	-11.8
2488A	72.3	23	2

Σύμφωνα με τα παραπάνω , σε 35 από τα 59 δείγματα (59% σύνολο) παρατηρήθηκε θετικό ποσοστό απόκλισης , δηλαδή μεγαλύτερο ποσοστό στένωσης από ότι η μακροσκοπικά και μικροσκοπικά παρατηρούμενη. 24 από τα 59 (40,7% σύνολο) είχαν αρνητικό ποσοστό απόκλισης, δηλαδή μικρότερη στένωση από ότι η φαινομενική. Όσον αφορά τα δείγματα που είχαν θετική απόκλιση, η μέση τιμή υπολογίστηκε σε 10,7 % ενώ το εύρος των τιμών κυμαινόταν από + 0,2% έως + 23,7 % .

Όσον αφορά τα δείγματα που είχαν αρνητική απόκλιση, μέση τιμή ορίστηκε σε 10,5% ενώ το εύρος των τιμών κυμάνθηκε μεταξύ -0,5 και – 64%.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ανακεφαλαιώνοντας, σαν γενική εκτίμηση προκύπτει ότι η αθηρωματοσκληρυντική νόσος προτιμά το αντρικό φύλο, όταν αυτό διανύει την 5-6η δεκαετία της ζωής. Λόγω ελλιπούς προγενέστερου ιατρικού ιστορικού των ασθενών δεν μπορέσαμε να εκτιμήσουμε το βαθμό που ο τρόπος ζωής και οι καθημερινές συνήθειες συνέβαλαν στην εξέλιξη της νόσου πχ κάπνισμα, διατροφή, κατάχρηση αλκοόλ, χρήση φαρμάκων ή θεραπευτικής αγωγής για ήδη διαγνωσθείσα αθηρωματοσκληρυντική νόσο. Είναι ευνόητο βέβαια, ότι όσο νεότερης ηλικίας είναι ο θανών, τόσο περισσότερο ευθύνεται ο κληρονομικός παράγοντας, και αυτό μπορεί να συσχετιστεί και με τη στένωση του αυλού.

Ενώ βάση των αποτελεσμάτων της έρευνας η μέση τιμή υπολογίστηκε σε 76,7%, επισημάνθηκαν αρκετά περιστατικά όπου σε άτομα ηλικίας κάτω των 40 ετών παρατηρήθηκε στένωση τόσο μεγάλη που σχεδόν απέφρασε τον αυλό (πχ περιστατικά με αριθμό πρωτοκόλλου 29, 02-1902) Τόσο μεγάλης έκτασης στένωση σε άτομα νεαρής ηλικίας ενέχει αδιαμφισβήτητα τον παράγοντα της κληρονομικότητας, ενώ σε άτομα πιο προχωρημένης ηλικία, (80 και άνω) η αθηρωματοσκληρυνση μπορεί κάλλιστα να αποτελεί αποτέλεσμα –εκδήλωση της φυσιολογικής προοδευτικής γήρανσης του οργανισμού.

Όσον αφορά τα ποσοστά της περιέχουσας χοληστερόλης , αυτά ποικίλλουν , ενώ αξιοσημείωτο είναι ότι δεν είναι ευθέως ανάλογα με το ποσοστό της στένωσης , δηλαδή όσο περισσότερο στενεμένος εμφανίζεται ο αυλός του αγγείου, τόσο αυξημένο είναι το ποσοστό της χοληστερόλης που περιέχεται μέσα στην πλάκα.

Αντιθέτως, αυτό που μπορεί να παρατηρήσει κάποιος εξετάζοντας τους πίνακες, είναι ότι το μέσο ποσοστό περιεκτικότητας χοληστερόλης για όλα τα δείγματα ανέρχεται στο 22,8%, κάτι που μεταφράζεται ως ότι η χοληστερόλη καταλαμβάνει κάτι λιγότερο από το 1/3 της συνολικής έκτασης της πλάκας. Το ποσοστό αυτό παρουσιάζει διακυμάνσεις ανάλογα με το βαθμό της στένωσης, αλλά και τη γενικότερη δομή της πλάκας,. Χαρακτηριστικό είναι ότι πλάκες με παραπλήσιο βαθμό στένωσης εμφανίζουν διαφορές στην περιεκτικότητα χοληστερόλης (πχ περιστατικά με αριθμό πρωτοκόλλου 14 και 19 , με βαθμό στένωσης και περιεκτικότητα χοληστερόλης 86,4/20 % και 81/42 % αντίστοιχα, 29 και 03-2372 με αντίστοιχα ποσοστά 90.5/50% και 89.3/16.6%), αλλά και με διαφορετικά ποσοστά στένωσης να παρουσιάζουν δυσανάλογα ποσοστά χοληστερόλης , όπως πχ το 06-738-3 και 03-60-20 με αναλογίες ποσοστού στένωσης/ περιεκτικότητας χοληστερόλης 92.9/20% και 70.9/30.6 % αντίστοιχα, αλλά και τα 03-268-9 και 03-1666-16 με ανάλογα ποσοστά 89.7/56% και 99/18.1 % αντίστοιχα, τα οποία δείχνουν ξεκάθαρα ότι ο μηχανισμός με τον οποίο αθροίζεται η χοληστερόλη στο εσωτερικό της πλάκας , αλλά και οι παράμετροι από τις οποίες εξαρτάται ο ρυθμός της διεργασίας αυτής είναι καθοριστικοί παράγοντες για την εξέλιξη της νόσου και όχι το ποσοστό της στένωσης, πράγμα που όπως φαίνεται απ τα παραδείγματά μας δεν εξαρτάται γραμμικά από την αύξηση της χοληστερόλης.

Οπότε ο ρόλος της χοληστερόλης δεν είναι απλά η συμβολή της με τη συσσώρευσή της στη συνολική αύξηση του μεγέθους της πλάκας, άρα και του αυλού. Βλέπουμε ειδικότερα ότι σε άτομα νεαρής ηλικίας, υπάρχουν πολύ υψηλά ποσοστά περιέχουσας στην πλάκα χοληστερόλη, πχ περιστατικά 19 ,29 , 03-268-9 με αντίστοιχα ποσοστά περιεκτικότητας χοληστερόλης 42/50/56 % , οπότε είναι εμφανές ότι δεν πρόκειται για μια παθητική διεργασία η οποία συσσωρεύει με το πέρασμα του χρόνου μέσα στην πλάκα, αλλά ότι υπάρχει ένα υπόβαθρο που ευοδώνει την είσοδό της και αποθήκευση. Πρέπει να ξεκαθαριστεί σε αυτό το σημείο ότι το αυξημένο ποσό της κυκλοφορούσας χοληστερόλης δεν αποτελεί το εναρκτήριο γεγονός για τη διεργασία της αθηρωμάτωσης, ωστόσο η συνεχής συσσώρευσή της μπορεί να προάγει-εν μέσω πολλών άλλων παραγόντων - την αύξηση του μεγέθους της αθηρωματικής πλάκας μέσω δύο μηχανισμών.

Στην πρώτη περίπτωση, η αποτιπάνωση των κρυστάλλων χοληστερόλης –που φυσιολογικά ακολουθεί σαν στάδιο εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας-έχει αποδειχθεί ότι καταλαμβάνει μεγαλύτερο όγκο σε σχέση με την χοληστερινική δεξαμενή άνευ αποτιπανώσεων, κάτι το οποίο εξηγεί το γεγονός ότι πλάκες οι οποίες φέρουν αποτιπανώσεις συχνά ρήγνυνται, λόγω της αυξημένης πίεσης που δέχονται στην περιοχή της ινώδους

κάψας από την ολοένα επεκτεινόμενη αποτιτανούμενη δεξαμενή λιπιδίων. Η αύξηση της πλάκας προάγεται επίσης λόγω των αποπρωτικών μακροφάγων, τα οποία κατά την αποδόμησή τους απελευθερώνουν ιστικό παράγοντα –έντονα θρομβογονική ουσία- η οποία καταλήγει στη δεξαμενή λιπιδίων, της οποίας την έκταση μεγαλώνει, αλλά κυρίως αυξάνει τη θρομβογονικότητά της, οπότε σε οποιαδήποτε αιτιολογία διάβρωσης της κάψας της πλάκας ή ακόμα και ρήξη της, η χοληστερόλη εκτίθεται στα κυκλοφορούντα μόρια, με αποτέλεσμα θρόμβωση της πλάκας και αιφνίδια απόφραξη του αυλού.

Ένας ακόμη λόγος που η χοληστερόλη μπορεί να κατευθύνει την εξέλιξη της πλάκας είναι ότι αποτελεί το δομικό της στοιχείο που η έκτασή του επηρεάζεται και μεταβάλλεται από πολλούς διαφορετικούς παράγοντες. Σε μια ενδοπλακική αιμορραγία, τα ερυθρά αιμοσφαίρια όταν έρθει η ώρα να αποδομηθούν, απελευθερώνουν τα λιποειδή από τα οποία σε ποσοστό 40% αποτελείται η κυτταρική τους μεμβράνη. Τα λιποειδή αυτά συγκεντρώνονται στην προϋπάρχουσα δεξαμενή λιπιδίων αυξάνοντας το μέγεθός της, οπότε το αιφνίδιο αυτό γεγονός μπορεί να αποβεί μοιραίο. Συνολικά, οι μεταβολές της χοληστερόλης αποδεικνύεται ότι έχουν επιπτώσεις στην ίδια την αθηρωματική πλάκα και τη σταθερότητά της, οπότε και στην εμφάνιση κλινικής συμπτωματολογίας στον ασθενή.

8. ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Από τα παραπάνω συμπεράσματα παρατηρούμε πόσο σημαντικό είναι να μπορέσουμε να συνδέσουμε τη σχέση του ελεύθερου αυλού με το συνολικό αγγείο και το ποσοστό της χοληστερόλης στο αγγείο, με τις αιτίες εμφάνισης της στεφανιαίας νόσου.

Η νόσος αυτή ταλαιπωρεί χιλιάδες ανθρώπους παγκοσμίως οπότε κάθε μελέτη και έρευνα βοηθάει στην αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος. Εμείς προσπαθήσαμε να συνδέσουμε τα αποτελέσματα από την επεξεργασία των εικόνων μας, με το ποσοστό που κάποιιοι από τους βασικότερους παράγοντες της παθογένεσης της νόσου επεμβαίνουν στην εκδήλωση του αιφνίδιου στεφανιαίου θανάτου.

Σίγουρα τα αποτελέσματα μας είναι ενδεικτικά αλλά ταυτόχρονα και ικανά ώστε να βγουν ασφαλή συμπεράσματα. Η ψηφιακή ανάλυση των δειγμάτων που είχαμε από τα αγγεία στο μικροσκόπιο βοήθησε να επιβεβαιωθούν από τη μια κάποιες θεωρίες και από την άλλη να ανατραπούν κάποια δεδομένα που φαινόταν λογικά.

Το καταλληλότερο μέσο για να φτάσουμε στις αναλύσεις και τα αποτελέσματα που θέλαμε ήταν το Image Pro Plus. Οι δυνατότητες που μας παρείχε μας βοήθησαν έτσι ώστε τα συμπεράσματα μας να είναι έγκυρα και να μπορέσουν να αποτελέσουν αντικείμενο έρευνας για τη μελέτη, αντιμετώπιση και ίσως και πρόληψη της στεφανιαίας νόσου.

Εξάλλου δεν είναι τυχαίο ότι το Image Pro Plus είναι το περισσότερο διαδεδομένο πρόγραμμα στον κόσμο της Ιατρικής για τη χρήση του στην επεξεργασία εικόνων. Η ίδια η Media Cybernetics που το δημιούργησε προσπαθεί σε κάθε αναβάθμιση και νεότερη έκδοσή του να συμβαδίζει με τις απαιτήσεις των ιατρικών εργαστηρίων.

9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1]. M J Davies, The pathophysiology of acute coronary syndromes, *Heart*, 2000; 83:361-366
- [2]. M J Davies , J M Bland et al, Factors influencing the presence or absence of acute coronary thrombi in acute ischaemic death, *Eur Heart J* ,1989 ;10 : 203-208.
- [3]. C. Warnes, W.Roberts, Sudden coronary death: comparison of patients with to those without coronary thrombus at necropsy, *Am J Cardiol* 1984; 54 (10):1206-1211.
- [4]. R Virmani, F D Colodgie et al, Lessons from sudden coronary death: A comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000; 20; 1263-1275
- [5]. M Madjid, A Zarrabi et al, Finding Vulnerable Atherosclerotic Plaques is this worth the effort? *Arterioscler, Thromb Vasc Biol*. 2004; 24: 1775-1787
- [6]. M Naghavi, P Libby, et al, From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient A Call for New Definitions and Risk Assessment Strategies: Part I, *Circulation*. 2003; 108: 1664-1676
- [7]. M J Davies, J M Bland et al, Factors influencing the presence or absence of acute coronary artery thrombi in sudden ischaemic death, *Eur Heart J*, 1989 ;10 203-208.
- [8]. P J Gallagher More histological information in acute coronary death, *Eur Heart J*, 2002; 23, 1406-1407
- [9]. J A Schaar, J E Muller, et al Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques, *Eur Heart J* 2003; 22 (12); 1077-1082
- [10]. M. Naghavi, P. Libby et al .From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient- A Call for New Definitions and Risk Assessment Strategies: Part I, *Circulation* 2003; 108: 1664-87
- [11]. D Tousoulis, G Davies et al , Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis , *Heart* , 2003 ; 89 ;993-997
- [12]. J Mann , M J Davies. Mechanisms of progression in native coronary artery disease: role of healed plaque disruption, *Heart*, 1999; 82; 265-268
- [13]. D.J. Kereiakes, The Emperor's Clothes In Search of the Vulnerable Plaque *Circulation*. 2003; 107: 2076-2078
- [14]. M J Davies Stability And Instability: Two Faces of Coronary Atherosclerosis, *Circulation*, 1996; 94; 2013-2020
- [15]. G. Pasterkamp, E. Falk et al. Techniques characterizing the coronary atherosclerotic plaque: influence on clinical decision making, *J Am Coll Cardiol* 2000; 36 13-21
- [16]. Kragel AH , Reddy S G et al, Morphometric analysis of the composition of atherosclerotic plaques in the four major epicardial coronary arteries in acute myocardial infarction and in sudden coronary death, *Circulation* 1989 ;6 ; 1747-1756

- [17]. A H Kragel, S G Reddy et al, Morphometric analysis of the composition of coronary arterial plaques in isolated angina pectoris with pain at rest , Am J cardiol 1990; 66, 562-567
- [18]. H M Loree , R D Kamm et al, Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels, Circ Res, 2001; 71, 850-858
- [19]. G Pasterkamp, R Virmani The erythrocyte: a new player in atheromatous core formation Heart 2002; (88) 115-116
- [20]. R. Blatt, A. Clark et al. Automated quantitative analysis of angiogenesis in the rat aorta model using Image-Pro Plus 4.1. Comput Methods Programs Biomed. 2004; 75: (1) 75-79.
- [21]. J. Francisco, H. de Moraes et al. Evaluation of the Image-Pro Plus 4.5 software for automatic counting of labelled nuclei by PCNA immunohistochemistry. Braz Oral Res 2004;18(2):100-104
- [22]. J R Guyton, K F Klemp Development of the Lipid-Rich Core in Human Atherosclerosis Arterioscler, Thromb Vasc Biol.1996; 16:4-11.
- [23]. H C Stary, Chair et al. A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1995; 15 : 1512-1531.
- [24]. M J Price, P K Shan et al. Biology of the vulnerable plaque part I, Cath Lab Digest ,2002; 10 (4).; 720-732.
- [25]. A Farb, A P Burke et al. Update on the pathology of sudden coronary death Card Electrophysiol Rev, 1999; 3:161-164.
- [26]. D G Kastritsis, Hemodynamic factors and atheromatic plaque rupture in the coronary arteries: from vulnerable plaque to vulnerable coronary segment Coronary Artery Disease, 2007; 18(3): 229-237
- [27]. G F Gensini The Unstable plaque, Eur Heart J supplements 2002 Supplements B: B22-B27,
- [28]. Y Vengrenyuk, S Cerlier et al ,A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous cap PNAS , 2006 ;103 (40): 14678- 14683
- [29]. S E Robert , E A Salhany, Sudden death and acute myocardial infarction, Postgrad Med, 1978; 64 (4): 52-59
- [30]. E Zarling H Sexton et al Failure to diagnose acute myocardial infarction, JAMA 1983; 250: 1177-1181
- [31]. W. Roberts, A Jones. Quantitation of coronary arterial narrowing at necropsy in sudden coronary death, Am J Cardiol 1979; 44: 39-46