

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Η. ΖΙΝΤΖΑΡΑΣ**

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΒΑΣΙΖΟΜΕΝΗΣ ΣΕ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΤΗΝ
ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΞΥ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΚΑΙ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ**

**Θεοχάρης Ι. Κουφάκης
Ιατρός**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ
2010**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΜΑΛΙΖΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΖΙΝΤΖΑΡΑΣ ΗΛΙΑΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΣ	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΣΤΕΦΑΝΙΔΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΑΡΒΑΝΙΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ	ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΠΑΠΑΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ	ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΖΙΝΤΖΑΡΑΣ ΗΛΙΑΣ	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΣ	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΣΤΕΦΑΝΙΔΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ	ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΖΑΧΑΡΟΥΛΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ	ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΝΤΑΦΟΠΟΥΛΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ	ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

‘Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.’

(Νόμος 5343/32, άρθρο 202 §2 και 1268/82, άρθρο 50)

Στους Γονείς μου,

Στον Αδελφό και την Αδελφή μου,

Στη Μαρία,

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

Πρόλογος	7
A. Εισαγωγή	
B. Γενικό Μέρος	10
1. Η Βασιζόμενη σε Ενδείξεις Ιατρική (EBM)	10
• Μορφές αποδεικτικών στοιχείων	11
• Παραδείγματα EBM	11
2.Οι Μετά-αναλύσεις	14
• Ορισμοί της μετά-ανάλυσης	14
• Τα στάδια μίας μετά-ανάλυσης	15
• Μετά-ανάλυση: Αρχές και Διαδικασίες	16
• Τυποποιημένο μέτρο εξαγομένων	17
• Στατιστικές μέθοδοι για τον υπολογισμό του συνολικού αποτελέσματος	17
• Μετά-ανάλυση κατά Bayes	18
• Ετερογένεια μεταξύ των αποτελεσμάτων	18
• Γραφική απεικόνιση	19
• Σχετικά και απόλυτα μέτρα αποτελεσμάτων	20
• Πιθανότητες και λόγος πιθανοτήτων	21
• Κίνδυνος και σχετικός κίνδυνος	21
• Ανάλυση ευαισθησίας	22
• Τα θετικά και τα αρνητικά των μετά-αναλύσεων	24
3.Εισαγωγή στη Γενετική Επιδημιολογία	25
• Το ανθρώπινο γονιδίωμα	26
4.Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης	26
• Η ισορροπία Hardy-Weinberg (H-W)	27
5.Μετα-ανάλυση μελετών γενετικής συσχέτισης	28
• Ερωτήματα ισχύος	31
• Μεθοδολογία μετά-ανάλυσης μελετών γενετικής σύνδεσης	32
• Ανάλυση ευαισθησίας και προκατάληψη δημοσίευσης	34
• Ανάλυση πολλαπλών μεταβλητών	36
• Τι θα πρέπει να συμπεριληφθεί και πώς θα προσδιοριστεί η ετερογένεια	37

Γ. Ειδικό Μέρος	38
1. Σκοπός	38
2. Μέθοδοι	39
• Εξαγωγή δεδομένων	40
• Οι ποιοτικές μεταβλητές	41
• Καταχώρηση των δεδομένων	43
• Μετά-ανάλυση των μελετών	43
• Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων	44
• Εκτίμηση της επίδρασης της μετά-ανάλυσης στο ρυθμό δημοσίευσης μελετών γενετικής συσχέτισης	45
3. Αποτελέσματα	46
• Αποκλεισμός μελετών	46
• Οι μετά-αναλύσεις που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη	48
• Νοσήματα που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη	50
• Γονίδια και πολυμορφισμοί που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη	51
• Μελέτες γενετικής συσχέτισης που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη	52
• Επίδραση της μετά-ανάλυσης στο ρυθμό δημοσίευσης μελετών γενετικής συσχέτισης	53
• Μετά-αναλύσεις και συγκρίσεις ποιοτικών χαρακτηριστικών ανά νόσημα και κατηγορία νοσημάτων	62
• Νοσήματα Πεπτικού	62
• Νοσήματα Μητέρας-Παιδιού	78
• Νοσήματα Καρδιάς και Αγγείων	88
• Νοσήματα Συνδετικού Ιστού	123
• Νευρολογικά Νοσήματα	126
• Ψυχιατρικά Νοσήματα	134
• Νοσήματα Ερειστικού Ιστού	145
• Μεταβολικά Νοσήματα	149
• Αιματολογικά Νοσήματα	155
• Συνολικά Αποτελέσματα	162
Δ. Συζήτηση	167
Ε. Συμπεράσματα	172
ΣΤ. Περίληψη	174
• Summary	176
Ζ. Βιβλιογραφικές Αναφορές	177

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η βουτιά στα βαθιά νερά της Γενετικής Επιδημιολογίας, απαιτεί σκληρή μελέτη, επιμονή και υπομονή, μα πάνω απ'όλα συμπαραστάτες που να κατέχουν άριστα το αντικείμενο.

Αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω θερμά τον άνθρωπο που με μύησε στην ιατρική έρευνα, Αναπληρωτή Καθηγητή Βιομετρίας-Βιομαθηματικών και επιβλέποντα της διατριβής, κ. Ηλία Ζιντζαρά, ο οποίος περιέβαλε από την πρώτη στιγμή αυτή την προσπάθεια με ιδιαίτερο ενδιαφέρον και παρείχε κάθε δυνατό μέσο για την υλοποίηση της. Χωρίς αυτόν, η περάτωση του παρόντος πονήματος δε θα ήταν ασφαλώς ποτέ εφικτή.

Ευχαριστίες οφείλω και στα δύο έτερα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, Αναπληρωτές Καθηγητές κ.κ. Γεώργιο Χατζηγεωργίου και Ιωάννη Στεφανίδη, των οποίων οι επισημάνσεις ήταν πάντοτε καίριες και εποικοδομητικές.

Η βιοστατιστικός Δρ. Αφροδίτη Παπαθανασίου βοήθησε με τις πάντα χρήσιμες συμβουλές της σε θέματα στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων. Ο ιατρός Δρ. Γεώργιος Κίτσιος συμμετείχε ενεργά στον σχεδιασμό της μελέτης.

Ο κ. Θοδωρής Μπρότσης έλυσε πρόθυμα και γρήγορα, κάθε τεχνικό πρόβλημα που ανέκυψε με τη βάση δεδομένων CUMAGAS. Το προσωπικό της βιβλιοθήκης του Τμήματος Ιατρικής στο κτίριο Κατσίγρα, συνεισέφερε στον εντοπισμό επιστημονικών άρθρων από βιβλιοθήκες σε κάθε γωνιά του πλανήτη.

Τους ευχαριστώ όλους θερμά για την πολύτιμη βοήθεια τους.

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι πλέον σήμερα ευρέως παραδεκτό, πως οι μετα-αναλύσεις δεσπόζουν στην κορυφή της πυραμίδας των ιατρικών δημοσιεύσεων, σε ότι αφορά την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων τους (γράφημα 1).



Γράφημα 1
«The Evidence Based Medicine Pyramid»

Οι πρώτες μετα-αναλύσεις που διερεύνησαν τη συσχέτιση μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και νοσημάτων έκαναν δειλά την εμφάνιση τους στη διεθνή βιβλιογραφία στις αρχές της δεκαετίας του '90 και γρήγορα έγιναν εξαιρετικά δημοφιλείς, σε τέτοιο βαθμό ώστε στις μέρες μας η βάση δεδομένων Pubmed να αριθμεί πάνω από 1500 σχετικές δημοσιεύσεις.

Η θερμή ανταπόκριση του επιστημονικού κόσμου στις μετα-αναλύσεις δεν ήταν ασφαλώς τυχαία, το αντίθετο μάλιστα: ήρθε να καλύψει μια ανάγκη που ως τότε δημιουργούσε σημαντική σύγχυση στην κατανόηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων των μελετών γενετικής συσχέτισης (ΜΓΣ): την ανάγκη για σύνθεση-συχνά αντικρουόμενων μεταξύ τους-αποτελεσμάτων.

Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης, αν και γοητευτικά απλές στον σχεδιασμό τους, κρύβουν πολλές παγίδες για αυτούς που θα αποφασίσουν να τις διεξάγουν. Τείνουν να υπερεκτιμούν τις θετικές συσχετίσεις ή αντίστροφα να υποεκτιμούν τις αρνητικές. Ο μικρός αριθμός ασθενών και μαρτύρων που εξασθενούν την ισχύ των μελετών να ανιχνεύσουν υπαρκτές σχέσεις, οι φυλετικές προσμίξεις των συμμετεχόντων, οι μεροληπτικές επιλογές των προς εξέταση υποκειμένων, η τάση να δημοσιεύονται μόνο τα σημαντικά αποτελέσματα και όχι τα μη σημαντικά (φαινόμενο γνωστό ως προκατάληψη δημοσίευσης/«publication bias»), αλλά και πολλά άλλα –θελημένα ή αθέλητα- λάθη στον σχεδιασμό αυτών των μελετών, καθιστούν την ανάγνωση των αποτελεσμάτων τους συχνά επιφυλακτική.

Ένα μικρό παράδειγμα των παραπάνω, μπορεί να αποτελέσει η περίπτωση της συσχέτισης μεταξύ της νόσου Alzheimer και του πολυμορφισμού C766T που εντοπίζεται στο γονίδιο LRP1, το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 12 και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη καλούμενη «low density lipoprotein receptor-related protein».

Μία μετά-ανάλυση [1] δημοσιευμένη το 2001, περιλαμβάνει 8 μελέτες εκ των οποίων 3 υποδεικνύουν επιβαρυντικό ρόλο του γονότυπου CC προς το νόσημα, 1 υποδηλώνει προστατευτικό ρόλο και οι υπόλοιπες 4 δείχνουν μη σημαντική συσχέτιση. Η μετά-

ανάλυση έρχεται να αποσαφηνίσει τη σύγχυση, καταδεικνύοντας πως οι ομοζυγώτες CC βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο να νοσήσουν από Alzheimer έναντι των υπολοίπων.

Η μεθοδολογία της μετά-ανάλυσης παρέχει στον ερευνητή ένα πολύτιμο εργαλείο στην προσπάθεια του να διαλευκάνει σκοτεινά σημεία στον τομέα της Γενετικής Επιδημιολογίας, να απαντήσει σε ερωτήματα που προκύπτουν από την αντιφατικότητα του συνεχώς πολλαπλασιαζόμενου όγκου των μελετών γενετικής συσχέτισης, να ανιχνεύσει την ετερογένεια μεταξύ των μελετών και τέλος να αξιολογήσει την ποιότητα τους.

Η παρούσα διατριβή επιχειρεί να απαντήσει, για πρώτη φορά, σε μια σειρά από ερωτήματα:

1. Ποια η επίδραση της μετά-ανάλυσης στον μετέπειτα ρυθμό δημοσιεύσεων επάνω στο ίδιο θέμα; Για παράδειγμα, η δημοσίευση μιας μετά-ανάλυσης που τεκμηριώνει τη συσχέτιση ενός πολυμορφισμού με κάποιο νόσημα, «παγώνει» ή πυροδοτεί εκ νέου την ερευνητική δουλειά σε ότι αφορά τη συγκεκριμένη σχέση;
2. Πως εξελίσσεται η σημαντικότητα μεταξύ πολυμορφισμών και νοσημάτων στο πέρασμα του χρόνου; Ενισχύεται ή τουλάχιστον επιβεβαιώνεται από τις μελέτες που ακολουθούν ή απλά αποτυπώθηκε σε κάποια χρονική στιγμή από μία μετά-ανάλυση την οποία η συσσώρευση νέων δεδομένων έρχεται να διαψεύσει;
3. Ποιά η επίδραση των συστηματικών ανασκοπήσεων στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των μελετών γενετικής συσχέτισης που τις ακολουθούν; Παροτρύνει άραγε η δημοσίευση μιας μετά-ανάλυσης τους ερευνητές να αποφεύγουν παραλείψεις που θα αλλοιώσουν την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων τους και θα οδηγήσουν στην παραγωγή «ποιοτικότερης» ιατρικής έρευνας;

B. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Η Βασιζόμενη σε Ενδείξεις Ιατρική (Evidence Based Medicine)

Σύμφωνα με την διακήρυξη του Εθνικού Συστήματος Υγείας της Μεγάλης Βρετανίας, ο πρωταρχικός σκοπός ενός συστήματος παροχής υπηρεσιών υγείας είναι: «...**να διασφαλίσει, μέσω διαθέσιμων πηγών, τη μεγαλύτερη δυνατή βελτίωση στη σωματική και διανοητική υγεία του [πληθυσμού]**».

Για να επιτευχθεί αυτό, οι αποφάσεις για την παροχή και την προμήθεια φροντίδας υγείας, καθοδηγούνται όλο και περισσότερο από αποδεικτικά στοιχεία για την αποτελεσματικότητα ως προς την κλινική πρακτική και το κόστος, όπως επίσης και από συστηματική εκτίμηση των πραγματικών αποτελεσμάτων στο χώρο της υγείας.

Η βασιζόμενη σε ενδείξεις ιατρική (EBM) είναι η διαδικασία της συστηματικής ανασκόπησης, αποτίμησης και χρήσης κλινικών ερευνητικών ευρημάτων, η οποία αποσκοπεί στη διευκόλυνση παροχής βέλτιστης κλινικής φροντίδας προς τους ασθενείς.[2]

Οι Sackett et al. ορίζουν την EBM ως «*τη σύνθεση των βέλτιστων ενδείξεων της έρευνας με την κλινική επάρκεια και τις αξίες του αρρώστου*».

Η EBM διαμορφώνει ένα μέρος της πολυεδικής διαδικασίας για την εξασφάλιση κλινικής αποτελεσματικότητας, τα κύρια στοιχεία της οποίας είναι τα εξής:

- Παραγωγή αποδεικτικών στοιχείων μέσω έρευνας και επιστημονικής ανασκόπησης.
- Παραγωγή και διασπορά κλινικών καθοδηγητικών γραμμών οι οποίες βασίζονται σε αποδεικτικά στοιχεία.
- Υλοποίηση βασισμένων σε αποδεικτικά στοιχεία, αποτελεσματικών σε ότι αφορά το κόστος πρακτικών, μέσω εκπαίδευσης και διαχείρισης αλλαγών.
- Εκτίμηση της συμμόρφωσης με τη συμφωνηθείσα καθοδήγηση της πρακτικής και τα αποτελέσματα στους ασθενείς – αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει και κλινικό διαχειριστικό έλεγχο.

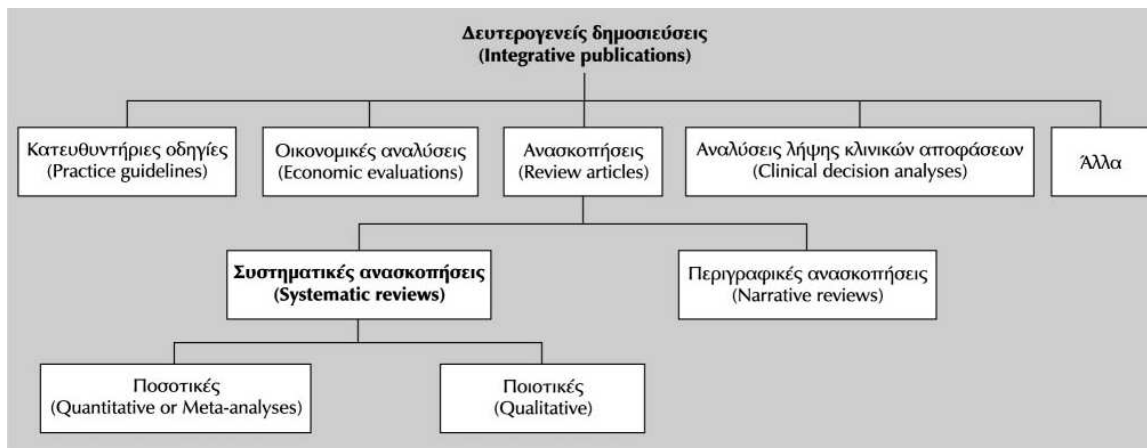


Γράφημα 2. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη λήψη των κλινικών αποφάσεων(Από: Α.Ε. Γερμενής. Ανασκοπήσεων ανασκόπηση. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2000, 17(3):232-36)

Μορφές αποδεικτικών στοιχείων

Τα αποδεικτικά στοιχεία (γράφημα 3) παρουσιάζονται σε πολλές μορφές και είναι σημαντικό να κατανοηθεί η βάση πάνω στην οποία αυτά διατυπώνονται. Η αξία των αποδεικτικών στοιχείων μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σύμφωνα με την ακόλουθη κατάταξη, με καθοδική σειρά αξιοπιστίας:

- I. Ισχυρά αποδεικτικά στοιχεία από μία τουλάχιστον συστηματική ανασκόπηση πολλαπλών, καλώς σχεδιασμένων, τυχαιοποιημένων, ελεγχόμενων δοκιμών.
- II. Ισχυρά αποδεικτικά στοιχεία από μία τουλάχιστον, καταλλήλως σχεδιασμένη, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη δοκιμή, κατάλληλου μεγέθους.
- III. Αποδεικτικά στοιχεία από καλώς σχεδιασμένες δοκιμές, όπως μη τυχαιοποιημένες δοκιμές, μελέτες κοόρτης, μελέτες χρονικών περιόδων ή αντιπαραβαλλόμενες μεταξύ τους μελέτες ελεγχόμενων περιστατικών.
- IV. Αποδεικτικά στοιχεία από καλώς σχεδιασμένες μη πειραματικές μελέτες από περισσότερα από ένα κέντρα ή ερευνητικές ομάδες.
- V. Γνώμες αρχών οι οποίες χαίρουν σεβασμού και βασίζονται σε κλινικά αποδεικτικά στοιχεία, περιγραφικές μελέτες ή αναφορές επιτροπών αποτελούμενων από ειδικούς.



Γράφημα 3. Τα είδη των δευτερογενών δημοσιεύσεων.

(Από: Α.Ε. Γερμενής. Ανασκοπήσεων ανασκόπηση. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2000, 17(3):232-36)

Παραδείγματα EBM

Η EBM δεν είναι αμιγώς ακαδημαϊκή ή οικονομική άσκηση – η υλοποίησή της εμπεριέχει σοβαρές κλινικές επιπτώσεις οι οποίες μπορούν να σώσουν ζωές. Παρακάτω, ενδεικτικά, ανφέρονται δύο παραδείγματα όπου τα αποτελέσματα της EBM έτυχαν ευρείας και καθολικής αποδοχής.

i. Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση και πνευμονική εμβολή

Η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (DVT) του κάτω άκρου και η πνευμονική εμβολή είναι κύριες αιτίες θανάτου και ανικανότητας. Η κλινικά αναγνωρισμένη DVT ή/και η

πνευμονική εμβολή εμφανίζεται σε 2/1.000 περίπου άτομα ετησίως. [3] Εκτιμάται ότι η μετεγχειρητική DVT και η πνευμονική εμβολή κοστίζει στο Εθνικό Σύστημα Υγείας του Ηνωμένου Βασιλείου πάνω από 200 εκατ. λίρες στερλίνες ετησίως. Παρά το γεγονός ότι οι κύριοι παράγοντες κινδύνου για DVT (ηλικία, ακινησία και ορισμένοι τύποι χειρουργικής επέμβασης) είναι ευρέως γνωστοί, μόνο το 46% των ασθενών υψηλού κινδύνου λαμβάνουν οποιαδήποτε μορφή περιεγχειρητικής προφύλαξης.[4]

Η υποδόρια ηπαρίνη έχει καταστεί, τα τελευταία χρόνια, η προφυλακτική αγωγή εκλογής για χειρουργικές διαδικασίες, βασισμένη εν μέρει στα ευρήματα συστηματικής ανασκόπησης των αποδεικτικών στοιχείων. [5] Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα από 70 και πλέον κλινικές δοκιμές ηπαρίνης, οι συγγραφείς ήταν σε θέση να επιδείξουν ένα ουσιαστικό όφελος για ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε επεμβάσεις γενικής, ορθοπεδικής και ουρολογικής χειρουργικής.

Βασισμένη σε αποδεικτικά στοιχεία αυτής της εμβέλειας, η Ομάδα Συναίνεσης για τους Παράγοντες Θρομβοεμβολικού Κινδύνου (THRIFT) [6] συνιστά τη λήψη των ακόλουθων προφυλακτικών μέτρων:

- **Όλοι οι νοσηλευόμενοι ασθενείς:**
 - Θα πρέπει να αξιολογούνται για κλινικούς παράγοντες κινδύνου και συνολικό κίνδυνο θρομβοεμβολής.
 - Θα πρέπει να λαμβάνουν προφύλαξη αναλόγως του βαθμού κινδύνου, πριν από το εξιτήριο.

- **Οι ασθενείς χαμηλού κινδύνου:**
 - Θα πρέπει να μετακινούνται νωρίς.
 -

- **Οι ασθενείς μέτριου και υψηλού κινδύνου:**
 - Θα πρέπει να λαμβάνουν συγκεκριμένη προφύλαξη.
 - Θα πρέπει να μετακινούνται νωρίς.

- **Οι κλινικοί, οι μονάδες και τα νοσοκομεία:**
 - Θα πρέπει να αναπτύσσουν γραπτές τακτικές προφύλαξης.
 - Θα πρέπει να περιλαμβάνουν την προφύλαξη στον κλινικό διαχειριστικό έλεγχο και στα σχέδια φροντίδας των ασθενών.

- **Η αποτελεσματικότητα των προφυλακτικών μεθόδων:**
 - Θα πρέπει να αξιολογείται στους μη νοσηλευόμενους ασθενείς.

Πιο πρόσφατα, διάφορες μελέτες έχουν υποδείξει ότι η χρήση ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH), θα μπορούσε να συσχετίζεται με ένα βελτιωμένο εξαγόμενο, σε σύγκριση με τη μη κλασματωμένη ηπαρίνη. Όμως, το υψηλότερο ανά μονάδα κόστος της LMWH, σημαίνει ότι οι αγοραστές της φροντίδας υγείας έχουν διερωτηθεί κατά πόσο το εν λόγω όφελος είναι πραγματικό και η έκτασή του ικανοποιητικά μεγάλη ώστε να δικαιολογείται η πρόσθετη επένδυση. Μια περαιτέρω συστηματική ανασκόπηση [7] έχει επιβεβαιώσει ότι, όχι μόνο οι LMWHs είναι αποτελεσματικοί προφυλακτικοί παράγοντες στη μετεγχειρητική θρομβοεμβολική νόσο, αλλά είναι και σημαντικά περισσότερο αποτελεσματικοί στην πρόληψη των DVTs σε σύγκριση με τις πρότυπες μορφές ηπαρίνης. Πράγματι, μια οικονομική εκτίμηση της χρήσης μιας LMWH (enochararin, ClexaneTM) στην εκλεκτική αντικατάσταση ισχίου [8] υποδεικνύει ότι θα μπορούσε να εξοικονομηθεί ένα καθαρό ποσό 20 λιρών στερλινών για κάθε ασθενή ο οποίος λαμβάνει προφυλακτική αγωγή με LMWH. Η εν λόγω αυξημένη αποτελεσματικότητα, συνδυαζόμενη με την ευχέρεια χορήγησης στους μη νοσηλευόμενους ασθενείς, υπόσχεται αξιοσημείωτη οικονομία στις δαπάνες της δευτεροβάθμιας φροντίδας.

ii. Εμβολιασμός κατά της γρίπης

Σημαντικής έκτασης νοσηλεία και 3.000-4.000 θάνατοι αποδίδονται κάθε χρόνο στη γρίπη, στο Ηνωμένο Βασίλειο. Περισσότερο από το 85% των εν λόγω θανάτων αφορούν ανθρώπους άνω των 65 ετών και σε χρονιές επιδημίας ο αριθμός των θανάτων είναι ακόμη υψηλότερος. [9] Επιπλέον, άνθρωποι με χρόνιες υφέρπουσες καταστάσεις διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο σοβαρής ασθένειας ή θανάτου μέσω της γρίπης. Μια ανασκόπηση γενικής κάλυψης, [10] βασισμένη στη σύγκριση 8.000 εμβολιασμένων και 20.000 μη εμβολιασμένων ασθενών, υπέδειξε ότι το αντιγριπικό εμβόλιο είναι εξαιρετικά αποτελεσματικό και ότι τα περιστατικά αναπνευστικών νοσημάτων, πνευμονίας, οι νοσηλείες και η θνησιμότητα, μειώθηκαν πάνω από 50% σε ηλικιωμένους ανθρώπους που διαβιούν σε ιδρύματα. Υποδεικνύει ότι οι άνθρωποι άνω των 65 ετών θα πρέπει να εξετάζονται για αντιγριπικό εμβολιασμό και θα πρέπει να στοχεύονται ιδιαίτερα όσοι παρουσιάζουν χρόνιες ασθένειες και περιθάλπονται επί μακρόν σε θεραπευτήρια και κατ' οίκον.

3.Οι Μετα-αναλύσεις

Η συστηματική ανασκόπηση (systematic review) αποτελεί μια περιεκτική μελέτη ενός θέματος, ύστερα από συστηματική αναζήτηση, αποτίμηση και τέλος σύνοψη πολλών πρωτογενών μελετών με έγκυρα αποτελέσματα πάνω στο ίδιο θέμα. Αποτιμά την ποιότητα του σχεδιασμού και της διεκπεραίωσης κάθε έρευνας ξεχωριστά, αλλά ταυτόχρονα συνδυάζει τα αποτελέσματα των επιμέρους μελετών. Οι συστηματικές ανασκοπήσεις επιχειρούν να παρουσιάσουν μία αντικειμενική σύνοψη όλων των διαθέσιμων πληροφοριών. Συχνά, αυτές οι συστηματικές ανασκοπήσεις χρησιμοποιούν ποσοτικές μεθόδους για να καταλήξουν στο τελικό συμπέρασμα. Τέτοιες αναλύσεις είναι οι **μετα-αναλύσεις**, οι οποίες αποτελούν την ποσοτική σύνθεση των αποτελεσμάτων από πολλές διαφορετικές μελέτες που διερευνούν το ίδιο θέμα.

<u>Χαρακτηριστικά</u>	<u>Περιγραφική Ανασκόπηση</u>	<u>Συστηματική Ανασκόπηση</u>
Ερώτημα	Συνήθως ευρέως ενδιαφέροντος	Συνήθως συγκεκριμένο κλινικό ερώτημα
Πηγές και Έρευνα	Σπανίως προκαθορισμένες και δυνητικά μεροληπτικές	Συγκεκριμένες πηγές και σαφής ερευνητική στρατηγική
Επιλογή	Σπανίως προκαθορισμένη και δυνητικά μεροληπτική	Ενιαία εφαρμογή κριτηρίων
Εκτίμηση	Ποικίλη	Κριτική και αυστηρή
Σύνθεση	Συνήθως ποιοτική	Συνήθως ποσοτική
Συμπέρασμα	Σπανίως επαρκώς τεκμηριωμένο	Συνήθως τεκμηριωμένο

Πίνακας 1

Οι διαφορές μεταξύ περιγραφικών και συστηματικών ανασκοπήσεων

Ορισμοί της μετα-ανάλυσης

Ανατρέχοντας στη σχετική διεθνή βιβλιογραφία μπορεί κάποιος να βρει αρκετούς ορισμούς της μετα-ανάλυσης. Ενδεικτικά, παραθέτουμε τους εξής:

- Μετα-ανάλυση είναι η στατιστική ανάλυση μιας μεγάλης συλλογής αποτελεσμάτων, τα οποία προέρχονται από μεμονωμένες μελέτες, με σκοπό την ενσωμάτωση των συμπερασμάτων. **(Glass, 1978)**
- Μετα-ανάλυση είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για να ανασκοπεί και να αξιολογεί τις έρευνες που υπάρχουν στη βιβλιογραφία. Διαφέρει με τις άλλες κριτικές μελέτες γιατί επικεντρώνεται στη στατιστική ενοποίηση και ανάλυση των ευρημάτων διαφόρων ερευνών. **(Cook, 1992)**
- Μετα-ανάλυση είναι η διαδικασία με την οποία οι στατιστικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται για να συνδυαστούν τα αποτελέσματα διαφορετικών μελετών. **(Last, 1995)**

- Μετα-ανάλυση είναι η μαθηματική σύνθεση των αποτελεσμάτων δύο ή περισσότερων αρχικών μελετών που εξετάζουν την ίδια υπόθεση με τον ίδιο τρόπο. **(Greenhaigh, 1997)**
- Μετα-ανάλυση είναι η ποσοτική ανασκόπηση με σκοπό τη σύνθεση των αποτελεσμάτων, τα οποία προέρχονται από παρόμοιες αλλά ανεξάρτητες μελέτες. **(Normand, 1999)**
- Μετα-ανάλυση είναι η ποσοτική στατιστική ανάλυση η οποία εφαρμόζεται σε παρόμοια πειράματα, ανεξάρτητων συνήθως ερευνητών με σκοπό να συγκεντρωθούν τα δεδομένα και με βάση αυτά να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα των συμπερασμάτων. **(U.S National Library of Medicine)**

Η 1^η μετα-ανάλυση διεξήχθη από τον Karl Pearson (εικ. 1) το 1904, σε μια προσπάθεια να ξεπεράσει το πρόβλημα της στατιστικά μικρής απόδοσης σε μελέτες με μικρό αριθμό δείγματος.



Εικόνα 1

Karl Pearson (1857-1936)

Παρά το γεγονός πως στις μέρες μας η ιατρική επιστήμη αποτελεί, ίσως, το κύριο πεδίο εφαρμογής της μετα-ανάλυσης, μέχρι το 1955 δεν είχε δημοσιευτεί καμία μετα-ανάλυση που να αφορά ιατρική θεραπεία. Στη δεκαετία του 1970 αναπτύχθηκαν πολύπλοκες στατιστικές τεχνικές, κυρίως από τους *Glass*, *Schmidt* και *Hunter*, ενώ η στατιστική θεωρία των μετα-αναλύσεων αναπτύχθηκε εκτενώς από τους *Ranju*, *Hedges*, *Olkin*, *Schmidt* και *Hunter*.

Τα στάδια μίας μετα-ανάλυσης

Θα μπορούσαμε να συνοψίσουμε τα στάδια μίας μετα-ανάλυσης ως εξής:

1. Διατύπωση της ερευνητικής υπόθεσης
2. Ανάπτυξη του πρωτοκόλλου
3. Προσδιορισμός της πηγής των στοιχείων, ανάπτυξη της στρατηγικής αναζήτησης των σχετικών μελετών. Αναζήτηση δημοσιευμένης και αδημοσίευτης έρευνας.
4. Καθιέρωση των κριτηρίων επιλογής ή αποκλεισμού των μελετών. Αξιολόγηση της ποιότητας των μελετών,
5. Εξαγωγή και καταγραφή των στοιχείων που προκύπτουν από τις μελέτες.
6. Στατιστική ανάλυση: εκτίμηση της επίδρασης της θεραπείας στις επιμέρους μελέτες/ έλεγχος και αναζήτηση των πηγών ετερογένειας/ επιλογή μοντέλου/ εκτίμηση της ολικής επίδρασης της θεραπείας/ έλεγχος και διόρθωση της

μεροληψίας/ ανάλυση ευαισθησίας/ δευτερεύουσες αναλύσεις (subgroup analyses)

7. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων και συμπεράσματα

Μετα-ανάλυση: Αρχές και Διαδικασίες

Η μετα-ανάλυση θα πρέπει να θεωρείται ως μελέτη παρατήρησης των αποδεικτικών στοιχείων. Τα βήματα που περιλαμβάνονται είναι παρόμοια με εκείνα οποιασδήποτε άλλης αναλαμβανόμενης μελέτης: διαμόρφωση του προβλήματος το οποίο θα μας απασχολήσει, συλλογή και ανάλυση των δεδομένων και αναφορά των αποτελεσμάτων. Οι ερευνητές θα πρέπει να γράψουν εκ των προτέρων ένα λεπτομερές ερευνητικό πρωτόκολλο το οποίο θα δηλώνει με σαφήνεια τους αντικειμενικούς στόχους, τις υποθέσεις οι οποίες θα πρέπει να ελεγχθούν, τις υποομάδες ενδιαφέροντος και τις προτεινόμενες μεθόδους και κριτήρια για την ταυτοποίηση και επιλογή σχετικών μελετών και την εξαγωγή και ανάλυση των στοιχείων.

Όσο για τα κριτήρια τα οποία αφορούν τον αποκλεισμό και τη συμπερίληψη ασθενών σε κλινικές μελέτες, τα κριτήρια καταλληλότητας θα πρέπει να καθορίζονται ως προς τα δεδομένα που θα συμπεριληφθούν. Τα κριτήρια σχετίζονται με την ποιότητα των δοκιμών και με τη συνδυασιμότητα των θεραπειών, ασθενών, εξαγομένων και χρονικών διαστημάτων παρακολούθησης. Τα χαρακτηριστικά ποιότητας και σχεδιασμού μιας μελέτης ενδέχεται να επηρεάζουν τα αποτελέσματα.[11, 12] Ιδανικά, οι ερευνητές θα πρέπει να φροντίζουν για τη συμπερίληψη μόνον ελεγχόμενων δοκιμών με την κατάλληλη τυχαιοποίηση ασθενών, οι οποίες [δοκιμές] αναφέρονται σε όλους τους αρχικά συμπεριληφθέντες ασθενείς, σύμφωνα με την αρχή περί πρόθεσης για χορήγηση αγωγής και μια αντικειμενική, κατά προτίμηση τυφλή, εκτίμηση του εξαγομένου. [13] Πάντως, η εκτίμηση της ποιότητας μιας μελέτης ενδέχεται να είναι υποκειμενική διαδικασία, ιδιαίτερα όταν τα αναφερόμενα στοιχεία είναι συχνά ανεπαρκή για το σκοπό αυτό. [14] Είναι επομένως προτιμητέο να ορίζονται μόνο βασικά κριτήρια συμπερίληψης και να εκτελείται μια ενδεδειγμένη ανάλυση ευαισθησίας.

Η στρατηγική ταυτοποίησης των σχετικών μελετών θα πρέπει να σκιαγραφηθεί με σαφήνεια. Συγκεκριμένα, θα πρέπει να αποφασιστεί κατά πόσο η αναζήτηση θα επεκταθεί ώστε να συμπεριλάβει μη δημοσιευμένες μελέτες, καθώς τα αποτελέσματά τους ενδέχεται να διαφέρουν συστηματικά από τις δημοσιευμένες δοκιμές. Η μετα-ανάλυση η οποία περιορίζεται σε δημοσιευμένα αποδεικτικά στοιχεία ενδέχεται να παράγει στρεβλά αποτελέσματα, λόγω της προκατάληψης δημοσίευσης. Για τον εντοπισμό δημοσιευμένων μελετών, οι ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων είναι χρήσιμες, [15] αλλά, αν χρησιμοποιούνται από μόνες τους, ενδέχεται να καταλήξουν σε απώλεια ενός ουσιαστικού ποσοστού σχετικών μελετών. [16, 17] Σε μια προσπάθεια ταυτοποίησης όλων των δημοσιευμένων ελεγχόμενων δοκιμών, η Συνεργασία Cochrane έχει ξεκινήσει μια εκτεταμένη έρευνα των ιατρικών περιοδικών, ένα προς ένα, τα οποία εκδίδονται στα Αγγλικά όπως και σε πολλές άλλες γλώσσες. [18] Το Μητρώο Ελεγχόμενων Δοκιμών Cochrane είναι πιθανότατα η καλύτερη μοναδική ηλεκτρονική πηγή δοκιμών. Πάντως, ευρετήρια υπομνήσεων δημοσιεύσεων και οι βιβλιογραφίες άρθρων ανασκοπήσεων, μονογραφιών όπως και οι εντοπισμένες μελέτες θα πρέπει επίσης να ερευνώνται εξονυχιστικά.

Απαιτείται ένα τυποποιημένο έντυπο καταχώρησης για τη συλλογή δεδομένων. Είναι χρήσιμο αν δύο ανεξάρτητοι παρατηρητές εξάγουν τα δεδομένα, προς αποφυγή σφαλμάτων. Σε αυτό το στάδιο η ποιότητα των μελετών μπορεί να αξιολογηθεί, με μία από τις αρκετές ειδικά σχεδιασμένες κλίμακες. [19] Η απόκρυψη από τους

παρατηρητές των ονομάτων των συγγραφέων και των ιδρυμάτων από τα οποία προέρχονται, των ονομάτων των περιοδικών, των πηγών χρηματοδότησης και των ευχαριστιών, οδηγεί σε περισσότερο παγιωμένα αποτελέσματα. [20] Αυτό συνεπάγεται είτε φωτοτυπημένα έγγραφα, αφαίρεση της σελίδας τίτλου και απόκρυψη των στοιχείων τίτλου της εφημερίδας όπως και άλλων χαρακτηριστικών με μαύρο μαρκαδόρο, είτε σάρωση των κειμένων σε υπολογιστή και ετοιμασία αρχείων τυποποιημένης μορφής.

Τυποποιημένο μέτρο εξαγομένων

Τα μεμονωμένα αποτελέσματα θα πρέπει να εκφράζονται σε τυποποιημένη μορφή, ώστε να επιτρέψουν την σύγκριση μεταξύ μελετών. Αν το τελικό σημείο είναι συνεχές – για παράδειγμα, η πίεση του αίματος – χρησιμοποιείται ο μέσος όρος της διαφοράς μεταξύ των ομάδων αγωγής και ελέγχου. Το μέγεθος μιας διαφοράς πάντως, επηρεάζεται από την υφιστάμενη αξία πληθυσμού. Ένα αντιυπερτασικό φάρμακο, για παράδειγμα, είναι πιθανό να έχει μεγαλύτερο απόλυτο αποτέλεσμα στην πίεση του αίματος σε εμφανώς υπερτασικούς ασθενείς, παρά σε οριακά υπερτασικούς ασθενείς. Οι διαφορές επομένως παρατίθενται συχνά σε μονάδες τυπικής απόκλισης. Αν το τελικό σημείο είναι δυαδικό (για παράδειγμα, ασθένεια έναντι μη ασθένειας, ή θάνατος έναντι ζωής), τότε συχνά υπολογίζονται οι λόγοι πιθανοτήτων ή οι σχετικοί κίνδυνοι. Ο λόγος πιθανοτήτων διαθέτει βολικές μαθηματικές ιδιότητες οι οποίες διευκολύνουν το συνδυασμό δεδομένων και τον έλεγχο του συνολικού αποτελέσματος για σημαντικότητα. Απόλυτα μέτρα, όπως η απόλυτη μείωση κινδύνου ή ο αριθμός ασθενών που είναι απαραίτητο να δεχθεί αγωγή για να αποτραπεί ένα γεγονός, [21] βοηθούν περισσότερο όταν εφαρμόζονται τα αποτελέσματα στην κλινική πρακτική.

Στατιστικές μέθοδοι για τον υπολογισμό του συνολικού αποτελέσματος

Το τελευταίο βήμα συνίσταται στον υπολογισμό του συνολικού αποτελέσματος, με συνδυασμό των δεδομένων. Ένας απλός αριθμητικός μέσος όρος των αποτελεσμάτων από όλες τις δοκιμές θα έδινε παραπλανητικά αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα από μικρές μελέτες υπόκεινται περισσότερο στο παιχνίδι της τύχης και γι' αυτό θα πρέπει να τους αποδίδεται μικρότερη βαρύτητα. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για μετά-ανάλυση χρησιμοποιούν έναν σταθμικό μέσο όρο των αποτελεσμάτων, στον οποίο οι μεγαλύτερες δοκιμές έχουν περισσότερη επίδραση από τις μικρότερες. Οι στατιστικές τεχνικές για να γίνει αυτό μπορούν να καταταχθούν γενικώς σε δύο μοντέλα, [22] των οποίων η διαφορά συνίσταται στον τρόπο με τον οποίο πραγματοποιείται ο χειρισμός της μεταβλητότητας των αποτελεσμάτων από μελέτη σε μελέτη. Το μοντέλο «σταθερών αποτελεσμάτων» λαμβάνει υπόψη του, συχνά αναιτιολόγητα, ότι αυτή η μεταβλητότητα οφείλεται αποκλειστικά σε τυχαία διακύμανση. [23] Επομένως, αν όλες οι μελέτες ήταν απείρως μεγάλες θα έδιναν ταυτόσημα αποτελέσματα. Το μοντέλο «τυχαίων αποτελεσμάτων» [24] υποθέτει ένα διαφορετικό βαθύτερο αποτέλεσμα για κάθε μελέτη και το λαμβάνει υπόψη ως επιπρόσθετη πηγή διακύμανσης, στοιχείο που οδηγεί σε κατά κάποιον τρόπο ευρύτερα διαστήματα εμπιστοσύνης από αυτά του μοντέλου σταθερών αποτελεσμάτων. Υποτίθεται ότι η κατανομή των αποτελεσμάτων είναι τυχαία και το κεντρικό σημείο αυτής της κατανομής είναι το επίκεντρο της εκτίμησης των συνδυασμένων αποτελεσμάτων. Παρ' όλο που κανένα από τα δύο μοντέλα δε μπορεί να ειπωθεί ότι είναι «σωστό», θα εμφανιστεί ουσιαστική διαφορά στο συνδυασμένο αποτέλεσμα,

υπολογισμένη μέσω των μοντέλων σταθερών και τυχαίων αποτελεσμάτων μόνον αν οι μελέτες είναι φανερά ετερογενείς. [22]

Μετα-ανάλυση κατά Bayes

Μερικοί στατιστικολόγοι αισθάνονται ότι άλλες στατιστικές προσεγγίσεις είναι καταλληλότερες από αυτές που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Μια προσέγγιση χρησιμοποιεί το θεώρημα του Bayes, ο οποίος ήταν Άγγλος ιερωμένος κατά τον 18^ο αιώνα.(εικ. 2)



Εικόνα 2.
Thomas Bayes (1702-1761)

Οι στατιστικολόγοι που είναι υπέρ του θεωρήματός του, εκφράζουν την πεποίθησή τους σχετικά με το μέγεθος ενός αποτελέσματος, συγκεκριμενοποιώντας σε ορισμένο βαθμό την κατανομή πιθανοτήτων πριν εξετάσουν τα δεδομένα, και ακολούθως αναβαθμίζουν αυτή την πεποίθηση εξάγοντας μια εκ των υστέρων κατανομή πιθανοτήτων, λαμβάνοντας υπ' όψη τα δεδομένα. [25] Τα κατά Bayes μοντέλα είναι διαθέσιμα υπό την υπόθεση και των σταθερών και των τυχαίων αποτελεσμάτων. Το διάστημα εμπιστοσύνης (ή πιο σωστά στην ορολογία κατά Bayes, το αξιόπιστο διάστημα 95%, το οποίο καλύπτει το 95% της μεταγενέστερης κατανομής πιθανοτήτων) θα είναι συχνά ευρύτερο από αυτό που προκύπτει από τη χρήση των συμβατικών μοντέλων, διότι εισάγεται μία ακόμη συνιστώσα μεταβλητότητας, η πρότερη κατανομή. Οι προσεγγίσεις κατά Bayes είναι αμφιλεγόμενες διότι ο καθορισμός της πρότερης κατανομής βασίζεται συχνά σε υποκειμενικές εκτιμήσεις και γνώμες.

Ετερογένεια μεταξύ αποτελεσμάτων μελετών

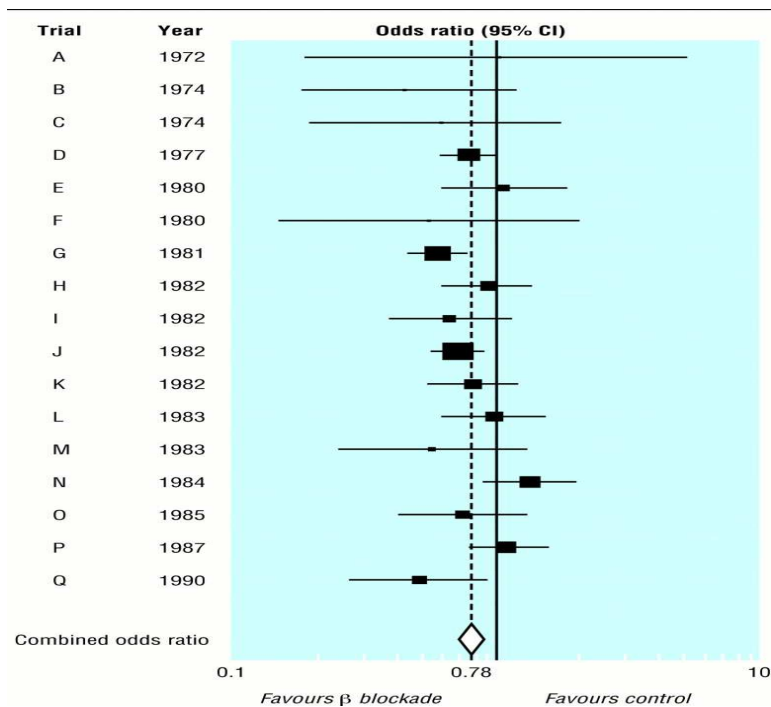
Αν τα αποτελέσματα των μελετών διαφέρουν κατά πολύ, τότε ίσως δεν θα πρέπει να συνδυάζονται τα αποτελέσματα. Πώς θα διασφαλιστεί πάντως το πότε και κατά πόσο θα πρέπει να πραγματοποιηθεί αυτό, είναι ασαφές. Μια προσέγγιση είναι να εξετάζεται στατιστικά ο βαθμός ομοιότητας των εξαγομένων των μελετών – με άλλα λόγια, να ελέγχεται ο βαθμός ετερογένειας μεταξύ των μελετών. Σε τέτοιες διαδικασίες, εκτιμάται το κατά πόσο τα αποτελέσματα μιας μελέτης αντανακλούν ένα βαθύτερα υφιστάμενο αποτέλεσμα και όχι μια κατανομή των αποτελεσμάτων. Αν αυτό το τεστ παρουσιάζει ομογενή αποτελέσματα, τότε οι διαφορές μεταξύ μελετών εκτιμάται ότι αποτελούν συνέπεια της διακύμανσης στη λήψη δειγμάτων, και ένα μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων είναι κατάλληλο. Αν όμως το τεστ δείξει ότι υφίσταται σημαντική ετερογένεια μεταξύ των αποτελεσμάτων των μελετών, τότε υποστηρίζεται το μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων. Ο σημαντικότερος περιορισμός αυτής της προσέγγισης είναι ότι τα στατιστικά τεστ παρουσιάζουν έλλειψη ισχύος – συχνά αποτυγχάνουν να απορρίψουν τη μηδενική υπόθεση των ομοιογενών

αποτελεσμάτων, ακόμη και αν υπάρχουν ουσιώδεις διαφορές μεταξύ μελετών. Παρ' όλο που δεν υπάρχει στατιστική λύση στο εν λόγω θέμα, η ετερογένεια μεταξύ των αποτελεσμάτων των μελετών δε θα πρέπει να θεωρείται καθαρά ως πρόβλημα για μετα-ανάλυση – παρέχει επίσης μια ευκαιρία να εξεταστεί το γιατί οι επιδράσεις των αγωγών διαφέρουν όταν οι συνθήκες είναι διαφορετικές. Η ετερογένεια δεν θα πρέπει απλώς να αγνοείται μετά την εφαρμογή ενός στατιστικού τεστ. Θα πρέπει μάλλον να εξετάζεται ενδελεχώς σε μια προσπάθεια ερμηνείας της. [26]

Γραφική απεικόνιση

Τα αποτελέσματα κάθε δοκιμής απεικονίζονται γραφικά με χρήσιμο τρόπο, μαζί με τα διαστήματα εμπιστοσύνης τους. Το γράφημα 4 αντιπροσωπεύει μια μετα-ανάλυση 17 δοκιμών β-εμποδιστή στη δευτερογενή πρόληψη μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Κάθε μελέτη αντιπροσωπεύεται από ένα μαύρο τετράγωνο και μια οριζόντια γραμμή, τα οποία αντιστοιχούν στη σημειακή εκτίμηση και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% του λόγου πιθανοτήτων. Τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% θα περιείχαν το πραγματικό βαθύτερα υφιστάμενο αποτέλεσμα στο 95% των περιπτώσεων, αν η μελέτη επαναλαμβανόταν ξανά και ξανά. Η συνεχής κάθετη γραμμή αντιστοιχεί σε μη επίδραση της αγωγής (λόγος πιθανοτήτων 1,0). Αν το διάστημα εμπιστοσύνης περιλαμβάνει το 1, τότε η διαφορά στην επίδραση της πειραματικής θεραπείας και αυτής σε μάρτυρες δεν είναι σημαντική σε συμβατικά επίπεδα ($P > 0,05$). Η επιφάνεια των μαύρων τετραγώνων αντανακλά τη βαρύτητα της μελέτης στη μετα-ανάλυση. Το διάστημα εμπιστοσύνης όλων των μελετών εκτός από δύο, περνά αυτή τη γραμμή, υποδεικνύοντας ότι οι εκτιμήσεις για τις επιδράσεις δεν ήταν σημαντικές ($P > 0,05$).

Ο ρόμβος αντιπροσωπεύει το συνδυασμένο λόγο πιθανοτήτων, υπολογισμένο με τη χρήση ενός μοντέλου σταθερών αποτελεσμάτων, με το διάστημα εμπιστοσύνης του στο 95%. Ο συνδυασμένος λόγος πιθανοτήτων δείχνει ότι η από του στόματος λήψη β-εμποδιστή η οποία αρχίζει λίγες ημέρες έως λίγες εβδομάδες μετά την οξεία φάση, μειώνει την θνησιμότητα που ακολουθεί κατά ένα εκτιμώμενο 22% (λόγος πιθανοτήτων 0,78· διάστημα εμπιστοσύνης 95%: 0,71 ως 0,87). Εμφανίζεται εκτύπωση μιας διακεκομμένης γραμμής κάθετα διαμέσω του συνδυασμένου λόγου πιθανοτήτων. Αυτή η γραμμή τέμνει τις οριζόντιες γραμμές όλων των επιμέρους μελετών εκτός μίας (N). Αυτό υποδεικνύει ότι πρόκειται για ένα ικανοποιητικά ομογενές τεστ μελετών. Πράγματι, το τεστ ετερογένειας δίνει μια μη σημαντική στάθμη σημαντικότητας $p = 0,2$.



Γράφημα 4 : Συνολική θνησιμότητα από δοκιμές β-αναστολέων σε δευτερογενή πρόληψη μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Το μαύρο τετράγωνο και η οριζόντια γραμμή αντιστοιχούν σε λόγο πιθανοτήτων και διάστημα εμπιστοσύνης 95% για κάθε δοκιμή. Το μέγεθος του μαύρου τετραγώνου αντανάκλα τη βαρύτητα κάθε δοκιμής. Ο ρόμβος αντιπροσωπεύει τον συνδυασμένο λόγο πιθανοτήτων και το διάστημα εμπιστοσύνης 95%, δείχνοντας μια μείωση 22% των πιθανοτήτων θανάτου.

Χρησιμοποιήθηκε μια λογαριθμική κλίμακα για την εκτύπωση των λόγων πιθανοτήτων στο γράφημα 4. Υπάρχουν αρκετοί λόγοι για το ότι οι μετρήσεις λόγων εκτυπώνονται καλύτερα σε λογαριθμικές κλίμακες. Ο σημαντικότερος από αυτούς είναι ότι, η τιμή ενός λόγου πιθανοτήτων και το αντίστροφό της – για παράδειγμα, 0,5 και 2 – τα οποία αντιπροσωπεύουν αναλογίες πιθανοτήτων του ίδιου αριθμητικού μεγέθους αλλά διαφορετικών κατευθύνσεων, θα βρίσκονται σε ίση απόσταση από το 1,0. Μελέτες με αναλογίες πιθανοτήτων κάτω και πάνω από 1,0 καταλαμβάνουν ίσους χώρους στο γράφημα και έτσι δείχνουν εξίσου σημαντικές. Επίσης, τα διαστήματα εμπιστοσύνης εμφανίζονται συμμετρικά γύρω από την σημειακή εκτίμηση.

Σχετικά και απόλυτα μέτρα αποτελεσμάτων

Η επανάληψη της ανάλυσης με τη χρήση σχετικού κινδύνου αντί του λόγου πιθανοτήτων, δίνει ένα συνολικό σχετικό κίνδυνο 0,80 (διάστημα εμπιστοσύνης 95%: 0,73 έως 0,88). Έτσι, ο λόγος πιθανοτήτων είναι κοντά στο σχετικό κίνδυνο, όπως αναμένεται όταν το εξαγόμενο είναι σχετικά ασυνήθιστο. Η μείωση του σχετικού κινδύνου, η οποία προκύπτει αφαιρώντας το σχετικό κίνδυνο από το 1 και εκφράζοντας το αποτέλεσμα ως ποσοστό, είναι 20% (12% έως 27%). Τα σχετικά μέτρα που χρησιμοποιούνται σε αυτή την ανάλυση αγνοούν τον απόλυτο βαθύτερα υφιστάμενο κίνδυνο. Πάντως, ο κίνδυνος θανάτου μεταξύ ασθενών οι οποίοι έχουν επιζήσει της οξείας φάσης εμφράγματος του μυοκαρδίου, ποικίλλει ευρέως [27]. Για παράδειγμα, μεταξύ ασθενών με τρεις ή περισσότερους παράγοντες καρδιακού κινδύνου, η πιθανότητα θανάτου σε δύο χρόνια μετά από το εξιτήριο, κυμαίνεται από

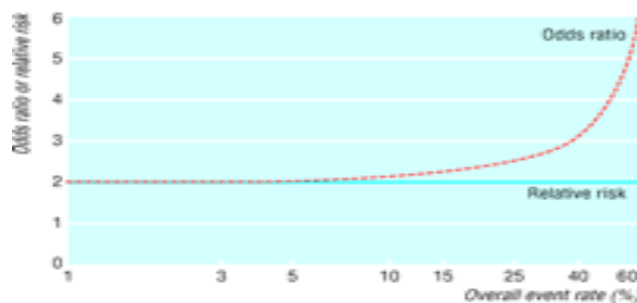
24% έως 60%. Αντιστρόφως, η θνησιμότητα δύο ετών μεταξύ ασθενών χωρίς παράγοντες κινδύνου, ήταν μικρότερη του 3%. Η μείωση του απόλυτου κινδύνου ή η διαφορά κινδύνου αντανακλά τον βαθύτερα υφιστάμενο κίνδυνο χωρίς αγωγή αλλά και τη μείωση κινδύνου η οποία σχετίζεται με την αγωγή. Η λήψη του αντιστρόφου της διαφοράς κινδύνου δίνει τον «αριθμό των ασθενών οι οποίοι είναι απαραίτητο να λάβουν αγωγή» (αριθμός ασθενών που είναι απαραίτητο να λάβουν αγωγή για να αποφευχθεί ένα γεγονός). [21]

Πιθανότητες και λόγος πιθανοτήτων

Οι πιθανότητες είναι ο αριθμός ασθενών οι οποίοι πληρούν τα κριτήρια για ένα δεδομένο τελικό σημείο, δια τον αριθμό ασθενών που δεν τα πληρούν. Για παράδειγμα, οι πιθανότητες διάρροιας στη διάρκεια της αγωγής με ένα αντιβιοτικό σε μια ομάδα 10 ασθενών ενδέχεται να είναι 4 προς 6 (4 με διάρροια δια 6 χωρίς διάρροια, 0,66). Σε ομάδα ελέγχου οι πιθανότητες ενδέχεται να είναι 1 προς 9 (0,11). Ο λόγος πιθανοτήτων αγωγής προς την ομάδα ελέγχου θα ήταν 6 (0,66 δια 0,11).

Κίνδυνος και σχετικός κίνδυνος

Ο κίνδυνος είναι ο αριθμός ασθενών οι οποίοι πληρούν τα κριτήρια για ένα δεδομένο τελικό σημείο, δια του συνολικού αριθμού ασθενών. Στο ανωτέρω παράδειγμα, οι κίνδυνοι θα ήταν 4 στους 10 στην ομάδα που λαμβάνει αγωγή και 1 στους 10 στην ομάδα ελέγχου, δίνοντας ένα λόγο κινδύνου, ή σχετικό κίνδυνο, 4 (0,4 δια 0,1).



Γράφημα 5.

Οι πιθανότητες θα είναι κοντά στον σχετικό κίνδυνο αν το τελικό σημείο εμφανίζεται σχετικά σπάνια, ας υποθέσουμε λιγότερο από 20%. Αν το εξαγόμενο απαντάται συχνότερα (όπως στη διάρροια για παράδειγμα), τότε ο λόγος πιθανοτήτων θα υπερεκτιμήσει σημαντικά τον κίνδυνο.

Για έναν κίνδυνο γραμμής βάσεως της τάξεως του 1% κάθε χρόνο, η διαφορά απόλυτου κινδύνου δείχνει ότι προλαμβάνονται δύο θάνατοι ανά 1000 ασθενείς που λαμβάνουν αγωγή (πίνακας 2). Αυτό αντιστοιχεί σε 500 ασθενείς (1 δια 0,002) που έλαβαν αγωγή για ένα χρόνο για να προληφθεί ένας θάνατος. Αντιστρόφως, αν ο κίνδυνος είναι πάνω από 10%, λιγότεροι από 50 ασθενείς θα πρέπει να λάβουν αγωγή για να προληφθεί ένας θάνατος. Πολλοί κλινικοί ιατροί είναι πιθανόν ότι θα αποφάσιζαν να μην χορηγήσουν αγωγή σε ασθενείς σε χαμηλό κίνδυνο, δεδομένου του μεγάλου αριθμού ασθενών που θα πρέπει να εκτεθούν σε παρενέργειες του β-εμπροδιστή προκειμένου να προληφθεί ένας θάνατος. Η εκτίμηση του αριθμού όσων έχουν ανάγκη αγωγής βάσει του εκτιμώμενου κινδύνου για έναν ασθενή ο οποίος δε λαμβάνει αγωγή και η μείωση του σχετικού κινδύνου με χορήγηση αγωγής, είναι ένα στοιχείο που βοηθά όταν λαμβάνεται μια απόφαση για ένα μεμονωμένο ασθενή. Ένα νομόγραμμα που διευκολύνει τον υπολογισμό του αριθμού ατόμων που χρειάζονται αγωγή κλινήρεις έχει δημοσιευτεί. [27]

Η χορήγηση β-αναστολέα σε δευτερογενή πρόληψη μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου – μειώσεις απόλυτου κινδύνου και απαιτούμενοι αριθμοί για τη χορήγηση αγωγής για ένα έτος, ώστε να προληφθεί ενός θάνατος για διαφορετικά επίπεδα θνησιμότητας σε ομάδα ελέγχου

Κίνδυνος θνησιμότητας ενός έτους μεταξύ μαρτύρων (%)	Μείωση απόλυτου κινδύνου	Δεν είναι απαραίτητη η αγωγή
1	0,002	500
3	0,006	167
5	0,006	167
5	0,01	100
10	0,02	50
20	0,04	25
30	0,06	17
40	0,08	13
50	0,1	10

Οι υπολογισμοί πραγματοποιούνται με την υπόθεση μιας σταθερής μείωσης σχετικού κινδύνου 20%.

Πίνακας 2

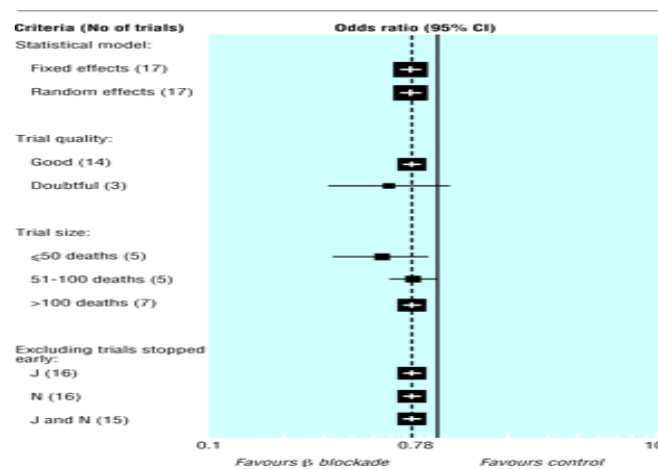
Η μετα-ανάλυση η οποία χρησιμοποιεί μέτρα απόλυτου αποτελέσματος όπως η διαφορά κινδύνου, μπορεί να είναι χρήσιμη στην απεικόνιση του εύρους των απόλυτων αποτελεσμάτων στις μελέτες. Η διαφορά συνδυασμένου κινδύνου (και ο αριθμός ατόμων που θα πρέπει να λάβουν αγωγή, ο οποίος υπολογίζεται από αυτή τη διαφορά) θα πρέπει πάντως να καθορίζεται ουσιαστικά από τον αριθμό και το μέγεθος των δοκιμών σε ασθενείς ευρισκόμενους σε χαμηλό, ενδιάμεσο, ή υψηλό κίνδυνο. Έτσι, τα συνδυασμένα αποτελέσματα θα είναι εφαρμόσιμα μόνο σε ασθενείς ευρισκόμενους σε επίπεδα κινδύνου τα οποία αντιστοιχούν στο μέσο κίνδυνο των δοκιμών που συμπεριλαμβάνονται. Είναι επομένως γενικώς πιο σημαντικό να χρησιμοποιούνται μέτρα σχετικών αποτελεσμάτων, προκειμένου να συνοψίζονται τα αποδεικτικά στοιχεία και τα απόλυτα μέτρα, ώστε να εφαρμόζονται σε συγκεκριμένη κατάσταση, κλινική ή δημόσιας υγείας.

Ανάλυση ευαισθησίας

Οι γνώμες συχνά δίστανται σχετικά με το ποια είναι η σωστή μέθοδος εκτέλεσης μιας συγκεκριμένης μετα-ανάλυσης. Η ισχύς των ευρημάτων σε διαφορετικές υποθέσεις θα πρέπει επομένως να εξετάζεται με ενδελεχή ανάλυση της ευαισθησίας. Αυτό φαίνεται στο γράφημα 6 για τη μετα-ανάλυση της χορήγησης β-αναστολέα μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Αρχικώς, το συνολικό αποτέλεσμα υπολογίστηκε με διαφορετικές στατιστικές μεθόδους, με τη χρήση μοντέλων σταθερών και τυχαίων αποτελεσμάτων. Η εικόνα δείχνει ότι οι συνολικές εκτιμήσεις είναι στην ουσία ταυτόσημες και ότι τα

διαστήματα εμπιστοσύνης είναι ελαφρώς μόνον ευρύτερα στο μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων. Αυτό εξηγείται βάσει του σχετικά μικρού ποσού διακύμανσης μεταξύ δοκιμών στην εν λόγω μετα-ανάλυση.

Ακολούθως, η μεθοδολογική ποιότητα εκτιμήθηκε βάσει του καταμερισμού των ασθενείς σε ομάδες ενεργού αγωγής ή ομάδες ελέγχου, της εκτίμησης του εξαγομένου και της ανάλυσης των δεδομένων. Το μέγιστο βαθμολογίας των εννέα μονάδων δόθηκε αν ο καταμερισμός ασθενών ήταν πραγματικά τυχαίος, αν η εκτίμηση της ζωτικής κατάστασης ήταν ανεξάρτητη της ομάδας στην οποία χορηγούνταν αγωγή και αν τα δεδομένα από όλους τους ασθενείς οι οποίοι συμπεριλήφθηκαν αρχικώς αναλύονταν σύμφωνα με την αρχή περί πρόθεσης για χορήγηση αγωγής. Το γράφημα 6 δείχνει ότι οι τρεις χαμηλής ποιότητας μελέτες (7 μονάδες και κάτω) παρουσίασαν περισσότερο όφελος από τις υψηλής ποιότητας μελέτες. Ο αποκλεισμός αυτών των τριών μελετών πάντως, αφήνει το συνολικό αποτέλεσμα και τα διαστήματα εμπιστοσύνης πρακτικώς αμετάβλητα.



Γράφημα 6 : Η ανάλυση ευαισθησίας της μετα-ανάλυσης των β αναστολέων, στη δευτερογενή πρόληψη μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου

Τρίτο, είναι περισσότερο πιθανό να δημοσιεύονται τα σημαντικά αποτελέσματα παρά τα μη σημαντικά ευρήματα, [28] και αυτό ενδέχεται να προκαλεί διαστρέβλωση των ευρημάτων των μετα-αναλύσεων. Η παρουσία μιας τέτοιας προκατάληψης όσον αφορά τη δημοσίευση μπορεί να ταυτοποιηθεί με διαστρωμάτωση της ανάλυσης κατά μέγεθος μελέτης – τα μικρότερα αποτελέσματα ενδέχεται να είναι σημαντικά σε μεγαλύτερες έρευνες. Αν η υπάρχει προκατάληψη όσον αφορά τη δημοσίευση, είναι αναμενόμενο ότι από τις δημοσιευμένες μελέτες, οι μεγαλύτερες θα αναφέρουν τα μικρότερα αποτελέσματα. Το γράφημα δείχνει ότι αυτό συμβαίνει πραγματικά, με τις μικρότερες δοκιμές (50 ή λιγότεροι θάνατοι) να παρουσιάζουν το μεγαλύτερο αποτέλεσμα. Πάντως, ο αποκλεισμός των μικρότερων μελετών έχει μικρή επίδραση στη συνολική εκτίμηση.

Τέλος, δύο μελέτες (J και N) τερματίστηκαν νωρίτερα από το αναμενόμενο, βάσει των αποτελεσμάτων τα οποία προέκυψαν από ενδιάμεσες αναλύσεις. Εκτιμήσεις αποτελεσμάτων αγωγών από δοκιμές οι οποίες τερματίστηκαν πρόωρα, υπόκεινται σε προκατάληψη, μακριά από τη μηδενική τιμή. Έτσι η προκατάληψη μπορεί να εισαχθεί σε μια μετα-ανάλυση η οποία περιλαμβάνει παρόμοιες μελέτες. [29] Ο αποκλεισμός αυτών των δοκιμών πάντως, επηρεάζει την συνολική εκτίμηση μόνον οριακά.

Έτσι λοιπόν, η ανάλυση ευαισθησίας δείχνει ότι τα αποτελέσματα της εν λόγω μετα-ανάλυσης είναι ισχυρά ως προς την εκλογή στατιστικής μεθόδου και τον αποκλεισμό δοκιμών χαμηλότερης ποιότητας, ή μελετών οι οποίες τερματίστηκαν πρόωρα. Υποδεικνύει επίσης ότι η προκατάληψη όσον αφορά τη δημοσίευση δεν είναι πιθανό να έχει διαστρεβλώσει τα ευρήματά της.

Τα θετικά και τα αρνητικά των μετα-αναλύσεων

Τα δυνατά σημεία (+)

1. Ακολουθεί με πειθαρχία τους κανόνες εύρεσης της σχετικής βιβλιογραφίας και καταγραφής όλων των σχετικών μελετών.
2. Παρουσιάζει τα ευρήματα με ένα διαφορετικό και πιο σύνθετο τρόπο από ότι οι συμβατικές ανασκοπήσεις.
3. Μπορεί να εντοπίζει τυχόν σχέσεις μεταξύ των μελετών που συγκαλύπτονται σε άλλες προσεγγίσεις.
4. Μπορεί να χειριστεί έναν αρκετά μεγάλο αριθμό μελετών, κάτι που είναι σχετικά αδύνατο να γίνει με τις συμβατικές ανασκοπήσεις.
5. Η μετα-ανάλυση δεν προδικάζει και δεν αποκλείει εκ των προτέρων μελέτες λόγω του ιδιαίτερου σχεδιασμού τους, που είναι πολλές φορές πρόχειρος. Συνεπώς, τα αποτελέσματά της είναι πιο αντικειμενικά από άλλες ανασκοπήσεις που επιλέγουν πιο καλοσχεδιασμένες μελέτες κρίνοντάς τες ως πιο έγκυρες,
6. Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης μπορεί να εντοπίσουν σχέσεις ή τάσεις που ήταν αδύνατο να προκύψουν από ξεχωριστές μελέτες. Με τον τρόπο αυτό προάγει την έρευνα, δίνοντάς της νέες κατευθύνσεις.

Τα αδύνατα σημεία (-)

1. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν είναι συχνά αναξιόπιστα καθώς πολλές φορές συγκρίνονται και αθροίζονται μελέτες που χρησιμοποιούν διαφορετικές τεχνικές στις αναλύσεις τους, εξετάζουν άλλου είδους πληθυσμό και περιέχουν άλλες μεταβλητές. Το φαινόμενο αυτό συχνά αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως φαινόμενο «μήλα και πορτοκάλια» (“apples and oranges”) για να δηλώσει ότι η ποικιλία στο είδος των μελετών που εξετάζονται καθιστά ακατάλληλη τη σύγκρισή τους,
2. Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης είναι συχνά μη ερμηνεύσιμα καθώς αναμιγνύονται ευρήματα από «φτωχές» σε σχεδιασμό μελέτες με άλλα από πολύ καλά σχεδιασμένες.
3. Η μεροληψία που υφίσταται στην επιλογή των μελετών που δημοσιεύονται, καθώς σπάνια δημοσιεύονται μελέτες με αρνητικές ή μηδενικές αποδόσεις, καθιστά τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης εξίσου μεροληπτικά.
4. Απαιτεί επίπονη και μεγάλη προσπάθεια.

4.Εισαγωγή στη Γενετική Επιδημιολογία

Με τον όρο Επιδημιολογία ορίζουμε «την επιστήμη που μελετά τη συχνότητα των νόσων στους ανθρώπινους πληθυσμούς.» Η συχνότητα των νόσων μετράται και σχετίζεται με διάφορα χαρακτηριστικά των ατόμων και του περιβάλλοντος τους. Η διερεύνηση της συχνότητας των νόσων δεν αποτελεί καινούριο φαινόμενο, ωστόσο η ανάπτυξη της επιδημιολογικής θεωρίας και μεθόδου τις τελευταίες δεκαετίες έχει ανοίξει νέες δυνατότητες και έχει διεγείρει το ενδιαφέρον μέσα σε πολλά πεδία εφαρμογών.

Η γενετική επιδημιολογία είναι το επιμέρους τμήμα της κλασικής Επιδημιολογίας που εστιάζει στη μελέτη των γενετικών παραγόντων και των αλληλεπιδράσεων τους και των συσχετίσεων τους με ασθένειες ή φαινοτύπους.[30]

Η ιστορία της Γενετικής Επιδημιολογίας αρχίζει πολύ νωρίτερα από την ανακάλυψη της δομής του DNA, από την παρατήρηση πως ο κίνδυνος εμφάνισης ενός νοσήματος σε κάποιο άτομο ήταν μεγαλύτερος εάν υπήρχε θετικό οικογενειακό ιστορικό για το ίδιο νόσημα. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε τον Mendel στην διατύπωση των μοντέλων κληρονομικότητας που ερμήνευσαν με επιτυχία τον τρόπο μεταβίβασης των μονογονιδιακών νοσημάτων.[31] Ο τρόπος κληρονομικότητας ή διαφορετικά **ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ (genetic model) (πιν.3)**, καθορίζει τον τρόπο με τον οποίο ένα γνώρισμα (ασθένεια ή φαινοτυπικό χαρακτηριστικό) εκφράζεται σε σχέση με τον γονότυπο του ατόμου.

Έτσι, ένα γνώρισμα κληρονομείται ως επικρατές (dominant) όταν η ύπαρξη της γενετικής πληροφορίας σε έναν και μόνο γονέα είναι ικανή συνθήκη για την εκδήλωση του. Εάν είναι αναγκαία η ύπαρξη και στους δύο γονείς, το γνώρισμα κληρονομείται ως υπολειπόμενο (recessive). Τα άτομα που είναι ετερόζυγοι ως προς την επίμαχη γενετική πληροφορία, δηλαδή φέρουν μόνο ένα αντίγραφο αυτής, έχουν ενδιάμεσο κίνδυνο εμφάνισης του γνωρίσματος σε σχέση με τους ομόζυγους για αυτή και το μοντέλο ονομάζεται συνεπικρατές (co-dominant).

Η ανακάλυψη της δομής του DNA [32] το 1953 από τους James D. Watson και Francis Crick, καθώς και η γνώση που συσσωρεύτηκε κατόπιν, έδωσαν στη Γενετική Επιδημιολογία μια τεράστια ώθηση και άνοιξαν νέους δρόμους στην κατανόηση των πολύπλοκων τρόπων κληρονομής των νοσημάτων.

Γενετικό μοντέλο	A: φυσιολογικό αλληλίο / α: μεταλλαγμένο αλληλίο
Υπολειπόμενο (Recessive)	αα vs AA + Aα
Επικρατές (Dominant)	αα + Aα vs AA
Συνεπικρατές (Co-dominant)	αα vs Aα
Προσθετικό (Additive)	αα vs AA
Αλληλίων (Allelic contrast)	α vs A

Πίνακας 3
Τα μοντέλα κληρονομής των νοσημάτων

Το ανθρώπινο γονιδίωμα

Το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελείται από ολόκληρη την αλληλουχία του DNA. Το απλοϊδές (haploid) γονιδίωμα εκτείνεται σε περίπου 3.3 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων. Περίπου 3% του γονιδιώματος αποτελεί την αλληλουχία που κωδικοποιεί το τελικό προϊόν, δηλαδή 30000-40000 γονίδια που με τη σειρά τους κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες.[33] Το 99.9% του γονιδιώματος δύο ατόμων χωρίς καμία συγγένεια είναι πανομοιότυπο. Αλλά το υπόλοιπο 0.1% διαφέρει με πολλούς τρόπους. Αυτές οι περιοχές του DNA (loci) που διαφέρουν μεταξύ των ατόμων καλούνται πολυμορφικές. Οι εναλλακτικές αλληλουχίες που βρίσκονται σε μια πολυμορφική περιοχή (locus) καλούνται αλληλία.

Ως **πολυμορφισμός (polymorphism)** ορίζεται η εμφάνιση δύο ή περισσότερων γενετικά καθορισμένων εναλλακτικών φαινοτύπων σε έναν πληθυσμό, σε τέτοια συχνότητα, ώστε ο σπανιότερος δεν θα μπορούσε να διατηρηθεί μόνο με αλληπαλλήλες μεταλλάξεις. Συνήθως, ο όρος πολυμορφισμός χρησιμοποιείται για εκείνες τις παραλλαγές που είναι αρκετά συχνές (απαντώνται σε τουλάχιστον 1% του πληθυσμού) και δεν έχουν ισχυρές «καταστροφικές» ή «δηλητηριώδεις» συνέπειες. Οι ισχυρά «δηλητηριώδεις» και σαφώς πιο σπάνιες παραλλαγές καλούνται μεταλλάξεις.[34] Ο πιο κοινός τύπος πολυμορφισμού στο ανθρώπινο γονιδίωμα είναι ο πολυμορφισμός μοναδικού νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism/SNP), ή αλλιώς σημειακή μετάλλαξη, όπως η αντικατάσταση μιας πουρίνης ή μιας πυριδίνης από κάποια άλλη.

Αρκετοί λόγοι συνηγορούν υπέρ της χρησιμοποίησης των SNPs -και όχι άλλων τύπων πολυμορφισμών- για τη συσχέτιση με νοσήματα [35]:

1. Τα SNPs είναι πάρα πολλά και διασκορπισμένα σε όλο το γονιδίωμα, σε εξόνια, ιντρόνια, προμότερες, βελτιωτές και ενδογονιδιακές περιοχές, [36] κάποιιοι δε εξ αυτών των πολυμορφισμών είναι και λειτουργικοί.
2. Ομάδες γειτονικών SNPs μπορεί να παρουσιάζουν πρότυπα συσχέτισης που θα μπορούσαν να βελτιώσουν τη γενετική χαρτογράφηση [37] και θέσεις ανασυνδυασμού.[38]
3. Ενδοπληθυσμιακές διαφορές στις συχνότητες των SNPs μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε πληθυσμιακές μελέτες.[39]
4. Τα SNPs είναι λιγότερο μεταλλάξιμα σε σύγκριση με άλλα είδη πολυμορφισμών.[40]

5. Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης (genetic association studies/GAS)

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες οι μελέτες γενετικής συσχέτισης έχουν χρησιμοποιηθεί για να βρεθούν πιθανές συσχετίσεις μεταξύ λειτουργικών πολυμορφισμών σε συγκεκριμένα γονίδια και τον κίνδυνο νόσησης από διάφορες πολυπαραγοντικές ασθένειες (π.χ. νεοπλασματικά νοσήματα) [41]. Οι συγκεκριμένες μελέτες είναι, συνήθως, τυπικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων (case-control studies), όπου εξετάζεται η συχνότητα της εν λόγω μετάλλαξης στους ασθενείς και στους μάρτυρες. Αν προκύψει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της συχνότητας της μετάλλαξης στους ασθενείς και στους μάρτυρες, τότε ενδεχομένως ο πολυμορφισμός να σχετίζεται με την ασθένεια.

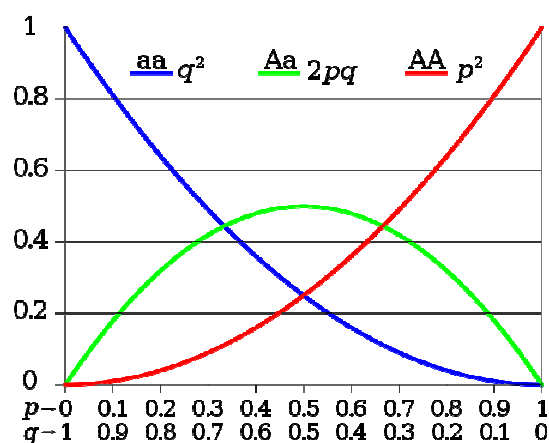
Ας υποθέσουμε για παράδειγμα πως υπάρχει στο γονίδιο X μια θέση στην οποία έχει βρεθεί ένας πολυμορφισμός με δύο αλληλίες, τα A και B. Επομένως οι πιθανοί γονότυποι είναι AA, AB και BB. Αν ο πολυμορφισμός αυτός επηρεάζει τη λειτουργία ή την παραγωγή ενός μορίου που γνωρίζουμε ότι παίζει ρόλο σε μια ασθένεια, τότε μπορούμε να το ελέγξουμε κάνοντας μια τυπική μελέτη ασθενών-μαρτύρων. Τα κλασικά προβλήματα που διέπουν οποιαδήποτε μελέτη ασθενών-μαρτύρων, ισχύουν και στην περίπτωση αυτή όπως π.χ. η κατάλληλη επιλογή των μαρτύρων ή αν το δείγμα είναι αρκετά μεγάλο για να αποκαλυφτεί μια ενδεχόμενη συσχέτιση (δηλαδή για να αποφύγουμε την πιθανότητα ψευδώς αρνητικού αποτελέσματος). Μάλιστα οι συγκεκριμένες μελέτες είναι γνωστές για τα αντιφατικά αποτελέσματα που προκύπτουν μεταξύ των διαφορετικών ερευνητικών ομάδων [28] και σε πολλές περιπτώσεις είναι ιδιαίτερα δύσκολο να αποσαφηνιστεί για ποιο λόγο προκύπτουν αντικρουόμενα συμπεράσματα.

Η ισορροπία Hardy-Weinberg (H-W)

Ένα ιδιαίτερο πρόβλημα που πρέπει να αποσαφηνιστεί σε αυτές τις μελέτες είναι το εάν η κατανομή των γονοτύπων στους μάρτυρες αντιστοιχεί σε αυτά που προβλέπει η αρχή των Hardy-Weinberg ή αλλιώς αν βρίσκονται σε Hardy-Weinberg (H-W) ισορροπία.

Αν υποθέσουμε ότι η συχνότητα του αλληλίου A στον πληθυσμό είναι p και του B είναι q , τότε ισχύει ότι $p + q = 1$ και $(p + q)^2 = 1$. Αν τηρούνται ορισμένες βασικές προϋποθέσεις στον πληθυσμό που μελετάμε (όπως π.χ. να μην υπάρχει σημαντική μετανάστευση πληθυσμών) τότε η συχνότητα των γονοτύπων που αναμένουμε είναι για τους AA p^2 , τους AB $2pq$ και τους BB q^2 (γράφημα 7). Απόλυτη ταύτιση των παρατηρούμενων συχνοτήτων με τις αναμενόμενες βάσει H-W δεν είναι συχνή, αλλά οποιαδήποτε στατιστικά σημαντική απόκλιση από τη συγκεκριμένη αρχή μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη στατιστική ανάλυση και να οδηγήσει σε ψευδή συμπεράσματα.[42-44]

Σύμφωνα με τις μετα-αναλύσεις, αν αποκλειστούν οι μελέτες στις οποίες παραβιάζεται η ισορροπία H-W, τότε πολλές συσχέτισεις μεταξύ πολυμορφισμών και ασθενειών παύουν να είναι στατιστικά σημαντικές. [28, 45] Κατά δεύτερο λόγο η απόκλιση από την αρχή H-W μπορεί να εξηγήσει σε μερικές περιπτώσεις και την ετερογένεια των αποτελεσμάτων μεταξύ διαφορετικών μελετών.[28]



Γράφημα 7

Η αρχή H-W για δύο αλληλίες. Στον οριζόντιο άξονα οι συχνότητες των αλληλίων p και q και στον κάθετο οι συχνότητες των γονοτύπων. Κάθε γραμμή παριστάνει έναν από τους τρεις πιθανούς γονότυπους.

6.Μετα-ανάλυση μελετών γενετικής συσχέτισης

Η μετα-ανάλυση γίνεται δημοφιλής ως μέθοδος για την επίλυση ανακολουθιών στις μελέτες γενετικής σύνδεσης. Επίμονες δυσκολίες εξαγωγής εύρωστων, επαναλήψιμων αποτελεσμάτων στις μελέτες γενετικής σύνδεσης είναι σχεδόν βέβαιες, διότι τα γενετικά αποτελέσματα είναι μικρά και απαιτούν μελέτες ανίχνευσης πολλών χιλιάδων ατόμων.

Μια γρήγορη αναζήτηση μέσω του PubMed (βλ. Πίνακα 4) θα πρέπει να είναι αρκετή, ώστε να πειστούν όλοι ότι ο ετήσιος αριθμός δημοσιευμένων (και υποθετικώς λεπτομερειακά ελεγμένων από τους συγγραφείς τους) μελετών γενετικής σύνδεσης αυξάνεται εκθετικά. Εκτιμάται ότι, μόνο στον τομέα της ψυχιατρικής γενετικής, ο ρυθμός είναι περίπου μια ανακοίνωση την ημέρα. Είναι επίσης ιδιαίτερα σαφές ότι ο όγκος των αναφορών δεν αποτελεί δείκτη της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων: κάθε πειστική σύνδεση μπορεί να συνδυαστεί με μια εξίσου πειστική ανταπάντηση, η οποία ακολουθείται από άλλο ένα θετικό εύρημα, κατάσταση που κατά τα φαινόμενα παρατείνεται στο διηνεκές. Μια ανασκόπηση 600 θετικών συσχετίσεων μεταξύ κοινών γονιδιακών μεταλλάξεων και ασθενειών έδειξε ότι οι πλέον συχνά αναφερόμενες συσχετίσεις δεν είναι ισχυρές: από 166 συσχετίσεις που μελετήθηκαν τρεις ή περισσότερες φορές, μόνο έξι μάλλον επαληθεύονταν με συνέπεια.[46]

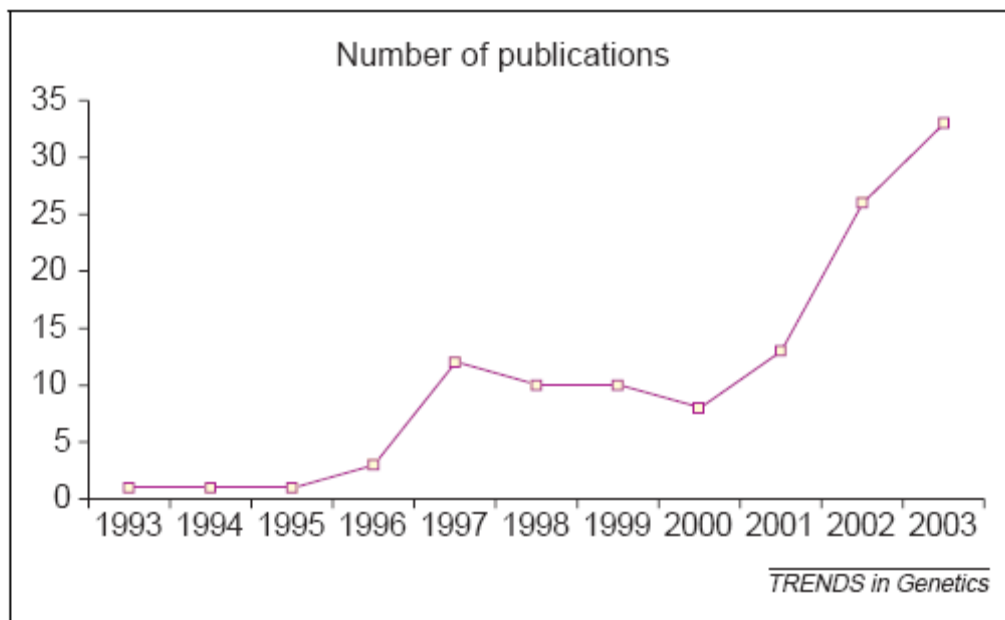
Πίνακας 4 . Στατιστικά στοιχεία για την ηλεκτρονική βάση δεδομένων Medline (pubmed: <http://www.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/entrez/query.Fcgi>)

- Εξαιρετικά εκτενής βάση δεδομένων (10.000.000 καταγραφές)
 - 1966 - σήμερα
 - 3.900 περιοδικά σε 40 γλώσσες
 - Προστίθενται 400.000 αναφορές / έτος
 - MeSH headings
 - Αγγλόφωνες περιλήψεις για το 76% των αναφορών
- 88% των αναφορών αφορούν σε αγγλόφωνα άρθρα
- 52% των περιοδικών δημοσιεύονται στις Η.Π.Α.

Από τη στιγμή που θα συμφωνήσουμε ότι οι γιατροί γνωρίζουν πράγματι πως να μετρούν την πίεση του αίματος και να κάνουν διάγνωση του διαβήτη, ότι οι ψυχίατροι μπορούν να αναγνωρίσουν μια διανοητική ασθένεια και ότι το ποσοστό γενοτυπικών σφαλμάτων δεν απαξιώνει πλήρως τη μελέτη (με άλλα λόγια ότι οι μετρήσεις μας των εξαρτώμενων και μη εξαρτώμενων μεταβλητών είναι αξιόπιστες), τότε αυτό που απομένει να ενοχοποιηθεί είναι ο σχεδιασμός των μελετών γενετικής συσχέτισης. Γοητευτικά απλός στις αρχές του (απλώς συγκρίνονται οι συχνότητες αλληλίων σε μια επιλογή περιστατικών και μαρτύρων και αναζητείται μια στατιστικά σημαντική διαφορά), έχει παρόλα αυτά παράσχει στους στατιστικούς γενετιστές τροφή για σχεδόν τόσες σελίδες κριτικής, όσες και οι ίδιες οι μελέτες σύνδεσης. Για αρκετό καιρό, ενοχοποιήθηκε [47] η **Διαστρωμάτωση Πληθυσμού**. Κατέστη απαραίτητη η χρήση της Δοκιμασίας (ή του τεστ) **Ανισσοροπίας Διαβίβασης**, ώστε να διασφαλιστεί η δημοσίευση ενός τεστ γενετικής σύνδεσης, ή η εφαρμογή ενός **Γενομικού Ελέγχου**

[48]. Πιο πρόσφατα, έχουν χρησιμοποιηθεί η εξέταση της δομής απλοτύπων και αναπόφευκτα, η ανάπτυξη νεωτεριστικών στατιστικών μεθόδων για την εισαγωγή των απλοτύπων στα τεστ σύνδεσης. [49] Τώρα, μια (σχετικώς) νέα λύση στο πρόβλημα των μη συμβατών ευρημάτων, είναι η χρήση της μετα-ανάλυσης.

Το 1984, οι Green και Hall περιέγραψαν την εν δυνάμει αξία της μετα-αναλυτικής διερεύνησης. [50] Εκείνο το χρόνο υπήρξαν 34 μνείες στην αγγλική γλώσσα, στον ιστοχώρο Medline, οι οποίες περιελάμβαναν τη λέξη-κλειδί «μετα-ανάλυση» και 89 μνείες στον PsychInfo-PsychLit. Ως το 1999 ο αντίστοιχος αριθμός παρόμοιων μνείων ήταν 823 και 262, αντιστοίχως. Μια παρόμοια εικόνα υφίσταται για την μετά-ανάλυση των μελετών γενετικής σύνδεσης: μεταξύ του 1994 και του 1998, δημοσιεύτηκαν 27 μετα-αναλύσεις μελετών γενετικής σύνδεσης, ενώ μεταξύ του 1999 και του 2003 υπήρξαν 90 τέτοιες μετα-αναλύσεις (**Γράφημα 8**). Ο λόγος για τον οποίο είναι δημοφιλής αυτή η μέθοδος, είναι ότι διαθέτει τη δυναμική για την αντιμετώπιση μιας πολύ μεγάλης αδυναμίας στις περισσότερες μελέτες γενετικής σύνδεσης: την έλλειψη **ισχύος**.



Γράφημα 8

Τάσεις των δημοσιεύσεων για μετα-ανάλυση μελετών γενετικής συσχέτισης. Ο αριθμός δημοσιεύσεων στους ιστοχώρους Medline και PsychInfo, οι οποίες περιελάμβαναν τις λέξεις-κλειδιά «μετα-ανάλυση» και «γενετική σύνδεση» κατά την δεκαετία 1993-2003.

Με την κατάλληλη χρήση, η μετα-ανάλυση έχει τη δυνατότητα να υπερπηδήσει την έλλειψη ισχύος, η οποία αποτελεί πρόβλημα σε τόσο πολλές μελέτες γενετικής συσχέτισης

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται κάποιοι βασικοί ορισμοί της γενετικής επιδημιολογίας:

Πίνακας 5

Ερμηνευτικές σημειώσεις

Διαστρωμάτωση πληθυσμού: προκύπτει όταν ένας πληθυσμός αποτελείται από μια ομάδα υποπληθυσμών. Αν ένας υποπληθυσμός περιέχει μια συχνότητα ασθένειας αλληλίων η οποία είναι σχετικά υψηλή, τότε οποιοσδήποτε δείκτης, επίσης σε υψηλή συχνότητα, θα εμφανίζεται συνδεδεμένος, οπουδήποτε και αν εντοπίζεται στο γένωμα.

Τεστ ανισοροπίας διαβίβασης: μέθοδος ανίχνευσης γενετικής σύνδεσης, η οποία αποφεύγει προβλήματα διαστρωμάτωσης πληθυσμού. Αντί να συγκρίνονται περιστατικά και μάρτυρες ασύνδετα μεταξύ τους, το τεστ καθορίζει κατά πόσο, δεδομένων των πατρικών γενοτύπων, τα αλληλία που μεταφέρονται από τον πατέρα στο παιδί και η κατάσταση επιτήδευσης του παιδιού είναι ανεξάρτητα τα πρώτα από τη δεύτερη.

Γενωμικός έλεγχος: μέθοδος για να εκτιμηθεί η διαστρωμάτωση πληθυσμού με τη χρήση δεδομένων από μια σειρά μη συνδεδεμένων δεικτών.

Σχετικός κίνδυνος: είναι ο λόγος της συχνότητας εμφάνισης του υπό εξέταση φαινοτύπου σε άτομα με το μετάλλαγμα αλληλίου, προς τη συχνότητα εμφάνισης σε αυτά χωρίς το εν λόγω αλληλίο.

Λόγος πιθανοτήτων: συνδέεται στενά με τον σχετικό κίνδυνο και ορίζεται ως οι πιθανότητες να έχουν τον φαινότυπο αυτοί με το μετάλλαγμα αλληλίου, δια τις πιθανότητες να έχουν τον φαινότυπο αυτοί που δε διαθέτουν το μετάλλαγμα αλληλίου. Οι λόγοι πιθανοτήτων είναι απλώς ένας διαφορετικός τρόπος έκφρασης της εν λόγω συσχέτισης, σε σύγκριση με το σχετικό κίνδυνο, επειδή συγκρίνουν τις πιθανότητες περισσότερο, παρά τον κίνδυνο ενός γεγονότος.

Σφάλμα τύπου I: η εσφαλμένη απόρριψη μιας αληθούς υπόθεσης (δηλ. εσφαλμένη απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης και επομένως εξαγωγή συμπεράσματος ότι η σύνδεση υφίσταται).

Σύγχυση: η αποτυχία στο διαχωρισμό δύο μεταβλητών. Επομένως, τα ανεξάρτητα αποτελέσματά τους δε μπορούν να εξακριβωθούν ανεξάρτητα.

Z-score: η προτυποποιημένη έκφραση μιας τιμής από την άποψη της σχετικής της θέσης στην πλήρη κατανομή τιμών, σχετική με το μέσο όρο της κατανομής σε μονάδες τυπικής απόκλισης. Μπορεί επομένως να χρησιμοποιηθεί στον υπολογισμό μιας αντίστοιχης στάθμης σημαντικότητας (P-value) (και αντιστρόφως).

Ισχύς: μέτρο της πιθανότητας ότι οποιοδήποτε δεδομένο στατιστικό τεστ, θα ανιχνεύσει μια σημαντική σχέση, όταν αυτή υπάρχει πράγματι στα δεδομένα.

Εκτιμήσεις μεγέθους (ή της τάξεως του) αποτελέσματος: Τα τεστ μιας μηδενικής υπόθεσης μπορούν να δείξουν ότι ένα αποτέλεσμα είναι σημαντικό, αλλά όχι πόσο ευρύ είναι αυτό. Οι μετρήσεις του μεγέθους του αποτελέσματος βασίζονται στο ποσοστό της διακύμανσης των δεδομένων, η οποία μπορεί να αποδοθεί στις πειραματικές μεταβλητές.

Ερωτήματα ισχύος

Εκεί όπου τα μεγέθη των επιδράσεων είναι σημαντικά, ακόμη και σπάνια αλληλία (όπως αυτά που επιτρέπουν την εμφάνιση πνευματικής καθυστέρησης) έχουν ταυτοποιηθεί επιτυχώς. [51] Για πολλές μελέτες σύνδεσης και συσχέτισης, η αποτυχία παροχής πειστικών αποδεικτικών στοιχείων σύνδεσης, ακόμη και σε μεγάλα μεγέθη δειγμάτων, υποδεικνύει ότι ο Σχετικός Κίνδυνος γονιδιακών τόπων ευπάθειας σε ασθένειες είναι από μέτριος έως χαμηλός. Ακόμη και αποτελέσματα από επιτυχώς επαναλαμβανόμενες μελέτες σύνδεσης, υποδεικνύουν ότι ο σχετικός κίνδυνος που αποδίδεται σε ένα μόνο γονιδιακό τόπο είναι μικρός. [52] Για παράδειγμα, ένα γονίδιο ρυθμιστικό των T-κυττάρων [κυτοτοξική T-λεμφοκυτταρο-συνδεόμενη πρωτεΐνη 4 (CTLA 4)], το οποίο αναγνωρίστηκε ως ένας γονιδιακός τόπος ευπάθειας για αυτοάνοσα νοσήματα, έχει Αναλογία Πιθανοτήτων 1,5. [53] Ένας σχετικός κίνδυνος 1,5 έχει προταθεί ως λογικός για ένα γονίδιο που οδηγεί σε ευπάθεια για τον καρκίνο του μαστού. [54]

Αν μελετηθούν μαζί, τα δεδομένα από τις μελέτες σύνδεσης και συσχέτισης υποδεικνύουν ότι οι γονιδιακοί τόποι ευπάθειας για κοινές ασθένειες έχουν μικρό αποτέλεσμα. Πιο απλά, αυτό σημαίνει ότι οι μελέτες γενετικής σύνδεσης θα πρέπει να ελέγχουν χιλιάδες περιστατικά και μάρτυρες ώστε να έχουν εύλογη πιθανότητα να καταλήξουν σε αποτέλεσμα. Για μια αναλογία πιθανοτήτων 1,3 (πιθανότητα μια τυπική τιμή), οι Zondervan και Cardon δείχνουν ότι στις καλύτερες των περιπτώσεων, όταν οι συχνότητες δείκτη και αλληλίου ασθένειας ταιριάζουν, απαιτούνται μεγέθη δειγμάτων 2.000-10.000 περιστατικών και μαρτύρων για να ληφθεί το 80% της ισχύος. [55] Παρόλο που ένα μόνο εργαστήριο μπορεί να μην είναι ικανό να λάβει τέτοιους αριθμούς, συνδυασμένη ή παγκόσμια βιβλιογραφία μπορεί να το πετύχει, αν υπήρχε ένας τρόπος ανάλυσης των δεδομένων από κοινού. Η μετα-ανάλυση έχει καλύψει αρκετό έδαφος, ώστε να παρέχει ένα εργαλείο για την πραγματοποίηση ακριβώς αυτού. Παρόλο που τα βασικά στοιχεία των μετα-αναλυτικών τεχνικών μπορούν να ανευρεθούν παλαιότερα στον Fisher, ο όρος μετα-ανάλυση επινοήθηκε από τον Glass το 1976 και αναφέρεται στη σύνθεση ανόμοιων ομάδων δεδομένων, ώστε να βεβαιωθεί ένα περιληπτικό συμπέρασμα το οποίο εξάγεται από το παγκόσμιο σώμα των δεδομένων. Είναι μια ποσοτική προσέγγιση για το συστηματικό συνδυασμό των αποτελεσμάτων από προηγούμενες έρευνες, ώστε να φτάσουμε σε συμπέρασμα σχετικά με ένα σώμα αποδεικτικών στοιχείων. Ας εξετάσουμε τα αποδεικτικά στοιχεία τα οποία υποστηρίζουν το ρόλο της καλπαΐνης 10 (CAPN 10) στην ευπάθεια για διαβήτη τύπου 2. [56] Μετά την αρχική αναφορά ότι το εν λόγω γονίδιο συνέβαλε σε τριπλάσια αύξηση κινδύνου σε ένα πληθυσμό Μεξικανών Αμερικανών, ακολούθησε μια αρκετά τυπική σειρά αντικρουόμενων μελετών, οι οποίες χρησιμοποιούσαν διαφορετικούς πληθυσμούς και διαφορετικούς δείκτες. Η συλλογή όλων των μελετών ελέγχου περιστατικών, απέδωσε 3.303 άτομα τα οποία ήταν κατάλληλα για μετα-ανάλυση. [57] Από τις δέκα μελέτες, μόνο μία ανέφερε μια σημαντική συσχέτιση σε $P < 0,05$, [58] αλλά η μετα-ανάλυση, αντί να ευνοήσει τα αποτελέσματα της πλειοψηφίας των μελετών οι οποίες δεν παρήγαγαν καμία σύνδεση, έδωσε μια στάθμη σημαντικότητας (P -value) = 0,02. Ακολούθως, οι συγγραφείς πραγματοποίησαν περαιτέρω ευρείας κλίμακας μελέτη σύνδεσης με πολυμορφισμό ενός μόνο νουκλεοτιδίου σε CAPN 10 και ανέφεραν αναλογία πιθανοτήτων 1,17 με στάθμη σημαντικότητας (P -value) = 0,007.

Μεθοδολογία μετα-ανάλυσης μελετών γενετικής σύνδεσης

Η μέθοδος δεν απαιτεί τη χρήση μη επεξεργασμένων γενοτύπων (πράγμα το οποίο θα ήταν ιδανικό, αν και είναι σημαντικό να συμπεριληφθεί η μελέτη που συνεισφέρει κάθε ομάδα μη επεξεργασμένων δεδομένων ως ένα συμμεταβλητό στοιχείο), αλλά αντί αυτού υπολογίζει το μέγεθος του αποτελέσματος που κάθε μελέτη αποδίδει στο γενετικό μετάλλαγμα, ζυγισμένο σύμφωνα με το μέγεθος της μελέτης. Οι μικρές μελέτες συνεισφέρουν λιγότερο από τις ευρείες μελέτες, διότι είναι πιθανό να δίνουν λιγότερο ακριβείς εκτιμήσεις του Μεγέθους (ή της τάξεως του) Αποτελέσματος. Η μετά-ανάλυση χρησιμοποιεί δύο τύπους εκτιμήσεων μεγέθους αποτελέσματος: διαφορές μεταξύ μέσων ομάδων (μέγεθος αποτελέσματος d) ή συνδέσεις μηδενικής τάξεως (μέγεθος επίδρασης λ). Οι συνδέσεις μηδενικής τάξεως μπορούν να υπολογιστούν από στατιστικές χ^2 και Z-SCORE και από μια απλή στάθμη σημαντικότητας. [59] Ένας τρόπος εξέτασης της λειτουργίας της μετα-ανάλυσης, είναι να μελετήσουμε τι συμβαίνει όταν συνδυάζουμε τις στάθμες σημαντικότητας από αρκετές μελέτες. Παραδοσιακά, οι στατιστικές επιστήμες βασίζονται στα τεστ σημαντικότητας για την εκτίμηση της σημασίας των δεδομένων που αναφέρονται. Αυτό έχει τη δυνατότητα να αποπροσανατολίσει, διότι οι ερευνητές συχνά έλκονται εσφαλμένα από μία υψηλής σημασίας αναφορά, ενώ αποτυγχάνουν να εκτιμήσουν ότι αρκετές αναφορές που παρέχουν ενδείξεις συγκρίσιμων εκτιμήσεων μεγέθους αποτελέσματος (ακόμη και αν όλες αυτές, χωριστά η κάθε μία, αποτυγχάνουν να φτάσουν σε στατιστική σημαντικότητα) παρέχουν ισχυρότερη υποστήριξη του εν λόγω αποτελέσματος. Για παράδειγμα, δύο αποτελέσματα (προερχόμενα πιθανώς από ομογενείς μελέτες) σε $P = 0,06$ παρέχουν ουσιαστικώς ισχυρότερα αποδεικτικά στοιχεία ($P = 0,014$) κατά της μηδενικής υπόθεσης, σε σύγκριση με ένα μόνο αποτέλεσμα σε $P = 0,05$. Παρομοίως, δέκα αποτελέσματα σε $P = 0,10$ παρέχουν ισχυρότερα αποδεικτικά στοιχεία ($P = 0,000025$) κατά της μηδενικής υπόθεσης, σε σύγκριση με πέντε αποτελέσματα σε $P = 0,05$ ($P = 0,00012$). [59]

Αν έχουμε αρκετές μελέτες μέτρησης μιας συνεχούς μεταβλητής σε δύο γενοτυπικές ομάδες, η στατιστική που θα χρησιμοποιούνταν είναι μια εκτίμηση του d (δηλ. μια διαφορά μεταξύ μέσων τιμών ομάδων), υπολογιζόμενη με διαίρεση της διαφοράς μεταξύ των δύο μέσων τιμών ομάδων, μέσα σε κάθε μελέτη, με τη διαφορά της τυπικής απόκλισης (SD) (συμβατικά υπολογιζόμενης από τις SDs των ξεχωριστών ομάδων). Αυτό θα παρήγαγε μια προτυποποιημένη εκτίμηση του d για κάθε μελέτη, η οποία θα μπορούσε ακολούθως να συνδυαστεί με την απόδοση βαρύτητας σε κάθε εκτίμηση, ανάλογα με το μέγεθος του δείγματος της μελέτης η οποία το παρείχε. Είναι επίσης πιθανό να συνδυάζονται οι στάθμες σημαντικότητας απευθείας, με μετατροπή τους σε z-scores και με υπολογισμό τους με τη χρήση του ακόλουθου τύπου, όπου το k είναι ο αριθμός των επιμέρους μελετών οι οποίες συμβάλλουν στη μετα-ανάλυση (δηλ. το μετα-αναλυτικό ανάλογο του n):

$$Z_{\text{overall (ολικό)}} = \sum Z_i / \sqrt{k}$$

Κατόπιν ακολουθεί η μετατροπή της περιληπτικής εκτίμησης του z-score, προς τα πίσω, προς μια στάθμη σημαντικότητας (P -value). Αυτή είναι μια σχετικώς χονδροειδής τεχνική και έχει το μειονέκτημα της μη παροχής μιας εκτίμησης μεγέθους αποτελέσματος. Αναπάντεχα, η αυξημένη ισχύς η οποία γίνεται ανεκτή από μια μετά-ανάλυση, δεν είναι απλώς αποτέλεσμα της συσσώρευσης μη επεξεργασμένων

δεδομένων από μια σειρά μελετών και του επακόλουθου μεγάλου δείγματος που παράγεται. Πολλά εξαρτώνται από τον τρόπο που συνδυάζονται τα δεδομένα. Δύο μοντέλα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για το συνδυασμό ξεχωριστών εκτιμήσεων του μεγέθους επίδρασης (δηλ. η εκτίμηση της συμβολής ενός δεδομένου αλληλίου στο φαινότυπο) που παρέχονται από πρωτογενείς μελέτες: ένα μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων ή ένα μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων. Η ανάλυση σταθερών αποτελεσμάτων υποθέτει ότι όλα τα δείγματα της μελέτης προέρχονται από ένα μόνο πληθυσμό με κοινό μέγεθος αποτελεσμάτων. [60] Επομένως, μέσα σε ένα μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων, μόνο ένα σφάλμα κατά τη δειγματοληψία (θεωρητικά) συμβάλλει στις διαφορές μεταξύ των παρατηρημένων εκτιμήσεων μεγέθους αποτελέσματος σε ξεχωριστές μελέτες. Σε αντίθεση, η ανάλυση τυχαίων αποτελεσμάτων υποθέτει ότι τα δείγματα της μελέτης που περιλαμβάνονται σε μια μετα-ανάλυση, μπορούν να προκύψουν από μια κατανομή πληθυσμών (έτσι ώστε να ενδέχεται να υπάρχουν υποπληθυσμοί στους οποίους δεν υπάρχει αποτέλεσμα και άλλοι στους οποίους υπάρχει ισχυρό αποτέλεσμα). Μέσα σε ένα μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων, υπάρχουν δύο πηγές διακύμανσης, οι οποίες συμβάλλουν στις παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ εκτιμήσεων μεγέθους αποτελεσμάτων: σφάλμα κατά τη δειγματοληψία και ετερογένεια μεταξύ μελετών. Η ετερογένεια μεταξύ μελετών μπορεί να οφείλεται σε οποιεσδήποτε δυνατές διαφορές μεταξύ των σχεδιασμών των μελετών και των μεθοδολογιών, όπως οι υποπληθυσμοί από τους οποίους προκύπτουν τα δείγματα των μελετών. Για παράδειγμα, σε μελέτες γενετικής σύνδεσης, τα αίτια της ετερογένειας μεταξύ μελετών περιλαμβάνουν: (i) την πιθανότητα ύπαρξης μιας συσχέτισης σε ένα πληθυσμό, αλλά όχι σε άλλον, (ii) την πιθανότητα ότι οι διαφορετικές μελέτες δε χρησιμοποιούν συγκρίσιμα μέτρα για τους φαινότυπους, ή (iii) την πιθανότητα ότι οι κατανομές αλληλίων αποκλίνουν από την ισορροπία Hardy-Weinberg σε ορισμένες μελέτες.

Οι αναλύσεις σταθερών και τυχαίων αποτελεσμάτων απευθύνουν θεμελιωδώς διαφορετικά ερευνητικά ερωτήματα. Οι πρώτες ερωτούν ποια είναι η καλύτερη εκτίμηση του αληθούς μεγέθους αποτελέσματος στον υπό μελέτη πληθυσμό, ενώ οι δεύτερες ερωτούν ποιο είναι το εύρος και η κατανομή των μεγεθών αποτελεσμάτων στο δείγμα των υπό μελέτη πληθυσμών. Επομένως, ο υπολογισμός του μέσου όρου της κατανομής των μεγεθών αποτελεσμάτων στον πληθυσμό (μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων) παρέχει διαφορετικές πληροφορίες από τον υπολογισμό του μέσου της κατανομής των μεγεθών αποτελέσματος σε δείγμα (μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων).

Στην ανάλυση σταθερών αποτελεσμάτων, η αύξηση του αριθμού των μελετών που συμβάλλουν στην ανάλυση οδηγεί σε μια αύξηση ισχύος, διότι επιπλέον μελέτες έχουν ως αποτέλεσμα τον περιορισμό των διαστημάτων εμπιστοσύνης γύρω από την εκτίμηση μεγέθους αποτελέσματος. Υπάρχει πάντως ορατός κίνδυνος Σφάλματος Τύπου 1, αν υπάρχει σημαντική ετερογένεια μεταξύ μελετών. Σε αντίθεση, η αύξηση του αριθμού των μελετών οι οποίες συμβάλλουν σε μια ανάλυση τυχαίων αποτελεσμάτων δεν οδηγούν απαραίτητως σε μια αύξηση της ισχύος, εξαιτίας της πιθανότητας ότι η προσθήκη μελετών οδηγεί επίσης στην προσθήκη ευρύτερων εκτιμήσεων διακύμανσης-συνιστώσας, αν η προσθήκη μελετών αυξάνει τη συνολική ετερογένεια μεταξύ μελετών. [60]

Αντιμετώπιση της ετερογένειας στη μετα-ανάλυση μελετών γενετικής σύνδεσης

Ένα κρίσιμο ερώτημα για οποιαδήποτε μετα-ανάλυση, είναι ο βαθμός της ετερογένειας που υφίσταται μεταξύ των ξεχωριστών μελετών. Πράγματι, έχει υποστηριχθεί ότι η μετα-ανάλυση είναι ανάλογη της δημιουργίας μέσου όρου των χαρακτηριστικών «των μήλων και των πορτοκαλιών» και, συνεπώς, το εξαγόμενό της είναι άνευ νοήματος. Η ετερογένεια μπορεί να ταυτοποιηθεί σε γράφημα με την εξέταση της SD των μεγεθών αποτελεσμάτων για κάθε μία από τις μελέτες που συμβάλλουν και με την αναζήτηση αποσπασμένων τμημάτων και δεσμών, ή με τη χρήση ενός τεστ χ^2 για την ετερογένεια. Το τεστ χ^2 είναι εν δυνάμει ατελές, λόγω του ότι ένα σημαντικό τεστ χ^2 μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλο δείγμα, αλλά όχι σε μικρό, ακόμη και αν ο βαθμός της ετερογένειας που υφίσταται σε κάθε περίπτωση είναι ο ίδιος. Συνιστάται λοιπόν η χρήση ενός συνδυασμού συμβατικών στατιστικών και γραφικών μεθόδων, για να εκτιμηθούν ο βαθμός και οι πηγές της ετερογένειας μεταξύ των μελετών. Για παράδειγμα, δέσμες μελετών ταυτοποιημένων με τη χρήση γραφημάτων, ενδέχεται να μοιράζονται κοινά χαρακτηριστικά (όπως π.χ. η εθνότητα) τα οποία μπορούν να αποτελούν σημαντικό τροποποιητή οποιασδήποτε γενετικής σύνδεσης.

Η ετερογένεια μεταξύ μελετών είναι, ίσως όχι αναπάντεχα, σύνηθες φαινόμενο. Το 2001 οι Ιωαννίδης και συν. διεξήγαγαν μια μετα-ανάλυση 370 μελετών οι οποίες εισήγαγαν 36 γενετικές συσχετίσεις. [61] Ανακάλυψαν ότι είναι συχνή η ύπαρξη σημαντικής ετερογένειας μεταξύ μελετών και ότι τα αποτελέσματα της πρώτης μελέτης συχνά συσχετίζονται μόνο περιορισμένα με μεταγενέστερη έρευνα πάνω στην ίδια σύνδεση. Μπορεί κανείς να σκεφθεί ότι η ετερογένεια μπορεί να ληφθεί υπόψη με την εφαρμογή ενός μοντέλου τυχαίων αποτελεσμάτων, αλλά αυτό ενδέχεται να εισάγει μια χωρίς πρόθεση στατιστική «ταχυδακτυλοουργία», [60] διότι τα μοντέλα σταθερών και τυχαίων αποτελεσμάτων απευθύνονται σε διαφορετικά ερευνητικά ερωτήματα. Ένας πιο αποτελεσματικός τρόπος για την αντιμετώπιση της ετερογένειας, είναι η ταυτοποίηση των αιτίων της και η επακόλουθη ενσωμάτωση αυτών στο στατιστικό μοντέλο το οποίο πραγματοποιεί τεστ για τη γενετική σύνδεση.

Ανάλυση ευαισθησίας και προκατάληψη δημοσίευσης

Η διερεύνηση της ετερογένειας μπορεί επίσης να φέρει στο φως ευρήματα πέραν του αντικειμένου μιας μεμονωμένης μελέτης γενετικής σύνδεσης. Για παράδειγμα, σε μια μετα-ανάλυση γενετικών επιδράσεων στην προσωπικότητα, ανακαλύφθηκαν αποδεικτικά στοιχεία ετερογένειας τα οποία, όταν χρησιμοποιήθηκε ένα μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων, υπέδειξαν τη μη ύπαρξη αποδεικτικών στοιχείων για συσχέτιση με οποιοδήποτε από τα υποψήφια γονίδια. [62] Συνδυάστηκαν μελέτες οι οποίες έκαναν χρήση διαφορετικών μέτρων προσωπικότητας, διότι οι αναλυτικές του παράγοντα τεχνικές και οι τεχνικές συσχέτισης έχουν δείξει μια σημαντική ισοδυναμία μεταξύ τουλάχιστον δύο διαστάσεων προσωπικότητας. Οι εν λόγω φαινότυποι, της εξωστρέφειας και του νευρωτισμού, μπορούν να μετρηθούν με αρκετά διαφορετικά εργαλεία ερωτηματολογίων, τα οποία συχνά υποτίθεται ότι είναι ευρέως συγκρίσιμα. Παρόλα αυτά, ανακαλύφθηκαν αποδεικτικά στοιχεία ετερογένειας ως αποτέλεσμα του ερωτηματολογίου που χρησιμοποιήθηκε, ένα μη αναμενόμενο συμπέρασμα το οποίο επίσης αναφέρθηκε από μια άλλη μετα-ανάλυση μελετών προσωπικότητας. [63] Αυτό υποδεικνύει ότι ένα εργαλείο ερωτηματολογίου ενδέχεται να παρέχει δυνατότερο γενετικό σήμα από ένα άλλο.

Η ανάλυση υποομάδων (μερικές φορές γνωστή ως ανάλυση ευαισθησίας) μπορεί

επίσης να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του αντίκτυπου της ετερογένειας. Η πραγματοποίηση μετα-ανάλυσης με και χωρίς δυνητικά προβληματικές μελέτες, είναι μια απλή μέθοδος εκτίμησης του αντίκτυπου μιας εν δυνάμει πηγής ετερογένειας. Αυτές οι «προβληματικές» μελέτες μπορούν να ταυτοποιηθούν ως δέσμες ή αποσπασμένα τμήματα, με τη χρήση γραφικών μεθόδων, και η βάση αποκλεισμού τους θα ενδυναμωθεί αν μοιράζονται ορισμένα μοναδικά χαρακτηριστικά (όπως συχνότητες αλληλίων, οι οποίες δεν συμπεριλαμβάνονται στην ισορροπία Hardy-Weinberg). Μπορούν επίσης να υπάρξουν εκ των προτέρων λόγοι για την εξαίρεση ορισμένων μελετών βάσει ποιοτικού ελέγχου (διότι, για παράδειγμα, η απομάκρυνση από την ισορροπία Hardy-Weinberg μπορεί να υποδεικνύει παρουσία γενετικού σφάλματος). Ένα σημαντικό παράδειγμα αναφορικά με την αξία της ανάλυσης ευαισθησίας, έχει ως αντικείμενο την προκατάληψη δημοσίευσης. Η προκατάληψη δημοσίευσης ενδέχεται να υπάρχει όταν τα μη σημαντικά ευρήματα παραμένουν αδημοσίευτα, ως εκ τούτου διογκώνοντας περαιτέρω τεχνητώς το φαινομενικό μέγεθος ενός αποτελέσματος. Το ζήτημα δεν είναι πρόσφατο και ανέκυψε σχεδόν 50 χρόνια πριν, σε σχέση με την ψυχιατρική και την ψυχολογική έρευνα. Τα τεστ προκατάληψης δημοσίευσης μπορούν να ταξινομηθούν σε τεστ γραφημάτων και τεστ συμβατικής στατιστικής.

Η χοανοειδής γραφική παράσταση είναι ένα συχνά χρησιμοποιούμενο τεστ γραφημάτων, το οποίο εκτιμά την προκατάληψη δημοσίευσης στις μετα-αναλυτικές ομάδες δεδομένων. [64] Η λογική πίσω από το εν λόγω τεστ είναι ότι αν όλες οι μελέτες προέρχονται από ένα μόνο πληθυσμό, τότε η γραφική παράσταση θα πρέπει να μοιάζει με χοάνη μειούμενης διαμέτρου (δηλ. η εκτίμηση μεγέθους αποτελέσματος γίνεται ακριβέστερη) καθώς το μέγεθος δείγματος αυξάνεται. Κατά την απουσία προκατάληψης δημοσίευσης, θα ανέμενε κανείς μια συμμετρική χοανοειδή γραφική παράσταση. Η ασυμμετρία κατά συνέπεια, είναι δηλωτική της πιθανότητας ύπαρξης προκατάληψης δημοσίευσης. Ένα εναλλακτικό τεστ γραφημάτων για προκατάληψη δημοσίευσης μπορεί να προκύψει από την εκτίμηση της γραμμικότητας της γραφικής παράστασης κανονικού αριθμητικού διαστήματος. Αυτή η γραφική παράσταση διασποράς (ή σκεδογράφημα ή στικτόγραμμα) συγκρίνει τα αριθμητικά διαστήματα μιας παρατηρηθείσας κατανομής δειγμάτων με τα αριθμητικά διαστήματα της πρότυπης κανονικής κατανομής. Αν τα δεδομένα από το παρατηρηθέν δείγμα προέρχονται από φυσιολογικό πληθυσμό, τα προκύπτοντα σημεία θα πρέπει να σχηματίζουν ευθεία γραμμή. Οποιαδήποτε απόκλιση από αυτή (δηλ. μια καμπυλόγραμμη σύνδεση) υποδεικνύει πιθανότητα προκατάληψης λόγω δημοσίευσης. Τελικά, υπάρχει επίσης ένα φάσμα στατιστικών τεστ, τα οποία επιτρέπουν την υπόθεση ότι υφίσταται μια προκατάληψη λόγω δημοσίευσης που υπόκειται σε τεστ με συμβατικό τρόπο, χωρίς την υποκειμενικότητα η οποία είναι σύμφυτη με την οπτική επιθεώρηση ενός τεστ γραφημάτων.

Ο Rosenthal αποκάλυψε την προκατάληψη λόγω δημοσίευσης «το πρόβλημα της αρχαιοθήκης» και πρότεινε ότι θα μπορούσε να εκτιμηθεί με τον υπολογισμό του «N, το οποίο αποτελεί εξασφάλιση κατά της αστοχίας»: ο αριθμός των υποθετικών (δηλ. δυνητικά μη δημοσιευθέντων) αρνητικών μελετών (δηλ. μελέτες στις οποίες το μέγεθος αποτελέσματος είναι μηδέν), οι οποίες θα ήταν απαραίτητες για την αύξηση της στάθμης σημαντικότητας (P) για τη μετα-ανάλυση σε μια τιμή άνω του 0,05. [59] Αρκετές εναλλακτικές προσεγγίσεις βασίζονται στην υπόθεση ότι τα αποτελέσματα μιας μεμονωμένης μελέτης επηρεάζουν την πιθανότητά της για δημοσίευση. Αυτές οι μέθοδοι αποκαλούνται «μοντέλα επιλογής» και μπορούν να επεκταθούν στην εκτίμηση των επιδράσεων υποομάδων, διορθωμένες για την εκτιμώμενη προκατάληψη λόγω δημοσίευσης.

Ανάλυση πολλαπλών μεταβλητών

Συνήθως, η μετα-ανάλυση βασίζεται στην εκτίμηση των κύριων αποτελεσμάτων, όπου οι αναλύσεις υποομάδων χρησιμοποιούνται στη διερεύνηση διαφορετικών επιπέδων πιθανών τροποποιητικών μεταβλητών, όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί. Μια εναλλακτική προσέγγιση είναι η πραγματοποίηση μετα-ανάλυσης πολλαπλών μεταβλητών, με τη μορφή μετα-παλινδρόμησης, συμπεριλαμβάνοντας και τις συμμεταβλητές μέσα σε αυτό το πλαίσιο. Η εν λόγω προσέγγιση επιτρέπει να υποβληθεί συμβατικό τεστ ή τροποποιητική επίδραση μιας συμμεταβλητής, όπως το φύλο ή η εθνικότητα. [65] Σε αντίθεση με την απλή μετα-ανάλυση, η μετα-παλινδρόμηση συνδέει το μέγεθος αποτελέσματος με ένα ή περισσότερα χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλαμβάνονται [66] και η εν δυνάμει χρησιμότητα της εν λόγω προσέγγισης έχει καταλήξει σε αξιοσημείωτη αύξηση της χρήσης της μετα-παλινδρόμησης στις μετα-αναλυτικές ανασκοπήσεις. Τέτοιες συμμεταβλητές μπορούν να προκύψουν από τα συμμετέχοντα χαρακτηριστικά των συμπεριλαμβανόμενων μελετών. Για παράδειγμα, αν περιλαμβάνεται το φύλο ως συμμεταβλητή σε ένα πλαίσιο μετα-παλινδρόμησης, το ποσοστό θηλέων που συμμετέχουν σε κάθε μελέτη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως η συμμεταβλητή. Η μετα-παλινδρόμηση μπορεί να προκύψει εντός πλαισίου σταθερών αποτελεσμάτων αλλά και εντός πλαισίου τυχαίων αποτελεσμάτων.

Η μετα-παλινδρόμηση διερευνά το κατά πόσο κάποιες συγκεκριμένες συμμεταβλητές, ή τροποποιητές αποτελεσμάτων, επεξηγούν οποιεσδήποτε από τις παρατηρημένες επιδράσεις ετερογένειας μεταξύ μελετών. Επομένως, αρμόζει συνήθως να χρησιμοποιείται ένα μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων, διότι αυτό λαμβάνει υπόψη του την πιθανότητα ότι το υποβόσκον αποτέλεσμα διαφέρει από μελέτη σε μελέτη. Είναι πρόβλημα να χρησιμοποιείται η μετα-παλινδρόμηση, ακόμη και όταν τα στατιστικά τεστ, γραφημάτων και συμβατικά, δεν υποδεικνύουν ετερογένεια, ιδιαίτερα αν υπάρχει λόγος να πιστευτεί κανείς ότι μια εν δυνάμει τροποποιητική μεταβλητή είναι σημαντική. [65] Πράγματι, ακόμη και η απλή εκτέλεση πολλαπλών αναλύσεων σε κάθε πιθανή συμμεταβλητή για την οποία υπάρχουν δεδομένα, είναι εν δυνάμει επικίνδυνη και εμπεριέχει υψηλό κίνδυνο σφάλματος Τύπου Ι. Η εκ των προτέρων συγκεκριμενοποίηση των συμμεταβλητών που παρουσιάζουν ενδιαφέρον και ο περιορισμός του αριθμού όσων προορίζονται για διερεύνηση, μπορούν να προστατεύσουν έναντι αυτού του κινδύνου.

Η θεώρηση για την εκτέλεση ανάλυσης υποομάδων συμβατικά ως μετα-παλινδρόμηση, έχει αρκετά πλεονεκτήματα, διότι επικεντρώνεται στις διαφορές μεταξύ υποομάδων συγκριτικά με τη θεώρηση του αποτελέσματος σε κάθε υποομάδα ξεχωριστά. Επιπλέον, στο γενικό πλαίσιο του μοντέλου τυχαίων αποτελεσμάτων, υπάρχει περιθώριο να ληφθεί υπόψη μια παραμένουσα ετερογένεια, η οποία δεν ερμηνεύεται μέσω της δημιουργίας υποομάδων. Είναι σημαντικό πάντως να έχει κανείς κατά νου ότι η μετα-παλινδρόμηση, παρόλο που επιτρέπει στις συμμεταβλητές να λαμβάνονται υπόψη, δεν εμπεριέχει τη μεθοδολογική αυστηρότητα μιας κατάλληλα σχεδιασμένης μελέτης, η οποία προορίζεται για τη δοκιμή του αποτελέσματος των συγκεκριμένων συμμεταβλητών με συμβατικό τρόπο. Επομένως, η μετα-παλινδρόμηση μπορεί δυνητικά να πάσχει από προκατάληψη λόγω Σύγχυσης. Ένας συνήθης περιορισμός είναι ο αριθμός των μελετών οι οποίες διατίθενται προς συμπερίληψη. Με ένα μικρό αριθμό σημείων δεδομένων (δηλ. μεμονωμένων μελετών) το μοντέλο ενδέχεται να καταστεί ασταθές και η δυναμική για την εξαγωγή ισχυρών συμπερασμάτων περιορισμένη.

Τι θα πρέπει να συμπεριληφθεί και πώς θα προσδιοριστεί η ετερογένεια

Μια μετα-ανάλυση είναι τόσο καλή όσο και τα μέρη που τη συγκροτούν, και η επιτυχία της καθορίζεται εν μέρει από την εργατικότητα των ερευνητών, χάρη στην οποία ταυτοποιούνται οι κατάλληλες μελέτες και εξάγονται οι σωστές πληροφορίες. Οι Lohmueller και συνεργάτες ανέλυσαν 301 μελέτες οι οποίες δοκίμασαν 25 γενετικές συνδέσεις. [52] Ανακάλυψαν ότι υπήρχε ευρεία περίσσεια μελετών οι οποίες αναπαρήγαγαν τις πρώτες θετικές αναφορές (αποδεικτικά στοιχεία ενάντια σε αληθή σύνδεση) και ότι σχεδόν το ένα τρίτο των συνδέσεων (8/25) αναπαρήχθησαν σε μια μετα-ανάλυση επαναληπτικών μελετών. Αν συγκρίνουμε τα εν λόγω αποτελέσματα με μια άλλη έρευνα ευρείας κλίμακας, θα ανακαλύψουμε έναν καλό βαθμό συμφωνίας. Οι Ιωαννίδης και συνεργάτες δοκίμασαν 55 μετα-αναλύσεις και ανακάλυψαν ότι σε εννέα από αυτές (16%) πραγματοποιήθηκε αναπαραγωγή της γενετικής σύνδεσης χωρίς ετερογένεια. Αμφότερες οι ομάδες ερευνητών συμφωνούν ότι τα μεγέθη αποτελεσμάτων είναι μικρά (μέσος αναλογιών πιθανοτήτων = 1,33, SD = 0,65). [67] Παρόλο που διαφωνούν στον βαθμό αναπαραγωγής (8/25 σε σύγκριση με 9/55), η διαφορά δεν είναι σημαντική. Πάντως, όπως τονίζουν οι Ιωαννίδης και συνεργάτες, «η αποσύνδεση της προκατάληψης από την πραγματική ετερογένεια μπορεί συχνά να αποδειχθεί δύσκολη, καθώς δεν υπάρχει χρυσό πρότυπο τεστ για τη διάκριση αυτή». Συνοψίζοντας, η μετα-ανάλυση είναι ένα δυναμικά ισχυρό εργαλείο για την εκτίμηση αποτελεσμάτων στο εύρος ενός πληθυσμού, προκαλούμενων από υποψήφια γονίδια σε περίπλοκους φαινότυπους και μπορεί να παρέχει αποδεικτικά στοιχεία μη αναμενόμενης προηγούμενης ετερογένειας, αποκαλύπτοντας ετερογένεια σε μελέτες φαινομενικά παρόμοιων πληθυσμών. [61, 67] Αλλά τα αποτελέσματα είναι τόσο καλά όσο και τα εισαγόμενα δεδομένα και η αναφορά αυτών μπορεί να περιορίσει την έκταση στην οποία μια μετα-ανάλυση μπορεί να δώσει πληροφορίες ή και να πραγματοποιηθεί ακόμη. Στις μελέτες γενετικής σύνδεσης, αυτό σημαίνει συχνά, για παράδειγμα, περιορισμό στη διερεύνηση δύο μόνο γενοτυπικών ομάδων, διότι οι μικρότερες μελέτες συνδυάζουν συχνά σπάνιες ομοζυγωτικές και ετεροζυγωτικές ομάδες με σκοπό την αύξηση της στατιστικής τους ισχύος (π.χ. ομοζυγωτικές φυσικού (άγριου) τύπου ομάδες συγκρινόμενες με συνδυασμένες ετερόζυγες και ομόζυγες μεταλλαγμένες ομάδες). Η μετα-ανάλυση δεν είναι αντικατάσταση επαρκώς ενισχυμένων μελετών γενετικής σύνδεσης. Η μεγαλύτερη ίσως αξία της μετα-ανάλυσης είναι να μας υποδεικνύει αυτό στο οποίο είναι απαραίτητο να στοχεύουμε: οι αναλογίες μικρών πιθανοτήτων (ένας μέσος 1,33 σε 55 μετα-αναλύσεις) [67] υποδεικνύουν ότι οι μελέτες θα πρέπει να συμπεριλάβουν πολλές χιλιάδες ατόμων, αν πρόκειται να παρέχουν κατηγορηματικά αποδεικτικά στοιχεία σύνδεσης μεταξύ ενός γενετικού μεταλλάγματος και ενός φαινοτύπου. [55]

Γ. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να εξεταστεί η επίδραση της Βασιζόμενης σε Ενδείξεις Ιατρικής, πιο συγκεκριμένα των συστηματικών ανασκοπήσεων και ακόμα ειδικότερα των μετα-αναλύσεων:

A) Στην εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και νοσημάτων.

B) Στη διαχρονική εξέλιξη ποιοτικών παραμέτρων των μελετών γενετικής συσχέτισης.

Γ) Στη διαμόρφωση του μεγέθους δείγματος των μελετών γενετικής συσχέτισης.

Δ) Στον ρυθμό δημοσίευσης των μελετών γενετικής συσχέτισης που εξετάζουν το ίδιο θέμα.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ

Σε πρώτη φάση επιχειρήθηκε μια εκτεταμένη, συστηματική αναζήτηση στη βιβλιογραφική βάση **HuGE Published Literature (HuGE Pub Lit)**, με τη χρήση των όρων «search literature for meta-analysis», με σκοπό να εντοπιστούν όλες οι μετά-αναλύσεις που διερευνούσαν τη συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμών και νοσημάτων και είχαν δημοσιευθεί τα έτη 2000 και 2001. Προτιμήθηκαν πρώιμες μετά-αναλύσεις, έτσι ώστε το δείγμα των μελετών γενετικής συσχέτισης που θα τις ακολουθούσαν να είναι επαρκές και ασφαλές για την εξαγωγή συμπερασμάτων. Η **HuGE Pub Lit** αποτελεί μια συνεχώς ανανεούμενη, αναζητήσιμη, διαδικτυακή βάση άρθρων γενετικής επιδημιολογίας βασιζόμενων σε πληθυσμούς, [68] η οποία ιδρύθηκε το 2001 από το Δίκτυο Ανθρώπινης Γενετικής Επιδημιολογίας (Human Genome Epidemiology Network, HuGENet). Σχετικές μελέτες αναγνωρίζονται σε εβδομαδιαία βάση από το Pubmed (www.pubmed.gov) από έναν γενετικό επιδημιολόγο που καταγράφει το σχεδιασμό της μελέτης, τα γονίδια και τα εξεταζόμενα νοσήματα.

Κατόπιν, από το σύνολο των δημοσιευμένων μετά-αναλύσεων αναζητήθηκαν εκείνες οι οποίες, για τη συνολική ανάλυση (**overall analysis**), κατεδείκνυαν σημαντικά αποτελέσματα σε ότι αφορά τη συσχέτιση κάποιου ή κάποιων πολυμορφισμών με συγκεκριμένα νοσήματα, κατέληγαν δηλαδή στην διαπίστωση πως ο πολυμορφισμός σχετίζεται με γενετική προδιάθεση (genetic predisposition) ή γενετική προστασία (genetic protection) έναντι του νοσήματος. Μόνο μετά-αναλύσεις που εξέταζαν τη σχέση του πολυμορφισμού με την ανάπτυξη του νοσήματος σαν αποτέλεσμα με δύο εκβάσεις (νόσηση ή μη νόσηση/binary outcome), συμπεριλήφθησαν στη μελέτη. Στην περίπτωση που περισσότερες από μία μετά-αναλύσεις διερευνούσαν τη συσχέτιση του ίδιου πολυμορφισμού με το ίδιο νόσημα, λαμβανόταν υπ'όψιν εκείνη που είχε δημοσιευθεί πρώτη.

Το δείγμα των μετά-αναλύσεων συμπληρώθηκε από μετά-αναλύσεις δημοσιευμένες τα έτη 2005 και 2006 από το Εργαστήριο Βιομαθηματικών του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, οι οποίες κατεδείκνυαν σημαντικά αποτελέσματα για τη συνολική ανάλυση (**overall analysis**) και ακόμη πληρούσαν τα ανωτέρω περιγραφόμενα κριτήρια.

Στη συνέχεια, αναζητούνταν μέσω εκτεταμένης ηλεκτρονικής αναζήτησης στην ηλεκτρονική, βιβλιογραφική βάση **Pubmed**, όλες οι μελέτες γενετικής συσχέτισης οι οποίες διερευνούσαν τη σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού και του νοσήματος για τα οποία η σχετική μετά-ανάλυση είχε δώσει σημαντικά αποτελέσματα και οι οποίες είχαν δημοσιευθεί τουλάχιστον 12 μήνες μετά τον χρόνο δημοσίευσης της μετα-ανάλυσης. Το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα θεωρήθηκε αναγκαίο αλλά και επαρκές ώστε οι συγγραφείς των μελετών γενετικής συσχέτισης να έχουν λάβει υπ'όψιν τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης στον σχεδιασμό και την υλοποίηση της δικιάς τους ερευνητικής εργασίας. Το Pubmed θεωρείται πως καλύπτει περισσότερο από ικανοποιητικά τις γενετικές επιδημιολογικές μελέτες. [68] Χρησιμοποιήθηκε μία στρατηγική αναζήτησης που θα είχε μια υψηλή ευαισθησία στον εντοπισμό των μελετών ενδιαφέροντος: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“disease”) and (“gene”). (Όπου *disease* η εκάστοτε νόσος και όπου *gene* το εκάστοτε γονίδιο.) Για παράδειγμα, προκειμένου να εντοπιστούν μελέτες που εξέταζαν τη συσχέτιση μεταξύ εμφράγματος του μυοκαρδίου και του πολυμορφισμού G1691A στον παράγοντα V , (ο μεταλλαγμένος παράγοντας αναφέρεται συχνά στη βιβλιογραφία ως Factor V Leiden), οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and “myocardial infarction” and “Factor V”. Ως καταληκτικό χρονικό όριο για

να συμπεριληφθεί μία εργασία γενετικής συσχέτισης στη μελέτη θεωρήθηκε ο Δεκέμβριος του 2009. Όλες οι κατάλληλες μελέτες, στη συνέχεια, μετά-αναλύονταν (βλ. παρακάτω) προκειμένου να διαπιστωθεί η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ νοσήματος και πολυμορφισμού.

Οι μελέτες διαβάζονταν στο σύνολο τους προκειμένου να διαπιστωθεί η καταλληλότητά τους. Επίσης, γινόταν αναδρομή στις βιβλιογραφικές αναφορές κάθε μελέτης προκειμένου να εντοπιστούν εργασίες που δεν συμπεριλαμβάνονταν στο Pubmed. Αναφορές περιπτώσεων (case reports), μελέτες οικογενειών (family based association studies), editorials και review άρθρα αποκλείονταν. Η έρευνα περιορίστηκε αποκλειστικά σε δημοσιεύσεις στην Αγγλική γλώσσα. Μελέτες ασθενών-μαρτύρων οι οποίες παρείχαν σαφώς την κατανομή των γονότυπων (ή των αλληλίων, **μόνο** για το μοντέλο αλληλίων) στις ομάδες τόσο των ασθενών όσο και των μαρτύρων, θεωρούνταν κατάλληλες. Σε μελέτες με αλληλοεπικαλυπτόμενες περιπτώσεις ασθενών/μαρτύρων, η πιο πρόσφατη μελέτη, η πιο μεγάλη μελέτη ή αυτή που παρείχε τις περισσότερες πληροφορίες, συμπεριλαμβάνονταν στη μετα-ανάλυση. Μόνο μελέτες σε ανθρώπους οι οποίες χρησιμοποιούσαν έγκυρες μεθόδους γονοτύπωσης θεωρούνταν κατάλληλες. Τέλος, δημοσιεύσεις χαρτογράφησης του γονιδιώματος (genome scans) αποκλείονταν γιατί διερευνούν σύνδεση.(linkage) [69]

Εξαγωγή δεδομένων

Χρησιμοποιήθηκαν ειδικές φόρμες καταγραφής των δεδομένων ενδιαφέροντος από τις μετα-ανάλυσεις και τις μελέτες γενετικής συσχέτισης που τελικά συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Από κάθε μετα-ανάλυση εξαγονταν τα ακόλουθα:

- Πρώτος συγγραφέας
- Έτος δημοσίευσης
- Pubmed ID
- Γονίδιο υπό εξέταση
- Πολυμορφισμός υπό εξέταση
- rs number του πολυμορφισμού
- Φαινότυπος του υπό εξέταση νοσήματος
- Χώρα
- Φυλετική καταγωγή των υπό εξέταση υποκειμένων
- Αριθμός μελετών που συμπεριέλαβε η μετα-ανάλυση
- Ασθενείς/μάρτυρες/σύνολο (όπου αναφερόταν ή όπου ήταν δυνατό να υπολογιστεί)
- Λόγος αναλογιών και διάστημα εμπιστοσύνης
- Γενετικό μοντέλο
- Ετερογένεια
- Συμμόρφωση ή μη συμμόρφωση της γονοτυπικής κατανομής στην ομάδα των μαρτύρων (controls group) στην ισορροπία Hardy–Weinberg, για κάθε συμπεριληφθείσα μελέτη

Από κάθε μελέτη γενετικής συσχέτισης εξαγονταν τα εξής:

- Πρώτος συγγραφέας
- Έτος δημοσίευσης
- Pubmed ID
- Γονίδιο υπό εξέταση

- Πολυμορφισμός υπό εξέταση
- rs number του πολυμορφισμού
- Φαινότυπος του υπό εξέταση νοσήματος
- Χώρα
- Φυλετική καταγωγή των υπό εξέταση υποκειμένων
- Ασθενείς/μάρτυρες/σύνολο
- Συμμόρφωση ή μη συμμόρφωση της γονοτυπικής κατανομής στην ομάδα των μαρτύρων (controls group) στην ισορροπία Hardy–Weinberg
- Γονοτυπική κατανομή ή κατανομή αλληλίων στις ομάδες ασθενών και μαρτύρων

Τέλος, από το σύνολο των μελετών που θεωρούνταν ως κατάλληλες για να συμπεριληφθούν στη μετα-ανάλυση που θα ακολουθούσε (συντά αναφερόμενη στο εξής ως **2^η μετα-ανάλυση**), υπολογίζονταν οι εξής παράμετροι προκειμένου να συγκριθούν με τις αντίστοιχες της πρώτης δημοσιευμένης στη HuGE Pub Lit σχετικής μετα-ανάλυσης (συντά αναφερόμενη στο εξής ως **1^η μετα-ανάλυση**).

- Ποσοστό των μελετών με συμμόρφωση της γονοτυπικής κατανομής στην ομάδα των μαρτύρων (controls group) στην ισορροπία Hardy–Weinberg.
- ασθενείς/μάρτυρες/σύνολο
- Διάμεσος (median) του αριθμού των υποκειμένων που συμπεριλαμβάνονταν στη μετα-ανάλυση

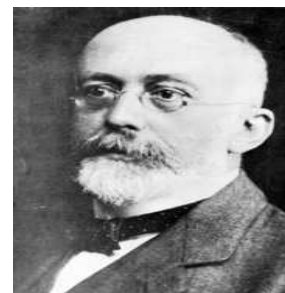
Οι ποιοτικές μεταβλητές

A) Συμμόρφωση της γονοτυπικής κατανομής στην ομάδα των μαρτύρων (controls group) στην ισορροπία Hardy–Weinberg

Ο όρος «ισορροπία Hardy-Weinberg» προέκυψε από την κοινή διαπίστωση των G.H. Hardy και W.Weinberg (εικ. 3,4) σύμφωνα με την οποία οι σχετικές συχνότητες των αλληλομόρφων παραμένουν σταθερές από γενιά σε γενιά αν δεν διαταραχθεί κανένας παράγοντας από όσους μπορούν να επηρεάσουν την όλη διαδικασία. Η διαπίστωση αυτή διατυπώθηκε ανεξάρτητα από τον καθένα το 1890 και σήμερα αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο της γενετικής Πληθυσμών.



G.H. Hardy
1877-1947



W.Weinberg
1862-1937

Εικόνες 3,4

Οι προϋποθέσεις εξασφάλισης της ισορροπίας αυτής είναι οι εξής:

1. το πλήθος των ατόμων στον πληθυσμό είναι πρακτικά άπειρο. Η προϋπόθεση αυτή ελαχιστοποιεί παρεκκλίσεις σε θεωρητικά αναμενόμενες συχνότητες.
2. οι δυνατές συζεύξεις έχουν την ίδια πιθανότητα να είναι ελεύθερες και τυχαίες.
3. όλα τα αλληλόμορφα έχουν την ίδια πιθανότητα να περάσουν στους γαμέτες και έτσι συνεισφέρουν στον ίδιο βαθμό στη συγκρότηση της γονιδιακής δεξαμενής
4. στη γονιδιακή δεξαμενή δεν προστίθεται και δεν απομακρύνεται κανένα αλληλόμορφο (π.χ. μετανάστευση ατόμων) και δεν δημιουργείται κάποιο νέο (μέσω μεταλλαξογένεσης).

Συχνά οι μελέτες γενετικής συσχέτισης χαρακτηρίζονται από σημαντικές ανακολουθίες, όσον αφορά τον σχεδιασμό τους, την διεξαγωγή τους ή την αναφορά των αποτελεσμάτων τους.[70] Η αξιοπιστία των συγκεκριμένων μελετών εξαρτάται σε ένα μεγάλο βαθμό από τη χρήση κατάλληλα επιλεγμένων μαρτύρων.[42] Θεωρητικά, η γονοτυπική κατανομή σε μια ομάδα υποκειμένων ελεύθερων νόσου θα πρέπει να συμβαδίζει με αυτή που προβλέπει η ισορροπία H-W. Η εν λόγω ισορροπία δεν αποτελεί απλά έναν θεωρητικό νόμο: αποκλίσεις από αυτήν πιθανά υποκρύπτουν προβλήματα, σφάλματα ή ιδιοτυπίες στην ανάλυση των αποτελεσμάτων.[71]

Είναι λοιπόν προφανές πως η συμμόρφωση με την αρχή H-W στην ομάδα των μαρτύρων συνιστά μία μεταβλητή που αντανακλά στην ποιότητα μιας γενετικής μελέτης. Για τον λόγο αυτό συγκρίναμε τα ποσοστά συμμόρφωσης της γονοτυπικής κατανομής στην ομάδα των μαρτύρων (controls group) στην ισορροπία Hardy–Weinberg στις μελέτες πριν και μετά την 1^η μετα-ανάλυση, προκειμένου να διαπιστώσουμε τυχόν επίδραση της στην ποιότητα των δημοσιεύσεων που την ακολούθησαν. Όπου οι συγγραφείς δεν ανέφεραν εάν η συμμόρφωση υφίστατο, την υπολογίζαμε με τη χρήση του χ^2 test. Το ίδιο test χρησιμοποιήθηκε και για τη σύγκριση των ποσοστών συμμόρφωσης πριν και μετά την 1^η μετα-ανάλυση. (στάθμη σημαντικότητας $p < 0.05$)

B) Διάμεσος (median) του αριθμού των υποκειμένων που συμπεριλαμβάνονταν στη μετα-ανάλυση

Η ισχύς μιας μελέτης γενετικής συσχέτισης, δηλαδή η ικανότητα της να ανιχνεύσει μια υπαρκτή σχέση μεταξύ ενός νοσήματος και ενός πολυμορφισμού βρίσκεται σε συνάρτηση με το μέγεθος του υπό εξέταση δείγματος (**sample size**).[72]

Η διάμεσος είναι ένα μέτρο κεντρικής τάσης που δεν είναι τόσο ευαίσθητο στην τιμή κάθε μέτρησης. Η διάμεσος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως περιληπτικό μέτρο και για δεδομένα της διατεταγμένης κλίμακας όπως και για ασυνεχή και συνεχή δεδομένα. Η διάμεσος ορίζεται ως το 50στό εκατοστιαίο σημείο μιας ομάδας μετρήσεων. Εάν μια λίστα παρατηρήσεων έχει τοποθετηθεί στη σειρά από τη μικρότερη τιμή προς τη μεγαλύτερη, τότε οι μισές τιμές θα είναι μεγαλύτερες ή ίσες με τη διάμεσο και οι άλλες μισές θα είναι μικρότερες ή ίσες με τη διάμεσο. Άρα, όταν μια ομάδα δεδομένων περιλαμβάνει ένα σύνολο n παρατηρήσεων με το n να είναι μονός αριθμός, τότε η διάμεσος είναι η μεσαία τιμή, δηλαδή η $[(n+1)/2]$ μεγαλύτερη παρατήρηση. Εάν το n είναι ζυγός αριθμός, η διάμεσος υπολογίζεται ως ο αριθμητικός μέσος των δυο μεσαίων τιμών, της $(n/2)$ και της $[(n+2)/2]$ παρατήρησης.

Π.χ., εάν βάλουμε στη σειρά τις τιμές του FEV₁ 13 ασθενών θα έχουμε την εξής σειρά:

2.15,2.25,2.30,2.60,2.68,2.75,2.82,2.85,3.00,3.38,3.50,4.02,4.05

Λόγω του ότι έχουμε μονό αριθμό παρατηρήσεων η διάμεσος θα είναι η $(13+1)/2=7^{\text{η}}$ παρατήρηση, δηλαδή η 2.82. Έξι από τις μετρήσεις είναι κάτω των 2.82 λίτρων και έξι μεγαλύτερες.

Ο υπολογισμός της διαμέσου λαμβάνει υπ'όψιν τη σειρά και το σχετικό μέγεθος των παρατηρήσεων σε μία ομάδα δεδομένων. Στην περίπτωση που το FEV₁ του ατόμου 11 είχε καταγραφεί ως 40.2 αντί του 4.02, η διάταξη των παρατηρήσεων θα αλλάξει ελάχιστα:

2.15,2.25,2.30,2.60,2.68,2.75,2.82,2.85,3.00,3.38,3.50,4.05,40.2

Σαν αποτέλεσμα, η διάμεσος του FEV₁ θα παραμείνει 2.82 λίτρα. Η διάμεσος καλείται ανθεκτική (robust). Είναι πολύ λιγότερο ευαίσθητη σε ασυνήθεις τιμές δεδομένων από ότι ο αριθμητικός μέσος.

Για τους παραπάνω λόγους επιλέξαμε τη σύγκριση μεταξύ των διαμέσων του αριθμού των υποκειμένων που συμπεριέλαβαν η 1^η και η 2^η μετα-ανάλυση. Η σύγκριση έγινε με το μη παραμετρικό Mood's Median Test. (στάθμη σημαντικότητας $p < 0.05$)

Καταχώρηση των δεδομένων

Όλες οι κατάλληλες για μετά-ανάλυση μελέτες καταχωρήθηκαν στη βάση δεδομένων **CUMAGAS -Cumulative Meta-Analysis of Genetic Association Studies** (<http://biomath.med.uth.gr>). Η CUMAGAS εκτελεί μετα-αναλύσεις για όλα τα γενετικά μοντέλα και παρέχει πληροφόρηση για τον σχεδιασμό της μελέτης και τα χαρακτηριστικά του πολυμορφισμού. [73]

Μετά-ανάλυση των μελετών

Η ετερογένεια υπολογίστηκε με το I^2 , το οποίο είναι ανεξάρτητο του αριθμού των μελετών που συμπεριλαμβάνονται στη μετα-ανάλυση. Παίρνει τιμές μεταξύ 0 και 100% με τις μεγαλύτερες τιμές να υποδηλώνουν και μεγαλύτερο βαθμό ετερογένειας ($I^2=0-25\%$ καθόλου ετερογένεια, $25-50\%$ μεσαία ετερογένεια, $50-75\%$ υψηλή ετερογένεια, $75-100\%$ ακραία ετερογένεια). Ο συγκεντρωτικός λόγος αναλογιών υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τα μοντέλα σταθερών (fixed effects/FEs; Mantel-Haenszel) και τυχαίων (random effects/REs; DerSimonian and Laird) αποτελεσμάτων.

Στη 2^η μετα-ανάλυση ο υπολογισμός του συγκεντρωτικού λόγου αναλογιών γινόταν για το γενετικό μοντέλο καθώς και για το μοντέλο αποτελεσμάτων (fixed ή random) το οποίο εξέταζε και η 1^η μετα-ανάλυση, έτσι ώστε η σύγκριση μεταξύ τους να είναι εφικτή. Στην περίπτωση κατά την οποία η 1^η μετα-ανάλυση εξέταζε πολλά μοντέλα, η σύγκριση γινόταν μόνο για όσα κατεδείκνυαν σημαντικά αποτελέσματα. Οι συγκεντρωτικοί λόγοι αναλογιών της 1^{ης} και της 2^{ης} μετα-ανάλυσης συγκρίνονταν μεταξύ τους με το z-score, σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$\frac{\ln(OR_1) - \ln(OR_2)}{se_1 + se_2}$$

$$\frac{\ln(UL) - \ln(LL)}{2 \cdot 1,96}$$

όπου se=

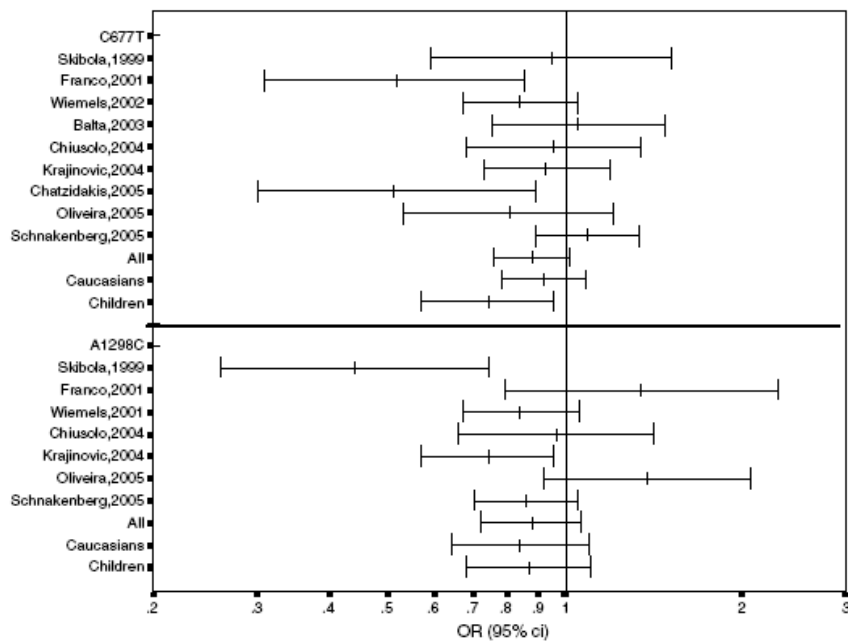
(στάθμη σημαντικότητας $p < 0.05$)

Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων

Η απεικόνιση της εξέλιξης της σημαντικότητας μεταξύ πολυμορφισμών και νοσημάτων έγινε σε διαγράμματα τύπου forest plot (γράφημα 9). Τα forest plots χρησιμοποιούνται τακτικά για την εικονοποίηση των αποτελεσμάτων των μετα-αναλύσεων. [74] Κατά κανόνα, παρουσιάζονται με δύο στήλες. Στην αριστερή στήλη καταγράφονται τα ονόματα των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση, συνήθως σε χρονολογική σειρά από πάνω προς τα κάτω. Στη δεξιά στήλη απεικονίζονται τα διαγράμματα που παριστάνουν τους λόγους αναλογιών (συντά ως κύκλοι ή τετράγωνα), καθώς και τα διαστήματα εμπιστοσύνης (ως οριζόντιες γραμμές) για κάθε μελέτη ξεχωριστά.

Το όλο διάγραμμα παριστάνεται σε λογαριθμική κλίμακα. Στο κάτω μέρος, απεικονίζεται ο αθροιστικός λόγος αναλογιών (συντά ως ρόμβος) και το συνολικό διάστημα εμπιστοσύνης.

Τέλος, μία κάθετη γραμμή φαίνεται στα forest plots. Όταν το διάστημα εμπιστοσύνης συναντά την κάθετη γραμμή, αυτό σημαίνει έλλειψη σημαντικότητας. Διαστήματα εμπιστοσύνης δεξιά της κάθετης γραμμής υποδηλώνουν σημαντικότητα όσον αφορά τη συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμού και προδιάθεσης για το νόσημα, ενώ διαστήματα εμπιστοσύνης αριστερά αυτής δηλώνουν γενετική προστασία έναντι του νοσήματος.



Γράφημα 9

Διάγραμμα τύπου “forest plot”

(Από: Zintzaras,Koufakis et al. A meta-analysis of genotypes and haplotypes of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in acute lymphoblastic leukaemia./European Journal of Epidemiology,2006)

Εκτίμηση της επίδρασης της μετά-ανάλυσης στον ρυθμό δημοσίευσης μελετών γενετικής συσχέτισης

Οι μέσες τιμές του αριθμού των μελετών γενετικής συσχέτισης που συμπεριλήφθηκαν στις 1^{ες} και 2^{ες} μετά-αναλύσεις συγκρίθηκαν μεταξύ τους με το μη παραμετρικό test **Mann-Whitney U**.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το στατιστικό πακέτο **SPSS** (Statistical Package for the Social Sciences) for Windows, version 17.0.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αποκλεισμός μελετών

Μετά-αναλύσεις δημοσιευμένες στο HuGE Navigator τα έτη 2000 και 2001

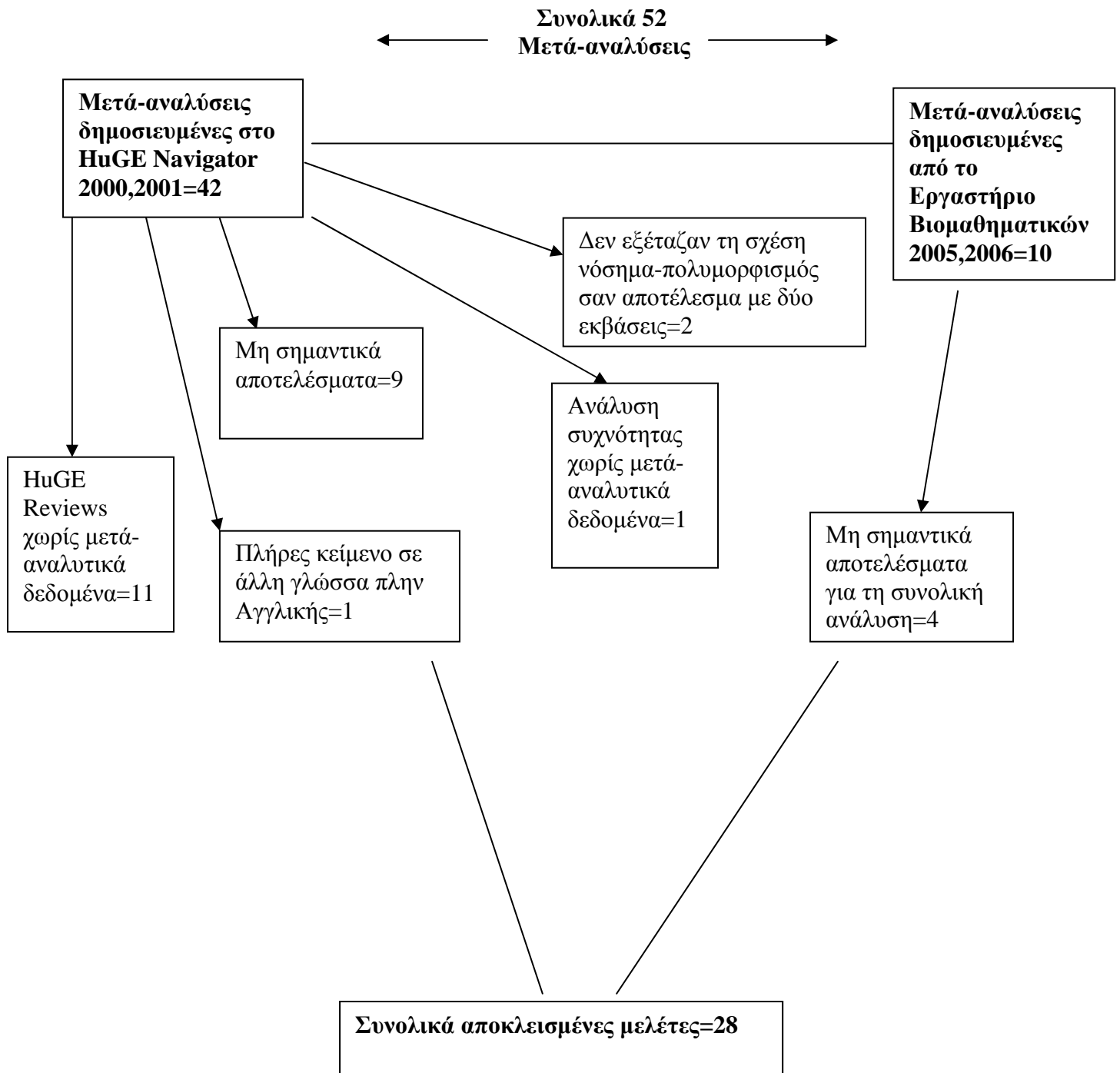
Εντοπίστηκαν συνολικά 42 δημοσιεύσεις. Από αυτές 11 [75-85] αποκλείστηκαν από τη μελέτη γιατί αποτελούσαν ανασκοπικά άρθρα ανθρώπινης γενετικής επιδημιολογίας (**HuGE Reviews**), χωρίς να παρέχουν μετά-αναλυτικά δεδομένα. Μία μελέτη [86] αποκλείστηκε γιατί αποτελούσε ανάλυση συχνότητας (**frequency analysis**), χωρίς να παρέχει μετά-αναλυτικά δεδομένα, ενώ άλλη μία [87] γιατί το πλήρες κείμενο της δημοσίευσης ήταν γραμμένο σε γλώσσα άλλη πλην της Αγγλικής (Κινεζική). 9 μετά-αναλύσεις [88-96] αποκλείστηκαν επειδή κατέδειξαν μη σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα σε νοσήματα και πολυμορφισμούς. Τέλος, 2 άρθρα [97, 98] αποκλείστηκαν γιατί δεν εξέταζαν τη σχέση του πολυμορφισμού με την ανάπτυξη του νοσήματος σαν αποτέλεσμα με δύο εκβάσεις (νόσηση ή μη νόσηση/binary outcome).

Μετά-αναλύσεις δημοσιευμένες από το Εργαστήριο Βιομαθηματικών του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τα έτη 2005 και 2006

Εντοπίστηκαν συνολικά 10 μετά-αναλύσεις. Από αυτές, 4 [99-102] αποκλείστηκαν, καθώς κατέδειξαν μη σημαντικές συσχετίσεις πολυμορφισμών και νοσημάτων για τη συνολική ανάλυση.

Συνοπτικά, εξετάστηκαν 52 συστηματικές ανασκοπήσεις στον τομέα της Ανθρώπινης Γενετικής Επιδημιολογίας. Από αυτές, 24 τελικά συμπεριλήφθησαν στη μελέτη και 28 αποκλείστηκαν για λόγους που αναφέρονται παραπάνω.

Στο σχήμα που ακολουθεί, συνοψίζονται οι λόγοι αποκλεισμού των μελετών:



Γράφημα 10
Διάγραμμα ροής με τους λόγους αποκλεισμού των μελετών

Οι μετά-αναλύσεις που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη

Τα κύρια χαρακτηριστικά των 24 μετά-αναλύσεων που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ.αναφορά)	Περιοδικό	Νόσημα	Γονίδιο	Πολυμορφισμός
Botto,2000 [103]	Am J Epidem	Συγγενείς Διαμαρτίες	MTHFR	C677T
Jee,2000 [104]	Atherosclerosis	Καρδιαγγειακή Νόσος	MTHFR	C677T
Marchetti,2000 [105]	Thromb Haemost	ΕΒΦΘ (υποτροπή)	FV	G1691A
Alhenc-Gelas,2000 [106]	Thromb Haemost	ΕΒΦΘ	FXIII	Val34Leu
Zusterzeel,2000 [107]	Hypertens Pregnancy	Προεκλαμψία	MTHFR	C677T
Kluijtmans,2001 [108]	Eur Heart J	Αθηροθρομβωτική Νόσος	MTHFR	C677T
Rasmussen,2001 [109]	Multiple Sclerosis	Πολλαπλή Σκλήρυνση	HLA	DR15
di Castelnuovo,2001 [110]	Thromb Haemost	Καρδιαγγειακή Νόσος	Platelet Glycoprotein Receptor IIIa	PLA1/A2
Carter,2001 [111]	GUT	Ελκώδης Κολίτιδα	interleukin 1 receptor antagonist	VNTR
Golbe,2001 [112]	Mov Disord	Νόσος Parkinson	TAU	A0
Wu,2001 [113]	Am J Cardiol	Καρδιαγγειακή Νόσος, ΙΑΕΕ	FV, FVII	G1691A,R353Q
Faraone,2001 [114]	Am J Psychiatry	ΣΥΕΠ	DRD4	allele 7/exon 3 VNTR
Houlston,2001 [115]	Gastroenterology	Ορθοκολικά νεοπλάσματα	APC, HRAS, MTHFR	I1307K,VNTR,C677T
Efstathiadou,2001 [116]	J Bone Miner Res	Οστεοπόρωση, αυτόματα Κατάγματα	COLIA1	Sp1
Neamat-Allah,2001 [117]	Diabet Med	Διαβητική Νεφροπάθεια	ALR2	C106T, (CA) _n

Boekholdt,2001 [118]	Circulation	Έμφραγμα μυοκαρδίου	Fibrinogen β-chain, PAI-1,FV	G455A, 4G/5G, G1691A
Sanchez-Guerra,2001 [1]	Neurosci Lett	Νόσος Alzheimer	LRP	C766T
Garred,2001 [119]	Genes Immun	ΣΕΛ	MBL	A/B/C/D (codons 54/57/52)
Zintzaras,2005 [120]	J Hum Genet	Διαβητική Αμφιβληστροειδοπάθεια	MTHFR	C677T
Zintzaras,2006 [121]	Eur J Epidem	ΟΛΛ	MTHFR	C677T, A1298C
Zintzaras,2006 [122]	Hepatology	Εξάρτηση από αλκοόλ	ADH2,ADH3,ALDH2	1*2
Zintzaras,2006 [123]	J Hum Genet	Γαστρικός Καρκίνος	MTHFR	C677T, A1298C
Zintzaras,2006 [124]	Hypertension	Υπέρταση	eNOS	4b/a
Zintzaras,2006 [125]	Psychiatr Genet	Σχιζοφρένεια	MTHFR	C677T

Σημείωση: ΕΒΦΘ= Εν τω βάθει Φλεβική Θρόμβωση, ΙΑΕΕ= Ισχαιμικό Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο, ΣΥΕΠ= Σύνδρομο Υπερκινητικότητας και Ελλειμματικής Προσοχής, ΣΕΛ= Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, ΟΛΛ=Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία

Πίνακας 6
Χαρακτηριστικά των μετά-αναλύσεων που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη

Νοσήματα που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη

Τα νοσήματα που υπερίελαβε η παρούσα μελέτη είναι συνολικά 23 και εκτείνονται σε ένα ευρύ φάσμα της ανθρώπινης νοσολογίας. Παρακάτω παρουσιάζονται ταξινομημένα:

Νοσήματα πεπτικού

- Ελκώδης κολίτιδα
- Ορθοκολικός καρκίνος
- Γαστρικός καρκίνος

Νοσήματα καρδιάς-αγγείων

- Εν τω Βάθει Φλεβική Θρόμβωση
- Περιφερική Αρτηριακή Θρόμβωση
- Στεφανιαία νόσος
- Έμφραγμα μυοκαρδίου
- Ασταθής και Σταθερή Στηθάγχη
- Υπέρταση

Νοσήματα μητέρας παιδιού

- Προεκλαμψία
- Συγγενείς διαμαρτίες νωτιαίου σωλήνα

Νευρολογικά νοσήματα

- Ισχαιμικό Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο
- Νόσος Alzheimer
- Νόσος Parkinson
- Πολλαπλή Σκλήρυνση

Νοσήματα ερειστικού ιστού

- Οστεοπόρωση και αυτόματα κατάγματα

Μεταβολικά νοσήματα

- Διαβητική νεφροπάθεια
- Διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια

Νοσήματα συνδετικού ιστού

- Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος

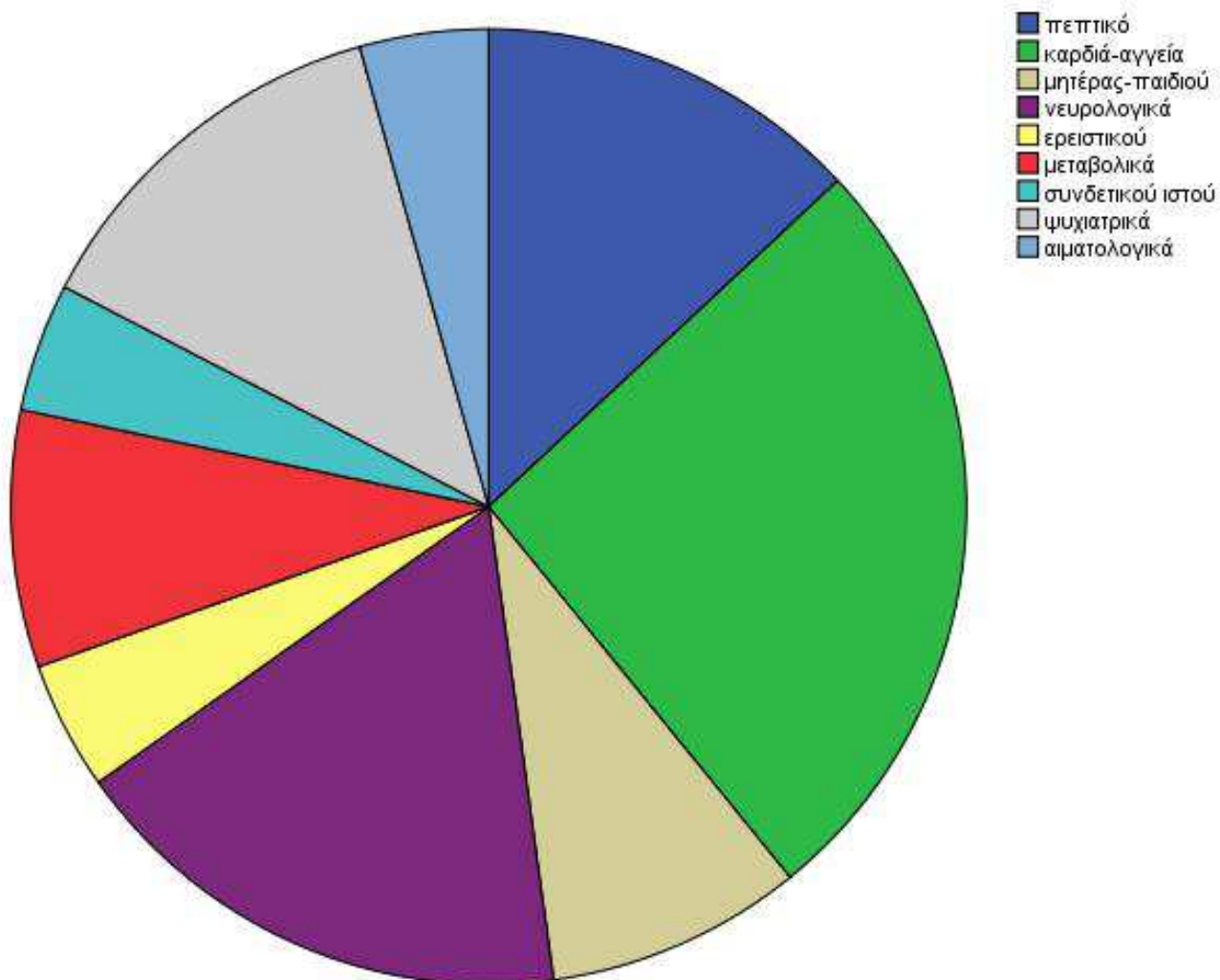
Ψυχιατρικά νοσήματα

- Σύνδρομο υπερκινητικότητας & ελλειμματικής προσοχής
- Σχιζοφρένεια
- Εξάρτηση από το αλκοόλ

Αιματολογικά νοσήματα

- Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία/παιδιά
- Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία/ενήλικες

Η κατανομή των νοσημάτων ανά κατηγορία αποτυπώνεται στο γράφημα:

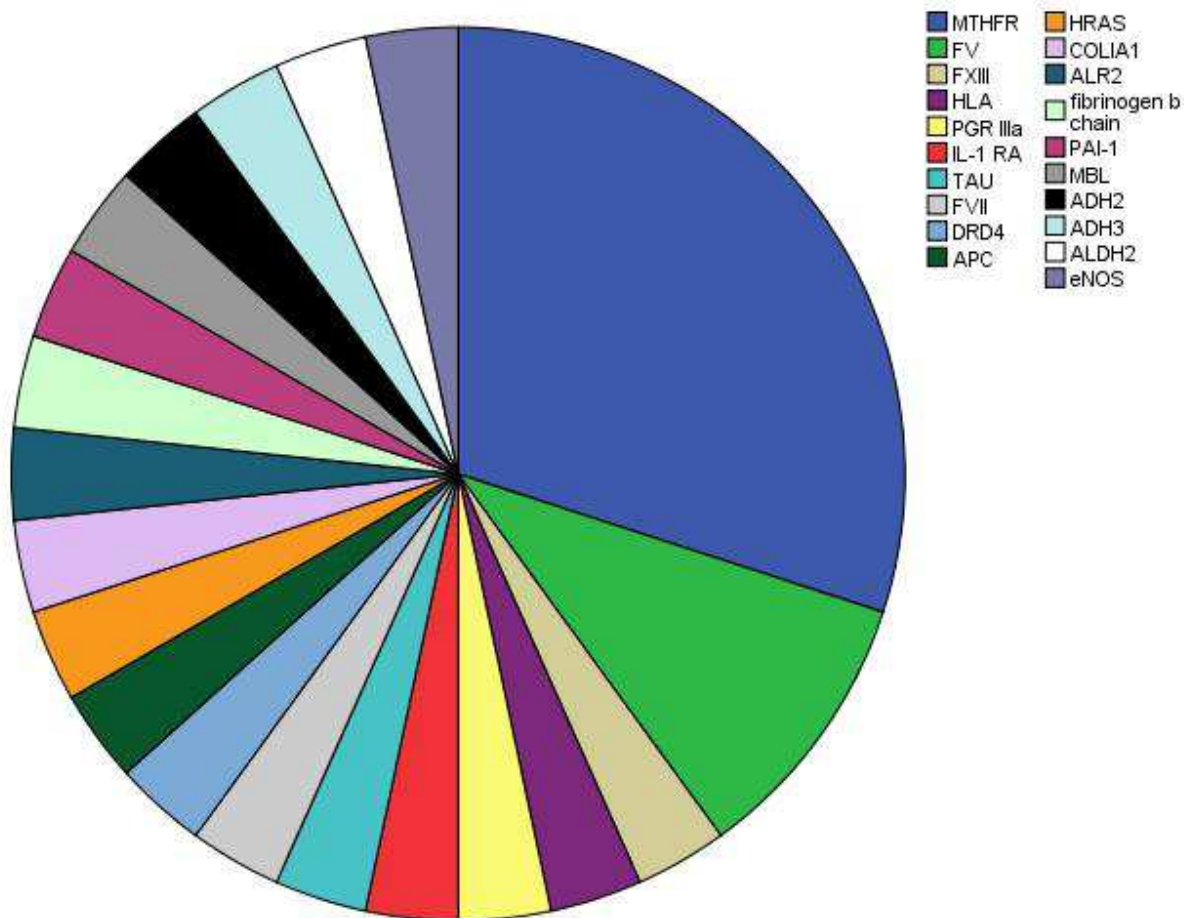


Γράφημα 11

Η κατανομή των νοσημάτων που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη. Τα καρδιαγγειακά και νευρολογικά νοσήματα καταλαμβάνουν μεγάλο μέρος της μελέτης, γεγονός σύμφωνο με τις τάσεις της βιβλιογραφίας, καθώς οι δύο αυτές κατηγορίες ασθενειών είναι ευρύτατα μετά-αναλυμένες

Γονίδια και πολυμορφισμοί που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη

Συνολικά, 21 γονίδια και 25 πολυμορφισμοί περιλαμβάνονται στη μελέτη. Η κατανομή των γονιδίων αποτυπώνεται στο σχήμα:



Γράφημα 12

Η κατανομή των γονιδίων που μελετήθηκαν.

Η υπέραντιπροσώπευση του γονιδίου MTHFR σε σχέση με τα υπόλοιπα είναι αναμενόμενη, καθώς συνιστά το πιο μετά-αναλυμένο γονίδιο στη βιβλιογραφία, με περισσότερες από 100 σχετικές μετά-αναλύσεις στο HuGE Navigator. Δεύτερο στην παρούσα μελέτη έρχεται το γονίδιο του FV, επίσης εκτενώς μελετημένο με πάνω από 30 σχετικές μετά-αναλύσεις στο HuGE Navigator.

Μελέτες γενετικής συσχέτισης που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν πάνω από 1500 μελέτες γενετικής συσχέτισης, από τις οποίες περίπου 380 πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν στις 31 συνολικά μετά-αναλύσεις που διεξήχθησαν.

Επίδραση της μετά-ανάλυσης στο ρυθμό δημοσίευσης μελετών γενετικής συσχέτισης

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται αναλυτικά και για κάθε νόσημα, γονίδιο και πολυμορφισμό, ο αριθμός των μελετών που συμπεριέλαβε η 1^η και η 2^η μετά-ανάλυση (ή δυνητικά πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν, στις περιπτώσεις που οι μελέτες είναι <2):

Νόσημα, γονίδιο, πολυμορφισμός	1η μετά-ανάλυση Αριθμός μελετών	2η μετά-ανάλυση Αριθμός μελετών
Ελκώδης Κολίτιδα IL-1RA, VNTR	8	6
ΕΒΦΘ FXII Val34Leu	5	7
Προεκλαμψία MTHFR C677T	5	18
Συγγενείς Διαμαρτίες Νωτιαίου Σωλήνα MTHFR C677T Μητέρες	7	8
Συγγενείς Διαμαρτίες Νωτιαίου Σωλήνα MTHFR C677T Τέκνα	12	8
Στεφανιαία Νόσος Έμφραγμα Μυοκαρδίου MTHFR C677T	18	57
Στεφανιαία Νόσος MTHFR C677T	12	42
Καρδιαγγειακή Νόσος ITGB3 PIA1/PIA2	34	11
Έμφραγμα Μυοκαρδίου FV G1691A	12	13
Έμφραγμα μυοκαρδίου fibrinogen β-chain G-455A	4	8
Έμφραγμα μυοκαρδίου PAI-1 4G/5G	10	11
Καρδιαγγειακή Νόσος FVII R353Q	6	10
IAEE FV G1691A	6	34
Ορθοκολικός Καρκίνος MTHFR C677T	4	34
Ορθοκολικός Καρκίνος HRAS1-VNTR	5	0
Ορθοκολικός Καρκίνος APC I1307K	3	6
Οστεοπόρωση και Αυτόματα Κατάγματα COLIA1 Sp1	13	7
Οστεοπόρωση COLIA1 Sp1	13	5
Διαβητική Νεφροπάθεια ALR C106T	1 (συνδυάστηκαν 2 κοόρτες από την ίδια εργασία)	4
Διαβητική Νεφροπάθεια ALR (CA)n	5	4
Νόσος Alzheimer LRP1 C766T	8	9
ΣΕΛ MBL B/C/D (codons 54/57/52)	8	7
ΣΥΕΠ DRD4 allele 7/exon 3 VNTR	8	6
Νόσος Parkinson TAU A0	4	1
Αθηροθρομβωτική Νόσος MTHFR C677T	10	23
ΕΒΦΘ υποτροπή FVL G196A	6	9
Γαστρικός Καρκίνος MTHFR C677T	8	5
Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία MTHFR C677T	4	3
Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία MTHFR A1298C	7	4

Διαβητική Αμφιβληστροειδοπάθεια MTHFR C677T	5	1
Σχιζοφρένεια MTHFR C677T	10	3
Σχιζοφρένεια MTHFR A1298C	4	1
Υπέρταση eNOS 4b/a	15	3
Αλκοολισμός ADH2 1*2	33	2
Αλκοολισμός ADH3 1*2	24	1
Αλκοολισμός ALDH2 1*2	16	3
Πολλαπλή Σκλήρυνση HLA DR15	3	1

Πίνακας 7

Τα περιγραφικά στατιστικά του αριθμού των μελετών γενετικής συσχέτισης που συμπεριλήφθησαν στις 1^{ες} και 2^{ες} μετά-αναλύσεις παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ες} μετά-αναλύσεις	2 ^{ες} μετά-αναλύσεις
Περιγραφικά στατιστικά	
9,62±7,49 ⁽¹⁾ 8 (1-34) ⁽²⁾	10,13±12,51 ⁽¹⁾ 6 (0-57) ⁽²⁾

(1) **mean ± std.deviation**

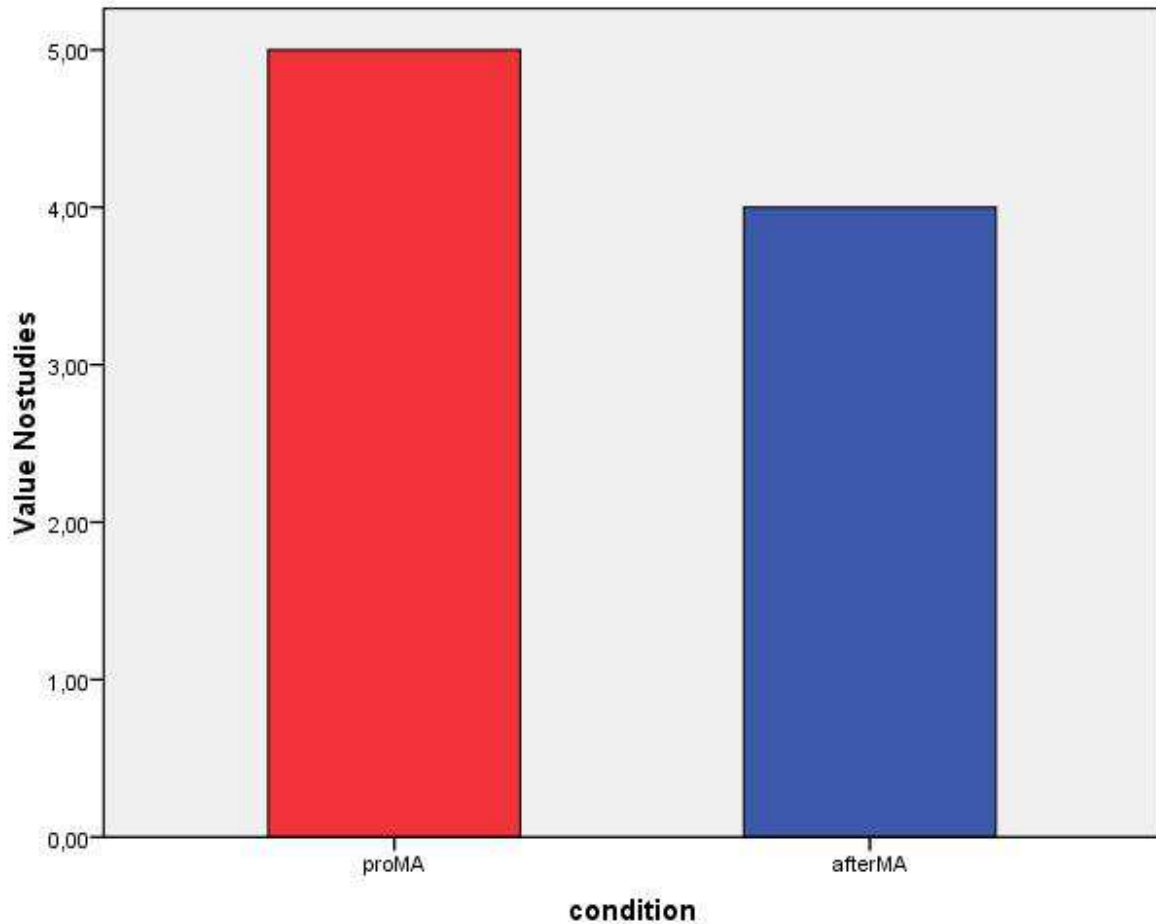
(2) **median (min-max)**

Πίνακας 8

Αν και η μέση τιμή του αριθμού των μελετών που συμπεριέλαβαν οι 2^{ες} μετά-αναλύσεις είναι οριακά υψηλότερη (10,13 έναντι 9,62), όταν συγκριθεί με την αντίστοιχη μέση τιμή του αριθμού των μελετών που συμπεριέλαβαν οι 1^{ες} μετά-αναλύσεις, η διαφορά είναι στατιστικώς μη σημαντική. (**p=0.223, Mann-Whitney U test**).

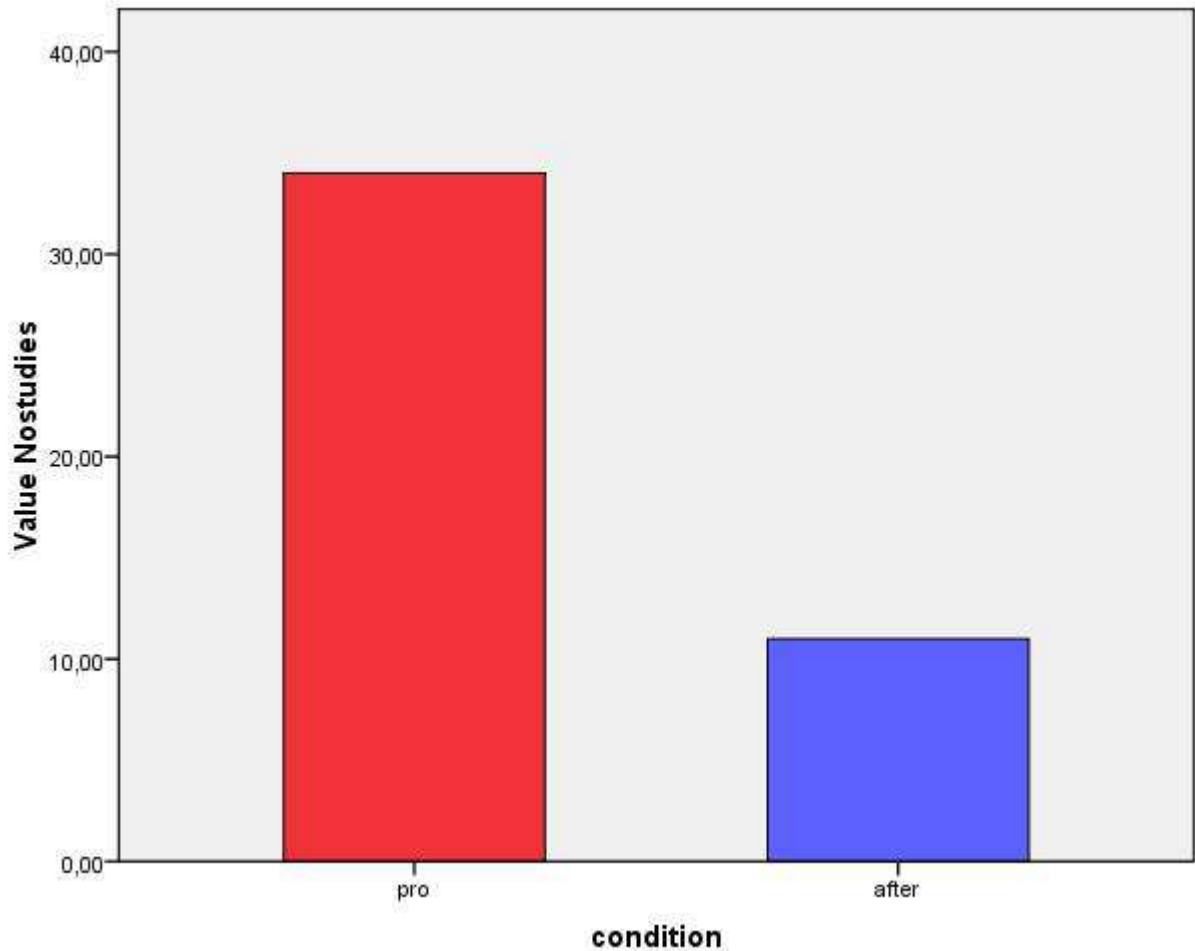
Ερμηνεύοντας τα παραπάνω αποτελέσματα, θα μπορούσαμε να κατατάξουμε σε τρεις κατηγορίες, την επίδραση της μετά-ανάλυσης στο ρυθμό δημοσίευσης των ακόλουθων ΜΓΣ:

A) Η μετά-ανάλυση δε φαίνεται να επιδρά αξιόλογα στο ρυθμό δημοσίευσης ΜΓΣ που εξετάζουν το ίδιο θέμα, δεδομένου πως ο αριθμός μελετών που συμπεριέλαβαν η 1^η και 2^η μετά-ανάλυση είναι αντίστοιχος, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση της Διαβητικής Νεφροπάθειας και του πολυμορφισμού ALR (CA)n (γράφημα).



Γράφημα 13
 Η περίπτωση της Διαβητικής Νεφροπάθειας και του πολυμορφισμού ALR (CA)n
 Ο αριθμός των μελετών που συμπεριέλαβαν η 1^η και η 2^η μετά-ανάλυση είναι αντίστοιχος

B) Η μετά-ανάλυση φαίνεται να «παγώνει» το ρυθμό δημοσίευσης σχετικών ΜΓΣ, όπως στην περίπτωση της σχέσης μεταξύ Καρδιαγγειακής Νόσου και πολυμορφισμού PIA1/PIA2 στο γονίδιο ITGB3 (γράφημα).

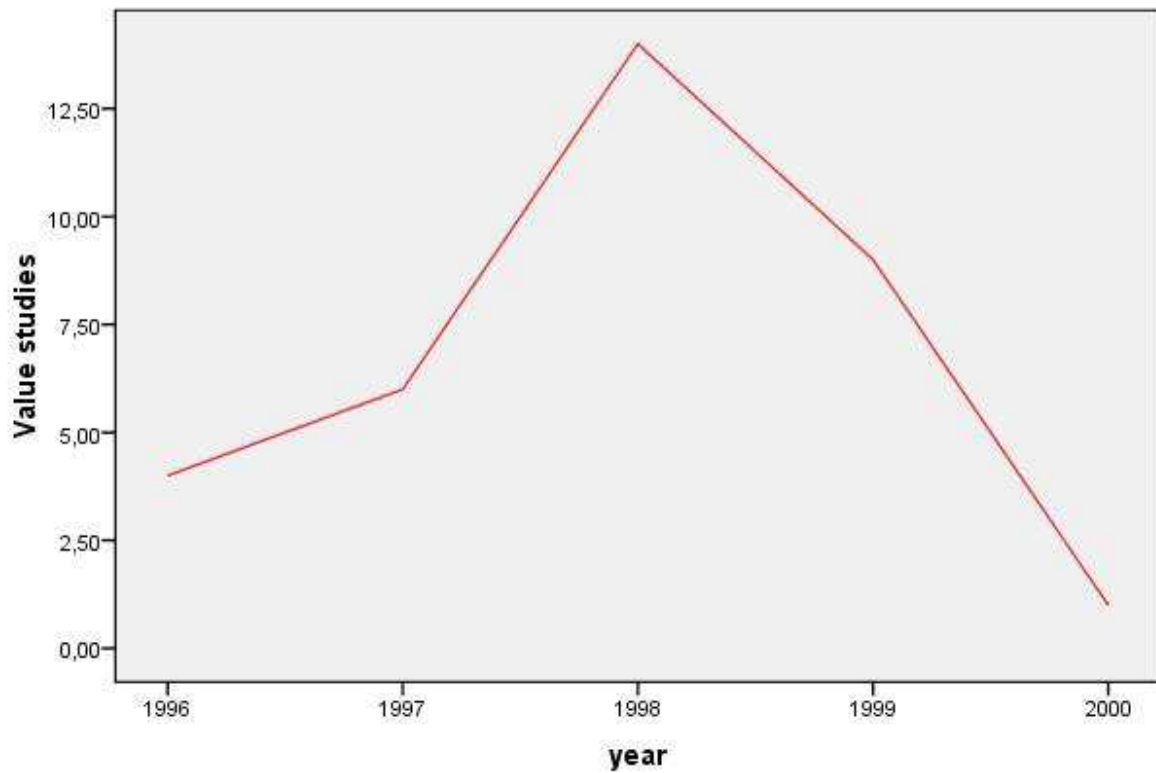


Γράφημα 14

**Η περίπτωση της Καρδιαγγειακής Νόσου και του πολυμορφισμού PIA1/PIA2 στο γονίδιο ITGB3.
Αριθμός ΜΓΣ που συμπεριέλαβαν οι 1^η και η 2^η μετά-ανάλυση.
Η μετά-ανάλυση φαίνεται να «παγώνει» το ρυθμό δημοσίευσης σχετικών ΜΓΣ**

Στο γράφημα που ακολουθεί, παριστάνεται ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ ανά έτος, πριν τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης, για το συγκεκριμένο ζεύγος νοσήματος-πολυμορφισμού:

pro meta-analysis

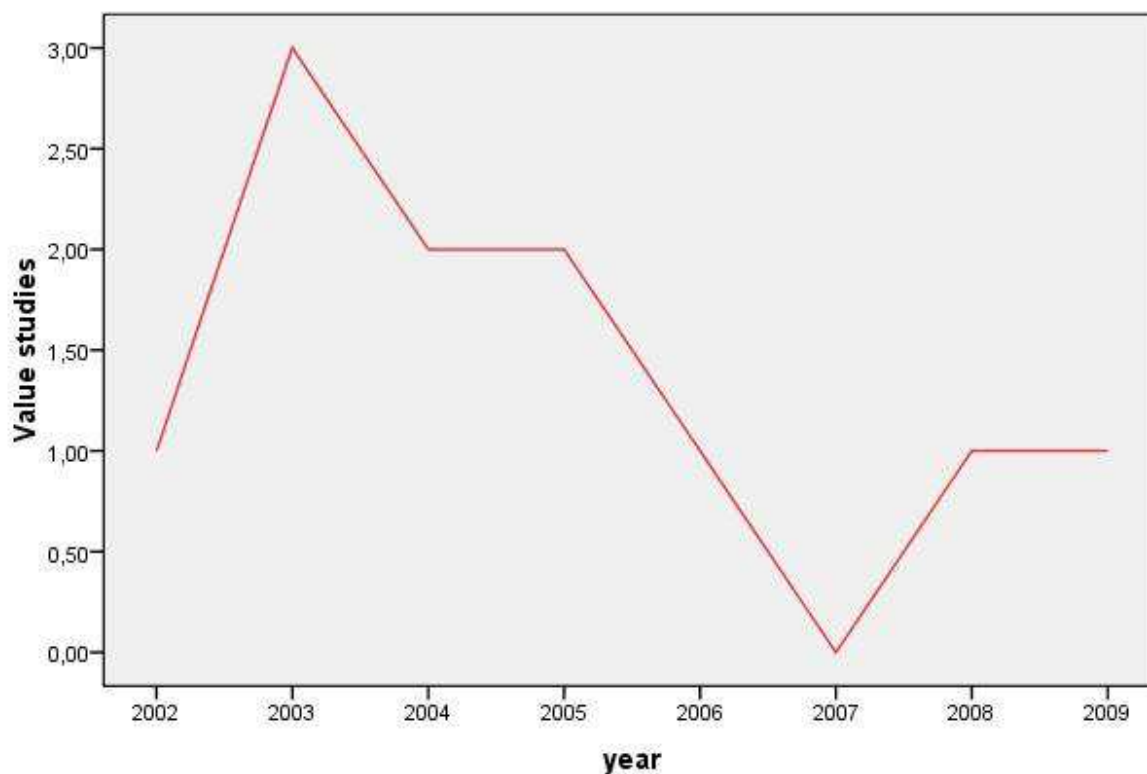


Γράφημα 15

Η περίπτωση της Καρδιαγγειακής Νόσου και του πολυμορφισμού PIA1/PIA2 στο γονίδιο ITGB3.
Ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ ανά έτος πριν τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης

Στο γράφημα που ακολουθεί, παριστάνεται ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ μετά τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης:

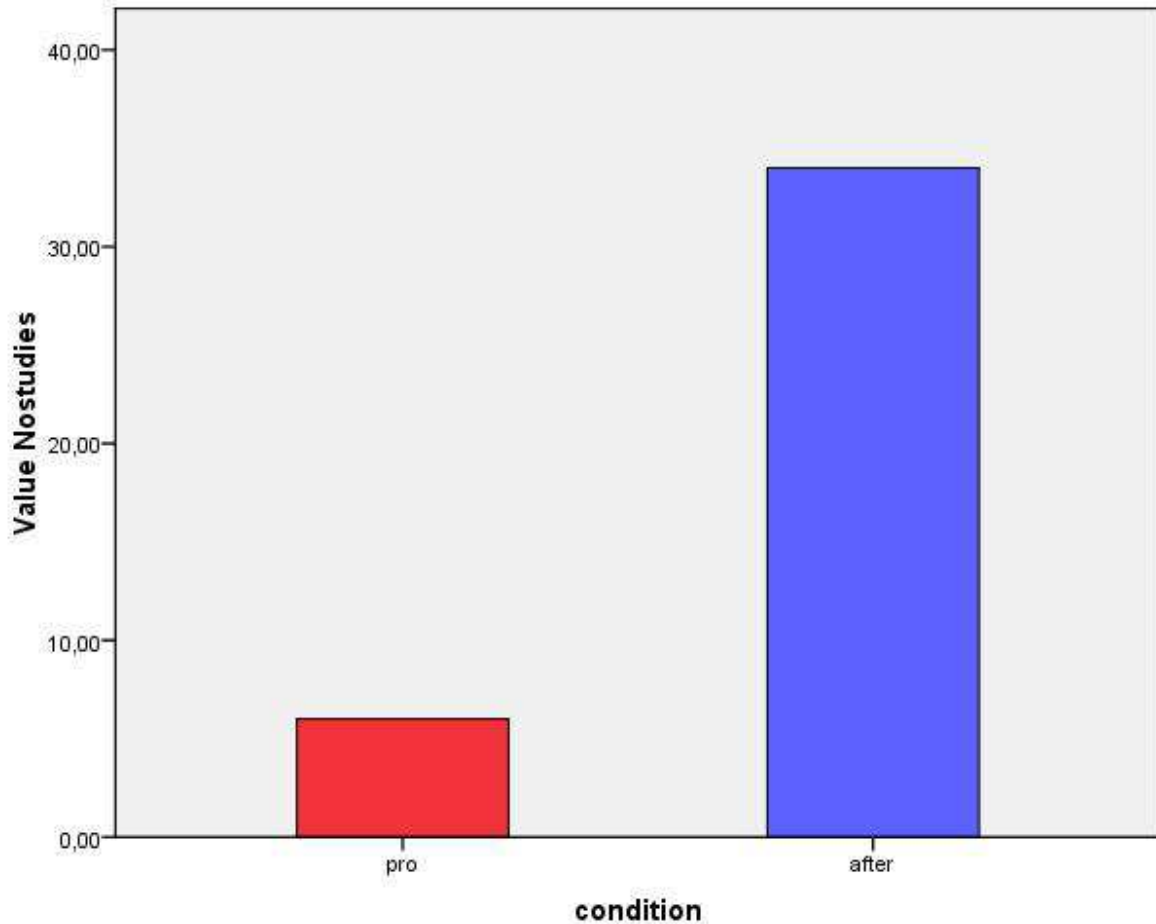
after meta-analysis



Γράφημα 16

Η περίπτωση της Καρδιαγγειακής Νόσου και του πολυμορφισμού PIA1/PIA2 στο γονίδιο ITGB3.
Ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ ανά έτος μετά τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης

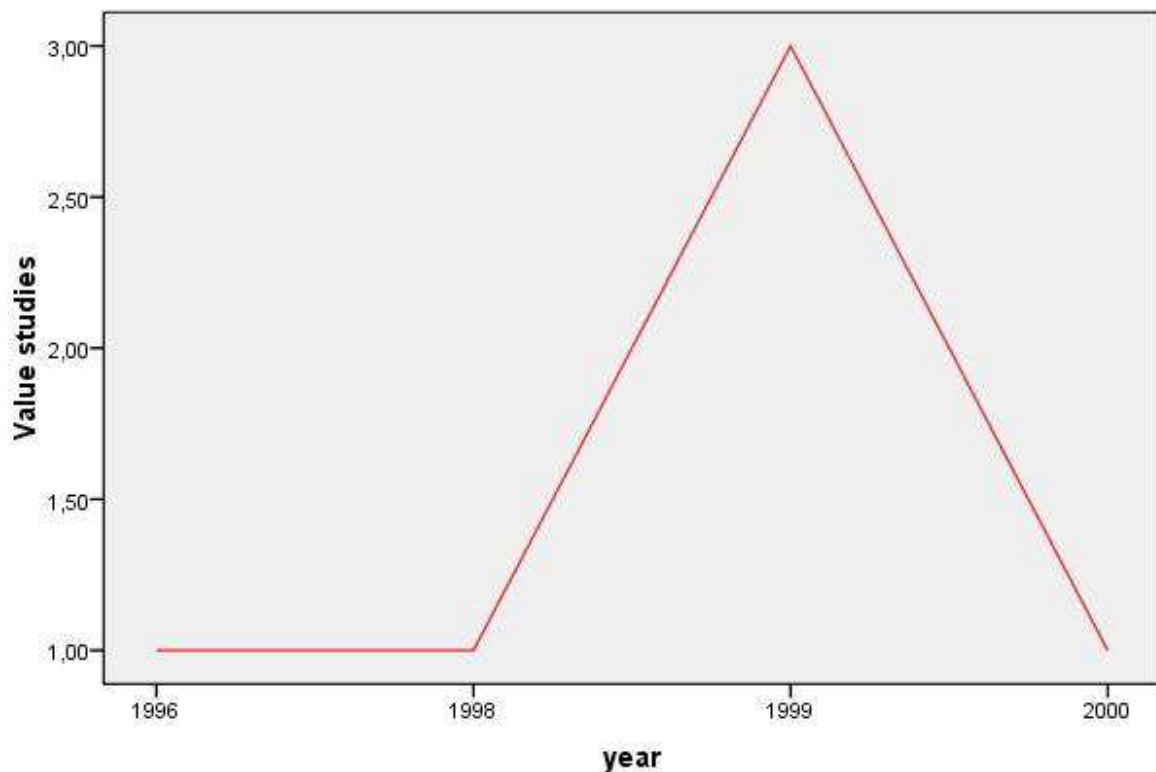
Γ) Η μετά-ανάλυση φαίνεται να «πυροδοτεί» το ρυθμό δημοσίευσης σχετικών ΜΓΣ, όπως στην περίπτωση της σχέσης μεταξύ Ισχαιμικού ΑΕΕ και Factor V Leiden (γράφημα).



Γράφημα 17
Η περίπτωση του ΙΑΕΕ και του πολυμορφισμού G1691A στο γονίδιο FV.
Αριθμός ΜΓΣ που συμπεριέλαβαν οι 1^η και η 2^η μετά-ανάλυση.
Η μετά-ανάλυση φαίνεται να «πυροδοτεί» το ρυθμό δημοσίευσης σχετικών ΜΓΣ

Στο γράφημα που ακολουθεί, παριστάνεται ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ ανά έτος, πριν τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης, για το συγκεκριμένο ζεύγος νοσήματος-πολυμορφισμού:

pro meta-analysis

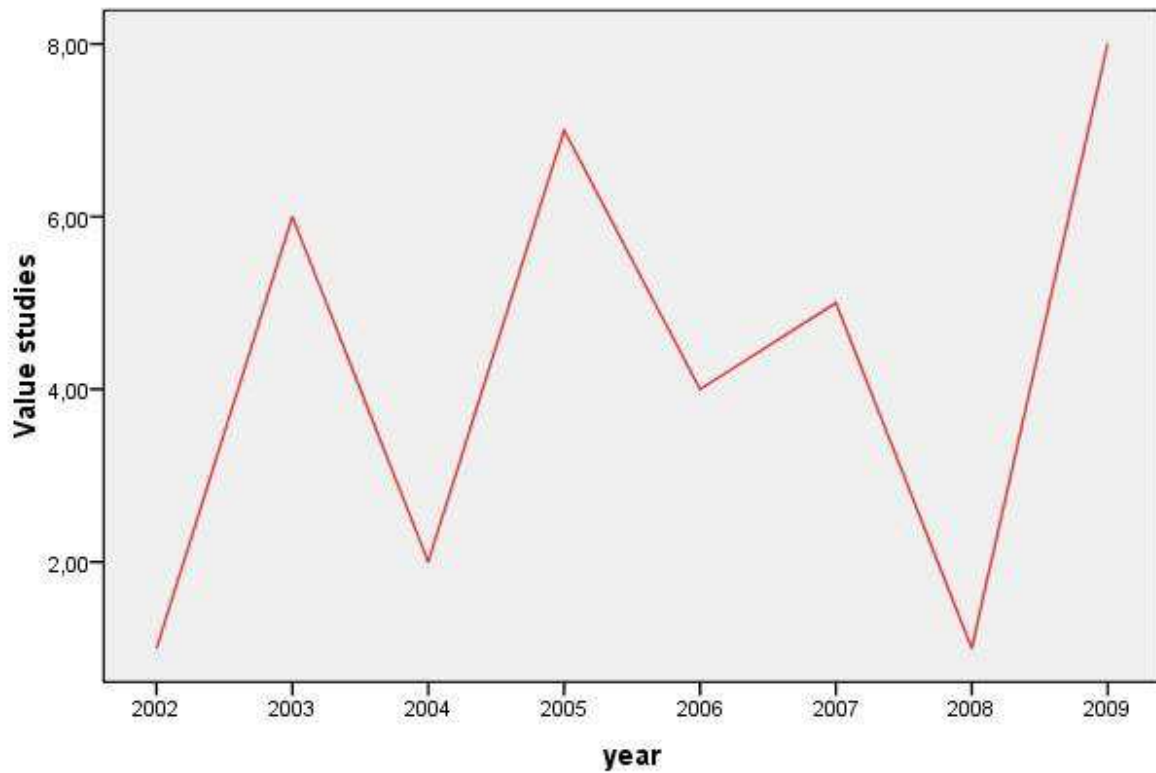


Γράφημα 18

Η περίπτωση του ΙΑΕΕ και του πολυμορφισμού G1691A στο γονίδιο FV.
Ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ ανά έτος πριν τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης

Στο γράφημα που ακολουθεί, παριστάνεται ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ μετά τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης:

after meta-analysis



Γράφημα 19

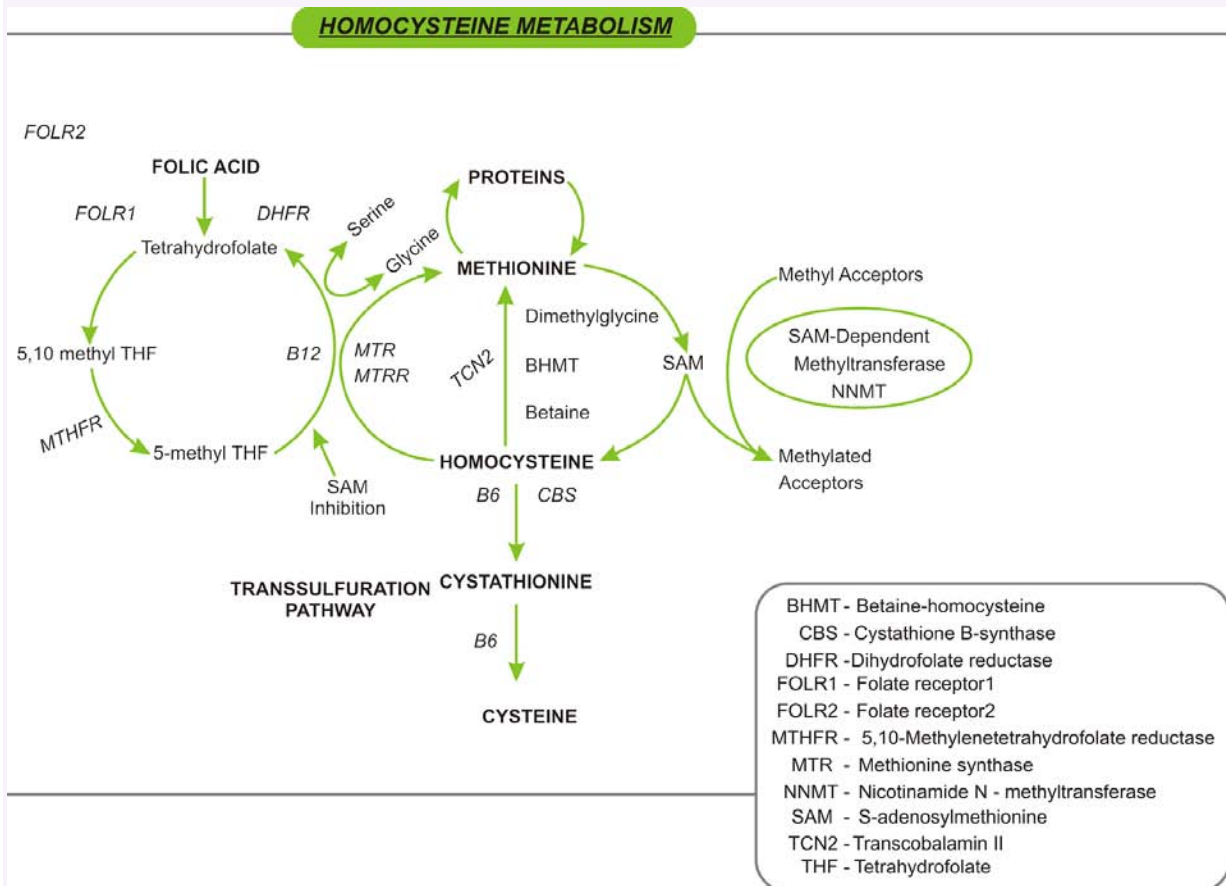
Η περίπτωση του ΙΑΕΕ και του πολυμορφισμού G1691A στο γονίδιο FV.
Ο ρυθμός δημοσίευσης ΜΓΣ ανά έτος μετά τη δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης

Μετά-αναλύσεις και συγκρίσεις ποιοτικών χαρακτηριστικών ανά νόσημα και ανά κατηγορία νοσημάτων.

Νοσήματα πεπτικού

Το γονίδιο MTHFR και οι πολυμορφισμοί του.

Η αναγωγή του Μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού (Methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) είναι ένα ένζυμο το οποίο βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Η MTHFR περιέχει ως συμπράγοντα μια φλαβίνη και χρησιμοποιεί ως αναγωγικούς παράγοντες NADH και NADPH. Η MTHFR ανάγει, μη αντιστρεπτά, το 5,10-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικό (υπόστρωμα) προς 5-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικό. Το 5-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικό χρησιμοποιείται για τη μετατροπή της ομοκυστεΐνης (ενός δυνάμει τοξικού αμινοξέος) προς μεθειονίνη, με τη δράση του ενζύμου συνθάση της μεθειονίνης. (σχ.) Το ένζυμο MTHFR περιορίζει τη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης στο αίμα, εμποδίζοντας την τοξική δράση της τελευταίας προς το ενδοθηλιακό τοίχωμα των αγγείων.



Γράφημα 20
Το μεταβολικό μονοπάτι της ομοκυστεΐνης

Στο γονίδιο της MTHFR ,το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 1, απαντώνται τουλάχιστον δύο λειτουργικοί πολυμορφισμοί:

- ο πολυμορφισμός C677T (εξόνιο 4 στο κωδώνιο 222), στον οποίο η αντικατάσταση C > T στη θέση 677 οδηγεί σε αντικατάσταση της αλανίνης από βαλίνη.
- ο πολυμορφισμός A1298C (εξόνιο 7 στο κωδώνιο 429), στον οποίο η αντικατάσταση A > C οδηγεί σε αντικατάσταση της γλουταμίνης από αλανίνη.

Το αλληλίο 677T σχετίζεται με μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου, ελαττωμένα επίπεδα φολικού οξέος στον ορό, το πλάσμα και τα ερυθροκύτταρα καθώς και ελαφρά αυξημένα επίπεδα της ολικής ομοκυστεΐνης (tHcy) στον ορό. [126]

Ο έτερος πολυμορφισμός 1298A>C επηρεάζει επίσης την ενεργότητα της MTHFR, αλλά δεν συνδέεται με αυξημένα επίπεδα tHcy ή μειωμένα επίπεδα φολικού. [127] Η φυσιολογική δραστηριότητα του ενζύμου είναι κριτικής σημασίας, προκειμένου να διατηρούνται σταθερά τα επίπεδα της μεθειονίνης και του φολικού οξέος και να αποτρέπεται η συσσώρευση της Hcy.[126]

Η διπλή ομοζυγωτία και για τους δύο πολυμορφισμούς έχει ως αποτέλεσμα μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου, εν συγκρίσει με την ετεροζυγωτική κατάσταση για κάθε μεταλλαγμένο αλληλίο χωριστά. [128] Οι ομοζυγώτες 677TT παρουσιάζουν περίπου το 30% της ενεργότητας του ενζύμου σε σχέση με τα άτομα που φέρουν το γονότυπο 677CC, ενώ οι ετεροζυγώτες 677CT περίπου το 65%. [129]

Τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο αίμα βρίσκονται σε συνάρτηση με το φύλο και την ηλικία. [130] Είναι υψηλότερα στους άντρες από ότι στις γυναίκες, [131] ενώ αυξάνονται από 10.8 μmol/L στην ηλικία των 40-42 στα 12.4 μmol/L στην ηλικία μεταξύ 65 και 67 ετών.[132] Η υπερομοκυστεϊναιμία ταξινομείται ως ήπια (15-30 μmol/L), μέτρια (31-100 μmol/L) και σοβαρή (>100 μmol/L).[133] Παρατηρείται σε ένα 5% περίπου του γενικού πληθυσμού και έχει συσχετιστεί με πλήθος νοσολογικών οντοτήτων [130], οι κυριότερες εκ των οποίων συνοψίζονται στον πίνακα

Συγγενείς διαμαρτίες του νωτιαίου σωλήνα (π.χ. δισχιδής ράχη)
Συγγενείς κρανιοπροσωπικές ανωμαλίες
Συγγενείς διαμαρτίες του καρδιαγγειακού συστήματος
Καρδιαγγειακές παθήσεις (στεφανιαία νόσος, έμφραγμα του μυοκαρδίου, αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση)
Σύνδρομο Down
Κακοήθειες νεοπλασίες (μαστού, παχέος εντέρου, στομάχου κ.α.)
Νόσος Alzheimer, αγγειακές άνοιες
Καταθλιπτικές διαταραχές
Σακχαρώδης Διαβήτης
Προεκλαμψία, καθ'έξιν αποβολές

Πίνακας 9

Νοσήματα που σχετίζονται με την υπερομοκυστεϊναιμία και τους πολυμορφισμούς 677C>T και 1298A>C στο γονίδιο MTHFR

Ο πολυμορφισμός C677T και ο κίνδυνος ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου

Το φολικό οξύ αποτελεί βασικό συστατικό πολλών φρούτων και λαχανικών. [134] Αρκετές μελέτες έχουν συνδέσει την ελαττωμένη πρόσληψη του με αυξημένη πιθανότητα προσβολής από κακοήγη νεοπλασμάτα του κόλου και του ορθού. [135, 136] Πρώτοι οι Lashner και συνεργάτες [137] παρατήρησαν σε μία μελέτη ασθενών-μαρτύρων, πως ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα οι οποίοι δεν ελάμβαναν συμπλήρωμα διατροφής με φολικό οξύ, εμφάνιζαν 2.5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου, σε σύγκριση με εκείνους που ελάμβαναν τακτικά. “Εκτοτε, πολλές μελέτες έχουν ανιχνεύσει συσχέτιση ανάμεσα στην διαιτητική πρόσληψη του φολικού και τον ορθοκολικό καρκίνο ή τους αδενωματούδεις πολύποδες, που αποτελούν συχνά πρόδρομη κατάσταση αυτού. [138]

Παρόλο που ο ακριβής τρόπος με τον οποίο η ανεπάρκεια του φολικού οξέος προάγει την καρκινογένεση δεν είναι απόλυτα γνωστός, αρκετοί παθογενετικοί μηχανισμοί έχουν κατά καιρούς προταθεί. [139] Πρώτον, το φολικό οξύ συμμετέχει στη σύνθεση της S-αδενοσυλμεθειονίνης, ενός συνενζύμου το οποίο μετέχει σε περισσότερες από 100 βιοχημικές αντιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης και της μεθυλίωσης του DNA. [139] Επιπρόσθετα, η μειωμένη πρόσληψη του φολικού πιθανά συνδέεται με ολική ή περιοχική υπομεθυλίωση του DNA, η οποία αποτελεί πρώιμο αλλά και σταθερό συμβάν στην καρκινογένεση. [140] Η υπομεθυλίωση του γενετικού υλικού έχει αναφερθεί πως σχετίζεται με γονιδιακή αστάθεια, [141] ανώμαλη χρωματοσωματική δομή [142] και -πιθανά- με ενεργοποίηση πρωτοογκογονιδίων. [143]

Οι μετα-αναλύσεις έχουν δείξει προστατευτικό ρόλο του γονότυπου MTHFR 677TT απέναντι στον κίνδυνο εμφάνισης του ορθοκολικού καρκίνου. [144] Ωστόσο αρκετές μελέτες υποστηρίζουν πως η προστασία αυτή παύει να υφίσταται σε άτομα που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες αλκοόλ και/ή ανεπαρκείς ποσότητες φολικού οξέος. [145]

Το 2001, η μετα-ανάλυση από τους Houlston και Tomlinson [115] τεκμηρίωσε προστατευτικό ρόλο του εν λόγω πολυμορφισμού, σε ότι αφορά τους ομοζυγώτες TT. Οι όροι αναζήτησης που χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό σχετικών εργασιών στο Pubmed, ήταν οι εξής: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“colorectal neoplasms” or “colorectal cancer” or “colon cancer”) and (“MTHFR” or “methylenetetrahydrofolate reductase”) (2002/08 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 144 άρθρα από τα οποία κατάλληλα για μετα-ανάλυση κρίθηκαν τα 34.

Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς TT/CT/CC			Μάρτυρες TT/CT/CC		
Battistelli, 2006 [146]	Ιταλία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	93/100/193	ναι	21	40	32	19	51	30
Cao, 2008 [147]	Κίνα	Ασιάτες	Ορθοκολικό Ca	315/371/686	ναι	52	154	109	66	183	121
Chang, 2007 [148]	Ταϊβάν	Ασιάτες	Ορθοκολικό Ca	195/195/390	ναι	24	86	85	16	87	92
Curtin, 2004 [149]	ΗΠΑ	Μεικτοί	Ca κόλου	1608/1972/3580	ναι	150	724	734	227	858	887
Eklöf, 2007 [150]	Σουηδία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	220/414/634	ναι	12	85	123	42	160	212
EI Awady, 2009 [151]	Αίγυπτος	Άραβες	Ορθοκολικό Ca	35/68/103	ναι	6	23	6	4	20	44
Fernandez-Peralta, 2009 [152]	Ισπανία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	143/103/246	ναι	2	52	89	4	50	44

Hubner,2007 [153]	Η.Β.	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	1685/2692/4377	ναι	183	759	743	326	1193	1173
Iacopeta,2009 [154]	Αυστραλία	Μεικτοί	Ορθοκολικό Ca	850/958/1808	ναι	82	386	382	101	429	428
Jiang,2005 [155]	Κίνα	Ασιάτες	Ορθοκολικό Ca	125/339/464	όχι	15	59	51	62	143	134
Keku,2002 [156]	ΗΠΑ	Μεικτοί	Ca κόλου	552/868/1420	ναι	27	183	342	57	282	529
Kim,2004 [157]	Ν.Κορέα	Ασιάτες	Ορθοκολικό Ca	243/225/468	ναι	35	122	86	33	109	83
Koushik,2006 [158]	ΗΠΑ	δ/α	Ορθοκολικό Ca	349/794/1143	όχι	38	145	166	112	327	355
Kury,2008 [159]	Γαλλία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	1023/1121/2144	ναι	136	452	435	149	515	457
Landi,2005 [160]	Ισπανία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	350/309/659	ναι	64	158	128	61	139	109
Le Marchand,2005 [161]	ΗΠΑ	Μεικτοί	Ορθοκολικό Ca	800/2021/2821	όχι	87	329	384	255	779	987
Lima,2007 [162]	Βραζιλία	Μεικτοί	Ορθοκολικό Ca	102/300/402	ναι	15	46	41	30	127	143
Derwinger,2009 [163]	Σουηδία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	544/299/843	ναι	55	216	273	25	107	167
Haghighi,2009 [164]	Ιράν	Άραβες	Ορθοκολικό Ca	234/257/491	ναι	49	68	117	63	118	76
Matsuo,2005 [165]	Ιαπωνία	Ασιάτες	Ορθοκολικό Ca	257/771/1028	ναι	39	114	106	134	348	289
Mokarram,2008 [166]	Ιράν	Άραβες	Ορθοκολικό Ca	151/81/232	ναι	7	80	64	10	31	40
Otani,2005 [167]	Ιαπωνία	Ασιάτες	Ορθοκολικό Ca	107/224/331	ναι	25	49	32	57	114	51
Plaschke,2003 [168]	Γερμανία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	287/346/633	ναι	34	120	133	38	159	149
Pufuelte,2003 [169]	Η.Β.	δ/α	Ορθοκολικό Ca	28/76/104	ναι	6	6	16	6	29	41
Sache,2002 [170]	Η.Β.	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	490/592/1082	ναι	53	199	238	49	272	271
Sharp,2008 [171]	Η.Β.	δ/α	Ορθοκολικό Ca	251/394/645	ναι	23	111	117	47	177	170
Theodoratou,2008 [172]	Η.Β.	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	999/1010/2009	ναι	111	441	447	116	455	439
Toffoli,2003 [173]	Ιταλία	Λευκοί	Ca κόλου	276/279/555	ναι	38	145	93	56	140	83
Ulvik,2004 [174]	Νορβηγία	Λευκοί	Ορθοκολικό Ca	2168/2168/4336	ναι	157	899	1103	212	886	1092
Wang,2006 [175]	Ινδία	Ινδοί	Ορθοκολικό Ca	302/291/593	ναι	2	43	257	0	36	255
Yin,2004 [176]	Ιαπωνία	Ασιάτες	Ορθοκολικό Ca	685/778/1463	ναι	85	330	270	133	367	278
Zeybek,2007 [177]	Τουρκία	Τούρκοι	Ορθοκολικό Ca	52/144/196	ναι	7	27	18	15	65	64
de Vogel,2009 [178]	Ολλανδία	δ/α	Ορθοκολικό Ca	689/1793/2482	ναι	51	320	318	167	750	876
Gallergos-Arreola,2009 [179]	Μεξικό	Λατίνοι	Ορθοκολικό Ca	369/170/539	ναι	119	126	124	32	79	59

Πίνακας 10

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση

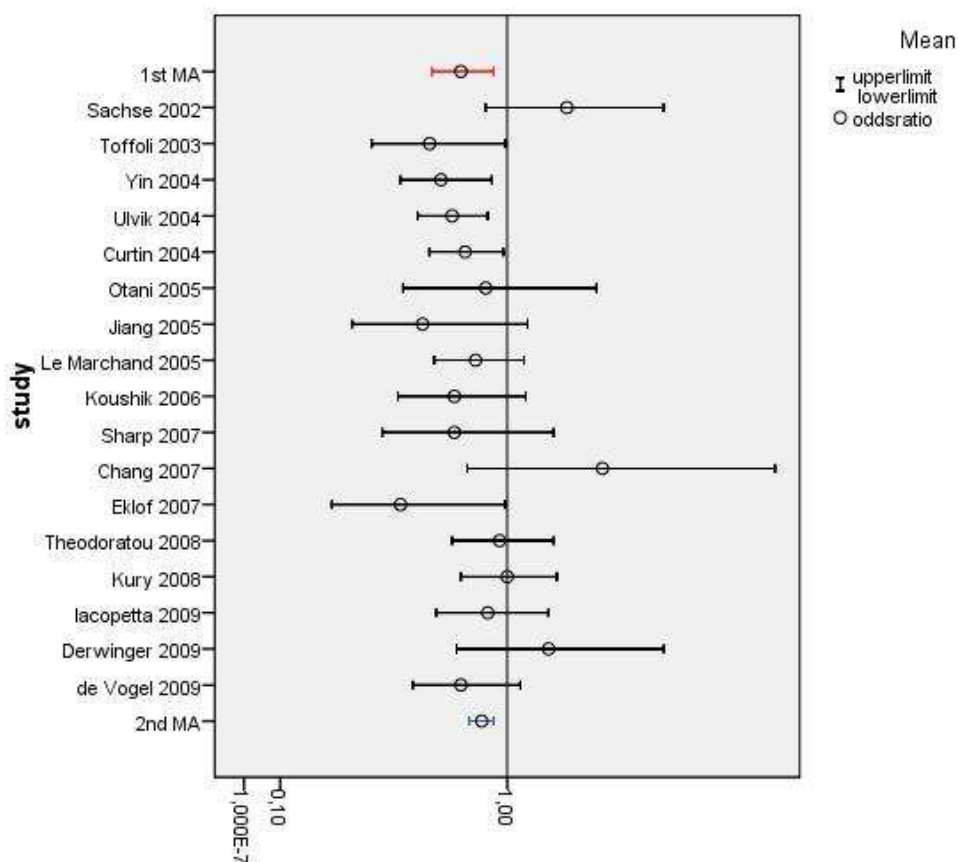
Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης φαίνονται στον πίνακα:

Μελέτη, έτος	O.R. (C.I.)	Μελέτη,έτος (συνέχεια)	O.R. (C.I.)
Sachse,2002	1.34(0.89-2.02)	Zeybek,2007	1.33(0.51-3.49)
Keku,2002	0.73(0.45-1.17)	Lima,2007	1.55(0.79-3.01)
Pufuelte,2003	3.18(0.93-10.87)	Chang,2007	1.57(0.80-3.05)
Toffoli,2003	0.63(0.40-0.99)	Sharp,2007	0.74(0.44-1.26)
Plaschke,2003	1.08(0.66-1.78)	Eklof,2007	0.51(0.26-0.99)
Kim,2004	0.97(0.58-1.63)	Hubner,2007	0.88(0.72-1.07)

Yin,2004	0.68(0.51-0.92)	Mokarram,2008	0.34(0.12-0.94)	
Curtin,2004	0.79(0.63-0.98)	Cao,2008	0.91(0.61-1.35)	
Ulvik,2004	0.73(0.58-0.90)	Kury,2008	1.00(0.77-1.28)	
Otani,2005	0.89(0.52-1.53)	Theodoratou,2008	0.96(0.73-1.26)	
Jiang,2005	0.60(0.33-1.11)	El Awady,2009	3.31(0.86-12.63)	
Matsuo,2005	0.77(0.52-1.15)	Fernandez-Peralta,2009	0.14(0.03-0.70)	
Landi,2005	0.90(0.61-1.34)	Haghighi,2009	0.81(0.53-1.24)	
Le Marchand,2005	0.84(0.65-1.09)	Gallergos-Arreola,2009	2.05(1.31-3.19)	
Battistelli,2006	1.24(0.61-2.49)	Derwinger,2009	1.23(0.75-2.02)	
Koushik,2006	0.74(0.50-1.10)	de Vogel,2009	0.77(0.56-1.07)	
Wang,2006	3.89(0.17-86.70)	Iacopetta,2009	0.90(0.66-1.23)	
MA	Fixed effects Model	Random effects Model	Ετερογένεια	Ανάλυση Ευαισθησίας F.E. 0.88 (0.82-0.94) R.E. 0.91 (0.82-1.02)
	0.87 (0.81-0.93)	0.89 (0.81-0.99)	46%	

Πίνακας 11

Η 2^η μετα-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η και ταυτόχρονα τον προστατευτικό ρόλο του γονότυπου TT έναντι του κινδύνου ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου. Οι διάμεσοι των συμμετεχόντων στις δύο μετα-αναλύσεις δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, σε αντίθεση με τα ποσοστά συμμόρφωσης στην ισορροπία HWE. Όταν αποκλείονται από τη μετα-ανάλυση, οι μελέτες που δεν παρουσιάζουν συμμόρφωση στο HWE, η σημαντικότητα διατηρείται για το μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων, χάνεται όμως οριακά για εκείνο των τυχαίων.



Γράφημα 21

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και του ορθοκολικού καρκίνου. Η σημαντικότητα διατηρείται.

Σημείωση: Στο γράφημα δεν απεικονίζονται όλες οι μελέτες

Νόσημα: Ορθοκολικός καρκίνος
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Houlston, 2001	H.B., μεικτοί	4	1949/3099/5048	F.E. 0.77(0.64-0.93) recessive	P=0.56	2/4	649.5	Όχι/p=1.0
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	34	16577/22523/39100	F.E. 0.87 (0.81-0.93) R.E. 0.89 (0.81-0.99)	46%	7/34	31/34	639.5	Ναι/p=0.02	Όχι/p=0.2

Πίνακας 12

Ο πολυμορφισμός APC:I1307K και ο κίνδυνος εμφάνισης ορθοκολικού καρκίνου

Ο πολυμορφισμός APC:I1307K ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά ανάμεσα τους Εβραίους Ashkenazi. Αποτελεί μία T>A αντικατάσταση στη θέση 3920 του γονιδίου APC, η οποία μετατρέπει την ακολουθία AAATAAAA σε (A)8, με συνέπεια την αντικατάσταση της λυσίνης από ισολευκίνη στο κωδόνιο 1307.[180] Παρά το γεγονός πως η αλλαγή αυτή δε φαίνεται να επηρεάζει τη λειτουργία της πρωτεΐνης, η περιοχή (A)8 είναι ασταθής και πιθανώς αυξάνεται ο ρυθμός σωματικών μεταλλάξεων εντός αυτής.[181] Κάποιοι ερευνητές, υπολόγισαν πως ο εν λόγω πολυμορφισμός, ίσως αυξάνει μέχρι και στο διπλάσιο τον κίνδυνο ανάπτυξης ορθοκολικών νεοπλασμάτων.[180]

Η μετά-ανάλυση [115] του 2001 από τους Houlston και συνεργ., εντόπισε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον πολυμορφισμό APC:I1307K και τον σποραδικό, ορθοκολικό καρκίνο. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“colorectal neoplasms” or “colorectal cancer” or “colorectal adenoma”) and (“adenomatosis polyposis coli” or “APC”) and “I1307K” (2002/08 έως 2009/12). Από τις 22 μελέτες που εντοπίστηκαν, 6 κρίθηκαν κατάλληλες για μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς Φορείς/Σύνολο		Μάρτυρες Φορείς/Σύνολο	
Bougatef, 2009 [182]	Τυνησία	Άραβες	OK	48/63/111	δ/α	1	48	0	63
Dundar, 2007 [183]	Τουρκία	Τούρκοι	OK	56/18/74	δ/α	30	56	0	18
Fidder, 2005 [184]	Ισραήλ	Εβραίοι	OK	538/440/978	δ/α	42	538	16	440
Niell, 2003 [185]	Ισραήλ	Εβραίοι	OK	83/83/166	δ/α	54	83	31	83
Strul, 2003 [186]	Ισραήλ	Εβραίοι	OK	113/204/317	δ/α	12	113	17	204
Zauber, 2005 [187]	Ισραήλ	Εβραίοι	OK	74/355/429	δ/α	12	74	42	355

Πίνακας 13

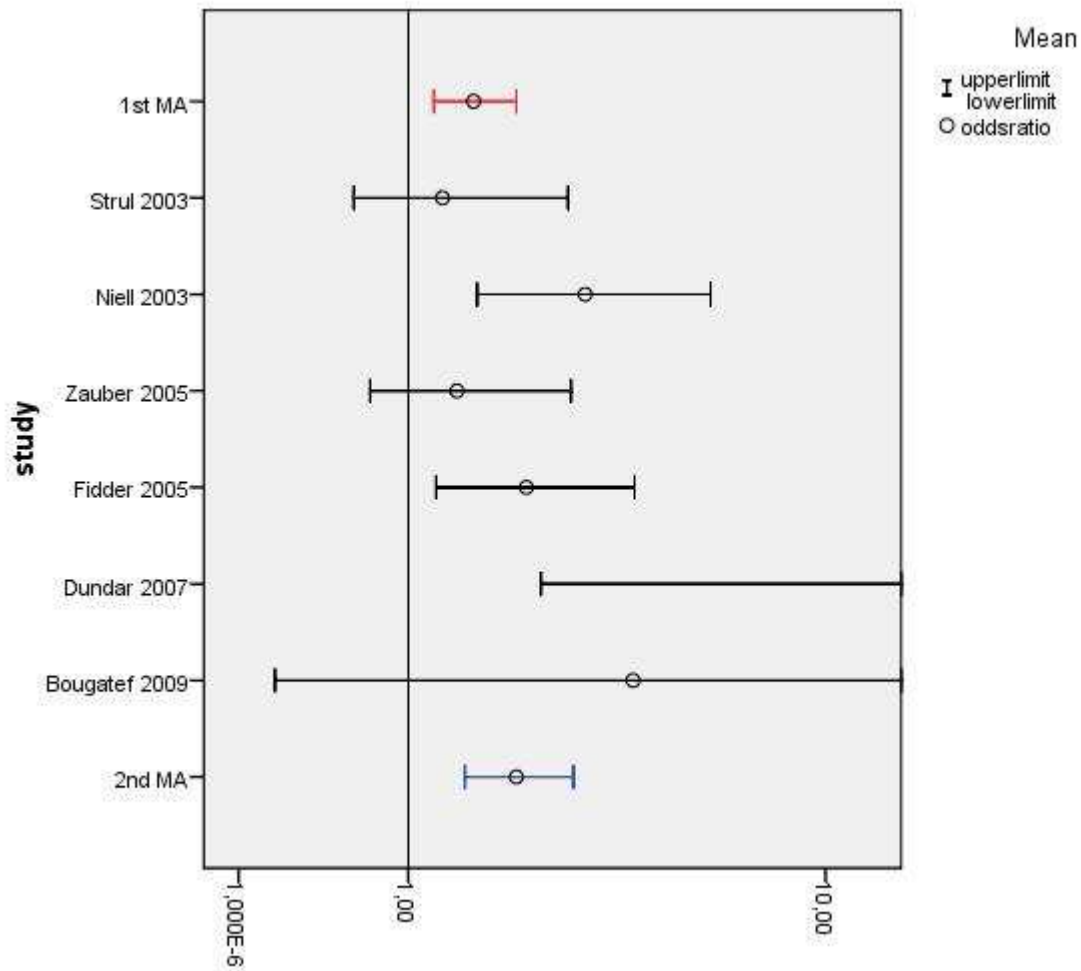
**Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση
OK= ορθοκολικός καρκίνος**

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει τη σημαντική συσχέτιση πολυμορφισμού και νοσήματος. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.04$) στις διάμεσους των συμμετεχόντων, υπέρ της 1^{ης} μετά-ανάλυσης (977 έναντι 241.5). Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα:

μελέτη	Έτος	O.R.(C.I.)	
Bougatef	2009	4.01(0.16-100.63)	
Dundar	2007	42.58(2.44-741.24)	
Fidder	2005	2.24(1.24-4.04)	
Niell	2003	3.12(1.65-5.88)	
Strul	2003	1.30(0.60-2.84)	
Zauber	2005	1.44(0.71-2.89)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²
	2.11(1.52-2.93)	2.15(1.33-3.47)	41.3%

Πίνακας 14

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 22
Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού APC:I1307K και του ορθοκολικού καρκίνου
Η σημαντικότητα παραμένει

Νόσημα: Ορθοκολικός καρκίνος
 Γονίδιο: APC
 Πολυμορφισμός: I1307K

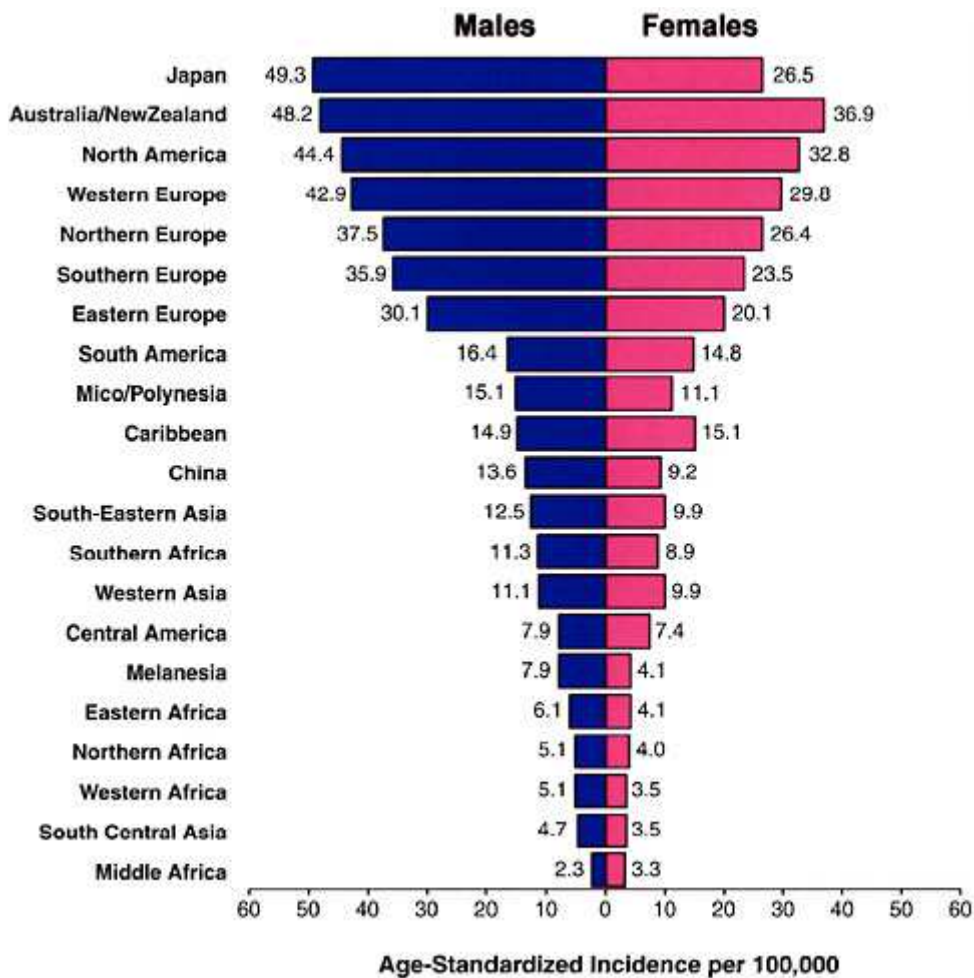
1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Houlston, 2001	H.B. ,μικτοί	3	670/5786/6456	F.E. 1.61(1.22-2.11) allele	p=0.78	Δεν αναφέρεται	977	Ναι/p=0.04
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	6	912/1163/2075	F.E. 2.11(1.52-2.93) R.E. 2.15(1.33-3.47)	41.3%	3/6	Δεν αναφέρεται	241.5	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Όχι/p=0.2

Πίνακας 15

Ο πολυμορφισμός VNTR στο γονίδιο HRAS-1 και ο κίνδυνος ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου

Πάνω από 30 διαφορετικά αλληλία του HRAS-VNTR έχουν μέχρι σήμερα περιγραφεί.[188] Τα 4 συχνότερα αντιπροσωπεύουν πάνω από το 90% του συνόλου των αλληλιών και χρησιμεύουν ως πρόγονοι σπάνιων αλληλόμορφων.[188] Τα σπάνια αλληλία έχουν ενοχοποιηθεί ως παράγοντες κινδύνου για διάφορους καρκίνους [189], μεταξύ των οποίων και αυτός του παχέος εντέρου. [115]

Η μετά-ανάλυση [115] του 2001 από τους Houlston και συνεργ., εντόπισε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον πολυμορφισμό HRAS-1 VNTR και τον σποραδικό, ορθοκολικό καρκίνο. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“colorectal neoplasms” or “colorectal cancer” or “colon cancer”) and (“HRAS1” or “Harvey ras-1”) (2002/08 έως 2009/12). Δε βρέθηκε μελέτη που να πληρεί τα κριτήρια συμπερίληψης στη μετά-ανάλυση.



Γράφημα 23
Η παγκόσμια επίπτωση του ορθοκολικού καρκίνου

Ο πολυμορφισμός C677T και ο κίνδυνος ανάπτυξης γαστρικού καρκίνου

Ο γαστρικός καρκίνος αποτελεί το 2^ο σε συχνότητα κακόηθες νεόπλασμα παγκοσμίως και ευθύνεται για το 12% των θανάτων που αποδίδονται σε καρκίνους κάθε χρόνο. [190] Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει πως χαμηλά επίπεδα φολικού οξέος, βασικού συστατικού λαχανικών και φρούτων, σχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης διαφόρων καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου και αυτού του στομάχου. [191] Η μετά-ανάλυση [123] 8 μελετών του 2006 από τους Zintzaras και συνεργ., κατέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο αλληλίο T και τον γαστρικό καρκίνο. Χρησιμοποιήθηκε μια εκτεταμένη στρατηγική αναζήτησης για τον εντοπισμό μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or "genetic variant" or mutant or mutation) and ("gastric cancer" or "stomach cancer" or "gastric cancer adenocarcinoma") and ("MTHFR" or "methylenetetrahydrofolate reductase"). (2007/06 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 16 άρθρα, από τα οποία 5 πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν στη μετά-ανάλυση. Τα κύρια χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς TT/CT/CC			Μάρτυρες TT/CT/CC		
Boccia, 2007 [192]	Ιταλία	Καυκάσιοι	Γαστρικό αδενόσα	102/254/356	Ναι	22	51	29	41	115	98
Gotze, 2007 [193]	Γερμανία	Καυκάσιοι	Γαστρικός καρκίνος	103/106/209	Ναι	12	45	46	16	49	41
Portillo, 2009 [194]	Μεξικό	Λατίνοι	Γαστρικό αδενόσα	248/478/726	Ναι	79	132	37	172	217	89
Vollset, 2007 [195]	Διάφορες	δ/α	Γαστρικό αδενόσα	245/619/864	Ναι	32	104	109	94	277	248
Zeybek, 2007 [177]	Τουρκία	Τούρκοι	Γαστρικός καρκίνος	35/144/179	Ναι	5	12	18	15	65	64

Πίνακας 16

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση

Η 2η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει την 1η για κανένα από τα εξεταζόμενα γενετικά μοντέλα. Τα O.R.s και 95% C.I. των 2 μετά-αναλύσεων παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά, συγκρινόμενα μεταξύ τους με το z-test ($p=0.02$). Αντίθετα, οι διάμεσοι των συμμετεχόντων και τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE δε διέφεραν σημαντικά.

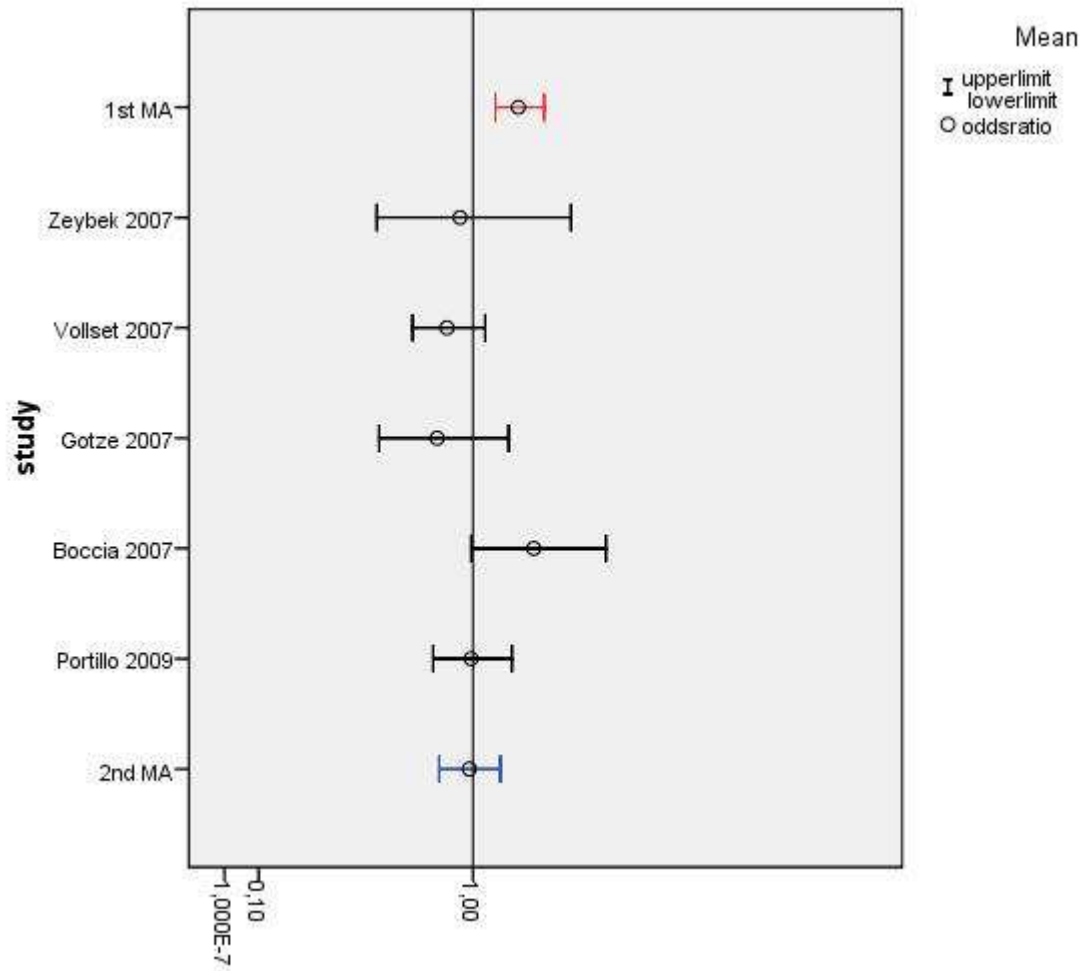
Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης φαίνονται στον πίνακα:

Μοντέλο αλληλίων

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)		
Zeybek	2007	0.93(0.53-1.63)		
Boccia	2007	1.37(0.99-1.90)		
Goltze	2007	0.81(0.54-1.21)		
Vollset	2007	0.86(0.69-1.07)		
Portillo	2009	0.99(0.79-1.23)		
M.A.	F.E.	O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²
		0.97(0.85-1.10)	0.98(0.82-1.16)	34%

Πίνακας 17

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 24
Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και Γαστρικού Καρκίνου
Η σημαντικότητα χάνεται.

Νόσημα: Γαστρικός Καρκίνος
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zintzaras, 2006	Ελλάδα, μεικτοί	8	1584/2785/4369	R.E. 1.27(1.13-1.44) allele	40%	5/8	582.5	Όχι/p=1.0
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	5	733/1601/2334	R.E. 0.98(0.82-1.16) allele	34%	0/5	5/5	356	Όχι/p=0.1	ναι/p=0.02

Πίνακας 18

Σημείωση: Η 1^η μετα-ανάλυση δεν επιβεβαιώνεται ούτε ως προς τα άλλα γενετικά μοντέλα (dominant, recessive)

Ο πολυμορφισμός IL-1RA VNTR και ο κίνδυνος ανάπτυξης ελκώδους κολίτιδας

Η ελκώδης κολίτιδα (ΕΚ), νόσημα το οποίο ανήκει στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου (ΙΦΝΕ), εμφανίζει επίπτωση 150-200 ασθενείς ανά 100.000 κατοίκους, στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική.[196] Ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 1 (IL-1ra) είναι κυτοκίνη η οποία ελαττώνει τη δραστηριότητα της ιντερλευκίνης 1, συνδεόμενη με τον υποδοχέα της.[197] Στο ιντρόνιο 2 του γονιδίου που κωδικοποιεί τον IL-1ra, έχει περιγραφεί ο πολυμορφισμός VNTR.[198] Μελέτες έχουν καταγράψει συσχέτιση ανάμεσα στο IL-1ra αλληλίο 2 (δύο επαναλήψεις) και σε ποικίλα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, η ψωρίαση και οι ΙΦΝΕ.[199]

Το 2001, οι Carter και συνεργάτες, σε μία μετά-ανάλυση [111] 8 μελετών, κατέδειξαν οριακά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην ΕΚ και τον πολυμορφισμό σε Καυκάσιους ασθενείς. Η στρατηγική αναζήτησης των μελετών που ακολούθησαν περιέλαβε τους κάτωθι όρους: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and “ulcerative colitis” and “interleukin 1 receptor antagonist”,(2002/04 έως 2009/12). 15 δημοσιεύσεις εντοπίστηκαν και 6 από αυτές κρίθηκαν κατάλληλες για μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος, (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς 2,2/1,2/1,1			Μάρτυρες 2,2/1,2/1,1		
Vijgen,2002 [200]	Βέλγιο	Καυκάσιοι	ΕΚ	124/401/525	Όχι	10	47	56	32	122	233
Nohara,2002 [201]	Ιαπωνία	Ασιάτες	ΕΚ	229/239/468	Ναι	1	22	196	1	18	210
Carter,2004 [202]	ΗΠΑ,Η.Β.	δ/α	ΕΚ	99/54/153	Ναι	5	47	47	4	17	33
Mittal,2005 [203]	Ινδία	Ινδοί	ΕΚ	82/141/223	Όχι	7	26	44	14	40	76
Celik,2006 [204]	Τουρκία	Τούρκοι	ΕΚ	120/105/225	Ναι	8	38	65	8	34	54
Queiroz,2009 [205]	Βραζιλία	Μεικτοί	ΕΚ	42/541/583	Ναι	4	21	17	21	141	378

Πίνακας 19

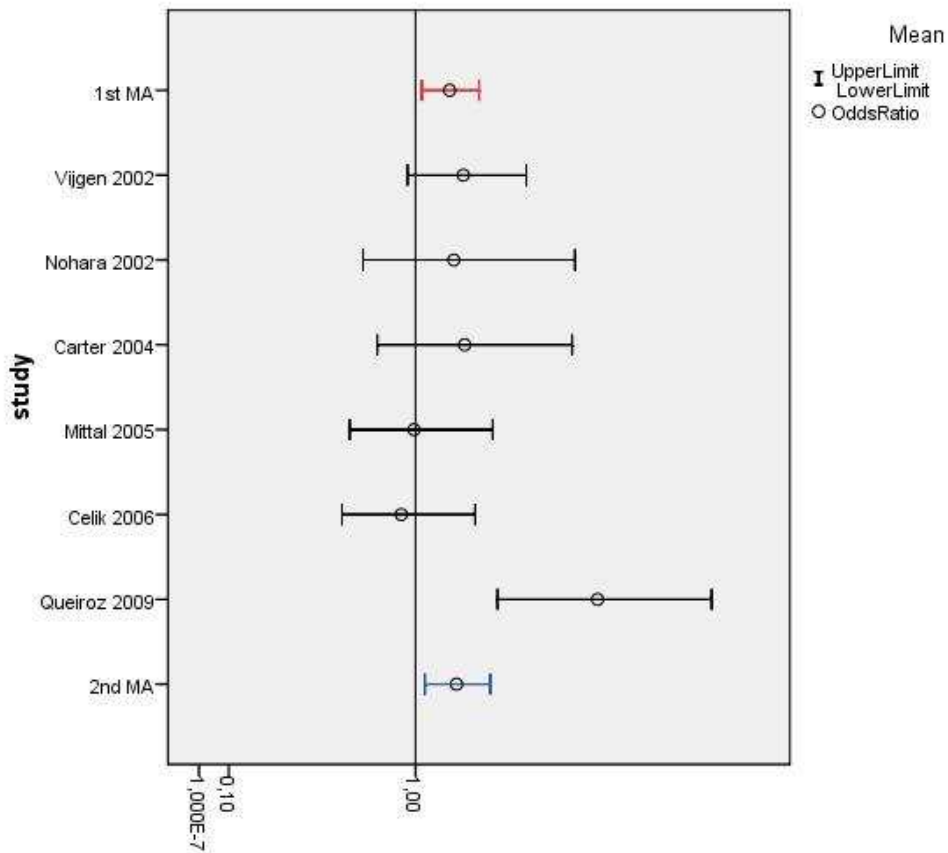
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση
ΕΚ= Ελκώδης Κολίτιδα

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η καθώς η σημαντικότητα διατηρείται. Στατιστικά σημαντικές διαφορές στις διάμεσους των συμμετεχόντων ή στα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE ανάμεσα στις 2 μετά-αναλύσεις, δεν παρατηρούνται. Η ανάλυση ευαισθησίας δεν αλλάζει τα αποτελέσματα ως προς το μοντέλο σταθερών επιδράσεων, ενώ για εκείνο των τυχαίων επιδράσεων η σημαντικότητα παύει να υφίσταται. Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα:

study	year	O.R.(C.I.)			
Vijgen	2002	1.33(0.95-1.85)			
Nohara	2002	1.26(0.69-2.33)			
Carter	2004	1.34(0.77-2.30)			
Mittal	2005	0.99(0.62-1.56)			
Celik	2006	0.91(0.58-1.42)			
Queiroz	2009	2.58(1.60-4.16)			
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²	Ανάλυση Ευαισθησίας	
	F.E.:1.28(1.06-1.54)	R.E: 1.31(0.98-1.75)	57%	F.E. 1.36(1.05-1.76) R.E. 1.41(0.88-2.26) 70%	

Πίνακας 20

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 25
Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού IL-1ra VNTR και της ΕΚ
Η σημαντικότητα διατηρείται

Νόσημα: Ελκώδης Κολίτιδα
Γονίδιο: IL-1RA
Πολυμορφισμός: VNTR

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας , έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά διαμέσων
		Carter,2001	H.B., Καυκάσιοι	8	910/1925/2835	F.E 1.23(1.04-1.45)/allele	P=0.01	8/8	246.5
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)	Ετερογένεια I²	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	6	696/1481/2177	F.E.:1.28(1.06-1.54) R.E: 1.31(0.98-1.75) allele	57%	1/6	4/6	346.5	Όχι/p=0.07	Όχι/p=0.7

Πίνακας 21

Νοσήματα μητέρας-παιδιού

Ο πολυμορφισμός MTHFR C677T και ο κίνδυνος συγγενών διαμαρτιών του νωτιαίου σωλήνα (ΣΔΝΣ) (neural tube defects)

Δεν είναι ακόμη απολύτως σαφές το πώς, ανωμαλίες στον μεταβολικό κύκλο του φολικού οξέος θα μπορούσαν να προκαλέσουν διαμαρτίες κατά την εμβρυογένεση. Ωστόσο, η ανεπαρκής μεθυλίωση σημαντικών μεταβολιτών αλλά και η απευθείας τοξική δράση της ομοκυστεΐνης έχουν προταθεί ως πιθανοί παθογενετικοί μηχανισμοί. [206]

Η μετα-ανάλυση του 2000, από τους Botto και Yang [103] καταδεικνύει σημαντικότητα ως προς τη σχέση συγγενών διαμαρτιών του νωτιαίου σωλήνα και του πολυμορφισμού C677T, όταν φορείς του μεταλλαγμένου αλληλίου είναι τόσο τα πάσχουσα τέκνα όσο και οι μητέρες τους, όχι όμως και οι πατέρες τους.

Οι κάτωθι όροι χρησιμοποιήθηκαν ως στρατηγική αναζήτησης των μελετών γενετικής συσχέτισης στο Pubmed: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“spina bifida” or “neural tube defect”) and (MTHFR or “methylenetetrahydrofolate reductase”), (2001/05 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 40 μελέτες, εκ των οποίων κατάλληλες για να συμπεριληφθούν στη μετα-ανάλυση κρίθηκαν 8 σε κάθε σύγκριση (μία για τα τέκνα και μία για τις μητέρες). Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στους πίνακες:

Πάσχοντα Τέκνα

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς			Μάρτυρες		
						TT	CT	CC	TT	CT	CC
Garcia-Fragoso, 2002 [468]	Πουέρτο Ρίκο	Λατίνοι	ΣΔΝΣ	31/100/131	ναι	3	18	10	9	50	41
Pietrzyk, 2003 [207]	Πολωνία	Λευκοί	Δισχιδής ράχη	104/100/204	ναι	13	49	42	6	38	56
Perez, 2003 [208]	Βραζιλία	μεικτοί	Δισχιδής ράχη	131/126/257	ναι	10	62	59	13	45	68
Volcik, 2003 [469]	ΗΠΑ	δ/α	Δισχιδής ράχη	145/260/405	ναι	33	60	52	36	118	106
Kirke, 2004 [470]	Ιρλανδία	δ/α	ΣΔΝΣ	395/848/1243	ναι	73	171	151	83	326	439
Sadewa, 2004 [209]	Ινδονησία	Ασιάτες	εγκεφαλοκήλη	13/47/60	ναι	0	1	12	0	8	39
Mills, 2005 [471]	ΗΠΑ	Μεικτοί	ομφαλοκήλη	25/59/84	ναι	1	13	11	5	16	38
Rendeli, 2006 [210]	Ιταλία	Λευκοί	μυελομηνιγγοκήλη	60/150/210	ναι	13	27	20	21	75	54

Πίνακας 22

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση
ΣΔΝΣ= Συγγενείς Διαμαρτίες Νωτιαίου Σωλήνα

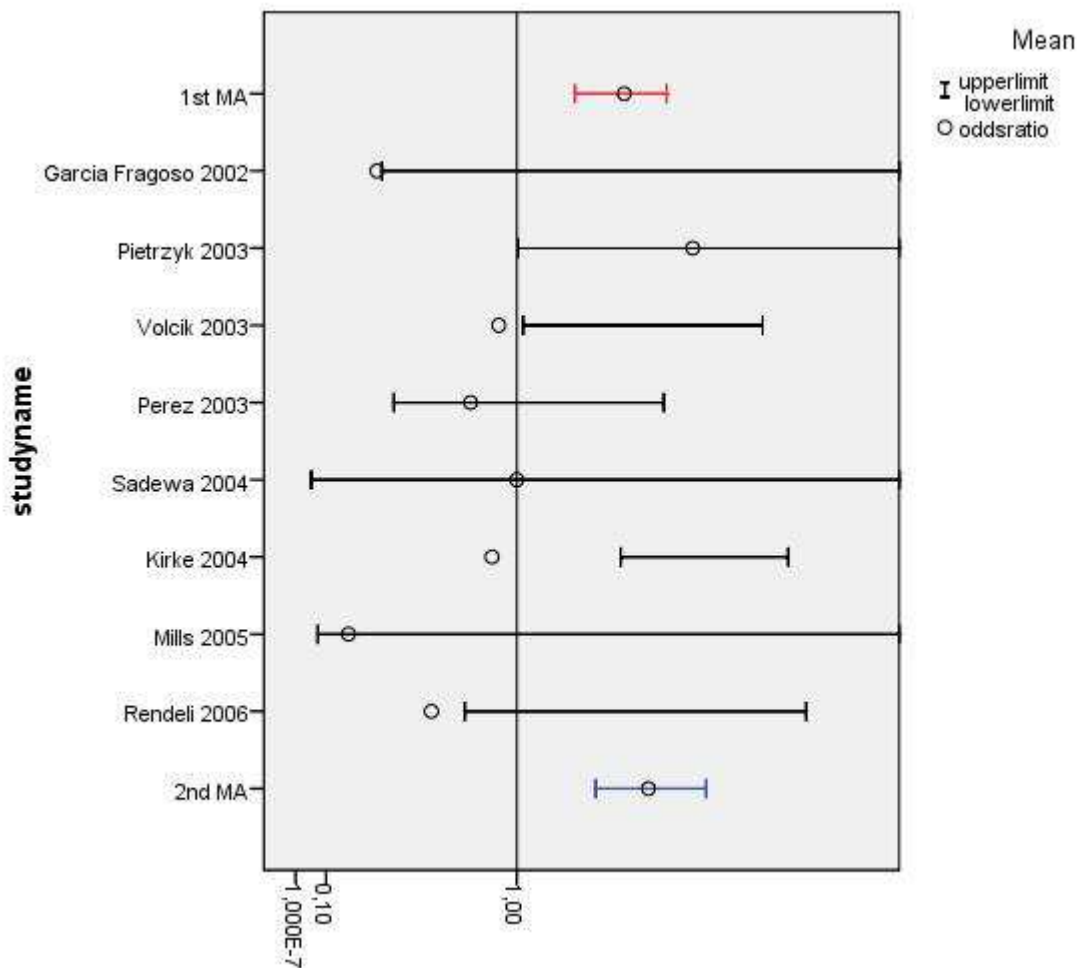
Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης φαίνονται στον πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Garcia-Fragoso	2002	0.29(0.31-5.99)	Mills	2005	0.18(0.072-6.55)
Pietrzyk	2003	2.47(1.01-8.22)	Rendeli	2006	0.53(0.70-3.95)
Volcik	2003	0.89(1.04-3.32)			
Perez	2003	0.73(0.36-2.17)			
Sadewa	2004	1(0.05-167)			
Kirke	2004	0.85(1.77-3.68)			
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²		
	2.02(1.56- 2.62)	2.05(1.58- 2.66)	0		

Πίνακας 23

Η 2^η μετα-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η καθώς καταδεικνύει σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού με το νόσημα. Τόσο οι διάμεσοι των συμμετεχόντων στις δύο μετα-αναλύσεις, όσο και τα ποσοστά συμμόρφωσης των μελετών στην ισορροπία HWE δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και των ΣΔΝΣ, σε ότι αφορά τη φορεία των πασχόντων τέκνων αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 26

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και των ΣΔΝΣ (πάσχοντα τέκνα)

Η σημαντικότητα διατηρείται καθώς η 2^η μετα-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η

Νόσημα: συγγενείς διαμαρτίες νωτιαίου σωλήνα (τέκνα)
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Botto,2000	ΗΠΑ, μεικτοί	12	1251/2629/3977	1.8(1.4-2.2) additive	δ/α	11/12	206,5	Όχι/p=1.0
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	8	944/1798/2692	2.02(1.56-2.62) additive	0	3/8	8/8	207	Όχι/p=0.4	Όχι/p=0.5

Πίνακας 24

Μητέρες πασχόντων τέκνων

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς			Μάρτυρες		
						TT	CT	CC	TT	CT	CC
Garcia-Fragoso,2002[468]	Πουέρτο Ρίκο	Λατίνοι	ΣΔΝΣ	37/100/137	ναι	7	23	7	9	50	41
Pietrzyk,2003 [207]	Πολωνία	Λευκοί	Δισχιδής ράχη	106/100/206	ναι	14	37	55	6	38	56
Perez, 2003 [208]	Βραζιλία	μεικτοί	Δισχιδής ράχη	131/126/257	όχι	9	55	67	2	54	70
Arbour, 2002 [211]	Καναδάς	Άλλοι	Δισχιδής ράχη	74/101/175	ναι	11	31	32	11	38	52
Relton, 2003	H.B.	δ/α	ΣΔΝΣ	211/645/856	ναι	23	78	85	67	254	191
Sadewa,2004 [209]	Ινδονησία	Ασιατες	εγκεφαλοκλήλη	8/47/55	ναι	0	2	6	0	8	39
Relton, 2004	H.B.	δ/α	ΣΔΝΣ	82/169/251	ναι	15	36	31	15	88	66
Dalal,2006 [212]	Ινδία	Άλλοι	ΣΔΝΣ	83/60/143	ναι	6	21	56	3	12	45

Πίνακας 25
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση
ΣΔΝΣ= Συγγενείς Διαμαρτίες Νωτιαίου Σωλήνα

Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης φαίνονται στον πίνακα:

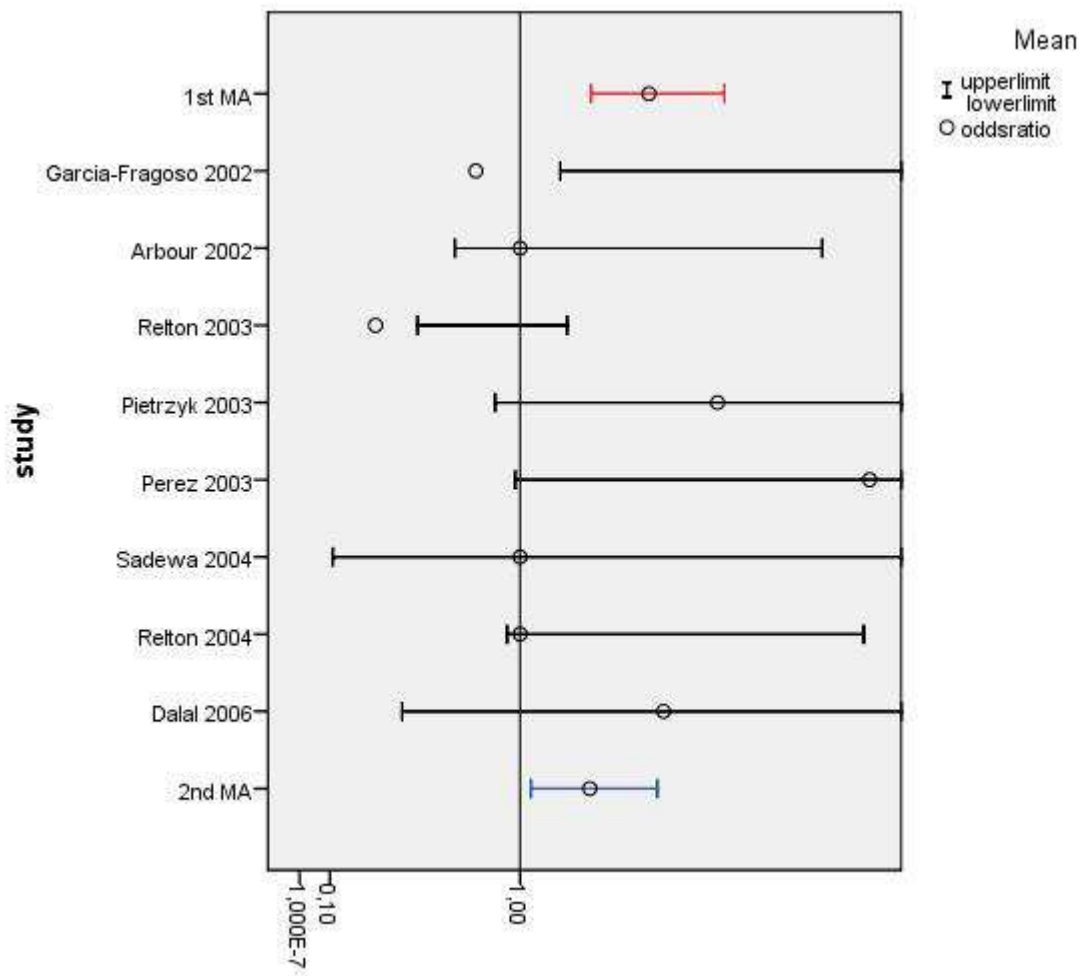
μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Garcia-Fragoso	2002	0.74(1.27-16.25)	Relton	2004	1.0(0.92-4.89)
Arbour	2002	1.0(0.63-4.17)	Dalal	2006	2.14(0.38-6.78)
Pietrzyk	2003	2.72(0.85-6.62)			
Perez	2003	5.0(0.97-22.50)			
Relton	2003	0.27(0.45-1.32)			
Sadewa	2004	1.0(0.11-334)			
M.A.	F.E.	R.E.	I²	Ανάλυση ευαισθησίας	
	1.49(1.97-2.08)	1.88(1.11-3.17)	45%	F.E 1.39(0.99-1.95) R.E.1.71(1.01-2.90)	

Πίνακας 26

Η 2^η μετα-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η καθώς καταδεικνύει σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού με το νόσημα. Τόσο οι διάμεσοι των συμμετεχόντων στις δύο μετα-αναλύσεις, όσο και τα ποσοστά συμμόρφωσης των μελετών στην ισορροπία HWE δε

διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά. Όταν αποκλείεται από τον συγκεντρωτικό λόγο αναλογιών η μία μελέτη [208] που δεν εμφανίζει συμμόρφωση στην ισορροπία HWE (βλ. ανάλυση ευαισθησίας), η σημαντικότητα οριακά χάνεται για το μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων, διατηρείται όμως επίσης οριακά για το μοντέλο τυχαίων αποτελεσμάτων.

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και των ΣΔΝΣ, σε ότι αφορά τη φορεία των μητέρων πασχόντων τέκνων αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 27

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και των ΣΔΝΣ (μητέρες πασχόντων τέκνων)

Η σημαντικότητα διατηρείται καθώς η 2^η μετα-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η.

Νόσημα: συγγενείς ανωμαλίες νευρικού σωλήνα (μητέρες)
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	Botto,2000	ΗΠΑ, μεικτοί	7	603/1352/1955	F.E. 2.0(1.5-2.8) additive	δ/α	7/7	235	Όχι/p=0.6
	8	753/1376/2129	F.E.1.49 (1.07-2.08) additive	45%	1/8	7/8	175	Όχι/p=0.3	Όχι/p=0.3

Πίνακας 27

Ο πολυμορφισμός C677T και ο κίνδυνος ανάπτυξης προεκλαμψίας

Η προεκλαμψία συνιστά μία από τις συχνότερες και πιο σοβαρές επιπλοκές της κυήσεως.[107] Η συσσώρευση νέων δεδομένων υποδηλώνει την εμπλοκή γενετικών παραγόντων στην παθογένεια της νόσου. [213] Η βλάβη του αγγειακού ενδοθηλίου φαίνεται πως αποτελεί σημαντικό γεγονός στην παθοφυσιολογία της προεκλαμψίας.[214] Υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης συνδέονται με αυξημένα ποσοστά αποβολών, ενδομήτριας καθυστέρησης ανάπτυξης (IUGR), πλακουντιακής θρόμβωσης και συγγενών ανωμαλιών. [215]

Σε μία μετα-ανάλυση του 2000 [107], οι Zusterzeel και συνεργάτες απέδειξαν σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού C677T του γονιδίου MTHFR με τον κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας. Οι κάτωθι όροι χρησιμοποιήθηκαν ως στρατηγική αναζήτησης των μελετών γενετικής συσχέτισης στο Pubmed: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and preeclampsia and (“MTHFR” or “methylenetetrahydrofolate reductase”) (2001/11 έως 2009/12). Από τα 63 αποτελέσματα της αναζήτησης, 18 μελέτες πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν στη μετα-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς			Μάρτυρες		
						ΤΤ/CT/CC	ΤΤ/CT/CC	ΤΤ/CT/CC	ΤΤ/CT/CC	ΤΤ/CT/CC	ΤΤ/CT/CC
Morrison, 2002 [216]	Η.Β.	δ/α	προεκλαμψία	404/164/568	ναι	42	193	169	17	66	81
Watanabe, 2001 [217]	Ιαπωνία	Ασιάτες	προεκλαμψία	133/224/357	ναι	34	59	40	32	103	89
Prasmsinto, 2002 [218]	Κροατία Γερμανία	Μεικτοί	προεκλαμψία	81/99/180	ναι	4	25	52	12	35	52
Prasmsinto, 2004 [219]	Κροατία Γερμανία	Μεικτοί	προεκλαμψία	82/116/198	ναι	4	25	53	12	39	65
Pegoraro, 2004 [220]	Ν. Αφρική	Μαύροι	προεκλαμψία	271/338/609	ναι	1	38	232	2	38	298
Perez-Mutul, 2004 [221]	Μεξικό	Λατίνοι	προεκλαμψία	148/490/638	ναι	49	66	33	148	239	103
Williams, 2004 [222]	ΗΠΑ Περου	Λατίνοι	προεκλαμψία	125/179/304	ναι	25	61	37	30	85	62
De Maat, 2004 [223]	Ολλανδία	δ/α	προεκλαμψία	157/157/314	ναι	20	59	78	19	75	63
Yilmaz, 2004 [224]	Τουρκία	Τούρκοι	προεκλαμψία	64/47/111	ναι	7	28	29	6	17	24
Also-Rallo, 2005 [225]	Ισπανία	Λευκοί	προεκλαμψία	43/122/165	ναι	8	24	11	27	57	38
Davalos, 2005 [226]	Μεξικό	Λατίνοι	προεκλαμψία	33/62/95	ναι	6	14	13	11	27	24
Jaaskelainen, 2006 [227]	Φινλανδία	Λευκοί	προεκλαμψία	133/112/245	ναι	12	43	78	6	42	64
Demir, 2006 [228]	Τουρκία	Τούρκοι	προεκλαμψία	34/102/136	ναι	4	25	5	12	47	43
Dalmaz, 2006 [229]	Βραζιλία	Μεικτοί	προεκλαμψία	75/145/220	ναι	17	27	31	18	51	76
Dusse, 2007 [230]	Βραζιλία	Μεικτοί	προεκλαμψία	30/83/113	ναι	2	12	16	6	31	46
Stonek, 2007 [231]	Αυστρία	Λευκοί	προεκλαμψία	25/1397/1422	ναι	2	14	9	155	573	669
Canto, 2008 [232]	Μεξικό	Άλλοι	προεκλαμψία	125/274/399	ναι	23	66	36	82	131	61
Stanley-Christian, 2005 [233]	ΗΠΑ	Μεικτοί	προεκλαμψία	25/14/39	ναι	0	12	13	0	6	8

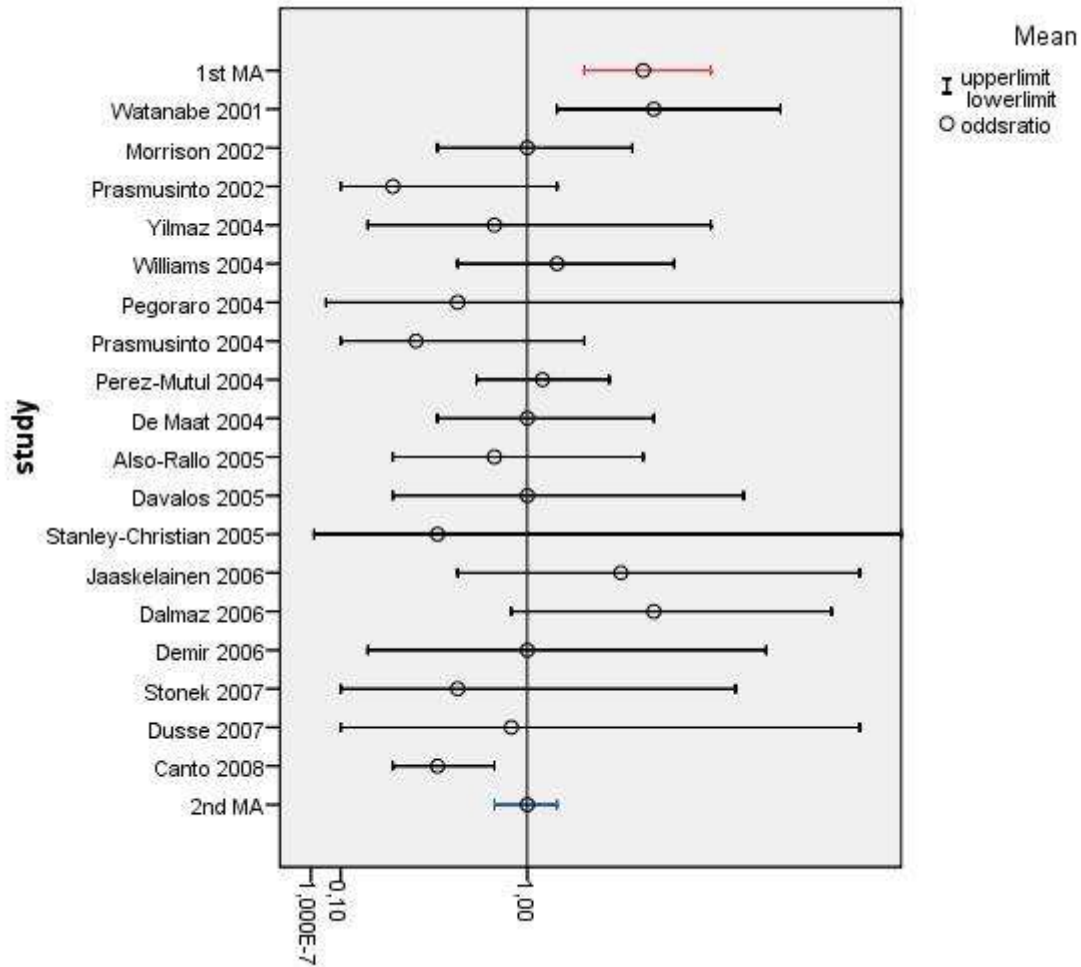
Πίνακας 28
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση

Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης έχουν ως εξής:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Watanabe	2001	2.0(1.2-3.5)	Prasmusinto	2004	0.4(0.1-1.4)	Demir	2006	1.0(0.2-3.3)
Prasmusinto	2002	0.3(0.1-1.2)	De Maat	2004	1.0(0.5-2.0)	Dalmaz	2006	2.0(0.9-4.3)
Morrison	2002	1.0(0.5-1.8)	Pegoraro	2004	0.6(0.05-6.8)	Jaaskelainen	2006	1.7(0.6-4.8)
Yilmaz	2004	0.8(0.2-2.6)	Also-Rallo	2005	0.8(0.3-1.9)	Stonek	2007	0.6(0.1-2.9)
Perez-Mutul	2004	1.1(0.7-1.6)	Davalos	2005	1.0(0.3-3.0)	Dusse	2007	0.9(0.1-4.8)
Williams	2004	1.2(0.6-2.2)	Stanley-Christian	2005	0.5(0.01-30.0)	Canto	2008	0.5(0.3-0.8)
M.A.	F.E.	R.E.	I²					
	1.0(0.8-1.2)	1.0(0.8-1.2)	27%					

Πίνακας 29

Η 2^η μετα-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει τα ευρήματα της 1^{ης}, καθώς καταδεικνύει μη σημαντική συσχέτιση μεταξύ της προεκλαμψίας και του πολυμορφισμού C677T. Οι διάμεσοι του αριθμού συμμετεχόντων στις δύο μετα-αναλύσεις δεν παρουσιάζουν σημαντική διαφορά.



Γράφημα 28
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και της προεκλαμψίας.
 Η 2^η μετα-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει τα ευρήματα της 1^{ης}.

**Νόσημα: Προεκλαμψία
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T**

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας , έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zusterzeel, 2000	Ολλανδία, δ/α	5	472/1114/1586	F.E. 1.9(1.4-2.6)/recessive	δ/α	δ/α	225	Όχι/p=1.0
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	18	1988/4125/6113	F.E.1.00 (0.80-1.20) recessive	27%	1/18	18/18	232.5	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	Ναι/p=0.01

Πίνακας 30

Νοσήματα καρδιάς και αγγείων

Ο πολυμορφισμός C677T και ο κίνδυνος ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου

Πλήθος μελετών έχουν συστηματικά αποδείξει πως υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα, σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου. [234]

Παρ' όλα αυτά, η παραπάνω σχέση θα μπορούσε να επηρεαστεί από εξωτερικούς παράγοντες (κάπνισμα, κοινωνικοοικονομικό επίπεδο), ενώ και η υπάρχουσα αθηροσκλήρωση θα μπορούσε από μόνη της να δικαιολογήσει την αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης.[235]

Πολλές μελέτες ασθενών-μαρτύρων συνέδεσαν τον πολυμορφισμό MTHFR 677C>T με τη στεφανιαία νόσο και το έμφραγμα του μυοκαρδίου [236], προφανώς λόγω των αυξημένων επιπέδων ομοκυστεΐνης που παρατηρούνται στους φορείς του μεταλλαγμένου αλληλίου.

Η μετα-ανάλυση του 2000 από τους Jee και συνεργάτες [104], τεκμηρίωσε συσχέτιση ανάμεσα στον πιο πάνω πολυμορφισμό και στην ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου και εμφράγματος μυοκαρδίου. Η σημαντικότητα παρατηρήθηκε όταν συμπεριλήφθησαν ασθενείς είτε αποκλειστικά με στεφανιαία νόσο, είτε συνδυασμός ασθενών με στεφανιαία νόσο και έμφραγμα του μυοκαρδίου. Αντίθετα, όταν η μετα-ανάλυση περιορίστηκε αποκλειστικά σε εμφραγματίες η σχέση ήταν μη σημαντική.

Χρησιμοποιήθηκε μια εκτεταμένη στρατηγική αναζήτησης για τον εντοπισμό μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν τη μετα-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or "genetic variant" or mutant or mutation) and ("coronary artery disease" or "myocardial infarction" or "coronary heart disease" or "cardiovascular disease" or "ischemic heart disease" or "ischaemic heart disease") and ("MTHFR" or "methylenetetrahydrofolate reductase") (2001/11 έως 2009/12) Εντοπίστηκαν 292 μελέτες εκ των οποίων κατάλληλες κρίθηκαν: 57 για τη συνδυασμένη μετα-ανάλυση στεφανιαίας νόσου-εμφράγματος μυοκαρδίου και 42 για τη μετα-ανάλυση μεμονωμένα της στεφανιαίας νόσου. Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στους πίνακες

Στεφανιαία νόσος

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς ΤΤ/CT/CC			Μάρτυρες ΤΤ/CT/CC		
Abu-Amero,2003 [237]	Σ.Αραβία	Άραβες	Σ.Ν	545/625/1170	Ναι	20	175	350	13	161	451
Agirbasli,2006 [238]	Τουρκία	Τούρκοι	Σ.Ν	102/102/204	Ναι	11	29	62	9	41	52
Var,2009 [239]	Τουρκία	Τούρκοι	Σ.Ν	86/90/176	Όχι	4	24	58	16	22	52
Alam,2008 [240]	Ινδία	Ινδοί	Σ.Ν	84/100/184	Ναι	4	23	57	1	19	80
Almawi,2004 [241]	Λίβανος	Άραβες	Σ.Ν	96/404/500	Ναι	30	39	27	18	166	220
Aydin,2009 [242]	Τουρκία	Τούρκοι	Σ.Ν	93/119/212	Ναι	13	31	49	11	53	55
Bennouar,2007 [243]	Μαρόκο	Άραβες	Σ.Ν	210/190/400	Ναι	31	78	101	16	61	113
Botto,2003 [244]	Ιταλία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	51/17/68	Ναι	12	25	14	2	10	5
Falchi,2005 [245]	Γαλλία	δ/α	Σ.Ν	100/100/200	Ναι	20	43	37	4	54	42
Freitas,2008 [246]	Πορτογαλία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	298/510/808	Ναι	32	136	130	48	200	262
Friso,2002 [247]	Ιταλία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	302/168/470	Ναι	46	156	100	30	90	48
Ghazouani,2009 [248]	Τυνησία	Άραβες	Σ.Ν	352/390/742	Ναι	46	149	157	20	123	247
Gireli,2003 [249]	Ιταλία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	433/222/655	Ναι	70	217	146	42	105	75
Guerzoni,2007 [250]	Βραζιλία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	91/36/127	Ναι	6	59	26	2	20	14
Ho,2005 [251]	Ταϊβάν	Ασιάτες	Σ.Ν	33/42/75	Ναι	3	9	21	3	11	28
Ilhan,2008 [252]	Τουρκία	Τούρκοι	Σ.Ν	100/100/200	Ναι	4	44	52	2	26	72
Jones,2005 [253]	Ν.Ζηλανδία	δ/α	Σ.Ν	271/282/553	Ναι	30	104	137	26	122	134
Kalina,2004 [254]	Ουγγαρία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	315/96/411	Ναι	31	146	138	12	40	44

Kolling,2004 [255]	Γερμανία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	2121/617/2738	Ναι	251	955	915	68	283	266
Kumar,2009 [256]	Ινδία	Ινδοί	Σ.Ν	50/67/117	Ναι	0	17	33	0	22	45
Lima,2007 [257]	Βραζιλία	δ/α	Σ.Ν	43/20/63	Ναι	3	22	18	1	6	13
Mukherjee,2002 [258]	Ινδία	Ασιάτες	Σ.Ν	251/216/467	Ναι	0	96	155	5	63	137
Rahimi,2009 [259]	Ιράν	Άραβες	Σ.Ν	117/59/176	Ναι	9	40	68	4	22	33
Ranjith,2003 [260]	Ν.Αφρική	Ινδιάνοι	Σ.Ν	195/300/495	Ναι	0	29	166	4	58	238
Rios,2007 [261]	Βραζιλία	Μεικτοί	Σ.Ν	484/288/772	Ναι	32	193	259	13	98	179
Sarecka-Hujar,2008 [262]	Πολωνία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	177/202/379	Ναι	17	85	75	10	89	103
Strauss,2005 [263]	Πολωνία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	174/117/291	Ναι	18	74	82	14	45	58
Taymaz,2007 [264]	Τουρκία	Τούρκοι	Σ.Ν	133/41/174	Ναι	14	41	78	2	17	22
Undas,2006 [265]	Πολωνία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	12/20/32	Ναι	2	5	5	2	9	9
Vinukonda,2009 [266]	ΗΠΑ-Ινδία	Ινδοί	Σ.Ν	108/108/216	Ναι	2	31	75	0	20	88
Yilmaz,2006 [267]	Τουρκία	Τούρκοι	Σ.Ν	79/93/172	Ναι	7	32	40	6	44	43
Zak,2003 [268]	Πολωνία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	68/111/179	Ναι	6	31	29	8	56	47
Kerkeni,2006 [269]	Τυνησία	Άραβες	Σ.Ν	100/120/220	Ναι	16	35	49	7	55	58
Kadziela,2003 [270]	Πολωνία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	120/106/226	Ναι	11	51	58	11	49	46
Dalal,2006 [271]	Ινδία	Ινδοί	Σ.Ν	268/90/358	Όχι	9	52	207	6	15	69
Zuntar,2003 [272]	Κροατία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	247/298/545	Όχι	22	111	114	18	146	134
Sun,2005 [273]	Κίνα	Ασιάτες	Σ.Ν	126/114/240	Όχι	31	52	43	20	31	63
Lin,2008 [274]	Ταϊβάν	Ασιάτες	Σ.Ν	121/155/276	Ναι	8	47	66	10	57	88
Rossi,2006 [275]	Ιταλία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	124/73/197	Ναι	29	53	42	17	33	23
Rothenbacher,2002 [276]	Γερμανία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	312/479/791	Όχι	31	126	155	50	210	219
Szperl,2008 [277]	Πολωνία	Καυκάσιοι	Σ.Ν	111/195/306	Ναι	11	45	55	12	108	75
Nair,2002 [278]	Ινδία	Ινδοί	Σ.Ν	115/115/230	Ναι	0	12	103	0	3	112

Πίνακας 31

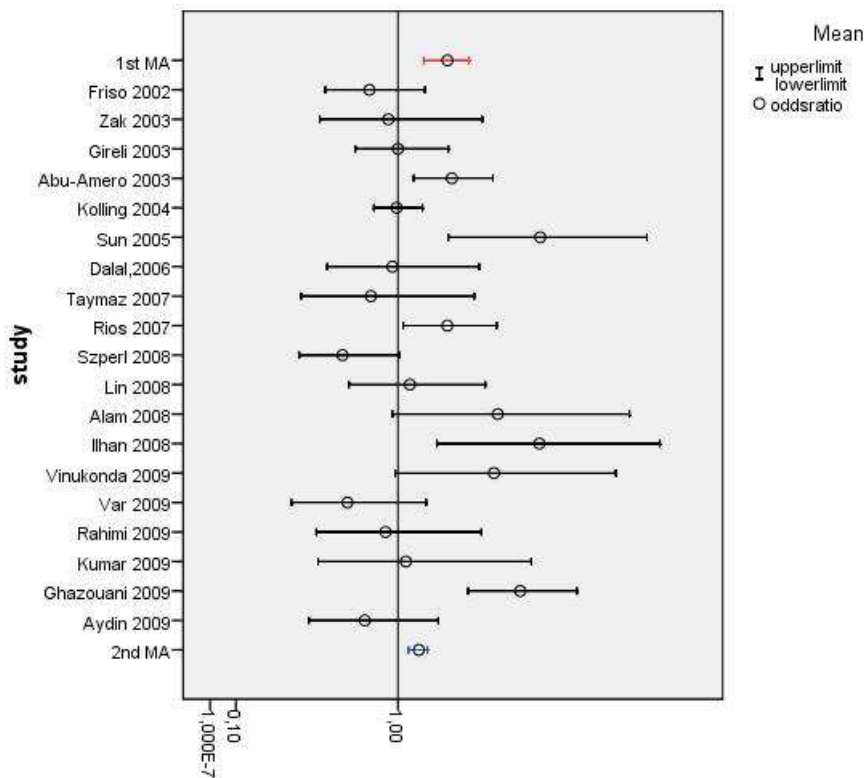
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση

Η 2^η μετα-ανάλυση συμφωνεί με την 1^η και επιβεβαιώνει πως ο εν λόγω πολυμορφισμός είναι προδιαθεσικός παράγοντας για τον κίνδυνο ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου. Από τη σύγκριση, δεν προκύπτει στατιστικώς σημαντική διαφορά ως προς τις διάμεσους ή το ποσοστό συμμόρφωσης στην ισορροπία ΗWE. Η ανάλυση ευαισθησίας (37 μελέτες σε ισορροπία ΗWE), δεν ανατρέπει το αποτέλεσμα. Τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης φαίνονται στον πίνακα:

Μελέτη, έτος	O.R. (C.I.)	Μελέτη, έτος (συνέχεια)	O.R. (C.I.)
Friso 2002	0.80(0.53-1.21)	Bennouar,2007	1.58(1.06-2.35)
Nair,2002	3.53(1.11-11.17)	Rios,2007	1.40(1.04-1.88)
Rothenbacher,2002	0.85(0.64-1.13)	Ilhan,2008	2.37(1.31-4.26)
Mukherjee,2002	1.25(0.85-1.84)	Szperl,2008	0.63(0.39-1.01)
Botto,2003	1.10(0.32-3.69)	Alam,2008	1.89(0.96-3.70)
Zak,2003	0.93(0.50-1.73)	Lin,2008	1.09(0.67-1.76)
Kadziela,2003	0.81(0.48-1.38)	Sarecka-Hujar,2008	1.41(0.94-2.12)
Zuntar,2003	0.95(0.67-1.33)	Freitas,2008	1.36(1.02-1.81)
Gireli,2003	1.00(0.71-1.41)	Kumar,2009	1.06(0.49-2.27)
Ranjith,2003	0.69(0.42-1.11)	Aydin,2009	0.77(0.44-1.32)
Abu-Amero,2003	1.44(1.12-1.84)	Var,2009	0.66(0.35-1.22)

Almawi,2004	3.05(1.87-4.96)	Rahimi,2009	0.91(0.48-1.72)	
Kalina,2004	1.08(0.68-1.71)	Vinukonda,2009	1.85(0.98-3.47)	
Kolling,2004	0.99(0.83-1.19)	Ghazouani,2009	2.14(1.59-2.87)	
Ho,2005	1.14(0.43-2.97)			
Falchi,2005	1.23(0.69-2.17)			
Sun, 2005	2.38(1.41-4.01)			
Strauss,2005	1.10(0.69-1.76)			
Jones,2005	0.88(0.63-1.23)			
Undas,2006	1.14(0.26-4.86)			
Yilmaz,2006	0.83(0.45-1.52)			
Rossi,2006	0.89(0.48-1.66)			
Kerkeni,2006	0.97(0.57-1.65)			
Agirbasli,2006	0.67(0.38-1.16)			
Dalal,2006	0.96(0.54-1.70)			
Lima,2007	2.57(0.85-7.75)			
Guerzoni,2007	1.59(0.70-3.57)			
Taymaz,2007	0.81(0.40-1.65)			
MA	Fixed effects Model	Random effects Model	Ετερογένεια	Ανάλυση ευαισθησίας F.E. 1.37(1.21-1.56) R.E. 1.48(1.16-1.90) I ² = 61%
		1.16(1.08-1.23)	1.15(1.03-1.30)	

Πίνακας 32



Γράφημα 29

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T και της στεφανιαίας νόσου.
Η σημαντικότητα διατηρείται.

Σημείωση: Στο γράφημα δεν απεικονίζονται όλες οι μελέτες

Νόσημα: Στεφανιαία Νόσος
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
		Jee,2000	N.Κορέα, μεικτοί	12	3443/3466/6909	F.E. 1.4(1.2-1.6) additive	δ/α	12/12	374,5
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	42	9218/7597/16815	F.E. 1.16 (1.08-1.23) R.E. 1.57 (1.03-1.30)	61%	9/42	37/42	235	Όχι/p=0.2	Ναι/p=0.02

Πίνακας 33

Στεφανιαία νόσος και έμφραγμα μυοκαρδίου

1 ^{ος} συγγραφέας, Έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς ΤΤ/CT/CC			Μάρτυρες ΤΤ/CT/CC		
						1	10	41	0	3	17
Angeline,2004 [279]	Ινδία	Ινδοί	E.M.	52/20/72	ναι	1	10	41	0	3	17
Angeline,2007 [280]	Ινδία	Ινδοί	E.M	100/100/200	ναι	1	18	81	0	16	84
Celik,2008 [281]	Τουρκία	Τούρκοι	E.M	129/107/236	ναι	10	47	72	7	34	66
El Sammak,2004 [282]	Αίγυπτος	Άραβες	E.M	50/100/150	ναι	6	22	22	8	42	50
Helfenstein,2005 [283]	Βραζιλία	δ/α	E.M	90/56/146	ναι	10	35	45	6	24	26
Iqbal,2005 [284]	Πακιστάν	Ασιάτες	E.M	397/225/622	ναι	8	110	279	7	57	161
Khare,2004 [285]	Ινδία	Ινδοί	E.M	120/100/220	ναι	1	19	100	0	14	86
Nakai,2002 [286]	Ιαπωνία	Ασιάτες	E.M	19/14/33	ναι	5	6	8	1	6	7
Salazar-Sanchez,2006 [287]	Κόστα Ρίκα	Λατίνοι	E.M	186/197/383	όχι	48	90	48	59	79	59
Shioji,2004 [288]	Ιαπωνία	Ασιάτες	E.M	474/849/1323	ναι	75	226	160	141	411	293
Szabo,2009 [289]	Ουγγαρία	Καυκάσιοι	E.M	219/384/603	όχι	42	119	58	42	123	219
Tanis,2004 [290]	Ολλανδία	δ/α	E.M	181/601/782	ναι	22	81	78	59	262	280
Yamada,2006 [291]	Ιαπωνία	Ασιάτες	E.M	1192/2291/3483	ναι	247	570	375	353	1134	804
Zhang,2001 [292]	Κίνα	Ασιάτες	E.M	73/100/173	ναι	8	33	32	16	47	37
Martini,2005 [293]	Ιταλία	Καυκάσιοι	E.M	54/55/109	ναι	16	24	14	10	28	17

Πίνακας 34

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στη μετα-ανάλυση
Σημείωση: Οι υπόλοιπες μελέτες έχουν ήδη παρουσιαστεί στον πίνακα
E.M.= έμφραγμα μυοκαρδίου

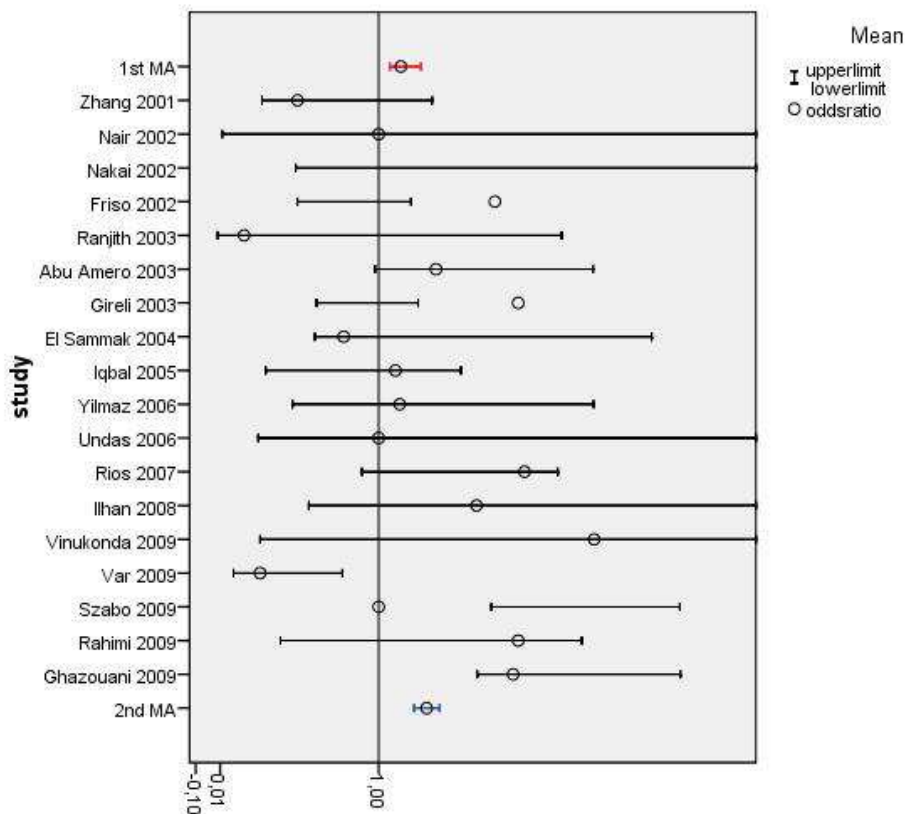
Και στην περίπτωση της συνδυασμένης μετα-ανάλυσης ασθενών με στεφανιαία νόσο και έμφραγμα του μυοκαρδίου, η συσσώρευση μελετών επιβεβαιώνει τη 1η μετα-ανάλυση. Οι διάμεσοι των συμμετεχόντων στις 2 μετα-αναλύσεις παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά, υπέρ της 1ης (411 έναντι 230), ενώ τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE δε διαφέρουν σημαντικά. Η ανάλυση ευαισθησίας δεν διαφοροποιεί τα αποτελέσματα:

Study, year	O.R. (C.I.)	Study, year (συνέχεια)	O.R. (C.I.)
Zhang, 2001	0.41(0.21-1.52)	Rossi,2006	3.56(0.42-2.04)
Nakai,2002	11.66(0.40-47.01)	Salazar-Sanchez,2006	0.68(0.58-1.71)
Friso, 2002	2.30(0.41-1.30)	Kerkeni,2006	2.70(1.02-7.10)
Nair,2002	1.00(0.02-55.28)	Agirbasli,2006	1.27(0.39-2.66)
Rothenbacher,2002	4.15(2.51-5.44)	Dalal,2006	1.56(0.17-1.45)
Mukherjee,2002	0.09(0.004-1.62)	Yamada,2006	0.61(1.22-1.83)
Botto,2003	6(0.34-13.12)	Lima,2007	3.54(0.20-23.24)
Zak,2003	0.71(0.38-3.85)	Guerzoni,2007	4.20(0.28-9.08)
Kadziela,2003	1.00(0.31-1.99)	Taymaz,2007	15.4(0.41-9.35)
Zuntar,2003	1.25(0.73-2.81)	Angeline,2007	2.01(0.06-63.04)
Gireli,2003	2.65(0.53-1.37)	Bennouar,2007	2.23(1.11-4.19)
Ranjith,2003	0.12(0.009-3,40)	Rios,2007	2.75(0.86-3.33)
Abu-Amero,2003	1.56(0.97-4.04)	Ilhan,2008	2.05(0.48-15.69)
El Sammak,2004	0.72(0.52-5.49)	Szperl,2008	0.90(0.51-3.04)
Almawi,2004	1.76(6.69-27.56)	Alam,2008	4.15(0.61-51.56)
Angeline,2004	2.05(0.02-26.64)	Lin,2008	0.78(0.39-2.85)
Tanis,2004	0.32(0.77-2.32)	Celik,2008	1.49(0.47-3.63)
Khare,2004	2.01(0.05-52.20)	Sarecka-Hujar,2008	1.82(1.01-5.38)
Kalina,2004	4.54(0.38-1.73)	Freitas,2008	0.62(0.81-2.20)

Shioji,2004	0.43(0.69-1.36)	Kumar,2009	1.00(0.02-70.20)	
Kolling,2004	11.82(0.79-1.44)	Aydin,2009	1.22(0.54-3.23)	
		Var,2009	0.20(0.07-0.71)	
Martini, 2005	2.47(0.67-5.61)	Szabo,2009	1.00(2.25-6.32)	
Ho,2005	1.00(0.24-7.27)	Rahimi,2009	2.65(0.31-3.80)	
Falchi,2005	8.07(1.77-18.12)	Vinukonda,2009	4.06(0.20-106.27)	
Sun, 2005	1.87(1.14-4.49)	Ghazouani,2009	2.57(2.06-6.34)	
Helfenstein,2005	1.96(0.31-2.95)			
Strauss,2005	1.38(0.41-1.97)			
Jones,2005	1.18(0.63-2.00)			
Iqbal,2005	1.15(0.23-1.85)			
Undas,2006	1.00(0.19-16.98)			
Yilmaz,2006	1.19(0.38-4.05)			
MA	Fixed effects Model	Random effects Model	Ετερογένεια	Ανάλυση Ευαισθησίας
	1.46(1.33-1.60)	1.45(1.20-1.74)	64%	F.E. 1.46(1.33-1.62) R.E. 1.49(1.21-1.82)

Πίνακας 35

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 30
Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C677T, Σ.Ν. και Ε.Μ.
Η σημαντικότητα διατηρείται.
Σημείωση: Στο γράφημα δεν απεικονίζονται όλες οι μελέτες

Νόσημα: Καρδιαγγειακή νόσος (Στεφανιαία νόσος και έμφραγμα μυοκαρδίου)
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Jee,2000	N.Κορέα, μεικτοί	18	4594/5261/9855	F.E. 1.2(1.1-1.4) additive	δ/α	18/18	411	Ναι/p=0.02
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	57	12554/12796/25350	F.E. 1.46(1.33-1.60) R.E. 1.45(1.20-1.74)	64%	10/57	50/57	230	Όχι/p=0.1	Ναι/p=0.01

Πίνακας 36

Ο πολυμορφισμός ITGB3 PLA1/PLA2 και ο κίνδυνος ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου

Η γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των ανθρώπινων αιμοπεταλίων GP IIb/IIIa, επιτρέπει στα ενεργοποιημένα θρομβοκύτταρα να συνδέουν το ινωδογόνο και λοιπές σχετικές πρωτεΐνες, γεγονός κεντρικό στη διαδικασία της θρόμβωσης.[294] Το 1996, οι Weiss και συνεργ., κατέδειξαν για πρώτη φορά πως η συχνότητα του αλληλίου PI^{A2} ήταν συχνότερη σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, εν συγκρίσει με υγιείς μάρτυρες. [295]

Στη μετά-ανάλυση [110] 34 μελετών του 2001 από τους di Castelnuovo και συνεργ., η παραπάνω υπόθεση επιβεβαιώνεται. Η στρατηγική αναζήτησης των κατοπιτών μελετών υπήρξε η εξής: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“coronary artery disease” or “myocardial infarction” or “coronary heart disease” or “angina pectoris” or “unstable angina” or “ischaemic heart disease” or “ischemic heart disease”) and platelet and glycoprotein (2002/04 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 139 άρθρα, εκ των οποίων 11 πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν στη μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς A ²⁻² /A ²⁻¹ /A ¹⁻¹			Μάρτυρες A ²⁻² /A ²⁻¹ /A ¹⁻¹		
Abboud,2009 [296]	Τυνησία	Άραβες	ΣΝ	247/316/563	Ναι	45	169	33	28	156	132
Abu amero,2004 [297]	Σ. Αραβία	Άραβες	ΣΝ	451/509/960	Ναι	15	88	348	12	137	360
Grove,2004 [298]	Δανία	Καυκάσιοι	ΣΝ,ΕΜ	1019/1191/2210	Ναι	29	296	694	35	299	857
Italian Study Gr,2003 [299]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΕΜ	1210/1210/2420	Ναι	35	292	883	38	307	865
Kozieradzka,2006 [300]	Πολωνία	Καυκάσιοι	ΕΜ	171/121/292	Ναι	3	44	124	4	22	95
Lagercrantz,2003 [301]	Σουηδία	δ/α	ΕΜ	369/388/757	Ναι	11	85	273	7	114	267
Naran,2008 [302]	Ν. Αφρική	Μεικτοί	ΣΝ	55/752/807	Ναι	3	19	33	7	139	606
Pegoraro,2005 [303]	Ν. Αφρική	Ασιάτες	ΕΜ	195/300/495	Ναι	1	33	161	1	55	244
Smith,2003 [304]	Η.Β.	δ/α	ΣΝ	234/663/897	Όχι	2	43	178	3	141	469
Weber,2002 [305]	Γερμανία	Καυκάσιοι	ΣΝ	177/62/239	Όχι	4	28	135	6	10	46
Zotz,2005 [306]	Γερμανία	Καυκάσιοι	ΣΝ,ΕΜ	2386/1364/3750	Ναι	57	627	1702	35	334	995

Πίνακας 37

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

ΣΝ= Στεφανιαία Νόσος

ΕΜ= Έμφραγμα μυοκαρδίου

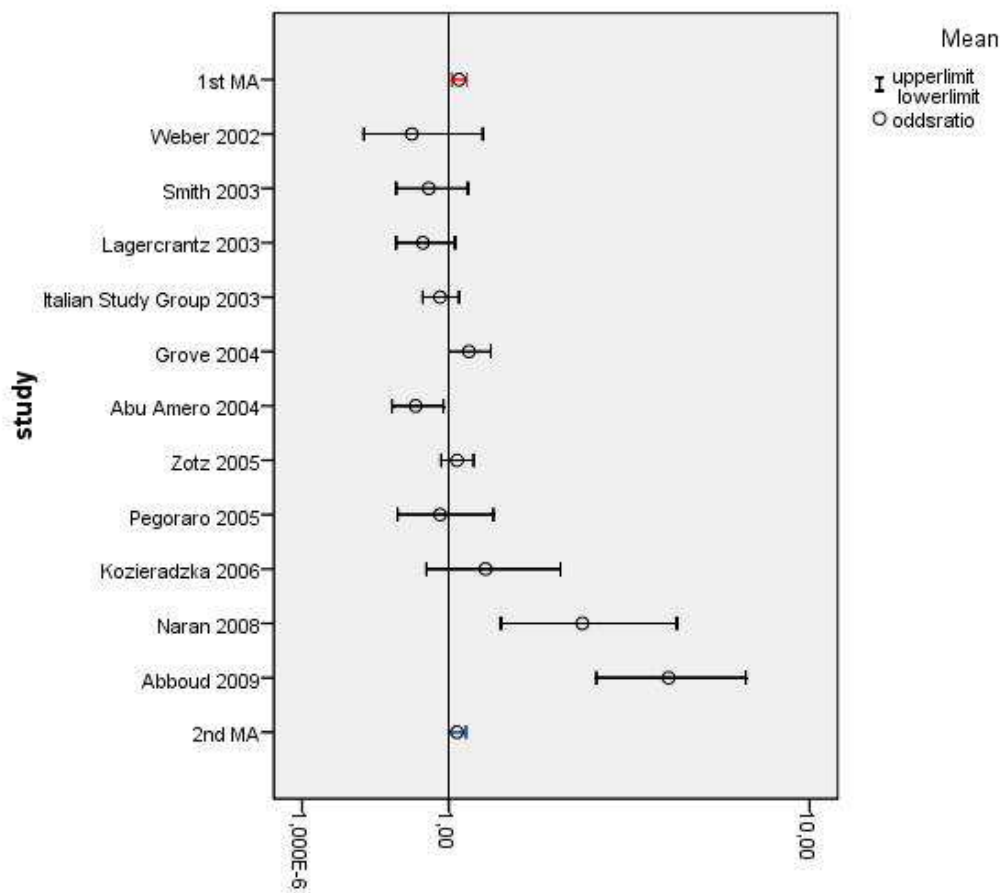
Η 2^η μετά-ανάλυση οριακά αποτυγχάνει να επιβεβαιώσει τη σημαντικότητα της σχέσης πολυμορφισμού-νόσου. Στατιστικώς σημαντική διαφορά παρατηρείται στις διάμεσους των συμμετεχόντων στις 2 μετά-αναλύσεις.(807 έναντι 281.5, 2^η και 1^η μετά-ανάλυση αντιστοίχως, p=0.01). Αντίθετα τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE δε διαφέρουν σημαντικά. Η ανάλυση ευαισθησίας διαφοροποιεί οριακά τα αποτελέσματα για το μοντέλο σταθερών επιδράσεων, όχι όμως και για εκείνο των τυχαίων. Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)
Weber	2002	0.68(0.34-1.35)	Pegoraro	2005	0.92(0.57-1.47)
Smith	2003	0.82(0.56-1.19)	Zotz	2005	1.08(0.93-1.25)

Lagercrantz	2003	0.77(0.56-1.06)	Kozieradzka	2006	1.38(0.80-2.39)
Italian Study Group	2003	0.92(0.77-1.10)	Naran	2008	2.76(1.56-4.88)
Abu Amero	2004	0.71(0.53-0.95)	Abboud	2009	4.65(3.02-7.14)
Grove	2004	1.20(1.00-1.44)			
M.A.	F.E.	R.E.	I²	Ανάλυση Ευαισθησίας	
	O.R.(C.I.)	O.R.(C.I.)	85%	F.E 1.09(1.01-1.19) R.E. 1.24(0.94-1.64) I ² = 88%	

Πίνακας 38

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 31

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού PIA1/A2 και της καρδιαγγειακής νόσου Η σημαντικότητα οριακά καταργείται.

Νόσημα: Καρδιαγγειακή νόσος
Γονίδιο: ITGB3
Πολυμορφισμός: PIA1/PLA2

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Di Castelnuovo, 2001	Ιταλία, μεικτοί	34	8446/8603/17049	F.E (1.03-1.18) dominant	p=0.081	32/34	281.5	Ναι/p=0.01
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	11	6514/6876/13390	F.E. 1.07(0.99-1.16) R.E. 1.15(0.90-1.47) dominant	86%	3/11	9/11	807	Όχι/p=0.2	Όχι/p=0.7

Πίνακας 39

Ο πολυμορφισμός FVII R353Q και ο κίνδυνος ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου

Στα καρδιαγγειακά συμβάντα, η πήξη του αίματος πυροδοτείται από την αλληλεπίδραση του κυκλοφορούντος παράγοντα FVII και του ιστικού παράγοντα, ο οποίος απελευθερώνεται από τη ρηχθείσα αθηρωματική πλάκα.[307] Στη συνέχεια, ο ιστικός παράγων αλληλεπιδρά με τον ενεργοποιημένο παράγοντα FVIIa και σχηματίζουν το σύμπλεγμα το οποίο καθοδηγεί πλέον τη διαδικασία της πήξης.[308] Μελέτες ασθενών-μαρτύρων έχουν κατά καιρούς υποδείξει προστατευτικό ρόλο του ασυνήθους αλληλίου Gln στον πολυμορφισμό Arg353Gln, έναντι του κινδύνου καρδιαγγειακών νοσημάτων.[309]

Στο παραπάνω συμπέρασμα κατέληξε και η μετά-ανάλυση [113] του 2001 από τους Wu και συνεργάτες. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“coronary artery disease” or “myocardial infarction” or “coronary heart disease” or “cardiovascular disease” or “ischemic heart disease” or “ischaemic heart disease” or “unstable angina”) and (“Factor VII” or “FVII” or “F7” or “Factor 7”) (2002/06 έως 2009/12). Από τις 72 μελέτες που εντοπίστηκαν, 10 κρίθηκαν κατάλληλες για μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς QQ/QR/RR			Μάρτυρες QQ/QR/RR		
						9	58	310	2	62	323
Ekstromn,2007 [310]	Σουηδία	δ/α	EM	377/387/764	Ναι	9	58	310	2	62	323
Geng,2003 [311]	Κίνα	Ασιάτες	EM	234/140/374	Ναι	1	23	210	1	17	122
Jeffery,2005 [312]	ΗΒ	Καυκάσιοι	Στηθάγγη	247/153/400	Ναι	5	50	192	4	28	121
Kakko,2002 [313]	Φινλανδία	Καυκάσιοι	EM	142/142/284	Ναι	0	13	29	0	12	130
McCarthy,2004 [314]	ΗΠΑ	Καυκάσιοι	ΣΝ	324/398/722	Ναι	13	68	243	4	82	312
Ogawa,2004 [309]	Ιαπωνία	Ασιάτες	EM	127/150/277	Ναι	0	10	117	2	17	131
Pegoraro,2005 [315]	N. Αφρική	Ασιάτες	EM	195/300/495	Ναι	16	79	100	20	128	152
Salazar-Sanchez,2006 [287]	Κόστα Ρίκα	Λατίνοι	EM	166/166/322	Ναι	1	35	130	1	46	119
Taymaz,2007 [264]	Τουρκία	Τούρκοι	ΣΝ	118/28/146	Ναι	4	32	82	1	12	25
Martini,2005 [293]	Ιταλία	Καυκάσιοι	EM	54/55/109	Ναι	0	17	37	1	14	40

Πίνακας 40

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση

ΣΝ= Στεφανιαία Νόσος

EM= Έμφραγμα μυοκαρδίου

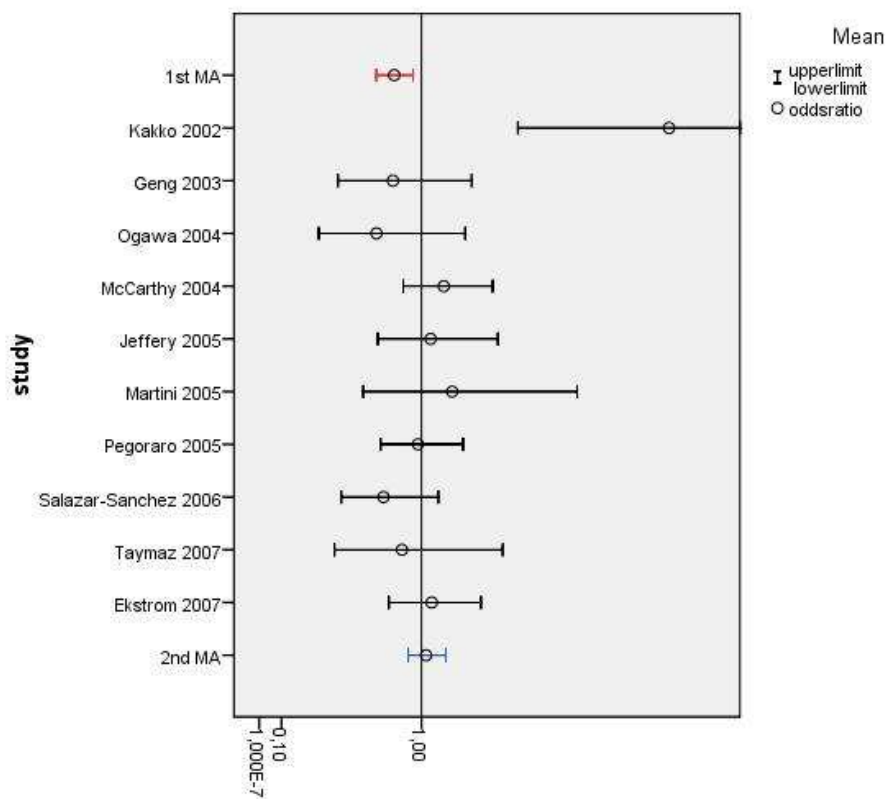
Η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαίωσε τη σημαντικότητα της συσχέτισης μεταξύ πολυμορφισμού και νοσήματος. Τα O.R.s και 95% C.I. των 2 μετά-αναλύσεων παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά, συγκρινόμενα μεταξύ τους με το z-test ($p=0.02$). Τα ποσοστά συμμόρφωσης στην ισορροπία H-W δεν ήταν δυνατό να συγκριθούν, καθώς η 1^η μετά-ανάλυση δεν παρείχε σχετικές πληροφορίες.

Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Kakko	2002	4.76(2.02-11.19)	Jeffery	2005	1.08(0.66-1.77)
Geng	2003	0.77(0.40-1.48)	Salazar-Sanchez	2006	0.70(0.42-1.15)
Ogawa	2004	0.65(0.29-1.41)	Taymaz	2007	0.84(0.38-1.83)
McCarthy	2004	1.20(0.85-1.71)	Ekstrom	2007	1.09(0.74-1.58)
Martini	2005	1.28(0.56-2.89)			
Pegoraro	2005	0.97(0.68-1.39)			
M.A.	F.E.	R.E.	I²		
	O.R.(C.I.)	O.R.(C.I.)	50%		
	1.04(0.89-1.22)	1.05 (0.82-1.34)			

Πίνακας 41

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 32

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού FVII R353Q και της καρδιαγγειακής νόσου
Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Καρδιαγγειακή νόσος
Γονίδιο: FVII
Πολυμορφισμός: R353Q

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Wu, 2001	ΗΠΑ, μεικτοί	6	1258/1316/2574	F.E. 0.78(0.65-0.93) dominant	δ/α	δ/α	342.5	Όχι/p=1.0
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	10	1984/1919/3903	F.E. 1.04(0.89-1.22) R.E. 1.05 (0.82-1.34) dominant	50%	0/10	10/10	353	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Ναι/p=0.02

Πίνακας 42

Ο πολυμορφισμός G-455A στο γονίδιο του β-ινωδογόνου και ο κίνδυνος εμφράγματος του μυοκαρδίου

Το ινωδογόνο είναι γλυκοπρωτεΐνη αποτελούμενη από 2 υπομονάδες τριών ξεχωριστών πολυπεπτιδικών αλυσίδων (Αα,Ββ και γ). Κάθε μία από τις αλυσίδες αυτές, κωδικοποιείται από ξεχωριστό γονίδιο το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 4. Ένας συχνός πολυμορφισμός, ο G>A στη θέση 455 στον προαγωγέα του γονιδίου της β-αλυσίδας, σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου στο πλάσμα [316], τα οποία φαίνεται πως αποτελούν ανεξάρτητο προδιαθεσικό παράγοντα καρδιαγγειακών συμβάντων σε άνδρες και γυναίκες.[317]

Παρ'όλα αυτά, η μετά-ανάλυση [118] του 2001 από τους Boekholdt και συνεργ., κατέδειξε οριακά προστατευτικό ρόλο του συγκεκριμένου πολυμορφισμού έναντι του κινδύνου εμφράγματος του μυοκαρδίου. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or "genetic variant" or mutant or mutation) and "myocardial infarction" and fibrinogen (2002/12 έως 2009/12). Από τις 79 μελέτες που εντοπίστηκαν, 8 κρίθηκαν κατάλληλες για μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς AA/AG/GG			Μάρτυρες AA/AG/GG		
Maghzal, 2003 [318]	N. Ζηλανδία	Καυκάσιοι	EM	432/490/922	Ναι	18	156	258	23	156	311
Lu, 2008 [319]	Κίνα	Ασιάτες	EM	508/503/1011	Ναι	6	144	358	16	162	325
Italian Study Gr, 2003 [299]	Ιταλία	Καυκάσιοι	EM	1210/1210/2420	Ναι	53	425	732	68	398	744
Mannila, 2004 [320]	Διάφορες	Καυκάσιοι	EM	490/528/1018	Ναι	24	146	320	25	170	333
Pegoraro, 2005 [315]	N. Αφρική	Ασιάτες	EM	195/300/495	Ναι	2	43	150	0	57	243
Rallidis, 2009 [321]	Ελλάδα	Καυκάσιοι	EM	181/129/310	Όχι	4	75	102	3	71	55
Sampaio, 2007 [322]	Βραζιλία	Μεικτοί	EM	121/111/232	Ναι	2	27	86	2	26	76
Siegerink, 2009 [323]	Ολλανδία	Μεικτοί	EM	218/767/985	Ναι	7	70	135	29	221	483

Πίνακας 43

**Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση
EM= Έμφραγμα μυοκαρδίου**

Η 2^η μετά-ανάλυση δεν καταδεικνύει σημαντικά αποτελέσματα, σε αντίθεση με την 1^η. Οι διάμεσοι των συμμετεχόντων δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Τα ποσοστά συμμόρφωσης στην ισορροπία H-W δεν ήταν δυνατό να συγκριθούν, καθώς η 1^η μετά-ανάλυση δεν παρείχε σχετικές πληροφορίες. Η ανάλυση ευαισθησίας δε διαφοροποιεί τα αποτελέσματα, ως προς τη σημαντικότητα.

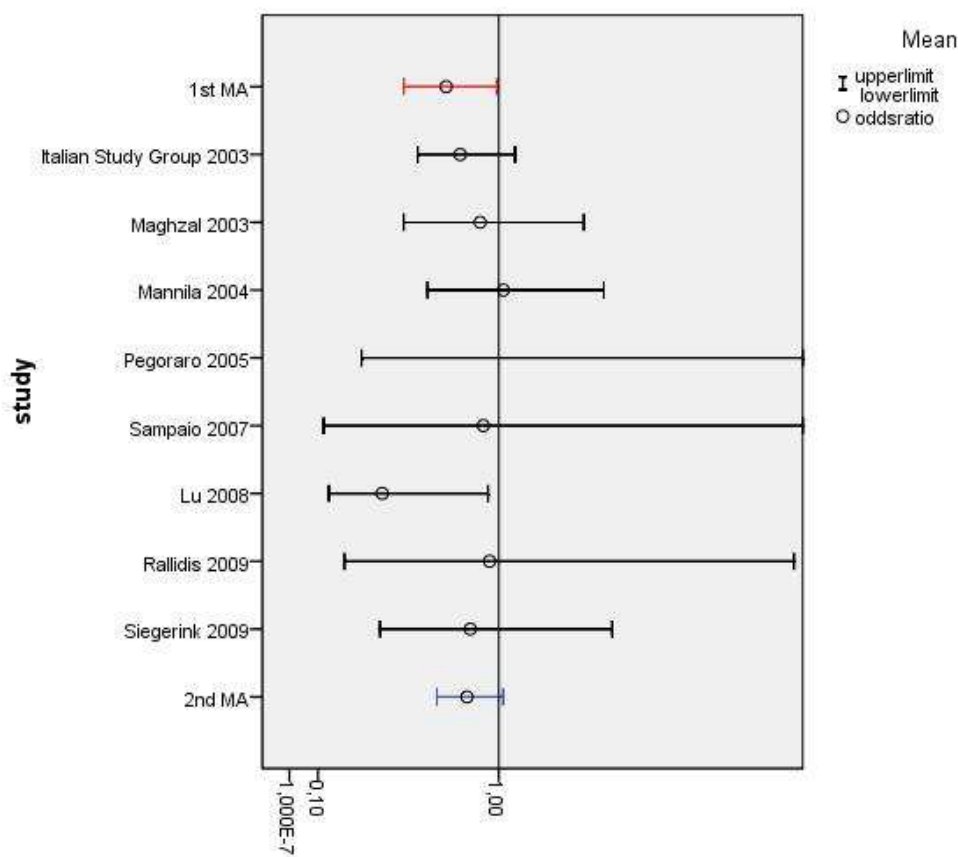
Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Maghzal	2003	0.88(0.46-1.65)	Rallidis	2009	0.94(0.20-4.31)
Italian Study Group	2003	0.76(0.53-1.11)	Siegerink	2009	0.82(0.35-1.91)

Mannila	2004	1.03(0.58-1.83)		
Pegoraro	2005	6.23(0.27-139.07)		
Sampaio	2007	0.90(0.12-6.52)		
Lu	2008	0.36(0.14-0.93)		
M.A.	F.E.	R.E.	I²	Ανάλυση Ευαισθησίας
	O.R.(C.I.)	O.R.(C.I.)	0	F.E. 0.80(0.62-1.03) R.E. 0.80(0.62-1.03) I ² =0%

Πίνακας 44

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 33

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού G-455A στο γονίδιο της β-αλύσου του ινωδογόνου και του εμφράγματος του μυοκαρδίου
Η σημαντικότητα οριακά καταργείται

Νόσημα: Έμφραγμα μυοκαρδίου
 Γονίδιο: fibrinogen b-chain
 Πολυμορφισμός: G-455A

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Boekholdt 2001	Ολλανδία, μεικτοί	4	745/816/1561	F.E. 0.68(0.46-0.99) recessive	Μη σημαντική	Δεν αναφέρεται	409.5	Όχι/p=0.5
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	8	3355/4038/7393	F.E. 0.80 (0.63-1.03) R.E. 0.81 (0.63-1.04)	0	1/8	7/8	953.5	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Όχι/p=0.4

Πίνακας 45

Ο πολυμορφισμός PAI-1 4G/5G και ο κίνδυνος εμφράγματος του μυοκαρδίου

Ο αναστολέας της ενεργοποίησης του πλασμινογόνου-1, (plasminogen activator inhibitor-1/PAI-1) συνιστά έναν ρυθμιστή-κλειδί του καταρράκτη της ινωδογονόλυσης. Υψηλά επίπεδα του PAI-1 οδηγούν σε εξασθενημένη ινωδογονολυτική λειτουργία και έχουν σχετιστεί με αυξημένη συχνότητα καρδιαγγειακών νοσημάτων.[324] Τα επίπεδα του PAI-1 σχετίζονται με τον πολυμορφισμό 4G/5G [325], έναν κοινό πολυμορφισμό στην περιοχή του προαγωγέα του γονιδίου του PAI-1. Το αλληλίο 4G έχει συνδεθεί με μεγαλύτερη έκφραση του PAI-1 m-RNA και κατά συνέπεια, υψηλότερα επίπεδα του κυκλοφορούντος αναστολέα.[326]

Η μετά-ανάλυση [118] 10 μελετών του 2001 από τους Boekholdt και συνεργάτες, παρείχε ενδείξεις σημαντικής συσχέτισης ανάμεσα στον πολυμορφισμό 4G/5G και το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and “myocardial infarction” and “plasminogen activator inhibitor” (2002/12 έως 2009/12). Από τις 68 μελέτες που εντοπίστηκαν, 11 κρίθηκαν κατάλληλες για μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς 4G4G/4G5G/5G5G			Μάρτυρες 4G4G/4G5G/5G5G		
Crainich,2003 [327]	ΗΠΑ	Μεικτοί	EM	264/753/1017	Ναι	70	136	58	200	387	166
Isordia-Sallas,2009 [328]	Μεξικό	Λατίνοι	EM	127/127/254	Όχι	9	64	54	17	38	72
Italian Study Gr,2003 [299]	Ιταλία	Καυκάσιοι	EM	1210/1210/2420	Ναι	286	589	335	280	588	342
Leander,2003 [329]	Σουηδία	δ/α	EM	1168/1517/2685	Ναι	359	595	214	436	768	313
Onalan,2008 [330]	Τουρκία	Τούρκοι	EM	156/281/437	Όχι	51	75	30	73	112	96
Pegoraro,2005 [303]	N. Αφρική	Ασιάτες	EM	195/300/495		42	99	54	65	132	103
Rallidis,2009 [331]	Ελλάδα	Καυκάσιοι	EM	201/140/341	Όχι	29	111	61	28	89	23
Sampaio,2007 [322]	Βραζιλία	Μεικτοί	EM	115/104/219	Ναι	23	47	55	16	45	43
Yamada,2002 [332]	Ιαπωνία	Ασιάτες	EM	2819/2242/5061	Ναι	1029	1435	355	1004	1007	231
Juhan-Vague,2003 [333]	Διάφορες	Καυκάσιοι	EM	483/507/990	Ναι	125	249	109	133	269	105
Zhan,2003 [334]	Κίνα	Ασιάτες	EM	56/83/139	Όχι	40	14	2	25	52	6

Πίνακας 46

**Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση
EM= Έμφραγμα μυοκαρδίου**

Η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει τα ευρήματα της 1^{ης}, καθώς καταδεικνύει προστατευτικό ρόλο του 4G αλληλίου για το υπολειπόμενο (recessive) γενετικό μοντέλο και μη σημαντική συσχέτιση για το επικρατές (dominant). Οι διάμεσοι των συμμετεχόντων δεν εμφανίζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Τα ποσοστά συμμόρφωσης στην ισορροπία H-W δεν ήταν δυνατό να συγκριθούν, καθώς η 1^η μετά-ανάλυση δεν παρείχε σχετικές πληροφορίες. Τα O.R.s και 95% C.I. των 2 μετά-αναλύσεων παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά, συγκρινόμενα μεταξύ τους με το z-test ($p < 0.05$). Η ανάλυση ευαισθησίας δε διαφοροποιεί τα αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στους πίνακες:

Υπολειπόμενο (recessive) γενετικό μοντέλο

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Yamada	2002	0.70(0.63-0.79)	Pegoraro	2005	0.99(0.64-1.53)
Zhan	2003	5.80(2.75-12.22)	Sampaio	2007	1.37(0.68-2.77)
Crainich	2003	0.99(0.72-1.37)	Onalan	2008	1.38(0.90-2.12)
Juhan-Vague	2003	0.98(0.73-1.30)	Isordia-Salas	2009	0.49(0.21-1.15)
Leander	2003	1.10(0.93-1.29)	Rallidis	2009	0.67(0.38-1.19)
Italian Study Group	2003	1.02(0.85-1.24)			
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²	Ανάλυση Ευαισθησίας	
	0.90 (0.83-0.97)	1.04(0.84-1.30)	82%	F.E. 0.87(0.81-0.94) R.E. 0.96(0.80-1.17) I ² = 77%	

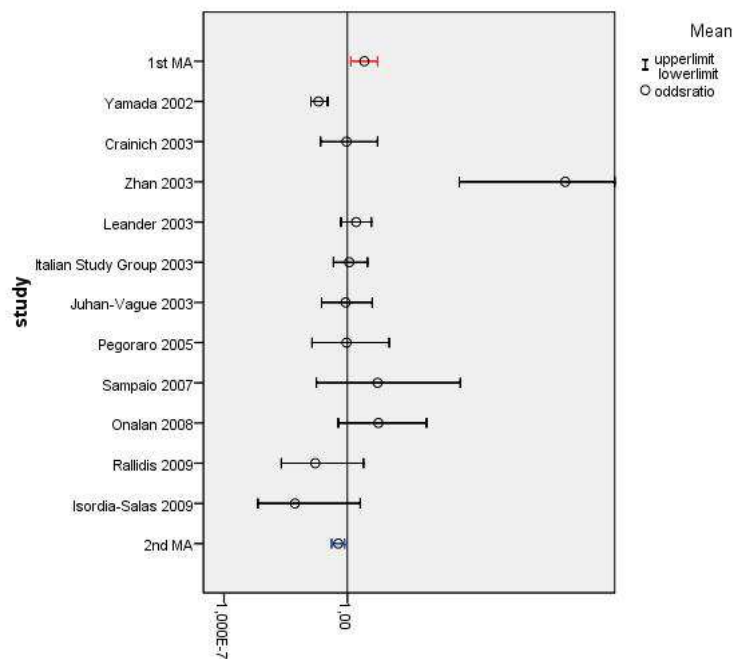
Πίνακας 47

Επικρατές (dominant) γενετικό μοντέλο

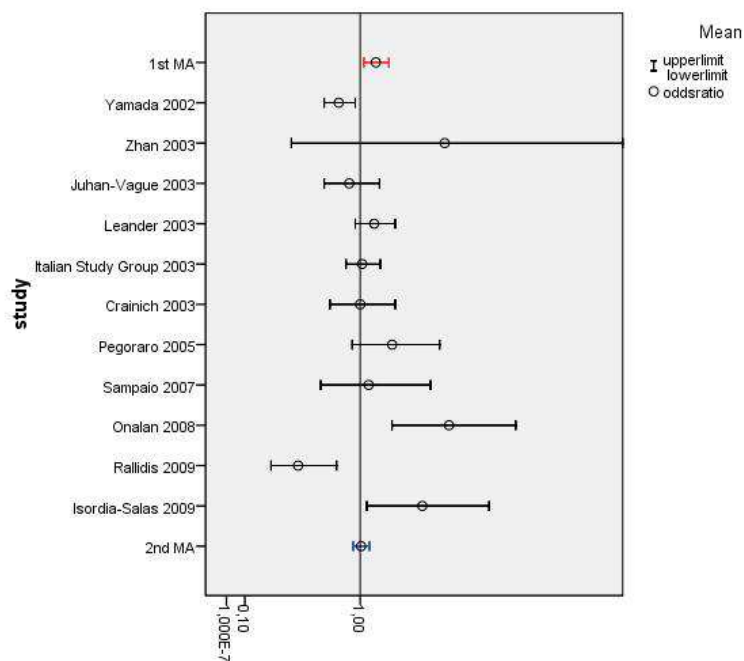
μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Yamada	2002	0.79(0.66-0.95)	Pegoraro	2005	1.36(0.92-2.02)
Zhan	2003	2.10(0.40-10.82)	Sampaio	2007	1.09(0.63-1.88)
Crainich	2003	1.00(0.71-1.40)	Onalan	2008	2.17(1.36-3.48)
Juhan-Vague	2003	0.89(0.66-1.21)	Isordia-Salas	2009	1.76(1.07-2.90)
Leander	2003	1.15(0.95-1.40)	Rallidis	2009	0.45(0.26-0.77)
Italian Study Group	2003	1.02(0.86-1.22)			
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²	Ανάλυση Ευαισθησίας	
	1.01(0.93-1.10)	1.07(0.89-1.30)	72%	F.E. 0.98(0.90-1.08) R.E. 1.00(0.87-1.15) I ² = 48%	

Πίνακας 48

Η εξέλιξη της σημαντικότητας και για τα δύο γενετικά μοντέλα αποτυπώνεται στα γραφήματα:



Γράφημα 34
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού PAI-1 4G/5G και του εμφράγματος του μυοκαρδίου για το υπολειπόμενο (recessive) γενετικό μοντέλο
 Η 2^η μετά-ανάλυση ανατρέπει τα ευρήματα της 1^{ης}



Γράφημα 35
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού PAI-1 4G/5G και του εμφράγματος του μυοκαρδίου για το επικρατές (dominant) γενετικό μοντέλο
 Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Έμφραγμα Μυοκαρδίου
Γονίδιο: PAI-1
Πολυμορφισμός: 4G/5G

1 ^ο συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Ο.Ρ.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
Boekholdt, 2001	Ολλανδία, μεικτοί	10	1515/1866/3381	F.E. 1.20(1.04-1.37) recessive F.E. 1.17(1.04-1.32) dominant	δ/α	δ/α	212.5	Όχι/p=0.1
2 ^ο Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Ο.Ρ.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
11	6794/7264/14058	Recessive F.E. 0.9 (0.83-0.97) R.E. 1.04(0.84-1.30) Dominant F.E. 1.01(0.93-1.10) R.E. 1.07(0.89-1.30)	Recessive=82% Dominant=72%	Recessive: 1/11 Dominant : 2/11	7/11	495	Δεν μπορούσε να υπολογιστεί	Recessive: Ναι/p=0.01 Dominant : Ναι/p=0.05

Πίνακας 49

Ο πολυμορφισμός G1691A στο γονίδιο FV και ο κίνδυνος εμφράγματος του μυοκαρδίου

Το γονίδιο που κωδικοποιεί τον ανθρώπινο παράγοντα V εδράζεται στο χρωμόσωμα 1q21-25. [335]Ο μεταλλαγμένος παράγοντας V, ευρέως γνωστός ως Factor V Leiden (από την ομώνυμη Ολλανδική πόλη όπου πρωτοπεριγράφηκε), χαρακτηρίζεται από την αντικατάσταση της Arg από Gln στη θέση 506, σαν αποτέλεσμα μίας σημειακής μετάλλαξης (αντικατάσταση της γουανίνης από αδενίνη στη θέση 1691).[335] Αυτή η γενετική αλλαγή, επιβραδύνει την πρωτεολυτική αδρανοποίηση του παράγοντα Va από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, αυξάνοντας έτσι την παραγωγή της θρομβίνης. [336] Η μειωμένη αντιπηκτική δράση της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C συνεπάγεται μία αυξημένη τάση προς θρόμβωση.[337]

Η συχνότητα εμφάνισης της μετάλλαξης στο γενικό πληθυσμό ανέρχεται στο 3-5% παγκοσμίως. Ελληνικές εργασίες προσδιορίζουν τη συχνότητα αυτή σε 13% για Έλληνες που ζουν στο Ηνωμένο Βασίλειο [338] και στο 4.8% για πληθυσμούς της Βορείου Ελλάδος.[339]

Η μετά-ανάλυση [118] του 2001 από τους Boekholdt και συνεργ., κατέδειξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού G1691A (Factor V Leiden) και του κινδύνου εμφράγματος του μυοκαρδίου. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and “myocardial infarction” and “Factor V” (από 2002/12 έως 2009/12). Από τις 66 μελέτες που εντοπίστηκαν, 13 κρίθηκαν κατάλληλες για μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς AA/GA/GG			Μάρτυρες AA/GA/GG		
Angeline, 2005 [340]	Ινδία, ΗΠΑ	Ινδοί	EM	52/20/72	Ναι	0	3	49	0	1	19
Butt, 2003 [341]	Καναδάς	δ/α	EM	500/500/1000	Ναι	0	23	477	0	23	477
Celik, 2008 [281]	Τουρκία	Τούρκοι	EM	129/107/236	Ναι	0	10	119	0	4	103
Hobikoglou, 2004 [342]	Τουρκία	Τούρκοι	EM	42/66/108	Ναι	0	10	32	0	6	60
Italian Study Gr, 2003 [299]	Ιταλία	Καυκάσιοι	EM	1210/1210/2420	Ναι	0	38	1172	0	44	1166
Rallidis, 2003 [343]	Ελλάδα	Καυκάσιοι	EM	70/260/330	Ναι	0	44	66	0	18	242
Roldan, 2005 [344]	Ισπανία	Καυκάσιοι	EM	281/530/811	Ναι	1	10	270	0	19	511
Salazar-Sanchez, 2005 [287]	Κόστα Ρίκα	Λατίνοι	EM	186/197/383	Ναι	0	2	184	0	3	194
Settin, 2008 [345]	Αίγυπτος	Άραβες	EM	44/211/255	Όχι	4	19	21	4	35	17
Tanis, 2003 [346]	Ολλανδία	δ/α	EM	217/763/980	Ναι	0	13	204	0	42	721
Yanqing, 2003 [347]	Κίνα	Ασιάτες	EM	96/140/236	δ/α	0	0	96	0	0	140
Pestana, 2009 [348]	Βενεζουέλα	Μεικτοί	EM	175/134/309	Ναι	0	4	171	0	4	130
Ranjith, 2003 [260]	N.Αφρική	Ασιάτες	EM	195/300/495	Ναι	0	4	191	0	1	299

Πίνακας 50

**Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση
EM= Έμφραγμα μυοκαρδίου**

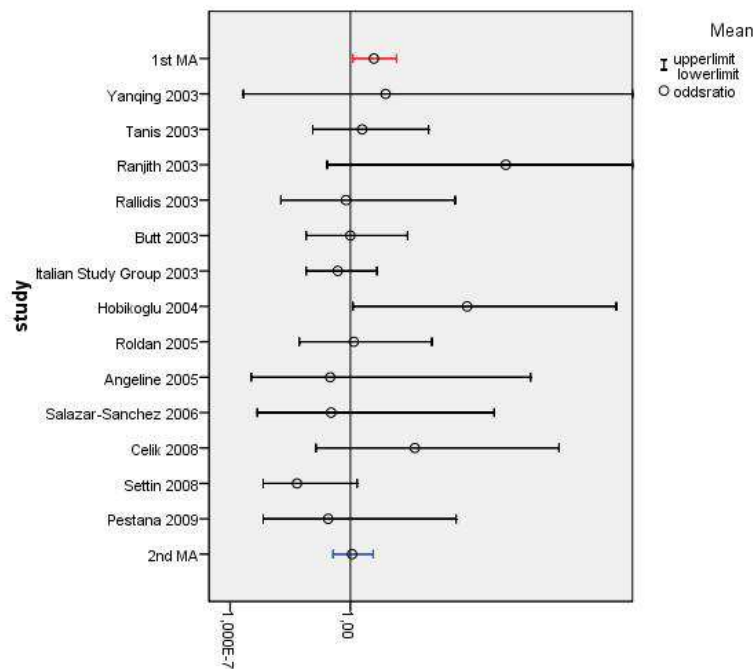
Η 2^η μετά-ανάλυση αδυνατεί να επιβεβαιώσει τη σημαντική συσχέτιση που κατέγραψε η 1^η. Σημαντική διαφορά στο sample size των δύο μετά-αναλύσεων δεν παρατηρείται, ενώ η σύγκριση των ποσοστών συμμόρφωσης στο HWE δεν ήταν εφικτή, δεδομένου πως η 1^η μετά-ανάλυση δεν παρείχε σχετικές πληροφορίες. Η ανάλυση ευαισθησίας

δεν διαφοροποιεί τα αποτελέσματα ως προς τη σημαντικότητά τους. Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	O.R.(C.I.)
Rallidis	2003	0.95 (0.34-2.66)	Hobikoglu	2004	2.92(1.03-8.26)	Pestana 2009	0.76(0.21-2.68)
Yanqing	2003	1.45(0.08-23.56)	Angeline	2005	0.78(0.13-4.65)		
Ranjith	2003	3.90(0.75-20.35)	Roldan	2005	1.04(0.49-2.20)		
Tanis	2003	1.14(0.61-2.14)	Salazar-Sanchez	2006	0.79(0.17-3.58)		
Butt	2003	1.00(0.55-1.78)	Settin	2008	0.47(0.21-1.08)		
Italian Study Group	2003	0.86(0.55-1.33)	Celik	2008	1.90(0.64-5.66)		
M.A.	F.E.	R.E.	I²	Ανάλυση Ευαισθησίας			
	1.02 (0.81-1.28)	1.01 (0.80-1.28)	1%	F.E.	1.08(0.85-1.38)	R.E.	1.07(0.84-1.37)
				I ² =0%			

Πίνακας 51

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα που ακολουθεί:



Γράφημα 36

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού FV G1691A και του εμφράγματος του μυοκαρδίου για το επικρατές (dominant) γενετικό μοντέλο
Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Έμφραγμα μυοκαρδίου
Γονίδιο: Factor V
Πολυμορφισμός: G1691A (Factor V Leiden)

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Boekholdt, 2001	Ολλανδία, μεικτοί	12	2390/3547/5937	F.E.1.29(1.03-1.61) dominant	Μη σημαντική	Δεν αναφέρεται	410	Όχι/p=0.4
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	13	3197/4438/7635	F.E. 1.02 (0.81-1.28) R.E. 1.01 (0.80-1.28)	1%	1/13	11/13	330	Δεν μπορούσε να υπολογιστεί	Όχι/p=0.1

Πίνακας 52

Ο πολυμορφισμός MTHFR C677T και ο κίνδυνος ανάπτυξης αθηροθρομβωτικής νόσου

Η μετά-ανάλυση [108] του 2001 από τους Kluijtmans και συνεργάτες, κατέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον πολυμορφισμό MTHFR C677T και τον κίνδυνο αρτηριακής και φλεβικής θρόμβωσης. Περιέλαβε περιπτώσεις ασθενών με τα ακόλουθα νοσήματα:

- Στεφανιαία Νόσος
- Έμφραγμα Μυοκαρδίου
- Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση
- Περιφερική Αρτηριακή Θρόμβωση
- Ισχαιμικό Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο

Η συγκεκριμένη μετά-ανάλυση εμφάνισε μια ιδιαιτερότητα στον σχεδιασμό της: ήταν περιορισμένη (restricted) σε μελέτες οι οποίες εντόπισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην κατανομή του TT γονότυπου ανάμεσα σε ασθενείς και υγιείς μάρτυρες. Η ίδια μεθοδολογία αναγκαστικά ακολουθήθηκε και στη 2^η μετά-ανάλυση προκειμένου να υπάρχει αντιστοιχία στη σύγκριση των αποτελεσμάτων. Οι εξής όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“coronary artery disease” or “coronary heart disease” or “ischemic heart disease” or “cardiovascular disease” or “myocardial infarction” or “venous thrombosis” or “arterial thrombosis” or “ischemic stroke”) and (“MTHFR” or “methylenetetrahydrofolate reductase”) (από 2002/02 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 385 σχετικές μελέτες από τις οποίες 23 πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης. Τα χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται παρακάτω:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς TT/CT/CC			Μάρτυρες TT/CT/CC		
						1	2	3	0	1	48
Alluri,2005 [349]	Ινδία	Ινδοί	ΙΑΕΕ	6/49/55	Ναι	1	2	3	0	1	48
Almawi,2004 [241]	Λίβανος	Άραβες	ΣΝ	96/404/500	Ναι	30	39	27	18	166	220
Bennouar,2007 [243]	Μαρόκο	Άραβες	ΣΝ	210/190/400	Ναι	31	78	101	16	61	113
Cho,2006 [350]	Κορέα	Ασιάτες	ΣΝ	111/116/227	Ναι	39	53	19	22	47	47
Choi,2003 [351]	N.Κορέα	Ασιάτες	ΙΑΕΕ	72/198/270	Ναι	20	32	20	25	100	73
Falchi,2005 [245]	Γαλλία	δ/α	ΣΝ	100/100/200	Όχι	20	43	37	4	54	42
Ghazouani,2008 [248]	Τυνησία	Άραβες	ΣΝ	352/390/742	Ναι	46	149	157	20	123	247
Goracy,2009 [352]	Πολωνία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	152/135/287	Ναι	18	69	65	6	46	83
He,2009 [353]	Κίνα	Ασιάτες	ΕΒΦΘ	63/75/138	Ναι	21	27	15	13	36	26
Kawamoto,2005 [354]	Ιαπωνία	Ασιάτες	ΙΑΕΕ	48/241/289	Ναι	14	24	10	40	110	91
Li,2003 [355]	Κίνα	Ασιάτες	ΙΑΕΕ	807/1832/2639	Όχι	198	376	233	398	824	610
Marcucci,2003 [356]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ	55/61/116	Ναι	21	28	6	9	34	18
Marcucci,2005 [357]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΑΘ	410/410/820	Ναι	87	189	134	62	197	151
McCarthy,2004 [314]	ΗΠΑ	Καυκάσιοι	ΕΜ	169/409/578	Ναι	31	65	73	46	172	191
Moe,2008 [358]	Σιγκαπούρη	Ασιάτες	ΙΑΕΕ	120/207/327	Ναι	11	36	73	3	68	136
Rios,2007 [261]	Βραζιλία	Καυκάσιοι	ΣΝ	212/74/286	Ναι	22	82	108	1	28	45
Yamada,2006 [291]	Ιαπωνία	Ασιάτες	ΕΜ	1192/2291/3483	Ναι	247	570	375	353	1134	804
Sun,2009 [359]	Κίνα	Ασιάτες	ΙΑΕΕ	119/142/261	Όχι	38	36	45	26	38	78
Al-Allawi,2009 [360]	Ιράκ	Άραβες	ΙΑΕΕ	70/50/120	Ναι	14	30	26	3	20	27
Kerkeni,2006 [269]	Τυνησία	Άραβες	ΣΝ	100/120/220	Ναι	16	35	49	7	55	58
Szabo,2009 [289]	Ουγγαρία	Καυκάσιοι	ΕΜ	118/384/502	Όχι	25	65	28	42	123	219
Zak,2009 [361]	Πολωνία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ (παιδιά)	64/59/123	Ναι	9	30	25	2	25	32
Fang,2005 [362]	Ιαπωνία	Ασιάτες	ΙΑΕΕ	42/24/66	Ναι	11	18	13	2	6	16

Πίνακας 53

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

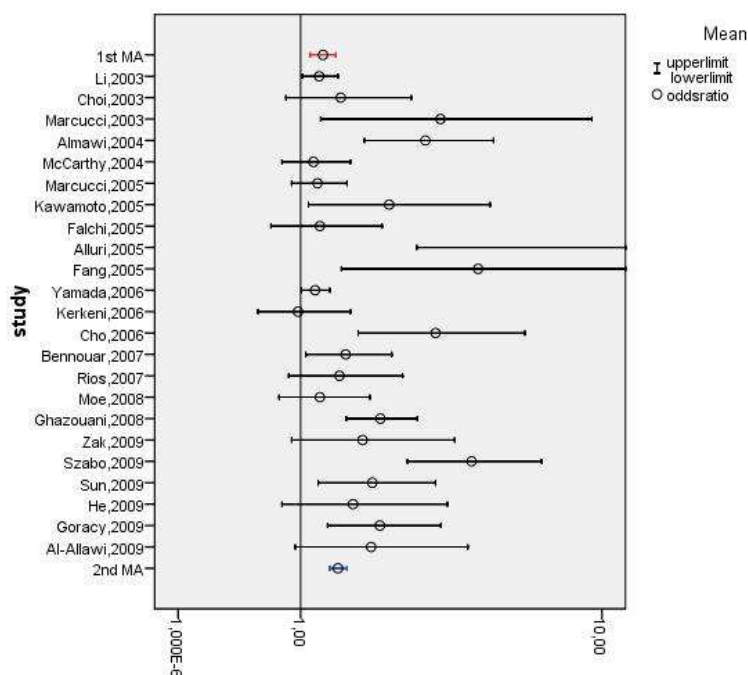
ΕΜ= Έμφραγμα μυοκαρδίου, ΣΝ=Στεφανιαία Νόσος, ΙΑΕΕ=Ισχαιμικό Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο, ΑΘ=Αρτηριακή

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει τα ευρήματα της 1^{ης}. Στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς τις διαμέσους συμμετεχόντων ή τα ποσοστά συμμόρφωσης στο ΗWE, δεν παρατηρούνται. Η ανάλυση ευαισθησίας δεν διαφοροποιεί αξιόλογα τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης:

Μελέτη, έτος	O.R. (C.I.)	Μελέτη,έτος (συνέχεια)	O.R. (C.I.)
Marcucci,2003	3.41(1.24-9.39)	He,2009	1.69(0.80-3.59)
Choi,2003	1.51(0.84-2.74)	Zak,2009	1.84(0.90-3.78)
Li,2003	1.22(1.02-1.47)	Al-Allawi,2009	1.98(0.94-4.15)
Almawi,2004	3.05(1.87-4.96)	Szabo,2009	4.26(2.66-6.82)
McCarthy,2004	1.15(0.80-1.65)	Sun,2009	2.00(1.21-3.29)
Alluri,2005	24.25(2.86-205.22)	Goracy,2009	2.13(1.33-3.42)
Kawamoto,2005	2.30(1.09-4.84)		
Fang,2005	4.46(1.52-13.02)		
Falchi,2005	1.23(0.69-2.17)		
Marcucci,2005	1.20(0.90-1.60)		
Cho,2006	3.29(1.77-6.11)		
Kerkeni,2006	0.97(0.57-1.65)		
Yamada,2006	1.17(1.01-1.36)		
Bennouar,2007	1.58(1.06-2.35)		
Rios,2007	1.49(0.87-2.56)		
Moe,2008	1.23(0.77-1.96)		
Ghazouani,2008	2.14(1.59-2.87)		
MA	Fixed effects Model	Random effects Model	Ετερογένεια
	1.47(1.36-1.60)	1.77(1.48-2.11)	72%
			Ανάλυση Ευαισθησίας
			F.E.1.47(1.34-1.61) R.E.1.74(.43-2.11) I ² =67%

Πίνακας 54

Η εξέλιξη της σημαντικότητας παριστάνεται στο ακόλουθο γράφημα:



Γράφημα 37

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού MTHFR C677T και της αθηροθρωμβωτικής νόσου Η σημαντικότητα διατηρείται

Νόσημα: Αθηροθρομβωτική Νόσος
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
		Kluijtmans, 2001	ΗΠΑ, μεικτοί	10	1857/2951/4808	F.E. 1.27(1.11-1.44) CT vs CC	δ/α	10/10	473.5
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	23	4688/7961/12649	F.E. 1.47(1.36-1.60) Dominant (TT+CT vs CC)	72%	12/23	19/23	286	Όχι/p=0.15	Όχι/p=0.06

Πίνακας 55

Ο πολυμορφισμός eNOS 4b/a και ο κίνδυνος ανάπτυξης ιδιοπαθούς υπέρτασης

Η ιδιοπαθής υπέρταση αποτελεί μία πολυπαραγοντική νόσο, στην παθογένεια της οποίας εμπλέκονται γενετικές και περιβαλλοντικές συνιστώσες. [363] Κλινικές μελέτες έχουν δείξει πως τροποποιήσεις στο μεταβολισμό του NO, πιθανά σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της υπέρτασης.[364] Ανωμαλίες στην ενεργότητα του ενζύμου που συνθέτει το NO στα ενδοθηλιακά κύτταρα και καλείται συνθάση του NO (eNOS), ίσως οδηγούν σε ανεπάρκεια του NO. [365]Το γονίδιο που κωδικοποιεί το eNOS εδράζεται στο χρωμόσωμα 7 και μεταξύ άλλων, ο πολυμορφισμός 4b/a στο ιντρόνιο 4 του συγκεκριμένου γονιδίου, έχει περιγραφεί.[366]

Η μετά-ανάλυση [124] του 2006 από τους Zintzaras και συνεργάτες, κατέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον πιο πάνω πολυμορφισμό και την υπέρταση. Οι εξής όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“hypertension” or “blood pressure”) and (“eNOS” or “endothelial nitric oxide synthase” or “NOS3”) (2007/08-2009/12). Εντοπίστηκαν 107 σχετικές δημοσιεύσεις από τις οποίες 3 πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης στη μετά-ανάλυση. Τα κύρια χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς bb/ba/aa			Μάρτυρες bb/ba/aa		
Colomba,2008 [367]	Ιταλία	Καυκάσιοι	Ιδιοπαθής Υπέρταση	119/31/150	Ναι	86	30	3	24	7	0
Jemaa,2009 [368]	Τυνησία	Αραβες	Ιδιοπαθής Υπέρταση	296/395/691	Ναι	181	96	19	274	112	9
Nejatizadeh,2008 [369]	Ινδία	Ινδοί	Ιδιοπαθής Υπέρταση	455/345/800	Ναι	210	165	78	268	65	11

Πίνακας 56

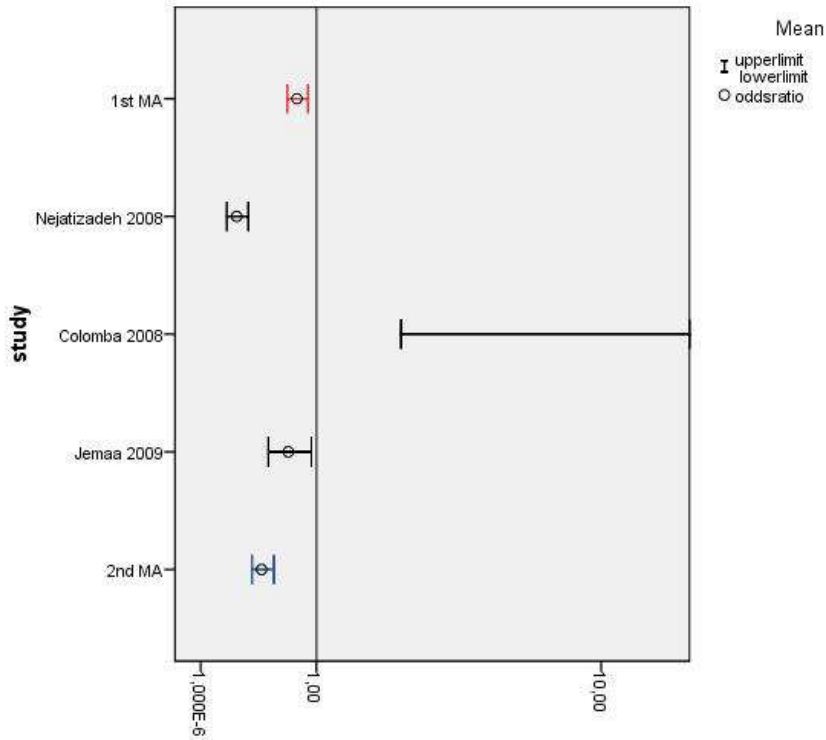
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η ως προς το μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων (fixed effects), όχι όμως και ως προς εκείνο των τυχαίων (random effects). Στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς τις διαμέσους συμμετεχόντων ή τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE, δεν παρατηρούνται. Για το μοντέλο σταθερών αποτελεσμάτων, παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά στα O.R.s των 2 μετά-αναλύσεων. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών είναι ιδιαίτερα υψηλή: $I^2 = 93\%$ Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)		
Colomba	2008	41.69(2.32-746.68)		
Nejatizadeh	2008	0.24(0.17-0.33)		
Jemaa	2009	0.69(0.50-0.94)		
M.A.	F.E.	O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I^2
		0.44(0.36-0.55)	0.70(0.22-2.18)	93%

Πίνακας 57

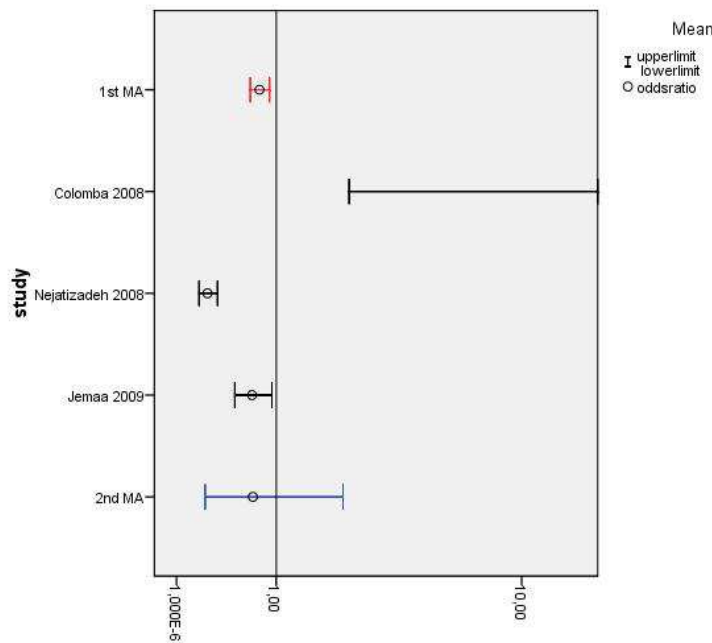
Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στα γραφήματα:



Γράφημα 38

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού eNOS 4b/a και της ιδιοπαθούς υπέρτασης για το fixed effects model.

Η σημαντικότητα διατηρείται



Γράφημα 39

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού eNOS 4b/a και της ιδιοπαθούς υπέρτασης για το random effects model.

Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Ιδιοπαθής Υπέρταση
Γονίδιο: eNOS
Πολυμορφισμός: 4b/a

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zintzaras, 2006	Ελλάδα, μεικτοί	15	2216/3222/5438	F.E 0.78(0.68-0.90) R.E. 0.78(0.67-0.91) recessive	12%	11/15	331	Όχι/p=1.0
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	3	870/771/1641	F.E. 0.44(0.36-0.55) R.E. 0.70(0.22-2.18)	93%	2/3	3/3	691	όχι/p=0.3	F.E. ναι/p<0.01 R.E. όχι/p=0.8

Πίνακας 58

Ο πολυμορφισμός FXIII Val34Leu και ο κίνδυνος ανάπτυξης εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης (ΕΒΦΘ)

Ο παράγοντας FXIII συνιστά μία προ-τρανσγλουταμινάση που ενεργοποιείται από τη θρομβίνη και συμβάλλει στην ενίσχυση του θρόμβου έναντι της φιβρινόλυσης.[370] Πρόσφατες έρευνες έδειξαν πως ο πολυμορφισμός Val34Leu, ο οποίος συνεπάγεται μία G>T αντικατάσταση στο ιντρόνιο 2 του γονιδίου που κωδικοποιεί τον FXIII, οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία στη διάσπαση της θρομβίνης [371], με αποτέλεσμα πιο πρώιμη αλληλεπίδραση μεταξύ α και γ αλυσίδων και τελικά τον σχηματισμό υψηλότερης ποιότητας δικτύου φιβρίνης. [372] Ως εκ τούτου, οι φορείς του μεταλλαγμένου αλληλίου φαίνονται να προστατεύονται από την ΕΒΦΘ, σε σχέση με τους μη-φορείς.[373]

Η μετά-ανάλυση του 2000 από τους Alhenc-Gelas και συνεργ.[106], έδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον εν λόγω πολυμορφισμό και τον κίνδυνο εμφάνισης ΕΒΦΘ. Τα κριτήρια αναζήτησης των μελετών που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση ήταν τα κάτωθι: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and “venous thrombosis” and (FXIII or “Factor XIII”) (2001-12 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 36 άρθρα, εκ των οποίων 7 κρίθηκαν κατάλληλα για να συμπεριληφθούν στη μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς LL/LV/VV			Μάρτυρες LL/LV/VV		
						3	27	36	13	55	80
Zidane,2003 [374]	Ολλανδία	δ/α	ΠΕ	66/148/214	Ναι	6	60	75	30	192	255
Cushman,2004 [375]	ΗΠΑ	δ/α	ΕΒΦΘ	141/477/618	Ναι	15	110	84	20	122	164
Wells,2006 [376]	Καναδάς	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ	309/306/615	Ναι	10	39	78	5	19	29
Procure-GEHT group,2006 [377]	Γαλλία	δ/α	ΕΒΦΘ	127/53/180	Ναι	4	40	71	13	55	65
Salazar-Sanchez,2006 [378]	Κόστα Ρίκα	Λατίνοι	ΕΒΦΘ	120/133/253	Ναι	24	191	295	65	375	585
Cushman,2007 [379]	ΗΠΑ	Μεικτοί	ΕΒΦΘ	510/1025/1535	Ναι	1	11	21	34	166	417
Hiltunen,2006 [380]	Φινλανδία	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ	34/641/675	Όχι						

Πίνακας 59

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση
ΠΕ= Πνευμονική Εμβολή
ΕΒΦΘ= Εν τω Βάθει Φλεβοθρόμβωση

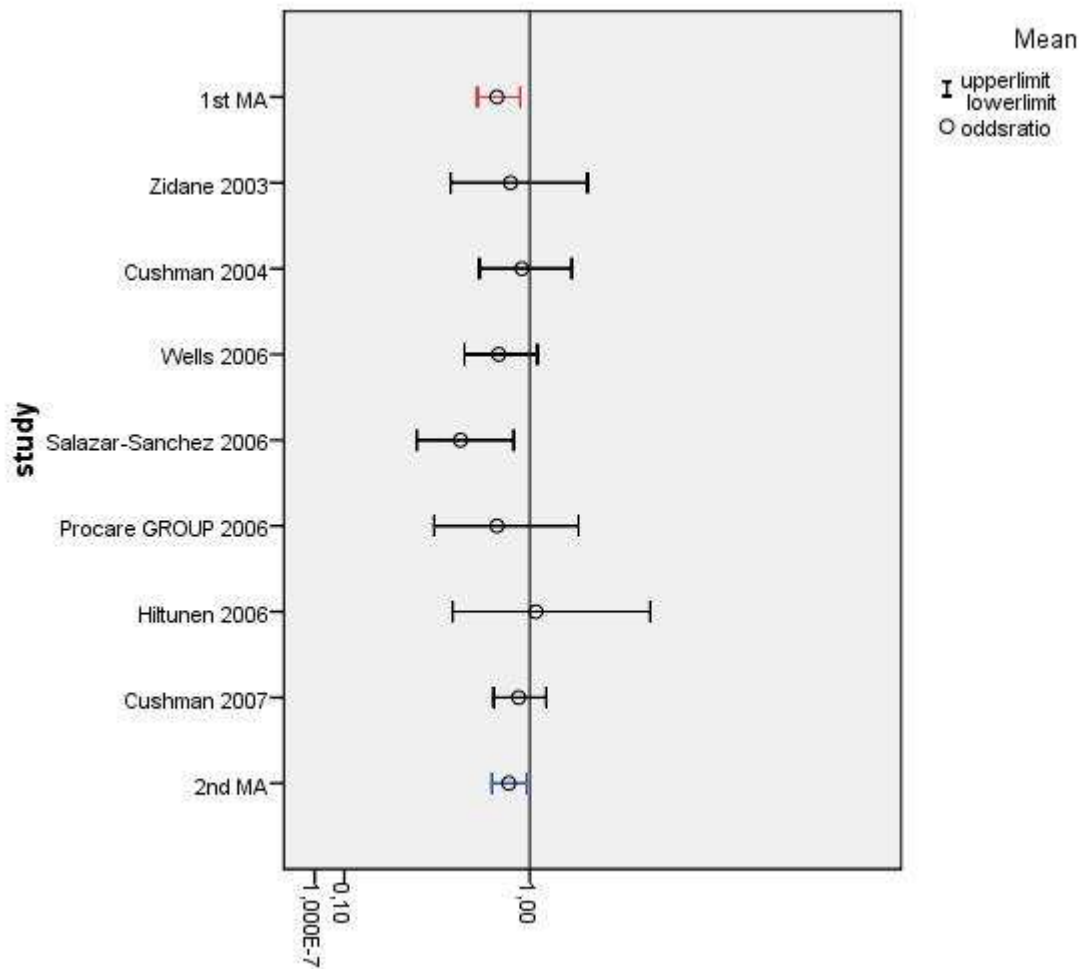
Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει τη 1^η και παράλληλα τον προστατευτικό ρόλο του πολυμορφισμού, ως προς το μοντέλο αλληλίων. Στατιστικά σημαντικές διαφορές στις διάμεσους των συμμετεχόντων ή στα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE ανάμεσα στις 2 μετά-αναλύσεις, δεν παρατηρούνται. Όταν εξαιρούνται από τη μετά-ανάλυση οι μελέτες που δεν παρουσιάζουν συμμόρφωση στο HWE (ανάλυση ευαισθησίας), η σημαντικότητα οριακά χάνεται. Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)
Zidane	2003	0.88(0.55-1.41)	Cushman	2007	0.93(0.78-1.11)
Cushman	2004	0.95(0.70-			

		1.29)		
Hiltunen	2006	1.04(0.56-1.95)		
Salazar-Sanchez	2006	0.60(0.39-0.90)		
Procure GROUP	2006	0.80(0.47-1.34)		
Wells	2006	0.81(0.62-1.05)		
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²	Ανάλυση ευαισθησίας
	0.87(0.77-0.98)	0.87(0.77-0.98)	0	F.E. 0.89(0.79-1.01) R.E. 0.89(0.79-1.01) I ² =0%

Πίνακας 60

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αναπαριστάται στο γράφημα:



Γράφημα 40

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού FXIII Val34Leu και της ΕΒΟΦ
 Η σημαντικότητα διατηρείται

Νόσημα: Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση
Γονίδιο: FXIII
Πολυμορφισμός: Val34Leu

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Alhenc-Gelas,2000	Γαλλία, μεικτοί	5	1340/2211/3551	ι)F.E. 0.80(0.69-0.94) allele ιι)F.E. 0.58(0.41-0.82) additive	p=0.3	4/5	450	Όχι/p=1.0
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	Ετερογένεια I²	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	7	1307/2783/4090	F.E.:0.87 (0.77-0.98) R.E.: 0.87(0.77-0.98) allele	0	1/7	6/7	615	Όχι/p=0.7	Όχι/p=0.3

Πίνακας 61

Ο πολυμορφισμός G1691A στο γονίδιο FV και ο κίνδυνος εμφάνισης υποτροπιάζουσας εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης (ΕΒΦΘ)

Η μετά-ανάλυση [105] του 2000 από τους Marchetti και συνεργ., έδειξε πως η συσχέτιση ανάμεσα στον μεταλλαγμένο παράγοντα V Leiden και τον κίνδυνο υποτροπής της ΕΒΦΘ, είναι σημαντική. Τα κριτήρια αναζήτησης των μελετών που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση ήταν τα κάτωθι: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and “venous thrombosis” and (recurrence or recurrent) and (“factor V” or “FV” or “Factor 5” or “F5”) (2001/11 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 105 άρθρα, εκ των οποίων 9 κρίθηκαν κατάλληλα για να συμπεριληφθούν στη μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο ΗWE	Ασθενείς Φορείς/Σύνολο		Μάρτυρες Φορείς/Σύνολο	
Caprini, 2005 [381]	ΗΠΑ	δ/α	ΕΒΦΘ	9/35/44	δ/α	3	9	7	35
Eichinger, 2008 [382]	Αυστρία	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ	168/939/1107	δ/α	60	168	263	939
Ivanov, 2008 [383]	Βουλγαρία	Καυκάσιοι	ΠΕ	27/24/51	δ/α	10	27	2	24
Kearon, 2004 [384]	Καναδάς	δ/α	ΕΒΦΘ	5/120/125	δ/α	1	5	13	120
Palareti, 2003 [385]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ, ΠΕ	58/541/599	δ/α	15	58	70	541
Revel-Vilk, 2003 [386]	Καναδάς	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ (παιδιά)	18/153/171	δ/α	1	18	7	153
Ruggeri, 2002 [387]	Ιταλία, Αυστρία	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ, ΠΕ	11/43/54	δ/α	2	11	3	43
Santamaria, 2005 [388]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΕΒΦΘ, ΠΕ	49/146/195	δ/α	5	49	10	146
Tavil, 2008 [389]	Τουρκία	Τούρκοι	ΕΒΦΘ, ΠΕ (παιδιά)	3/13/16	δ/α	1	3	1	13

Πίνακας 62

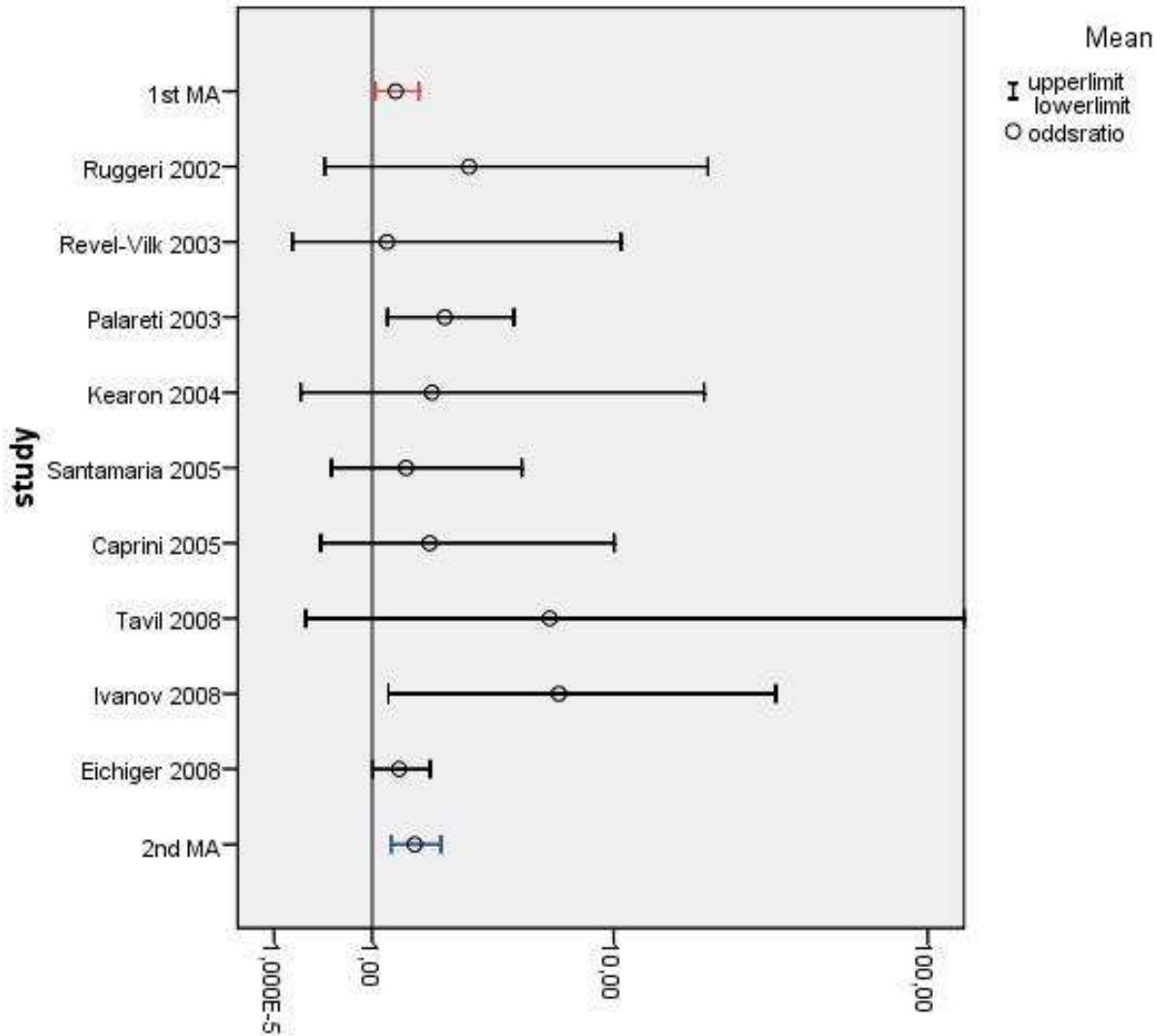
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετα-ανάλυση
ΠΕ= Πνευμονική Εμβολή
ΕΒΦΘ= Εν τω Βάθει Φλεβοθρόμβωση
Σημείωση: Όλες οι περιπτώσεις αφορούν σε υποτροπή

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η, καθώς καταδεικνύει σημαντικά αποτελέσματα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Caprini	2005	2.00(0.39-10.05)	Ruggeri	2002	2.96(0.43-20.40)
Eichiger	2008	1.42(1.01-2.01)	Santamaria	2005	1.54(0.50-4.76)
Ivanov	2008	6.47(1.24-33.51)	Tavil	2008	6.0(0.25-140.04)
Kearon	2004	2.05(0.21-19.83)			
Palareti	2003	2.34(1.23-4.44)			
Revel-Vilk	2003	1.22(0.14-10.58)			
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²		
	1.70(1.29-2.25)	1.70(1.29-2.25)	0		

Πίνακας 63

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αναπαριστάται στο γράφημα:



Γράφημα 41
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού FV G1691A και της EBΘΦ (υποτροπή)
 Η σημαντικότητα διατηρείται

**Νόσημα: Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (υποτροπή)
Γονίδιο: Factor V
Πολυμορφισμός: G1691A**

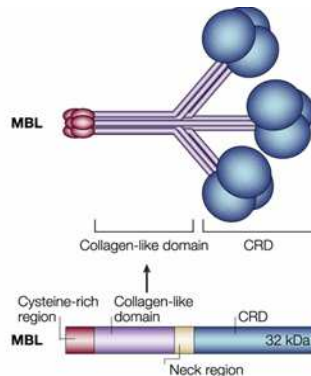
1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Marchetti, 2000	Ιταλία, μεικτοί	6	746/975/1721	F.E. 1.36(1.05-1.78) φορείς vs μη φορείς	p=0.18	δ/α	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	9	348/2014/2362	F.E. 1.70(1.29-2.25) R.E. 1.70(1.29-2.25)	0	3/9	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	125	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Όχι/p=0.1

Πίνακας 64

Νοσήματα Συνδετικού Ιστού

Οι πολυμορφισμοί B/C/D (codons 54/57/52) στο γονίδιο MBL2 και ο κίνδυνος ανάπτυξης Συστηματικού Ερυθηματώδους Λύκου (ΣΕΛ)

Η πρωτεΐνη MBL (**mannose binding lectin**) (εικ.5) είναι λεκτίνη του πλάσματος και μέλος της οικογένειας των κολλεκτινών. Αποτελεί σημαντική πρωτεΐνη του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος, με ρόλο ενεργοποιητή του συμπληρώματος.[390]



Εικόνα 5
Η δομή της MBL

Η κύρια αιτία ανεπάρκειας της MBL είναι η παρουσία μίας δομικής μετάλλαξης στο εξόνιο 1 του γονιδίου που την κωδικοποιεί.[391] Τρεις τέτοιες σημειακές μεταλλάξεις (C>T, G>A και G>A, επίσης γνωστές σαν αλληλία D, B, και C αντίστοιχα) έχουν περιγραφεί στα κοδόνια 52, 54, 57.[392] Η ανεπάρκεια της εν λόγω λεκτίνης έχει κατά καιρούς συνδεθεί με αυξημένη επιρρέπεια σε λοιμώδη και αυτοάνοσα νοσήματα [393], μεταξύ των οποίων και ο ΣΕΛ.

Η μετά-ανάλυση [119] 8 μελετών του 2001 από τους Garred και συνεργ., κατέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στη φορεία των μεταλλαγμένων αλληλίων και τον ΣΕΛ. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“Systemic lupus erythematosus” or “SLE”) and (“mannose-binding lectin” or “MBL”) (2002/12 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 44 άρθρα από τα οποία 7 πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν στη μετά-ανάλυση. Τα κύρια χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας,έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς 00/0A/AA			Μάρτυρες 00/0A/AA		
						1	10	30	1	18	92
Huang,2003 [394]	Κίνα	Ασιάτες	ΣΕΛ	41/111/152	Ναι	1	10	30	1	18	92
Momot,2006 [395]	Γερμανία	Καυκάσιοι	ΣΕΛ	287/120/407	Ναι	20	103	164	12	60	48
Takahashi,2005 [396]	Ιαπωνία	Ασιάτες	ΣΕΛ	147/160/307	Ναι	9	54	84	2	57	101
Tsai,2009 [397]	Κίνα	Ασιάτες	ΣΕΛ (παιδιά)	150/100/250	Ναι	3	48	99	2	37	61
Monticcielo,2009 [398]	Βραζιλία	Μεικτοί	ΣΕΛ	327/345/672	Ναι	29	124	174	18	119	208
García-Laorden,2003 [399]	Ισπανία	Καυκάσιοι	ΣΕΛ	89/188/277	Ναι	5	39	45	13	75	100
Piao,2007 [400]	ΗΠΑ	Μεικτοί	ΣΕΛ	130/142/272	Ναι	8	47	75	11	44	87

Πίνακας 65

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

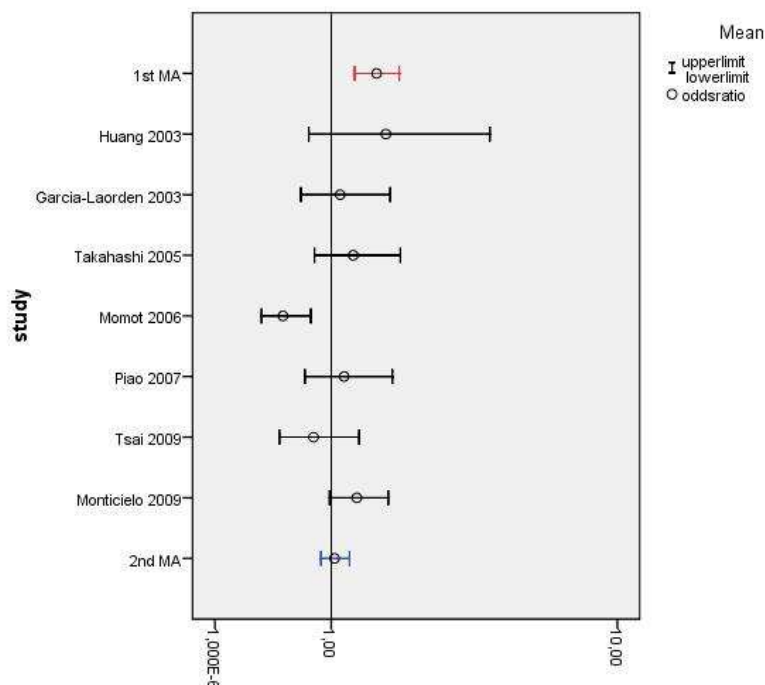
Σημείωση: όπου 0=αλληλίο Β, C ή D

Η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει την 1^η, καθώς τα αποτελέσματα της για το επικρατές γενετικό μοντέλο στερούνται σημαντικότητας. Τα O.R.s και 95% C.I. των 2 μετά-αναλύσεων παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά, συγκρινόμενα μεταξύ τους με το z-test ($p=0.01$). Η 1^η μετά-ανάλυση δεν παρείχε δεδομένα για το μέγεθος του δείγματος των μελετών που συμπεριέλαβε ή για τη συμμόρφωση στο HWE και ως εκ τούτου, συγκρίσεις δεν ήταν δυνατές. Τα αποτελέσματα της μετά-ανάλυσης φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Huang	2003	1.77(0.75-4.15)	Monticielo	2009	1.33(0.98-1.81)
Garcia-Laorden	2003	1.11(0.67-1.84)			
Takahashi	2005	1.28(0.81-2.02)			
Momot	2006	0.5(0.32-0.77)			
Piao	2007	1.16(0.71-1.88)			
Tsai	2009	0.80(0.47-1.36)			
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²		
	1.04(0.88-1.23)	1.03(0.76-1.40)	67%		

Πίνακας 66

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 42

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ των πολυμορφισμών B/C/D στο γονίδιο MBL και του ΣΕΛ Η σημαντικότητα καταργείται

**Νόσημα: Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
Γονίδιο: MBL2
Πολυμορφισμός: A/B/C/D (codons 54/57/52)**

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Garred, 2001	Δανία, μεικτοί	8	Δεν αναφέρεται	F.E. 1.62(1.30-2.00) dominant	p=0.6	Δεν αναφέρεται	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	7	1171/1166/2337	F.E. 1.04(0.88-1.23) R.E. 1.03(0.76-1.40)	67%	0/7	7/7	277	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Ναι/p=0.01

Πίνακας 67

Νευρολογικά Νοσήματα

Ο πολυμορφισμός G1691A στο γονίδιο FV και ο κίνδυνος ισχαιμικού Αγγειακού Εγκεφαλικού Επεισοδίου (IAEE)

Η μετά-ανάλυση [113] 6 μελετών του 2001 από τους Wu και συνεργάτες, επεσήμανε τη σημαντικότητα της σχέσης ανάμεσα στον παράγοντα V Leiden και τον κίνδυνο εμφάνισης ΙΑΕΕ. Η συγκεκριμένη μετά-ανάλυση συμπεριέλαβε και ασθενείς με αθηροσκλήρωση των καρωτίδων. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“stroke” or “carotid atherosclerosis”) and (“Factor V” or “FV” or “Factor 5” or “F5”) (2002/06 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 165 άρθρα από τα οποία 34 πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν στη μετά-ανάλυση. Τα κύρια χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς AA/GA/GG			Μάρτυρες AA/GA/GG		
						0	11	84	0	2	110
Herak,2009[474]	Κροατία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	95/112/207	Ναι	0	11	84	0	2	110
Pestana,2009 [348]	Βενεζουέλα	Μεικτοί	ΙΑΕΕ	54/134/188	Ναι	0	4	50	0	4	130
Barreirinho,2003[475]	Πορτογαλία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	21/115/136	Ναι	0	3	18	0	4	111
Berge,2007[476]	Νορβηγία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	367/371/738	Ναι	0	28	339	0	31	340
Biswas,2009[477]	Ινδία	Ασιάτες-Ινδοί	ΙΑΕΕ	120/120/240	Ναι	4	6	110	0	1	119
Bolaman,2009[478]	Τουρκία	Τούρκοι	ΙΑΕΕ	24/53/77	Ναι	0	2	22	0	2	51
Botto,2007[479]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	97/160/257	Ναι	0	2	95	0	1	159
Cangoz,2004[480]	Τουρκία	Τούρκοι	ΙΑΕΕ	20/40/60	δ/α	0	4	16	0	0	40
Celiker,2009[481]	Τουρκία	Τούρκοι	ΙΑΕΕ	162/285/447	Ναι	1	20	141	0	28	257
Dindagur,2006[482]	Ινδία	Ινδοί	ΙΑΕΕ	86/86/172	Ναι	0	2	84	0	1	85
Djordjevic,2009[483]	Σερβία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	26/50/76	Ναι	0	1	25	0	2	48
Go,2003[484]	ΗΠΑ	Μεικτοί	ΙΑΕΕ	137/214/351	Ναι	0	8	129	0	8	206
Kartunnen,2003[485]	Φινλανδία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	57/104/161	Ναι	0	4	53	0	1	103
Lichy,2002[486]	Γερμανία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	416/362/778	Ναι	0	24	392	0	21	341
Marcucci,2005[487]	Ιταλία	Καυκάσιοι	AK	615/615/1230	Ναι	0	20	595	0	24	591
Moskau,2009[488]	Γερμανία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	167/500/667	Ναι	1	10	156	1	29	470
Eterovic,2007[489]	Κροατία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	120/120/240	Ναι	0	10	110	0	3	117
Pezzini,2005[490]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	163/158/321	Ναι	0	6	157	0	5	153
Pezzini,2007[491]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	108/216/324	Ναι	0	5	103	0	6	210
Rubattu,2005[492]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	115/180/295	Ναι	1	3	111	0	10	170
Rubattu,2005[493]	Ιταλία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	294/286/580	Ναι	0	5	289	0	2	284
Sabino,2006[494]	Βραζιλία	Λατίνοι	ΙΑΕΕ	33/275/308	Ναι	0	4	29	0	3	272
Santamaria,2003[495]	Ισπανία	Καυκάσιοι	ΙΑΕΕ	114/150/264	Ναι	0	1	113	0	6	144
Shi,2008[496]	Κίνα	Ασιάτες	ΙΑΕΕ	97/99/196	δ/α	0	0	97	0	0	99
Simchen,2009[497]	Ισραήλ	Εβραίοι	ΙΑΕΕ (παιδιά)	23/145/168	Ναι	0	6	17	0	9	136
Szolnoki,2003[498]	Ουγγαρία	Καυκασιοι	ΙΑΕΕ	867/743/1610	Ναι	3	69	795	2	47	694
Volzke,2005[499]	Γερμανία	Καυκασιοι	AK	1696/703/2399	Ναι	0	122	1574	1	36	666
Ulu,2007[401]	Τουρκία	Τούρκοι	ΙΑΕΕ	27/59/86	Ναι	0	8	19	0	9	50
Lichy,2003[500]	Γερμανία	Καυκασιοι	ΙΑΕΕ	200/199/399	Ναι	0	11	189	0	15	184
Duran,2005[402]	Τουρκία	Τούρκοι	ΙΑΕΕ	30/33/63	Όχι	2	5	23	1	0	32
Lichy,2006[501]	Γερμανία	Καυκασιοι	ΙΑΕΕ	77/202/279	Ναι	1	10	66	0	15	187
Boncoraglio,2004[502]	Ιταλία	Καυκασιοι	ΙΑΕΕ	126/100/226	Ναι	0	2	124	0	3	97
Komitopoulou,2006[503]	Ελλάδα	Καυκασιοι	ΙΑΕΕ	90/103/193	Ναι	1	15	74	0	5	98
Buryu,2005[504]	Τουρκία	Τούρκοι	ΙΑΕΕ	29/20/49	δ/α	1	0	28	0	0	20

Πίνακας 68

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στη μετά-ανάλυση

AK= Αθηροσκλήρωση Καρωτίδων

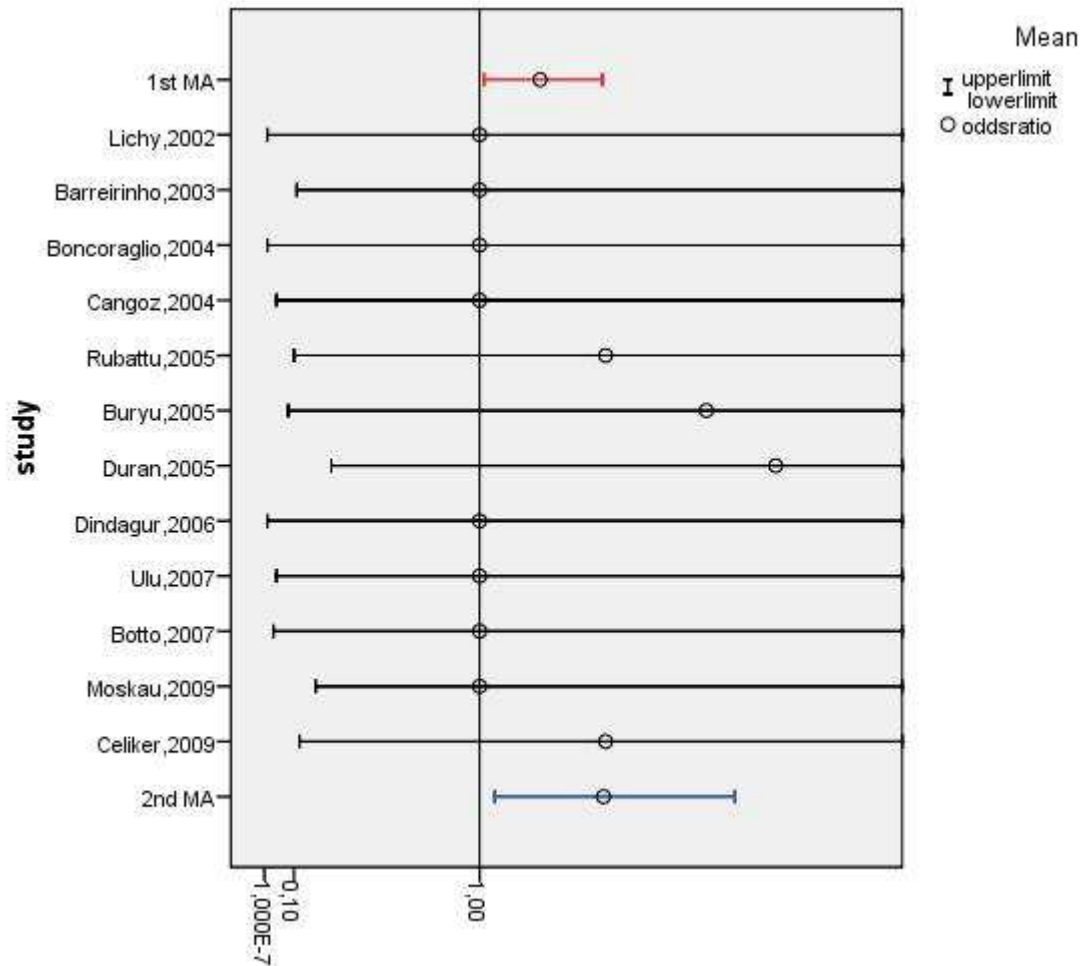
ΙΑΕΕ= Ισχαιμικό Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει τη 1^η και παράλληλα τον επιβαρυντικό ρόλο του πολυμορφισμού, ως προς το προσθετικό (additive) μοντέλο. Στατιστικά σημαντικές διαφορές στις διάμεσους των συμμετεχόντων δεν παρατηρούνται. Όταν εξαιρούνται από τη μετά-ανάλυση οι μελέτες που δεν παρουσιάζουν συμμόρφωση στο HWE (ανάλυση ευαισθησίας), η σημαντικότητα για το fixed effects model οριακά διατηρείται:

Μελέτη,έτος	O.R. (C.I.)	Μελέτη,έτος (συνέχεια)	O.R. (C.I.)	
Lichy,2002	1.00(0.01-43.96)	Komitopoulou, 2006	2.01(0.08-80.42)	
Barreirinho,2003	1.00(0.11-313.25)	Dindagur,2006	1.00(0.01-51.58)	
Karttunen,2003	1.00(0.03-98.86)	Ulu,2007	1.00(0.04-135.13)	
Santamaria,2003	1.00(0.02-64.66)	Botto,2007	1.00(0.03-84.86)	
Go,2003	1.00(0.03-80.86)	Pezzini,2007	1.00(0.04-103.23)	
Lichy,2003	1.00(0.01-49.32)	Eterovic,2007	1.00(0.02-54.05)	
Szolnoki,2003	1.50(0.21-7.85)	Berge,2007	1.00(0.01-50.69)	
Cangoz,2004	1.00(0.04-128.96)	Shi,2008	1.00(0.02-51.94)	
Boncoraglio,2004	1.00(0.01-39.82)	Simchen,2009	1.00(0.14-405.68)	
Duran,2005	4.19(0.24-131.20)	Bolaman,2009	1.00(0.04-119.01)	
Buryu,2005	3.15(0.08-55.68)	Djordjevic,2009	1.00(0.03-98.70)	
Rubattu,2005	2.00(0.10-92.34)	Pestana,2009	1.00(0.05-132.00)	
Pezzini,2005	1.00(0.01-49.43)	Herak,2009	1.00(0.02-66.58)	
Rubattu,2005	1.00(0.01-49.69)	Biswas,2009	8.24(0.45-166.27)	
Marcucci,2005	1.00(0.01-50.14)	Celiker,2009	2.00(0.12-109.55)	
Volzke,2005	0.49(0.007-6.31)	Moskau,2009	1.00(0.18-48.45)	
Sabino,2006	1.00(0.17-474.19)			
Lichy,2006	2.00(0.18-171.34)			
MA	Fixed effects Model	Random effects Model	Ετερογένεια	Ανάλυση Ευαισθησίας
	1.98(1.10-3.55)	1.97 (1.07-3.61)	0	F.E. 1.89(1.01- 3.54) R.E. 1.90(0.99- 3.62) I ² =0

Πίνακας 69

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 43
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού FV G1691A και του ΙΑΕΕ
 Η σημαντικότητα διατηρείται
 Σημείωση: Στο γράφημα δεν περιλαμβάνονται όλες οι μελέτες

Νόσημα: Ισχαιμικό Εγκεφαλικό επεισόδιο
Γονίδιο: Factor V
Πολυμορφισμός: G1691A

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά Διαμέσων
	Wu, 2001	ΗΠΑ, μεικτοί	6	983/2416/3399	F.E. 1.43(1.03-1.97) additive	Δεν αναφέρεται	Δεν αναφέρεται	435.5	Όχι/p=0.3
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	34	6673/7112/13785	F.E. 1.98(1.10-3.55) R.E. 1.97(1.07-3.61)	0	0/34	30/34	248.5	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Όχι/p=0.3

Πίνακας 70

Ο πολυμορφισμός LRP1 C766T και ο κίνδυνος εμφάνισης Νόσου Alzheimer

Στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη LRP έχουν περιγραφεί δύο πολυμορφισμοί: μία επανάληψη τεσσάρων νουκλεοτιδίων στην περιοχή 5' και ένας «σιωπηλός» πολυμορφισμός στο εξόνιο 3. [403] Αξιοσημείωτα, κανείς τους δε τροποποιεί την περιοχή που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη-προϊόν του γονιδίου. [404]

Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει πως οι ομοζυγώτες CC του πολυμορφισμού C766T στο εξόνιο 3, εμφανίζουν αυξημένα ποσοστά νόσησης από Alzheimer, σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό.[405]

Η μετά-ανάλυση [1] του 2001 από τους Sanchez-Guerra και συνεργ., κατέδειξε σημαντικά αποτελέσματα σε ότι αφορά τη σχέση του LRP1 C766T και της νόσου, για το υπολειπόμενο μοντέλο κληρονομησης. Οι κάτωθι όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό των μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“Alzheimer’s disease” or “AD”) and (“low density lipoprotein receptor-related protein” or “LRP”) (2002/12 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 52 άρθρα από τα οποία 9 πληρούσαν τα κριτήρια για να συμπεριληφθούν στη μετά-ανάλυση. Τα κύρια χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς CC/CT/TT			Μάρτυρες CC/CT/TT		
Bahia,2008 [406]	Βραζιλία	Μεικτοί	NA	120/120/240	Ναι	87	28	5	86	30	4
Bian,2005 [407]	Κίνα	Ασιάτες	NA	216/200/416	Ναι	189	26	1	179	21	0
Helbecque,2003 [408]	Γαλλία	Καυκάσιοι	NA	295/412/707	Ναι	216	70	9	290	108	14
Luedecking,2003 [409]	ΗΠΑ	Καυκάσιοι	NA	536/511/1047	Ναι	506	22	8	480	31	0
Kolsch,2003 [410]	Γερμανία	Καυκάσιοι	NA	212/337/549	Ναι	145	59	8	250	84	3
Panza,2004 [411]	Ιταλία	Καυκάσιοι	NA	166/225/391	Ναι	115	49	2	160	63	2
Pritchard,2005 [412]	ΗΒ	Καυκάσιοι	NA	466/477/943	Ναι	337	115	14	334	132	11
Zhou,2008 [413]	Κίνα	Ασιάτες	NA	496/478/974	Όχι	442	46	8	391	75	12
Vazquez,2009 [414]	Ισπανία	Καυκάσιοι	NA	246/237/483	Ναι	193	51	2	198	35	4

Πίνακας 71

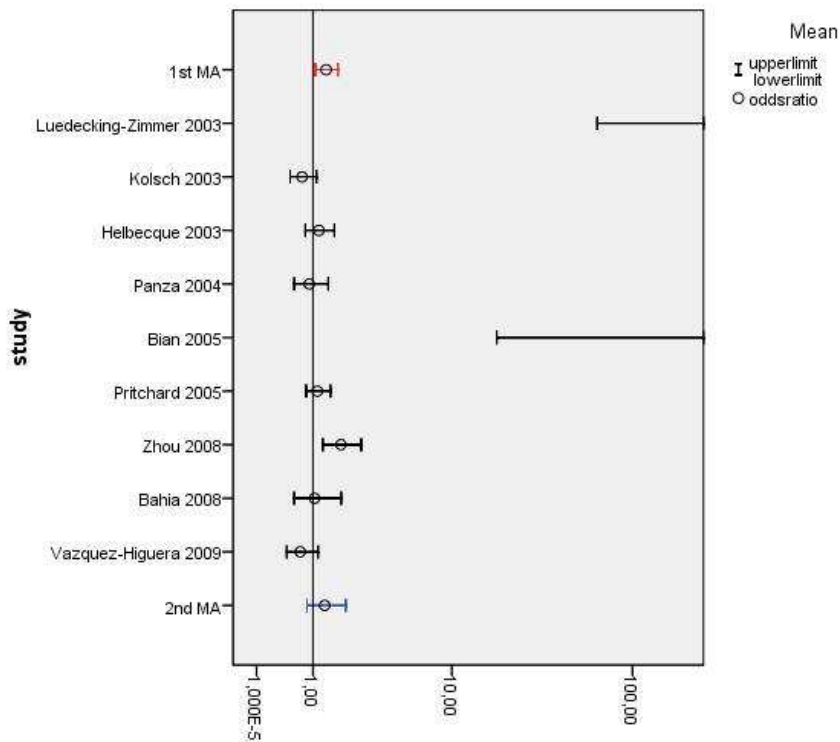
**Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση
NA= Νόσος Alzheimer**

Η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει την 1^η ως προς τη σημαντικότητα της συσχέτισης για το Random Effects Model. Αντίθετα, τα αποτελέσματα για το Fixed Effects Model είναι σημαντικά. Στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς το sample size, τη συμμόρφωση στο HWE ή τα O.R.s των δύο μετά-αναλύσεων δεν παρατηρούνται. Η ανάλυση ευαισθησίας παράγει αποτελέσματα αντίστοιχα με τη συνολική ανάλυση:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	μελέτη (συνέχεια)	έτος	O.R.(C.I.)
Luedecking-Zimmer	2003	1079.47(64.49-18066.7)	Bahia	2008	1.04(0.59-1.83)
Kolsch	2003	0.75(0.51-1.09)	Zhou	2008	1.82(1.26-2.62)
Helbecque	2003	1.15(0.82-1.60)	Vazquez-Higuera	2009	0.71(0.45-1.13)
Panza	2004	0.91(0.59-1.41)			
Bian	2005	308(18.13-5229.84)			
Pritchard	2005	1.11(0.84-1.48)			
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²	Ανάλυση ευαισθησίας	
	1.31(1.15-1.50)	1.31(0.86-1.99)	85%	F.E. 1.25 (1.08-1.44) R.E. 1.25(0.79-1.97) I ² =84%	

Πίνακας 72

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 44

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού LRP C766T και της νόσου Alzheimer (random effects model)
Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Alzheimer
Γονίδιο: LRP1
Πολυμορφισμός: C766T

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Sanchez-Guerra, 2001	Ισπανία, μεικτοί	8	2210/1887/4097	R.E. 1.35(1.06-1.72) CC vs CT+TT	σημαντική	7/8	427	Όχι/p=0.6
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	9	2753/2997/5750	R.E. 1.31(0.86-1.99) F.E. 1.31(1.15-1.50) recessive	85%	3/9	8/9	549	Όχι/p=0.9	Όχι/p=0.9

Πίνακας 73

Το αλληλίο TAU A0 και ο κίνδυνος ανάπτυξης Νόσου Parkinson

Παρά το γεγονός πως η Νόσος του Parkinson ταξινομείται στις «α-σινουκλείνοπάθειες», υπάρχουν ενδείξεις πως και η πρωτεΐνη TAU πιθανά να εμπλέκεται-εμμέσως-στην αιτιοπαθογένεια της ασθένειας αυτής.[112]

Η μετά-ανάλυση [112] 4 μελετών του 2001 από τους Golbe και συνεργάτες, εντόπισε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του αλληλίου A0 στο γονίδιο TAU και της νόσου Parkinson. Μία ιδιαιτερότητα της συγκεκριμένης ανάλυσης ήταν πως δεν παρείχε συνολικό Λόγο Αναλογιών και πως για τη σύγκριση φορέων-μη φορέων, χρησιμοποιήθηκε το χ^2 τεστ και όχι κάποιο κλασικό μετά-αναλυτικό μοντέλο. Οι εξής όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν, προκειμένου να εντοπιστούν μελέτες γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“Parkinson’s disease” or “PD”) and “tau” (από 2002/05 έως 2009/12). Από τους 144 τίτλους που εξετάστηκαν, μόνο ένας [415] πληρούσε τα κριτήρια για μετά-ανάλυση.

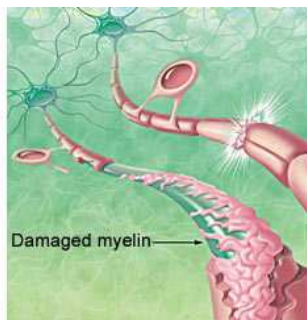
Το αλληλίο HLA-DR15 και ο κίνδυνος ανάπτυξης Πολλαπλής Σκλήρυνσης (ΠΣ)

Βασισμένες στην αυτοάνοση υπόθεση της απομυελίνωσης (**εικ.6**), γενετικές μελέτες έδειξαν συσχέτιση ανάμεσα στην ΠΣ και σε πολυμορφικά αλληλία υποψήφιων γονιδίων που συμμετέχουν στη ρύθμιση είτε της ανοσιακής απάντησης, είτε στην παραγωγή της μυελίνης. Το πιο ισχυρό εύρημα σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων υπήρξε η σχέση με το Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex/MHC ή Human Leukocyte Antigen/HLA) τάξης II και ειδικότερα με τους απλότυπους DR15, DQ6 και Dw2. [416]

Η μετά-ανάλυση 3 μελετών του 2001 από τους Rasmussen και συνεργάτες, εντόπισε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του αλληλίου HLA DR15 και της Π.Σ. Οι συγγραφείς διέκριναν ασθενείς και μάρτυρες στους εξής γενότυπους: DR15/DR15, DR15/DRX και DRX/DRX (όπου X αλληλία άλλα από το DR15).

Ανάλογου σχεδιασμού μελέτες αναζητήθηκαν και μετά τη μετά-ανάλυση. Οι εξής όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν, προκειμένου να εντοπιστούν: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“multiple sclerosis” or “MS”) and “DR15”

Από τους 26 τίτλους που εξετάστηκαν, μόνο ένας [417] πληρούσε τα κριτήρια για μετά-ανάλυση.



Εικόνα 6. Η διαδικασία της απομυελίνωσης στην ΠΣ

Ψυχιατρικά Νοσήματα

Ο πολυμορφισμός DRD4 allele 7/exon 3 VNTR και ο κίνδυνος ανάπτυξης Συνδρόμου Υπερκινητικότητας και Ελλειμματικής Προσοχής (ΣΥΕΠ)

Το ΣΥΕΠ αποτελεί ψυχιατρική νοσολογική οντότητα με έναρξη συνήθως στην παιδική ηλικία και κύριες κλινικές εκδηλώσεις τη διάσπαση της προσοχής, την υπερδραστηριότητα και τις αυθόρμητες κινήσεις. [418] Στην αιτιοπαθογένεια του Συνδρόμου εμπλέκονται βιολογικές, περιβαλλοντικές και κοινωνικές συνιστώσες. [419] Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης έχουν εστιάσει την προσοχή τους σε γονίδια τα οποία εμπλέκονται στα βιοχημικά μονοπάτια των κατεχολαμινών, καθώς πειραματικά μοντέλα σε ζώα υποδηλώνουν δυσλειτουργία του κατεχολαμινεργικού συστήματος στη διαταρχή αυτή. [420]

Μετά-ανάλυση [114] 8 μελετών του 2001 από τους Faraone και συνεργ., κατέδειξε σημαντική σχέση ανάμεσα στο DRD4 7-repeat allele και το ΣΥΕΠ. Οι εξής όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν, προκειμένου να εντοπιστούν μελέτες γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“attention deficit hyperactivity disorder” or “ADHD”) and (“Dopamine D4 Receptor” or “DRD4”) (2002/07 έως 2009/12). Από τις 154 μελέτες, 6 πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Α γενότυποι			Μ γενότυποι			Α αλληλία		Μ αλληλία	
Ballon,2007 [421]	Μάυροι	ΣΥΕΠ	40/88/128	Όχι							18	80	25	176
Cheuk,2006 [422]	Ασιάτες	ΣΥΕΠ	64/64/128	δ/α							1	128	0	128
Johnson,2008 [423]	Καυκάσιοι	ΣΥΕΠ	68/60/128	Ναι							31	136	20	120
Kerezsturi,2008 [424]	Καυκάσιοι	ΣΥΕΠ	173/284/457	Ναι	10	43	120	14	93	177				
Gabriela,2009 [425]	Λατίνοι	ΣΥΕΠ	105/84/189	Ναι							62	210	59	168
Smith,2003 [426]	Καυκάσιοι	ΣΥΕΠ	105/68/173	Ναι	3	35	67	1	25	42				

Πίνακας 74

**Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση
A= Ασθενείς, M= Μάρτυρες**

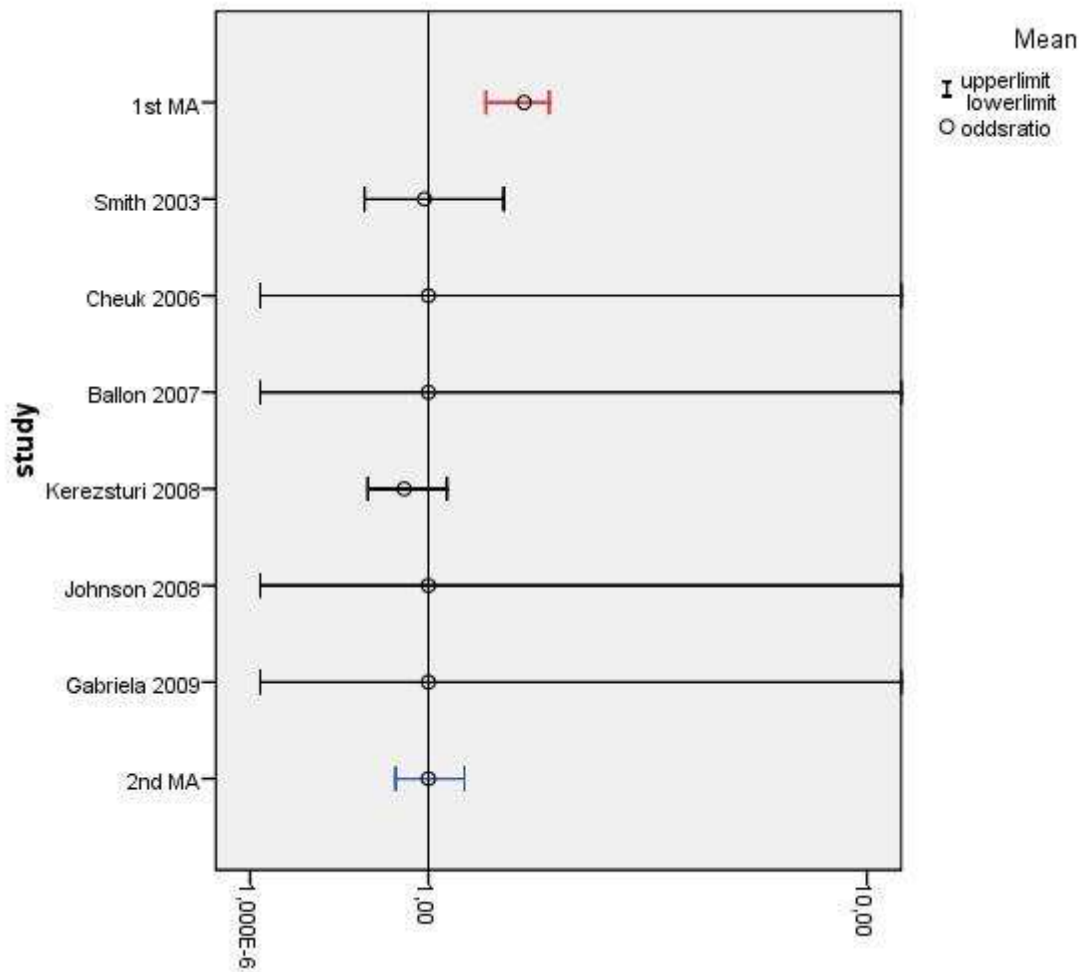
Η 2^η μετά-ανάλυση δεν παράγει σημαντικά αποτελέσματα. Τα O.R.s των δύο μετά-αναλύσεων διαφέρουν μεταξύ τους στατιστικώς σημαντικά ($p < 0.01$). Η ανάλυση ευαισθησίας δε διαφοροποιεί αξιόλογα τα αποτελέσματα της κύριας ανάλυσης:

Μελέτη	Έτος	O.R.(C.I.)
Smith	2003	0.97(0.56-1.68)
Cheuk	2006	1.00(0.04-24.54)
Ballon	2007	1.00(0.04-24.54)
Johnson	2008	1.00(0.04-24.54)
Kerezsturi	2008	0.82(0.58-1.15)
Gabriela	2009	1.00(0.04-24.54)

M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²	Ανάλυση ευαισθησίας
	0.96(0.77-1.18)	1.00(0.76-1.30)	26%	F.E. 0.89(0.72-1.12) R.E. 0.90(0.71-1.14) I ² =0

Πίνακας 75

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 45

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού DRD4 allele 7/exon 3 VNTR και του ΣΥΕΠ (random effects model) για το μοντέλο αλληλίων
Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Σύνδρομο Υπερκινητικότητας και Ελλειμματικής Προσοχής
Γονίδιο: DRD4
Πολυμορφισμός: allele 7/exon 3 VNTR

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
		Faraone, 2001	ΗΠΑ, μεικτοί	8	δ/α	R.E. 1.9(1.5-2.2) allele	p=0.42	δ/α	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	6	555/648/1203	F.E. 0.96(0.77-1.18) R.E. 1.00(0.76-1.30) allele	26%		0/6	4/6	150.5	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί

Πίνακας 76

Οι πολυμορφισμοί MTHFR C677T και A1298C και ο κίνδυνος εμφάνισης Σχιζοφρένειας

Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης που έχουν κατά καιρούς διερευνήσει τη σχέση ανάμεσα στους πολυμορφισμούς του γονιδίου MTHFR και τη σχιζοφρένεια, έχουν καταλήξει σε αντιφατικά ή ανεπαρκή συμπεράσματα.[125]

Η μετά-ανάλυση [125] 10 μελετών του E. Zintzaras το 2006, παρήγαγε σημαντικά αποτελέσματα, σε ότι αφορά την παραπάνω σχέση. Οι εξής όροι αναζήτησης χρησιμοποιήθηκαν, προκειμένου να εντοπιστούν μελέτες γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and schizophrenia and (“MTHFR” or “methylenetetrahydrofolate reductase”) (2007/06 έως 2009/12). Για τον A1298C, μόλις ένα κατάλληλο άρθρο βρέθηκε. Σχετικά με τον C677T, από τα 14 άρθρα που εντοπίστηκαν, 3 δημοσιεύσεις που περιελάμβαναν στοιχεία από 5 ομάδες ασθενών-μαρτύρων, συμπεριλήφθησαν στη μελέτη:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς TT/CT/CC			Μάρτυρες TT/CT/CC		
Feng,2009 [427]	Κίνα	Ασιάτες	Σχιζοφρένεια	123/123/246	Ναι	39	67	17	18	65	40
Garcia,2009 [428]	Μεξικό	Λατίνοι	Σχιζοφρένεια	105/108/213	Ναι	31	45	29	31	54	22
Johnsson (Denmark),2008[505]	Δανία	Καυκάσιοι	Σχιζοφρένεια	388/1006/1394	Ναι	41	163	184	103	413	490
Johnsson (Norway),2008[505]	Νορβηγία	Καυκάσιοι	Σχιζοφρένεια	132/177/309	Ναι	11	62	59	22	75	80
Johnsson (Sweedden),2008[505]	Σουηδία	Καυκάσιοι	Σχιζοφρένεια	233/293/526	Ναι	14	94	125	24	113	156

Πίνακας 77

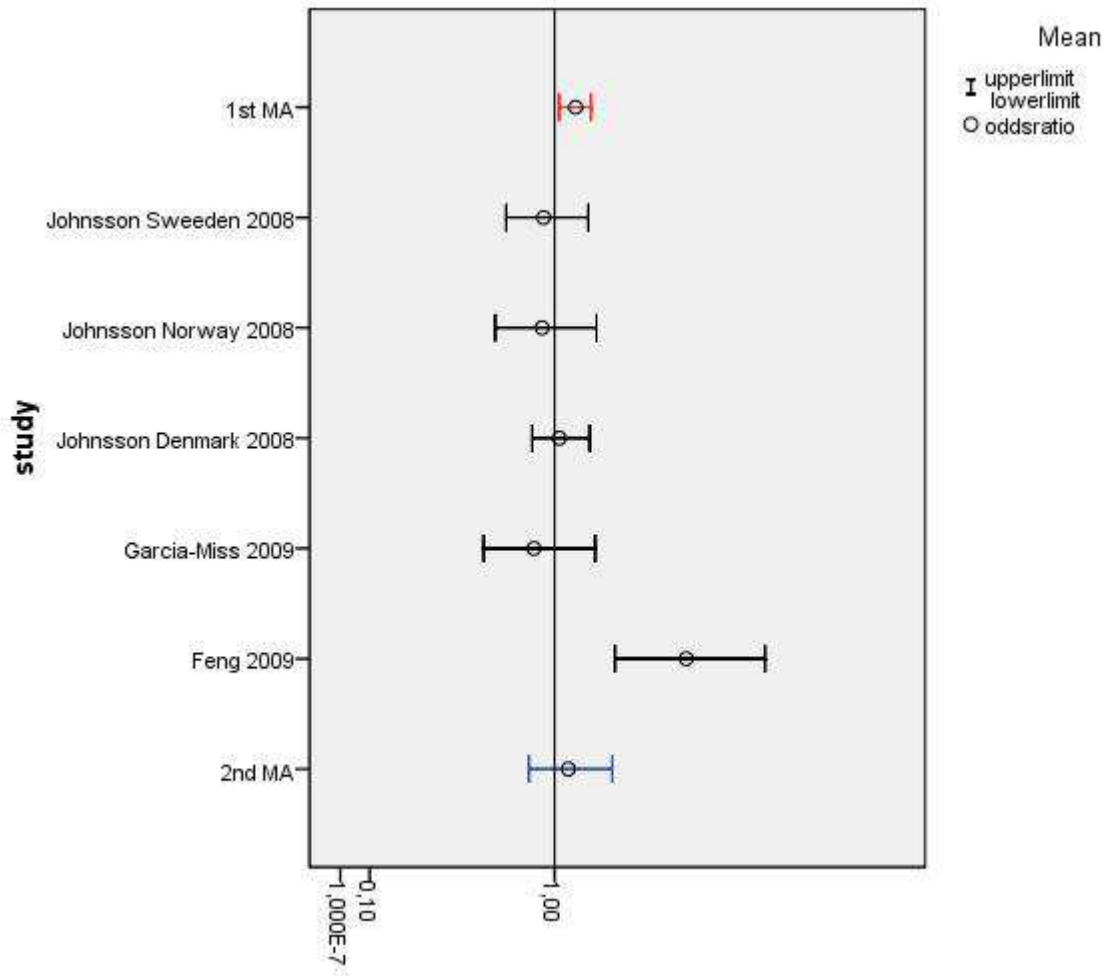
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

Η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει την 1^η, καθώς παράγει μη σημαντικά αποτελέσματα για το μοντέλο αλληλίων. Στατιστικά σημαντικές διαφορές στις διαμέσους συμμετεχόντων ή στα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE δεν παρατηρούνται. Επίσης, τα O.R.s των δύο μετά-αναλύσεων δε διαφέρουν σημαντικά. Τα αποτελέσματα της 2^{ης} μετά-ανάλυσης παρουσιάζονται παρακάτω:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)		
Jonsson Norway	2008	0.92(0.65-1.29)		
Jonsson Sweeden	2008	0.93(0.71-1.23)		
Jonsson Denmark	2008	1.03(0.86-1.24)		
Feng	2009	2.06(1.43-2.95)		
Garcia-Miss	2009	0.87(0.59-1.28)		
M.A.	F.E.	O.R.(C.I.)	R.E.	I²
		1.06(0.94-1.20)	1.09(0.84-1.41)	74%

Πίνακας 78

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 46
Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού MTHFR C677T και της Σχιζοφρένειας (random effects model) για το μοντέλο αλληλίων
Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Σχιζοφρένεια
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zintzaras, 2006	Ελλάδα, μεικτοί	10	2373/2877/5250	R.E. 1.14(1.03-1.25) allele	24%	9/10	541	Όχι/p=1.0
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	3 (5 ομάδες ασθενών-μαρτύρων)	981/1707/2688	R.E. 1.09(0.84-1.41)	74%	1/5	5/5	309	Όχι/p=0.4	Όχι/p=0.7

Πίνακας 79

Σημείωση: Η 1^η μετα-ανάλυση δεν επιβεβαιώνεται ούτε ως προς τα μοντέλα recessive και additive

Οι πολυμορφισμοί στα γονίδια ADH2, ADH3 και ALDH2 και ο κίνδυνος ανάπτυξης εξάρτησης από το αλκοόλ

Μελέτες ασθενών-μαρτύρων που διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ των γονιδίων ADH2, ADH3 και ALDH2 και του αλκοολισμού, κατέληξαν σε ανεπαρκή ή αντιφατικά συμπεράσματα, κυρίως εξαιτίας του μικρού αριθμού συμμετεχόντων και κατά συνέπεια της ανεπαρκούς ισχύος των μελετών αυτών, να ανιχνεύσουν υπαρκτές συσχετίσεις.[122]

Η μετά-ανάλυση [122] του 2006 από τους Zintzaras και συνεργάτες, παρήγαγε ενδείξεις σημαντικής συσχέτισης ανάμεσα στη διαταραχή εξάρτησης από το αλκοόλ και τους εξής πολυμορφισμούς: ADH2 1*2, ADH3 1*2 και ALDH2 1*2. Ο εξής συνδυασμός όρων χρησιμοποιήθηκε, προκειμένου να εντοπιστούν οι μελέτες που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or "genetic variant" or mutant or mutation) and ("alcoholism" or "alcohol") and ("ADH2" or "ADH3" or "ALDH2") (2007/02 έως 2009/12). 95 τίτλοι εντοπίστηκαν.

ADH3 1*2

1 μελέτη [429] πληρούσε τα κριτήρια συμπερίληψης στη μετά-ανάλυση.

ADH2 1*2

2 μελέτες πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης στη μετά-ανάλυση:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς 1*1/1*2/2*2			Μάρτυρες 1*1/1*2/2*2		
						86	1	0	48	6	0
Cichoz,2008 [429]	Πολωνία	Καυκάσιοι	Αλκοολισμός	87/54/141	Ναι	86	1	0	48	6	0
Shimosegawa,2008[430]	Ιαπωνία	Ασιάτες	Αλκοολισμός	78/461/539	Ναι	8	29	41	33	160	248

Πίνακας 80

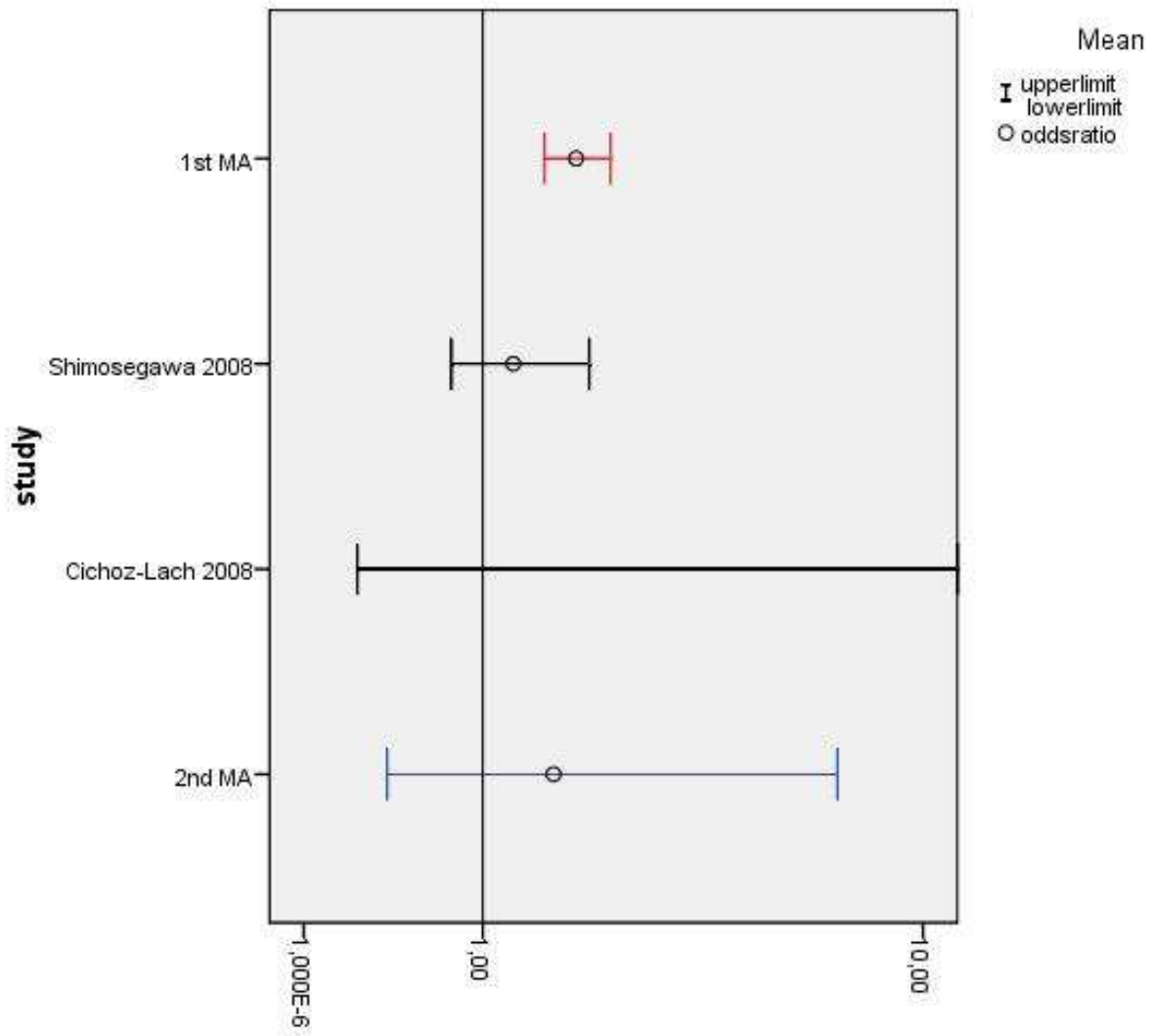
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στη μετά-ανάλυση

Η μετά-ανάλυση των παραπάνω μελετών κατέδειξε μη σημαντικά αποτελέσματα για το επικρατές μοντέλο. Στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν υπήρξαν, ως προς το μέγεθος δείγματος, τα O.R.s ή τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} μετά-ανάλυσης:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)		I ²
Cichoz-Lach	2008	12.57(0.23-682.85)		
Shimosegawa	2008	1.25(0.77-2.02)		
M.A.	F.E.	O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²
		1.28(0.79-2.06)	1.63(0.38-6.90)	20%

Πίνακας 81

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 47

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού ADH2 1*2 και της εξάρτησης από το αλκοόλ (random effects model) για το επικρατές μοντέλο
Η σημαντικότητα καταργείται

**Νόσημα: Εξάρτηση από αλκοόλ
Γονίδιο: ADH2
Πολυμορφισμός: 1*2**

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zintzaras, 2006	Ελλάδα, μεικτοί	33	5004/5219/10223	R.E. 1.87(1.54-2.28) dominant	p<0.01	31/33	187	Όχι/p=0.9
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	2	165/515/680	R.E. 1.63(0.38-6.90) dominant	20%	0/2	2/2	340	Όχι/p=0.7	Όχι/p=0.8

Πίνακας 82

ALDH2 1*2

3 μελέτες πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης στη μετά-ανάλυση:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς 1*1/1*2/2*2			Μάρτυρες 1*1/1*2/2*2		
Shimosegawa,2008 [430]	Ιαπωνία	Ασιάτες	Αλκοολισμός	86/461/547	Ναι	82	4	0	268	162	31
Kim,2008 [431]	Κορέα	Ασιάτες	Αλκοολισμός	549/483/1032	Ναι	530	19	0	346	122	15
Shin,2008 [432]	Κορέα	Ασιάτες	Αλκοολισμός	68/232/300	Ναι	57	9	2	160	63	9

Πίνακας 83

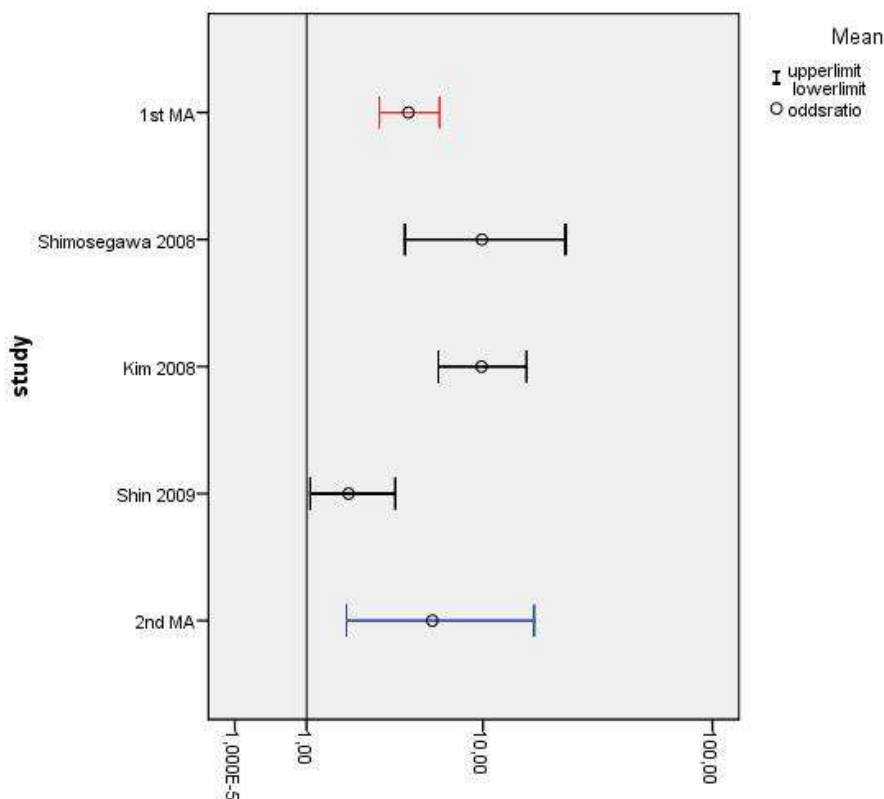
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στη μετά-ανάλυση

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαίωσε τη 1^η, καταδεικνύοντας σημαντικά αποτελέσματα. Στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν υπήρξαν, ως προς το μέγεθος δείγματος, τα O.R.s ή τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} μετά-ανάλυσης:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	
Shimosegawa	2008	9.89(4.17-23.42)	
Kim	2008	9.84(6.15-15.74)	
Shin	2009	2.00(1.07-3.71)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²
	6.57(4.68-9.23)	5.74(1.94-17.01)	88%

Πίνακας 84

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα:



Γράφημα 48

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού ALDH2 1*2 και της εξάρτησης από το αλκοόλ (random effects model) για το μοντέλο αλληλίων (1vs2) Η σημαντικότητα διατηρείται

**Νόσημα: Εξάρτηση από το αλκοόλ
Γονίδιο: ALDH2
Πολυμορφισμός: 1*2**

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zintzaras, 2006	Ελλάδα, Ασιάτες	16	2617/2538/5155	R.E. 4.35(3.04-6.23) allele	p<0.01	14/16	179.5	Όχι/p=0.08
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	3	703/1176/1879	R.E. 5.74(1.94-17.01) allele	88%	3/3	3/3	547	Όχι/p=0.5	Όχι/p=0.6

Πίνακας 85

Νοσήματα Ερειστικού Ιστού

Ο πολυμορφισμός COL1A1 Sp1 και ο κίνδυνος ανάπτυξης οστεοπόρωσης και αυτόματων καταγμάτων

Το γονίδιο COL1A1 παρέχει οδηγίες για την παραγωγή μέρους ενός μεγάλου μορίου που ονομάζεται κολλαγόνο τύπου I.[433] Τα κολλαγόνα είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών που ενισχύουν και υποστηρίζουν πολλούς ιστούς του σώματος, συμπεριλαμβανομένων των χόνδρων των οστών, των τενόντων, του δέρματος και του σκληρού χιτώνα του οφθαλμού. Το κολλαγόνο τύπου I είναι η πιο άφθονη μορφή κολλαγόνου στο ανθρώπινο σώμα. Το γονίδιο COL1A1 παράγει ένα συστατικό του κολλαγόνου τύπου I που ονομάζεται προ-α1 (I) αλυσίδα. Τα κολλαγόνα αρχίζουν από μόρια προκολλαγόνου, τα οποία υποβάλλονται σε επεξεργασία από εξωκυττάρια ένζυμα που απομακρύνουν τα επιπλέον τμήματα πρωτεϊνών από τα άκρα τους. Κάθε μόριο προκολλαγόνου αποτελείται από τρεις αλυσίδες: δύο pro-α1 (I) αλυσίδες, οι οποίες παράγονται από το COL1A1 γονίδιο και μία pro-α2 (I) αλυσίδα, η οποία παράγεται από το γονίδιο COL1A2.[433] Μετά την επεξεργασία των προκολλαγόνων, τα ώριμα μόρια κολλαγόνου που προκύπτουν μετατρέπονται σε μακριά, λεπτά ινίδια. Μεμονωμένα μόρια κολλαγόνου συνδέονται μεταξύ τους και ο σχηματισμός διασταυρούμενων δεσμών έχει ως αποτέλεσμα πολύ ισχυρά τύπου I ινίδια κολλαγόνου, που βρίσκονται στους χώρους γύρω από τα κύτταρα.

Ο πολυμορφισμός Sp1 του γονιδίου COL1A1 έχει προταθεί από κάποιους ερευνητές ως ένας σημαντικός ρυθμιστής της οστικής πυκνότητας.[434] Η μετά-ανάλυση 13 μελετών του 2001, από τους Efstathiadou και συνεργ., παρήγαγε σημαντικά αποτελέσματα σε ότι αφορά τη σχέση του εν λόγω πολυμορφισμού με την οστεοπόρωση και τα αυτόματα κατάγματα. Ο εξής συνδυασμός όρων χρησιμοποιήθηκε, προκειμένου να εντοπιστούν οι μελέτες που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (fractures or osteoporosis) and (“collagen Ia 1” or “COL1A1” or “collagen Ialpha1”) (2002/09 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 28 μελέτες, από τις οποίες 5 κρίθηκαν ως κατάλληλες για να μετά-αναλυθούν:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς Ss/Ss/SS			Μάρτυρες Ss/Ss/SS		
Alvarez,2003 [435]	Ισπανία	Καυκάσιοι	Οστεοπόρωση/ κατάγματα	17/116/133	Ναι	5	2	10	6	35	75
Gerdhem,2004	Σουηδία	Καυκάσιοι	Οστεοπόρωση/ κατάγματα	420/544/964	Ναι	15	120	285	11	143	390
Husted,2008 [436]	Δανία	Καυκάσιοι	Οστεοπόρωση/ κατάγματα	290/281/571	Ναι	12	82	196	7	83	191
Tran,2009 [437]	Αυστραλία	Καυκάσιοι	Οστεοπόρωση/ κατάγματα	324/570/894	Ναι	20	104	200	13	187	370
Weichetova,2004	Τσεχία	Καυκάσιοι	Οστεοπόρωση/ κατάγματα	183/178/361	Ναι	10	65	108	7	44	127

Πίνακας 86

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η, ως προς το προσθετικό (additive) γενετικό μοντέλο, όχι όμως και ως προς το συνεπικρατές (codominant). Στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν υπήρξαν, ως προς το μέγεθος δείγματος, τα O.R.s ή τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} μετά-ανάλυσης:

Additive model

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	
Alvarez-Hernandez	2003	0.82(1.60-24.30)	
Weichetova	2004	1.46(0.61-4.56)	
Gerdhem	2004	1.37(0.84-4.12)	
Husted	2008	1.76(0.64-4.33)	
Tran	2009	1.56(1.38-5.84)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²
	2.23(1.48-3.33)	2.28(1.52-3.41)	0

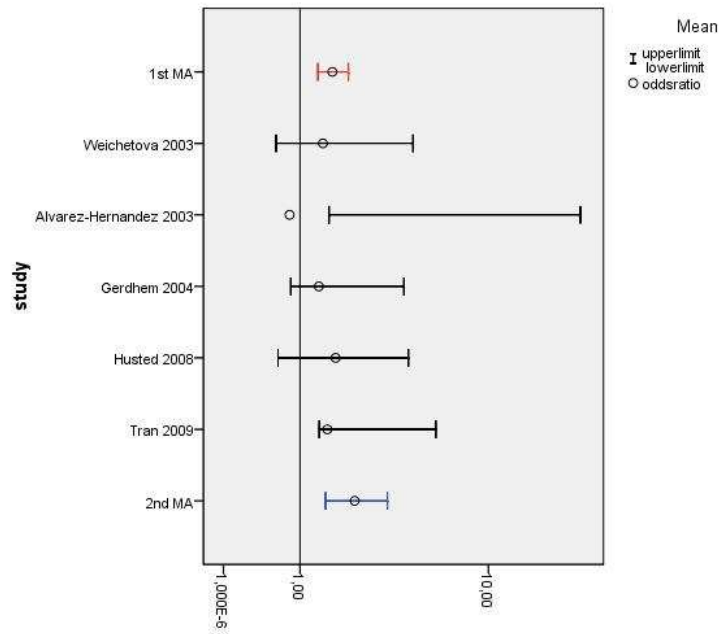
Πίνακας 87

Co-dominant model

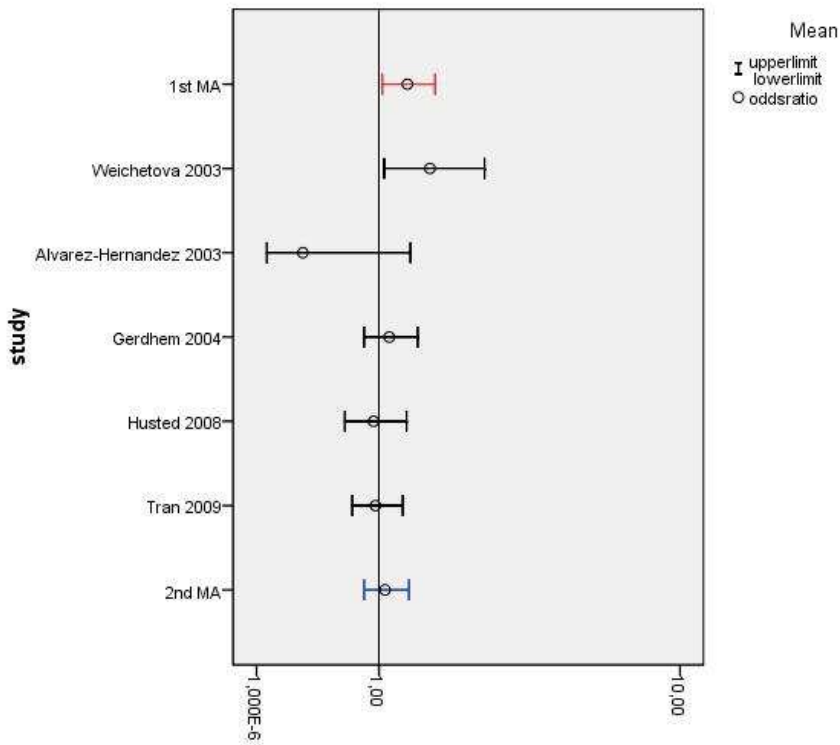
μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	
Alvarez-Hernandez	2003	0.30(0.06-1.39)	
Weichetova	2004	1.67(1.06-2.64)	
Gerdhem	2004	1.12(0.84-1.49)	
Husted	2008	0.94(0.65-1.34)	
Tran	2009	0.96(0.72-1.29)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²
	1.06 (0.90-1.25)	1.07 (0.84-1.37)	45%

Πίνακας 88

Η εξέλιξη της σημαντικότητας και για τα 2 γενετικά μοντέλα παριστάνεται στα γραφήματα που ακολουθούν:



Γράφημα 49
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού COLIA1 Sp1 και της οστεοπόρωσης (random effects model) για το additive model
 Η σημαντικότητα διατηρείται



Γράφημα 50
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού COLIA1 Sp1 και της οστεοπόρωσης (random effects model) για το codominant model
 Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Οστεοπόρωση και αυτόματα κατάγματα
Γονίδιο: COL1A1
Πολυμορφισμός: Sp1

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά Διαμέσων
Efstathiadou, 2001	Ελλάδα, μεικτοί	13	950/2701/3651	R.E. 1.68(1.35-2.10) additive R.E. 1.35(1.04-1.75) codominant	Additive p=0.16 codominant p=0.08	11/13	185	Όχι/p=0.29
Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
5	1234/1689/2923	R.E. 2.28 (1.52-3.41) Additive R.E. 1.07 (0.84-1.37) codominant	0 (additive) 45% (codominant)	2/5 (additive) 1/5 (codominant)	5/5	571	Όχι/p=0.35	Όχι/p=0.19 (additive) Όχι/p=0.20 (codominant)

Πίνακας 89

Μεταβολικά Νοσήματα

Οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο ALR και ο κίνδυνος ανάπτυξης Διαβητικής Νεφροπάθειας

Η Διαβητική Νεφροπάθεια (ΔΝ) είναι μία σοβαρή, χρόνια μικροαγγειακή επιπλοκή του Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) Τύπου 1 και 2. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις εμπλοκής γενετικών παραγόντων στην παθογένεια της ΔΝ, δεδομένου πως μόλις το 1/3 των διαβητικών ασθενών θα εμφανίσουν κάποια στιγμή νεφρική δυσλειτουργία.[438] Μελέτες ασθενών-μαρτύρων έχουν επισημάνει πιθανό επιβαρυντικό ρόλο δύο πολυμορφισμών που απαντώνται στο γονίδιο ALR2 και συγκεκριμένα των C106T και (CA)n.[117]

Η μετά-ανάλυση [117] των Neamat και συνεργατών, κατέδειξε σημαντικές σχέσεις του πολυμορφισμού C106T και της ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 και 2, ενώ για τον πολυμορφισμό (CA)n, παρήχθη σημαντική συσχέτιση μόνο για τους πάσχοντες από ΣΔ τύπου 1. Σαν μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν ασθενείς με ΣΔ, ελεύθεροι ΔΝ. Ο εξής συνδυασμός όρων χρησιμοποιήθηκε, προκειμένου να εντοπιστούν οι μελέτες που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or “genetic variant” or mutant or mutation) and (“diabetic nephropathy” or complications) and (“aldose reductase” or “ALR2”) (2002/11 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 53 συνολικά μελέτες. Για τον C106T και τη ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1, δεν υπήρξε κάποια κατάλληλη προς μετά-ανάλυση μελέτη.

C106T και ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2

Υπήρξαν 4 κατάλληλες για μετά-ανάλυση μελέτες:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς TT/CT/CC			Μάρτυρες TT/CT/CC		
Gosek,2005 [439]	Πολωνία	Καυκάσιοι	ΔΝ	282/162/444	Ναι	40	145	97	20	85	57
Wang,2003 [440]	Κίνα	Ασιάτες	ΔΝ	280/458/738	Όχι	15	96	169	26	130	302
Makiishi,2003 [441]	Ιαπωνία	Ασιάτες	ΔΝ	220/228/448	Ναι	13	63	144	3	66	159
Wolford,2006 [442]	ΗΠΑ	American Indians	ΔΝ	103/105/208	Ναι	1	32	70	5	26	74

Πίνακας 90

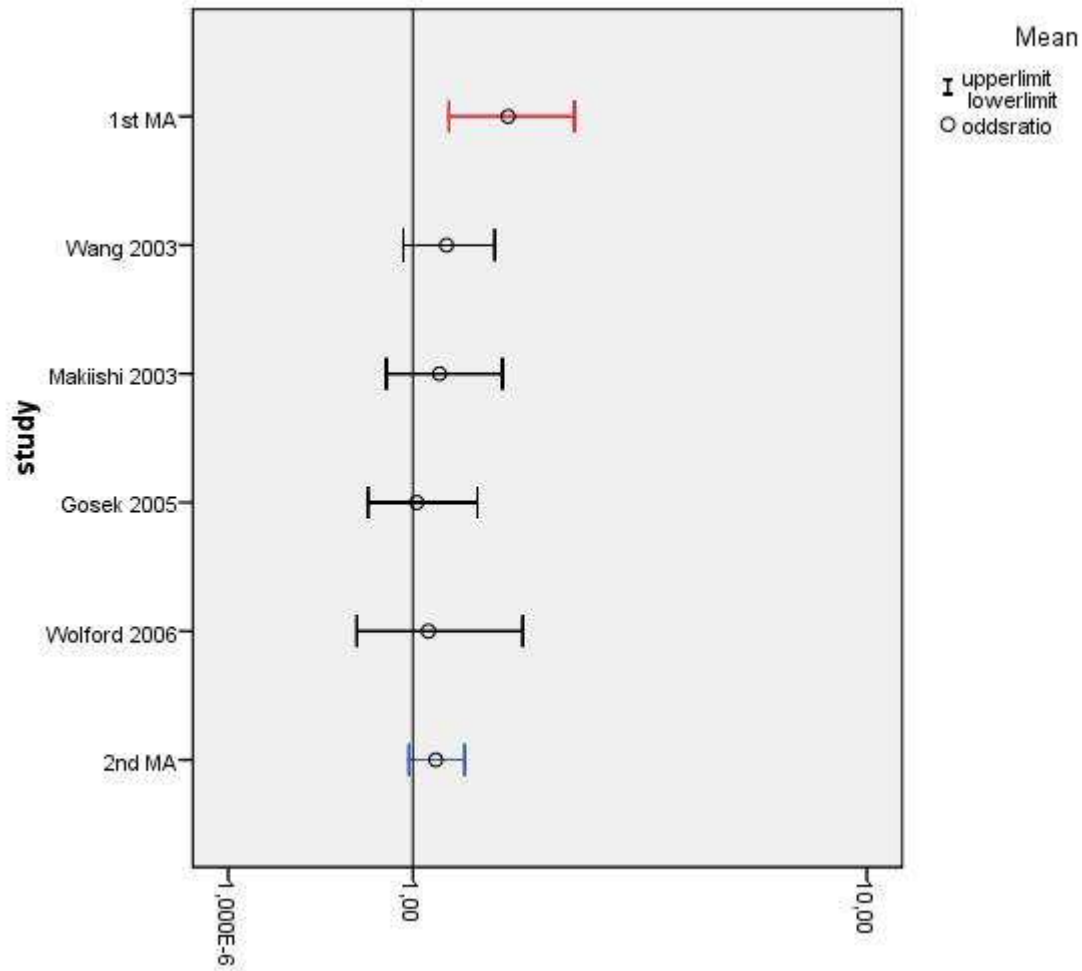
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

Η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει την 1^η, καθώς παρέχει ενδείξεις μη σημαντικής σχέσης πολυμορφισμού και νοσήματος. Στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν υπήρξαν, ως προς το μέγεθος δείγματος ή τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} μετά-ανάλυσης. Αντίθετα, τα O.R.s διέφεραν σημαντικά. Η ανάλυση ευαισθησίας η οποία διεξήχθη, με αποκλεισμό της μελέτης με μη συμμόρφωση στο HWE, αναπαράγει τα αποτελέσματα της συνολικής ανάλυσης:

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	
Makiishi	2003	1.21(0.81-1.80)	
Wang	2003	1.27(0.93-1.72)	
Gosek	2005	1.03(0.69-1.55)	
Wolford	2006	1.12(0.62-2.020)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²
	1.18(0.97-1.43)	1.18(0.97-1.43)	0
Ανάλυση Ευαισθησίας	1.12 (0.87-1.45)	1.12 (0.87-1.45)	0

Πίνακας 91

Η εξέλιξη της σημαντικότητας παριστάνεται στο γράφημα που ακολουθεί:



Γράφημα 51
Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού C106T και της ΔN στον ΣΔ τύπου2.
Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Διαβητική Νεφροπάθεια (ΣΔ τύπου 2)
Γονίδιο: ALR2
Πολυμορφισμός: C106T

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Neamat-Allah, 2001	H.B., μεικτοί	2 κοόρτες προερχόμενες από την ίδια δημοσίευση	266/300/566	F.E. 1.86 (1.29-2.67) dominant	p=0.15	1/2	283	Όχι/p=0.4
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	4	885/953/1838	F.E.1.18 (0.97-1.43) R.E. (0.97-1.43)	0	0/4	3/4	446	Όχι/p=0.5	Ναι/p=0.03

Πίνακας 92

(CA)η και ΔN σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1

4 μελέτες πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης στη μετά-ανάλυση:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Α γενότυποι			Μ γενότυποι			Α αλλήλια		Μ αλλήλια	
					0	42	35	0	10	41				
Hodgkinson,2003 [443]	Καυκάσιοι	ΔN	117/70/187	Ναι	0	42	35	0	10	41				
Lajer,2004 [444]	Καυκάσιοι	ΔN	431/468/899	Ναι							336	862	341	936
Yamamoto,2003 [445]	Ασιάτες	ΔN	34/67/101	Ναι							10	68	21	134
Yang,2003[446]	Καυκάσιοι	ΔN	83/62/145	Ναι	14	34	35	0	15	47				

Πίνακας 93

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθηκαν στη μετά-ανάλυση

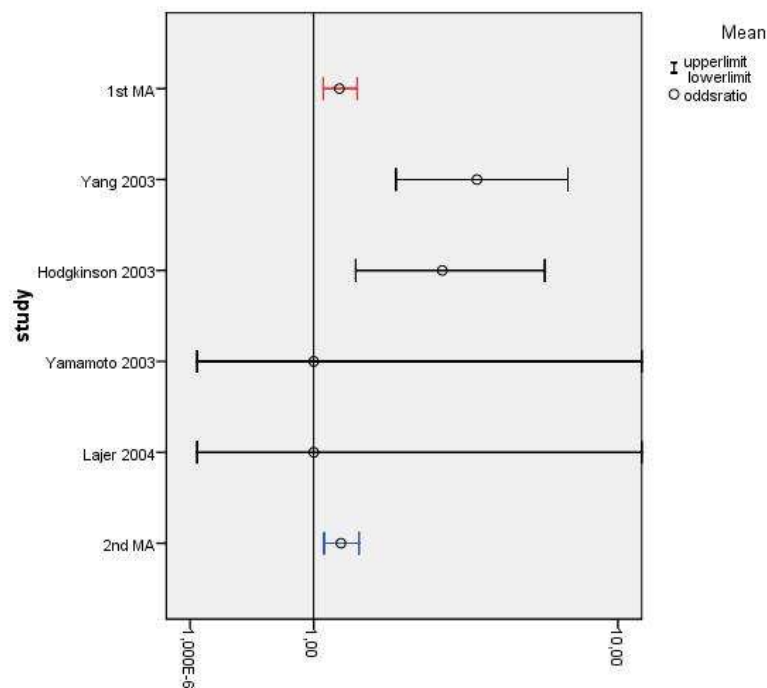
A= Ασθενείς, M= Μάρτυρες

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η και παράλληλα τη σημαντικότητα της σχέσης πολυμορφισμού και νοσήματος. Στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν υπήρξαν, ως προς το μέγεθος δείγματος ή τα O.R.s, μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} μετά-ανάλυσης. Τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE δεν κατέστη δυνατό να συγκριθούν, επειδή η 1^η μετά-ανάλυση δεν παρείχε σχετικές πληροφορίες.

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	
Yamamoto	2003	1.00(0.04-24.54)	
Yang	2003	3.99(2.17-7.31)	
Hodgkinson	2003	3.11(1.53-6.30)	
Lajer	2004	1.00(0.04-24.54)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²
	1.33(1.12-1.58)	1.87(0.90-3.89)	86%

Πίνακας 94

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα που ακολουθεί:



Γράφημα 52

Η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ του πολυμορφισμού (CA)n και της ΔN στον ΣΔ τύπου1.
Η σημαντικότητα διατηρείται

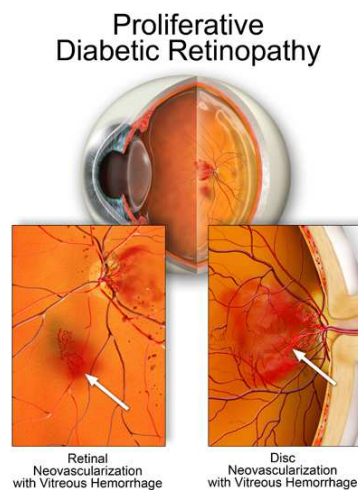
**Νόσημα: Διαβητική νεφροπάθεια (ΣΔ τύπου 1)
Γονίδιο: ALR2
Πολυμορφισμός: (CA)_n**

1^η MA	1^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Neamat-Allah 2001	H.B., μεικτοί	5	726/788/1514	F.E. 1.31(1.11-1.55) allele	P<0.05	Δεν αναφέρεται	340	Όχι/p=0.5
2^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	4	665/667/1332	F.E. 1.33(1.12-1.58)	86%	2/4	4/4	166	Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί	Όχι/p=0.9

Πίνακας 95

Ο πολυμορφισμός MTHFR C677T και ο κίνδυνος ανάπτυξης Διαβητικής Αμφιβληστροειδοπάθειας σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2

Η Διαβητική Αμφιβληστροειδοπάθεια (ΔΑ) (εικ 7) είναι μία σοβαρή, χρόνια μικροαγγειακή επιπλοκή του Σακχαρώδη Διαβήτη (ΣΔ) Τύπου 1 και 2 και ταυτόχρονα μία από τις κυριότερες αιτίες τύφλωσης των ενηλίκων στις ανεπτυγμένες χώρες. Οι κύριοι προδιαθεσικοί παράγοντες της ΔΑ, φαίνονται πως είναι η ανεπαρκής ρύθμιση των επιπέδων σακχάρου του αίματος, καθώς και η χρονική διάρκεια του ΣΔ. Το γεγονός πως σε μεγάλες σειρές διαβητικών ασθενών, απεδείχθη πως ένα ποσοστό εξ αυτών θα αναπτύξει ΔΑ, ενώ οι υπόλοιποι όχι, υποδηλώνει την εμπλοκή γενετικών παραμέτρων στην αιτιοπαθογένεια της Νόσου.



Εικόνα 7
Διαβητική Αμφιβληστροειδοπάθεια

Η μετά-ανάλυση του 2005 από τους Zintzaras και συνεργ., κατέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον πολυμορφισμό MTHFR C677T και τον κίνδυνο ανάπτυξης Διαβητικής Αμφιβληστροειδοπάθειας σε ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2. Ακολουθήθηκε η εξής στρατηγική αναζήτησης σχετικών άρθρων: (gene or polymorphism or allele or "genetic variant" or mutant or mutation) and "diabetic retinopathy" and ("MTHFR" or "methylenetetrahydrofolate reductase") (2006/05 έως 2009/12). Από τους 4 τίτλους που εντοπίστηκαν, μόνο ένας [447] πληρούσε τα κριτήρια για να συμπεριληφθεί σε μετά-ανάλυση.

Αιματολογικά Νοσήματα

Οι πολυμορφισμοί MTHFR C677T και A1298C και ο κίνδυνος ανάπτυξης Οξείας Λεμφοβλαστικής Λευχαιμίας

Λίγα είναι μέχρι σήμερα γνωστά, σχετικά με τους βιολογικούς μηχανισμούς και την αιτιολογία της Οξείας Λεμφοβλαστικής Λευχαιμίας (ΟΛΛ), η οποία αποτελεί τη συχνότερη παιδιατρική κακοήθεια, συνιστώντας ένα 25-30% των καρκίνων της παιδικής ηλικίας.[448] Είναι πιθανό πως στην ανάπτυξη των αιματολογικών κακοηθειών, εμπλέκονται περίπλοκες αλληλεπιδράσεις γενετικών και περιβαλλοντικών συνιστωσών. [449]

Το φολικό οξύ αποτελεί βασικό συστατικό της σύνθεσης των νουκλεοτιδίων. Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου MTHFR έχουν συνδεθεί από αρκετές μελέτες, με μειωμένο κίνδυνο νόσησης από ΟΛΛ, γεγονός που πιθανά αποδίδεται σε μεγαλύτερη διαθεσιμότητα του 5-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού και άρα μεγαλύτερη πιστότητα στη σύνθεση του DNA.[450]

Η μετά-ανάλυση του 2006 από τους Zintzaras, Koufakis και συνεργάτες, παρήγαγε σημαντικά αποτελέσματα σε ότι αφορά τη συσχέτιση του A1298C με την ΟΛΛ σε παιδιά και ενήλικες και του C677T μόνο σε παιδιά. Χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος συνδυασμός όρων αναζήτησης για τον εντοπισμό μελετών γενετικής συσχέτισης που ακολούθησαν τη μετά-ανάλυση: (gene or polymorphism or allele or "genetic variant" or mutant or mutation) and ("acute lymphoblastic leukemia" or "ALL") and ("MTHFR" or "methylenetetrahydrofolate reductase") (2007/08 έως 2009/12). Εντοπίστηκαν 17 σχετικοί τίτλοι.

A1298C και ΟΛΛ (ενήλικες και παιδιά)

4 μελέτες πληρούσαν τα κριτήρια συμπερίληψης στη μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας, έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς CC/AC/AA			Μάρτυρες CC/AC/AA		
Alcasabas,2008 [451]	Φιλιππίνες	Ασιάτες	ΟΛΛ(παιδιά)	188/394/582	Ναι	38	94	56	56	178	160
de Jonge,2008 [452]	Ολλανδία	Καυκάσιοι	ΟΛΛ(παιδιά)	245/487/732	Ναι	35	100	110	45	213	229
Yeoh,2009 [453]	Σιγκαπούρη	Ασιάτες	ΟΛΛ(παιδιά)	318/344/662	Ναι	23	121	174	18	115	211
Oh,2007 [454]	Κορέα	Ασιάτες	ΟΛΛ(ενήλικες)	107/427/534	Ναι	2	33	72	8	126	293

Πίνακας 96

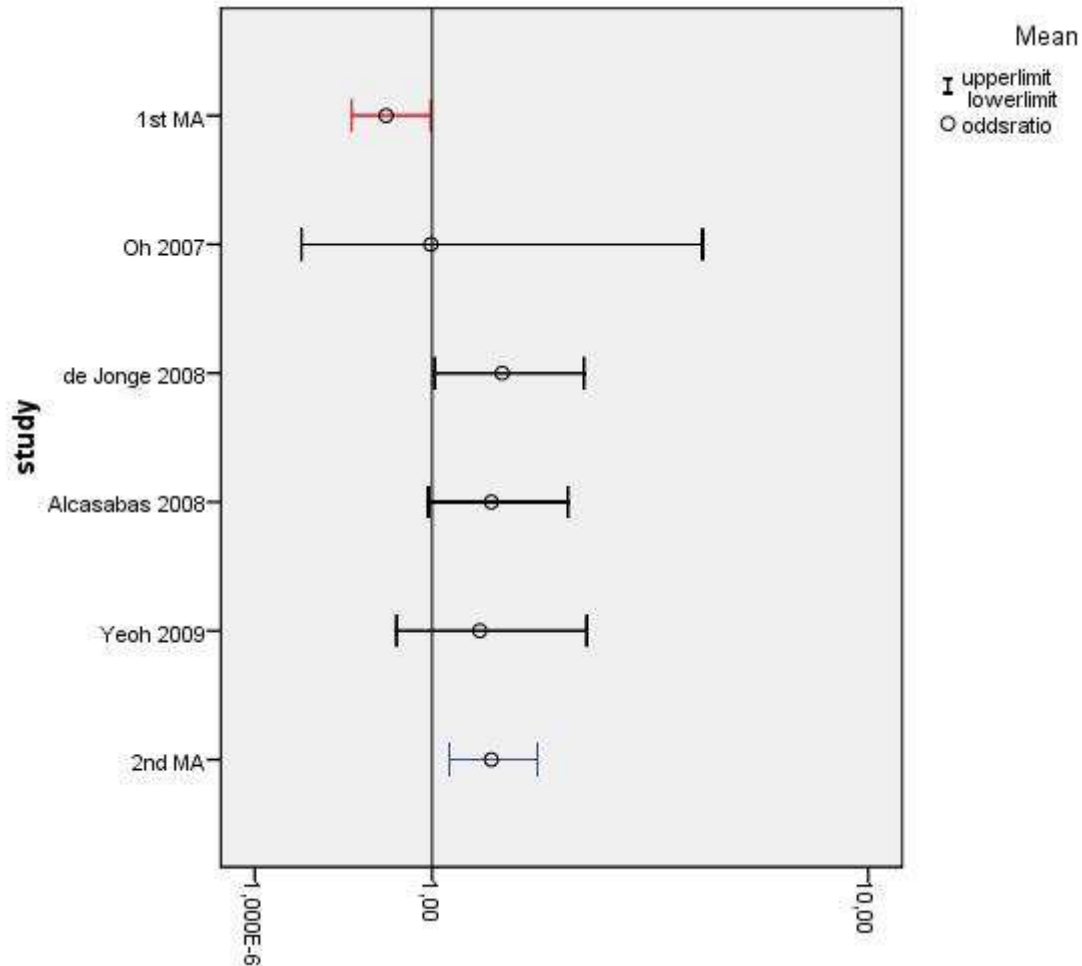
Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

Η μετά-ανάλυση των παραπάνω μελετών όχι μόνο δεν επιβεβαίωσε την 1^η μετά-ανάλυση, αλλά αντίθετα παρήγαγε σημαντικά αποτελέσματα για πιθανό επιβαρυντικό ρόλο του γονότυπου CC στην ανάπτυξη ΟΛΛ. Τα O.R.s των δύο μετά-αναλύσεων παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0.01$), ενώ οι διάμεσοι συμμετεχόντων και τα ποσοστά συμμόρφωσης στο HWE, δε διέφεραν σημαντικά.

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	
Oh	2007	0.99(0.20-4.76)	
Alcasabas	2008	1.52(0.97-2.40)	
de Jonge	2008	1.63(1.02-2.62)	
Yeoh	2009	1.41(0.74-2.66)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²
	1.51(1.14-2.02)	1.52(1.14-2.02)	0

Πίνακας 97

Η εξέλιξη της σημαντικότητας αποτυπώνεται στο γράφημα που ακολουθεί:



Γράφημα 53

Η εξέλιξη της σημαντικότητας ανάμεσα στον πολυμορφισμό A1298C και την ΟΛΛ (παιδιά και ενήλικες) για το υπολειπόμενο (recessive) γενετικό μοντέλο.

Η 2^η μετά-ανάλυση σε αντίθεση με την 1^η υποδεικνύει επιβαρυντικό ρόλο του γενότυπου CC

Νόσημα: Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία (ενήλικες και παιδιά)
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: A1298C

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zintzaras, 2006	Ελλάδα, μεικτοί	7	1377/1285/2662	R.E. 0.67(0.46-0.99) recessive	$I^2=34%$ $p=0.17$	7/7	284	Όχι/ $p=0.2$
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/ Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική ή διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/ p -value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/ p -value
	4	858/1652/2510	R.E. 1.52(1.14-2.02)	0	0/4	4/4	622	Όχι/ $p=0.1$	Ναι/ $p<0.01$

Πίνακας 98

C677T και ΟΛΛ (παιδιά)

3 μελέτες κρίθηκαν κατάλληλες για μετά-ανάλυση. Τα χαρακτηριστικά τους συνοψίζονται στον πίνακα:

1 ^{ος} συγγραφέας,έτος (βιβλ. αναφορά)	Χώρα	Φυλετική προέλευση	Φαινότυπος	Ασθενείς/μάρτυρες/ σύνολο	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς TT/CT/CC			Μάρτυρες TT/CT/CC		
Alcasabas,2008 [451]	Φιλιππίνες	Ασιάτες	ΟΛΛ(παιδιά)	189/394/583	Ναι	3	41	145	6	66	322
de Jonge,2008 [452]	Ολλανδία	Καυκάσιοι	ΟΛΛ(παιδιά)	245/493/738	Ναι	22	93	130	54	223	216
Yeoh,2009 [453]	Σιγκαπούρη	Ασιάτες	ΟΛΛ(παιδιά)	318/345/663	Ναι	23	111	184	32	150	163

Πίνακας 99

Χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριλήφθησαν στη μετά-ανάλυση

Η 2^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνει την 1^η και παράλληλα τον προστατευτικό ρόλο του πολυμορφισμού C677T ως προς επικρατές γενετικό μοντέλο, όχι όμως και ως προς το υπολειπόμενο και το μοντέλο αλληλίων. Η 2^η μετά-ανάλυση παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά βελτιωμένο sample size σε σύγκριση με την 1^η. Τα O.R.s και η συμμόρφωση στην ισορροπία H-W αντίθετα, δε διαφέρουν σημαντικά.

Dominant model

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)		
de Jonge	2008	0.68(0.50-0.93)		
Alcasabas	2008	1.35(0.88-2.07)		
Yeoh	2009	0.65(0.47-0.88)		
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²	
	0.77(0.63-0.94)	0.82(0.55-1.24)	76%	

Πίνακας 100

Recessive model

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)		
de Jonge	2008	0.80(0.47-1.35)		
Alcasabas	2008	1.04(0.25-4.21)		
Yeoh	2009	0.76(0.43-1.33)		
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I²	
	0.79(0.55-1.15)	0.79(0.55-1.15)	0	

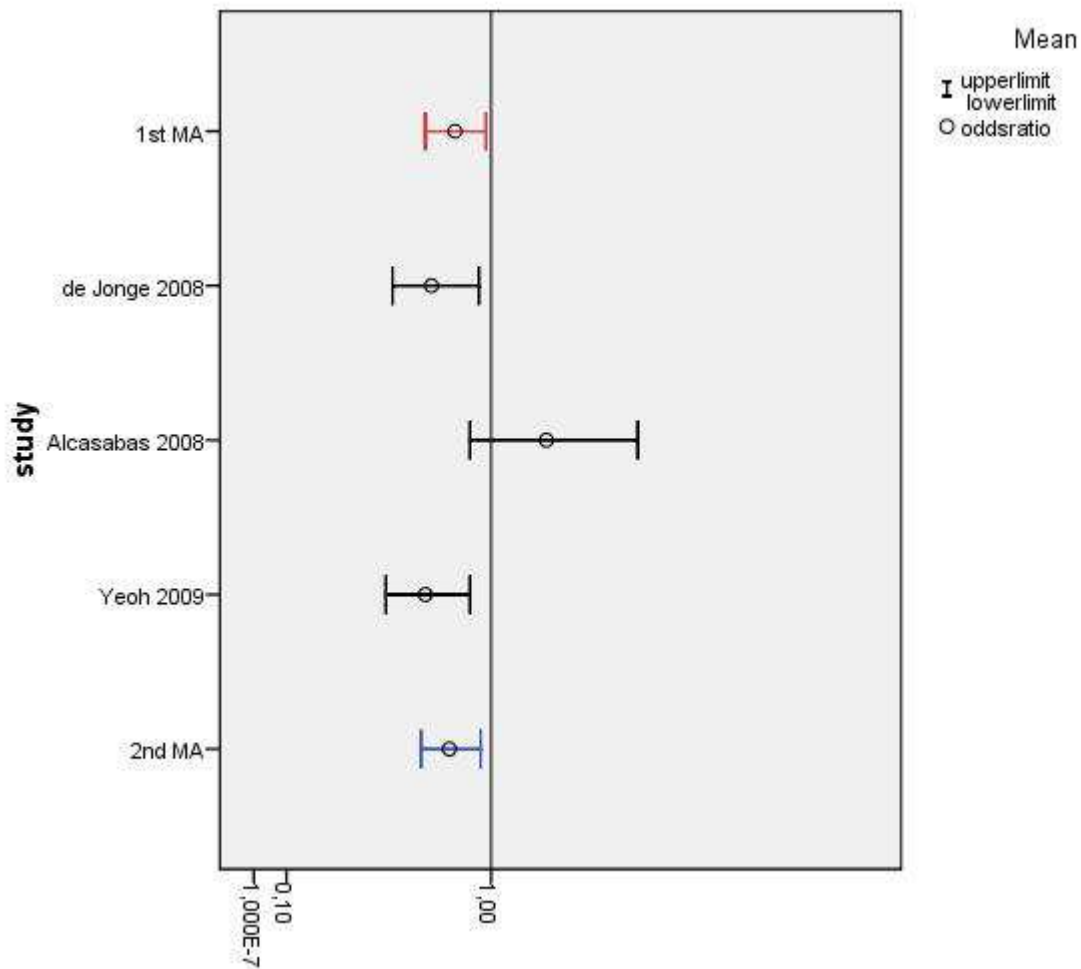
Πίνακας 101

Allele contrast

μελέτη	έτος	O.R.(C.I.)	
de Jonge	2008	0.76(0.60-0.97)	
Alcasabas	2008	1.29(0.87-1.89)	
Yeoh	2009	0.72(0.57-0.92)	
M.A.	F.E. O.R.(C.I.)	R.E. O.R.(C.I.)	I ²
	0.81(0.69-0.95)	0.86(0.64-1.15)	69%

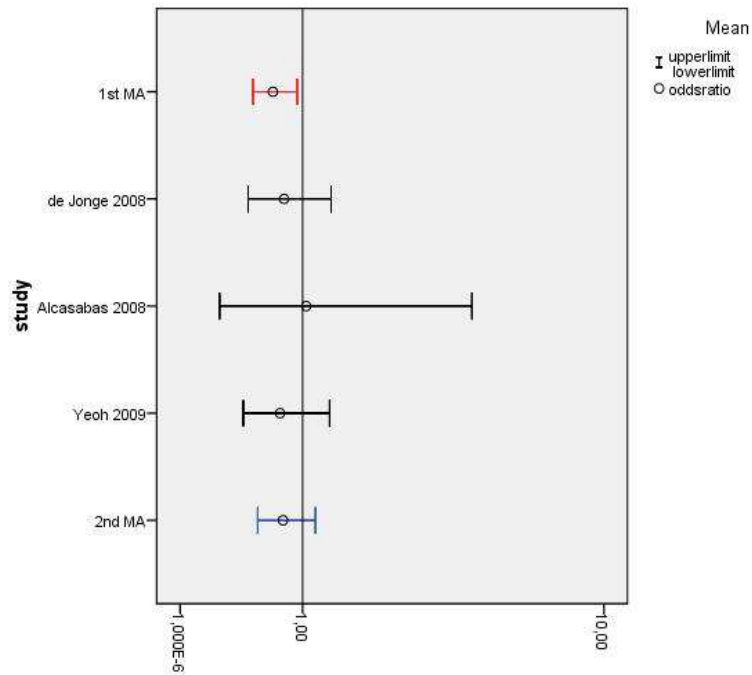
Πίνακας 102

Η εξέλιξη της σημαντικότητας για κάθε γενετικό μοντέλο, αποτυπώνεται στα γραφήματα που ακολουθεί:

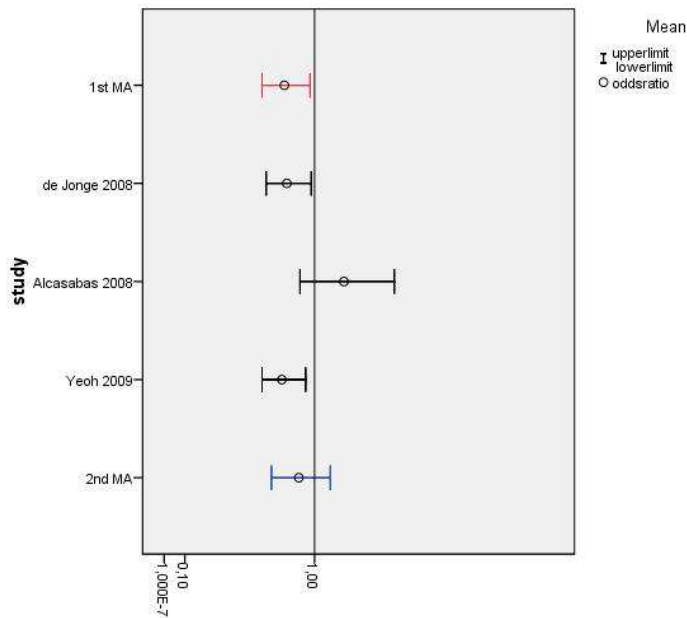


Γράφημα 54

Η εξέλιξη της σημαντικότητας ανάμεσα στον πολυμορφισμό C677T και την ΟΛΛ (παιδιά) για το επικρατές γενετικό μοντέλο.
Η σημαντικότητα διατηρείται



Γράφημα 55
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας ανάμεσα στον πολυμορφισμό C677T και την ΟΛΛ (παιδιά) για το υπολειπόμενο γενετικό μοντέλο.
 Η σημαντικότητα καταργείται



Γράφημα 56
 Η εξέλιξη της σημαντικότητας ανάμεσα στον πολυμορφισμό C677T και την ΟΛΛ (παιδιά) για το γενετικό μοντέλο αλληλίων.
 Η σημαντικότητα καταργείται

Νόσημα: Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (παιδιά)
Γονίδιο: MTHFR
Πολυμορφισμός: C677T

1 ^η MA	1 ^{ος} συγγραφέας, έτος	Χώρα, Φυλετική Προέλευση	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)/μοντέλο	ετερογένεια	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά διαμέσων
	Zintzaras, 2006	Ελλάδα, μεικτοί	4	646/659/1305	R.E. 0.74(0.57-0.96) Allele F.E. 0.80(0.65-0.97) Dominant F.E. 0.69(0.51-0.94) Recessive	Allele:58% Dominant:12% Recessive:0%	3/4	297.5	Ναι/p=0.02
2 ^η MA	Αριθμός μελετών	Ασθενείς/Μάρτυρες/Σύνολο	O.R.(C.I.)	ετερογένεια	Μελέτες που επιβεβαιώνουν την 1 ^η MA	Μελέτες στο HWE	Διάμεσος Συμμετεχόντων	Σημαντική διαφορά συμμόρφωσης στο HWE/p-value	Σημαντική διαφορά στα O.R.s/p-value
	3	752/1232/1984	R.E. 0.86(0.64-1.15) Allele F.E. 0.77(0.63-0.94) Dominant F.E. 0.79(0.55-1.15) Recessive	Allele: 69% Dominant: 76% Recessive: 0%	Allele:2/3 Dominant:2/3 Recessive:0/3	3/3	663	Όχι/p=0.3	Allele: Όχι/p=0.4 Dominant: Όχι/p=0.7 Recessive: Όχι/p=0.5

Πίνακας 103

Συνολικά Αποτελέσματα

Στον πίνακα που ακολουθεί συνοψίζονται τα αποτελέσματα των συγκρίσεων μεταξύ 1^{ων} και 2^{ων} μετά-αναλύσεων, σε ότι αφορά την επιβεβαίωση ή όχι της σημαντικότητας, στην εξασθένηση ή ενδυνάμωση της, καθώς και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των μελετών γενετικής συσχέτισης:

Νόσημα, Γονίδιο, Πολυμορφισμός	Επιβεβαίωση της 1 ^{ης} μετά-ανάλυσης ΝΑΙ/ΟΧΙ	Σημαντική Διαφορά Στα O.R.s, 95% C.I. ΝΑΙ/ΟΧΙ	Σημαντική Διαφορά συμμόρφωσης στο HWE ΝΑΙ/ΟΧΙ	Σημαντική Διαφορά Διαμέσων Συμμετεχόντων ΝΑΙ/ΟΧΙ
Ελκώδης Κολίτιδα IL-1RA, VNTR	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ
ΕΒΦΘ FXII Val34Leu	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ
Προεκλαμψία MTHFR C677T	ΟΧΙ	ΝΑΙ (1 ^η >2 ^η)	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	ΟΧΙ
Συγγενείς Διαμαρτίες Νωτιαίου Σωλήνα MTHFR C677T Μητέρες	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ
Συγγενείς Διαμαρτίες Νωτιαίου Σωλήνα MTHFR C677T Τέκνα	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ
Στεφανιαία Νόσος Έμφραγμα Μυοκαρδίου MTHFR C677T	ΝΑΙ	ΝΑΙ (2^η>1^η)	ΟΧΙ	ΝΑΙ (1 ^η >2 ^η)
Στεφανιαία Νόσος MTHFR C677T	ΝΑΙ	ΝΑΙ (1 ^η >2 ^η)	ΟΧΙ	ΟΧΙ
Καρδιαγγειακή Νόσος PIA1/PIA2	ΟΧΙ	ΟΧΙ	ΟΧΙ	ΝΑΙ (2^η>1^η)
Έμφραγμα Μυοκαρδίου FV G1691A	ΟΧΙ	ΟΧΙ	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	ΟΧΙ
Έμφραγμα μυοκαρδίου fibrinogen β-chain G-455A	ΟΧΙ	ΟΧΙ	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	ΟΧΙ
Έμφραγμα μυοκαρδίου PAI-1 4G/5G	ΟΧΙ	ΝΑΙ (1 ^η >2 ^η)	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	ΟΧΙ
Καρδιαγγειακή Νόσος FVII R353Q	ΟΧΙ	ΝΑΙ (1 ^η >2 ^η)	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	ΟΧΙ
ΙΑΕΕ FVL G1691A	ΝΑΙ	ΟΧΙ	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	ΟΧΙ
Ορθοκολικός Καρκίνος MTHFR	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΝΑΙ (2^η>1^η)	ΟΧΙ

C677T				
Ορθοκολικός Καρκίνος APC I1307K	NAI	OXI	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	NAI (1 ^η >2 ^η)
Οστεοπόρωση και Αυτόματα Κατάγματα COLIA1 Sp1	NAI	OXI	OXI	OXI
Οστεοπόρωση COLIA1 Sp1	NAI	OXI	OXI	OXI
Διαβητική Νεφροπάθεια ALR C106T	OXI	NAI (1 ^η >2 ^η)	OXI	OXI
Διαβητική Νεφροπάθεια ALR (CA)n	NAI	OXI	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	OXI
Νόσος Alzheimer LRP1 C766T	OXI	OXI	OXI	OXI
ΣΕΛ MBL B/C/D (codons 54/57/52)	OXI	NAI (1 ^η >2 ^η)	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>
ΣΥΕΠ DRD4 allele 7/exon 3 VNTR	OXI	NAI (1 ^η >2 ^η)	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>
Αθηροθρομβωτική Νόσος MTHFR C677T	NAI	OXI	OXI	OXI
ΕΒΦΘ υποτροπή FVL G196A	NAI	OXI	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>	<i>Δεν ήταν δυνατό να υπολογιστεί</i>
Γαστρικός Καρκίνος MTHFR C677T	OXI	NAI (1 ^η >2 ^η)	OXI	OXI
Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία MTHFR C677T	NAI	OXI	OXI	NAI (2^η>1^η)
Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία MTHFR A1298C	OXI	NAI (1 ^η >2 ^η)	OXI	OXI
Σχιζοφρένεια MTHFR C677T	OXI	OXI	OXI	OXI
Υπέρταση eNOS 4b/a	NAI	NAI (2^η>1^η)	OXI	OXI
Αλκοολισμός ADH2 1*2	OXI	OXI	OXI	OXI
Αλκοολισμός ALDH2 1*2	NAI	OXI	OXI	OXI

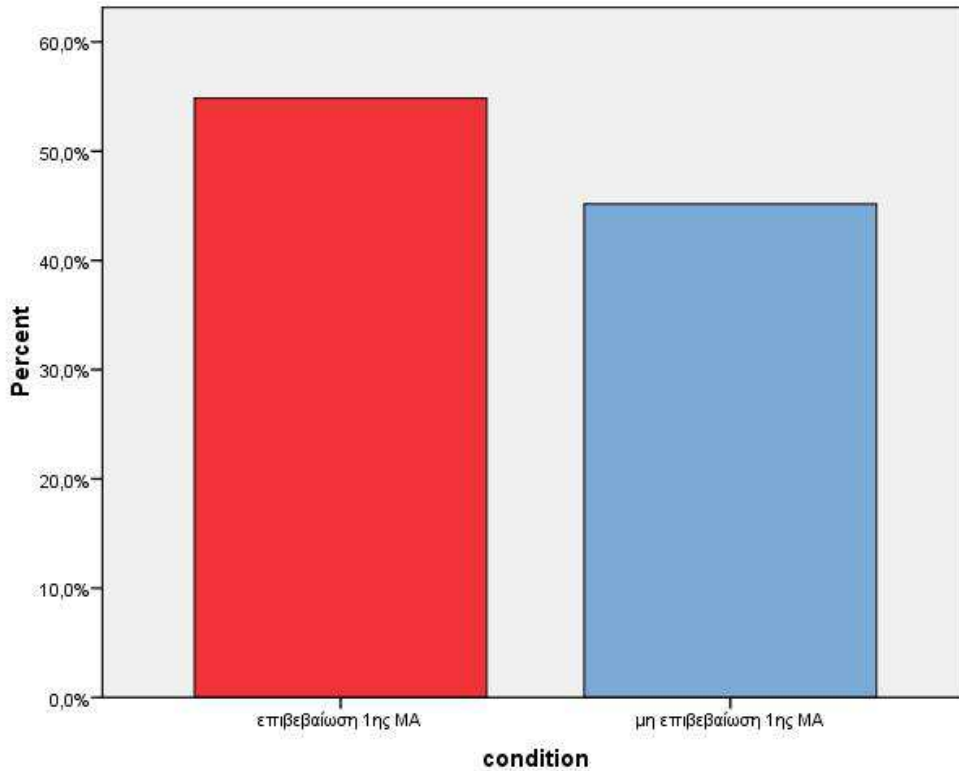
Πίνακας 104

Οι συγκρίσεις μεταξύ 1^{ων} και 2^{ων} μετά-αναλύσεων σε ότι αφορά τη σημαντικότητα καθώς και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των μελετών γενετικής συσχέτισης.

Με έντονο χρώμα σημειώνονται οι περιπτώσεις εκείνες όπου η 2^η μετά-ανάλυση βελτίωσε στατιστικώς σημαντικά τα χαρακτηριστικά της, σε σχέση με τη 1^η.

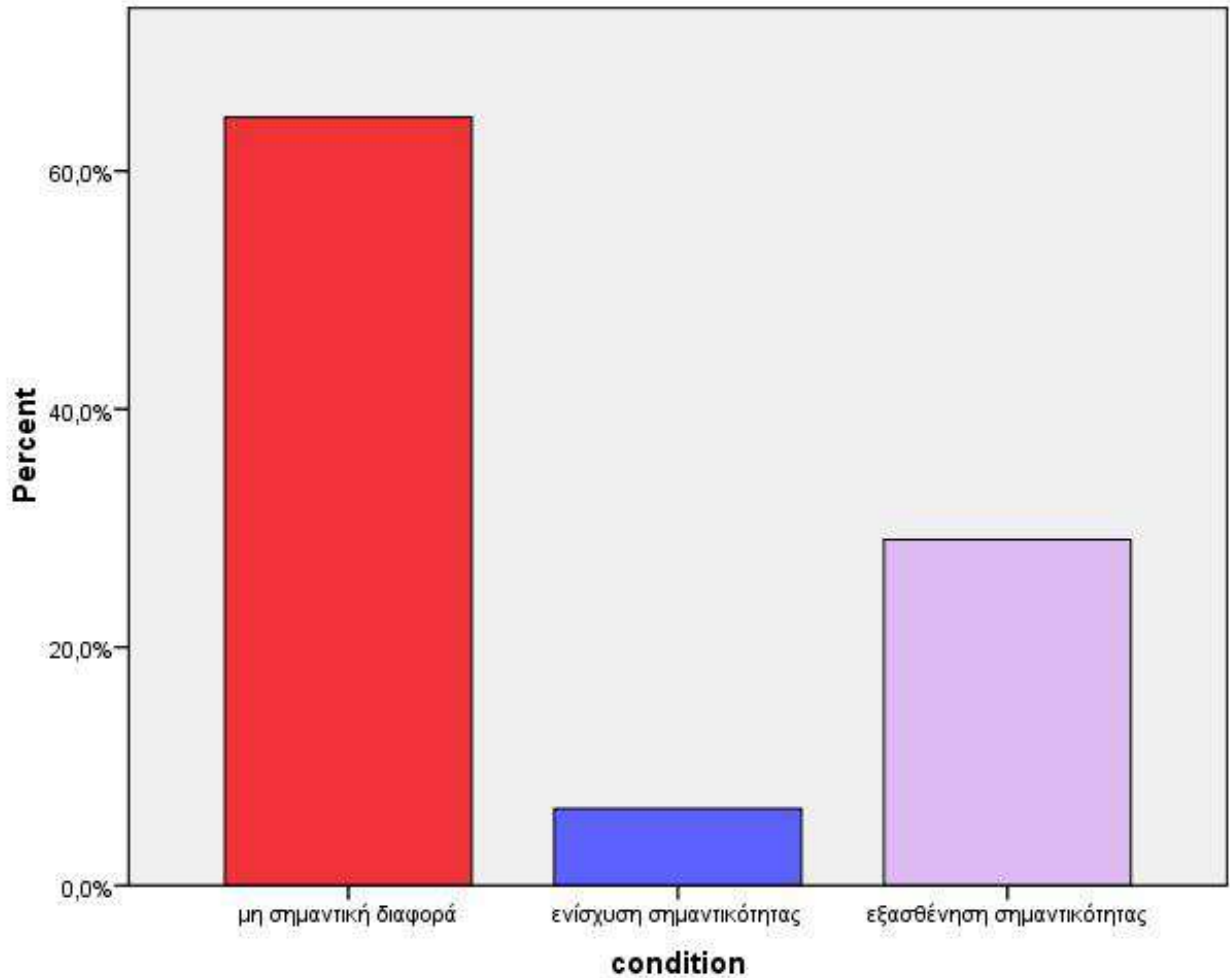
Επιβεβαίωση της σημαντικότητας μεταξύ πολυμορφισμών και νοσημάτων

Σε 17 από τις 31 περιπτώσεις (**ποσοστό 54.83%**), η στατιστικά σημαντική συσχέτιση που κατέδειξε η 1^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνεται και από τη 2^η. Σε 14 από τις 31 περιπτώσεις (**ποσοστό 45.17%**) αντίθετα, η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει τη 1^η καταδεικνύοντας μη σημαντική συσχέτιση.



Γράφημα 57
Ποσοστά επιβεβαίωσης (replication) και μη επιβεβαίωσης των αποτελεσμάτων της 1^{ης} μετά-ανάλυσης

Σε 11 από τις 31 (**ποσοστό 35.48%**) συγκρίσεις μεταξύ των O.R.s και 95% C.I. 1^{ωv} και 2^{ωv} μετά-αναλύσεων, ανιχνεύθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Από αυτές, σε 9/31 περιπτώσεις (**ποσοστό 29.03%**), η σημαντικότητα της συσχέτισης πολυμορφισμού και νοσήματος που κατέδειξαν τα αποτελέσματα της 2^{ης} μετά-ανάλυσης ήταν στατιστικά σημαντικά εξασθενημένη σε σχέση με τα αποτελέσματα της 1^{ης}. Μόλις σε 2/31 συγκρίσεις (**ποσοστό 6.45%**), η σημαντικότητα της σχέσης πολυμορφισμού-νοσήματος στη 2^η μετά-ανάλυση βρέθηκε στατιστικά σημαντικά ενισχυμένη σε σύγκριση με την 1^η.

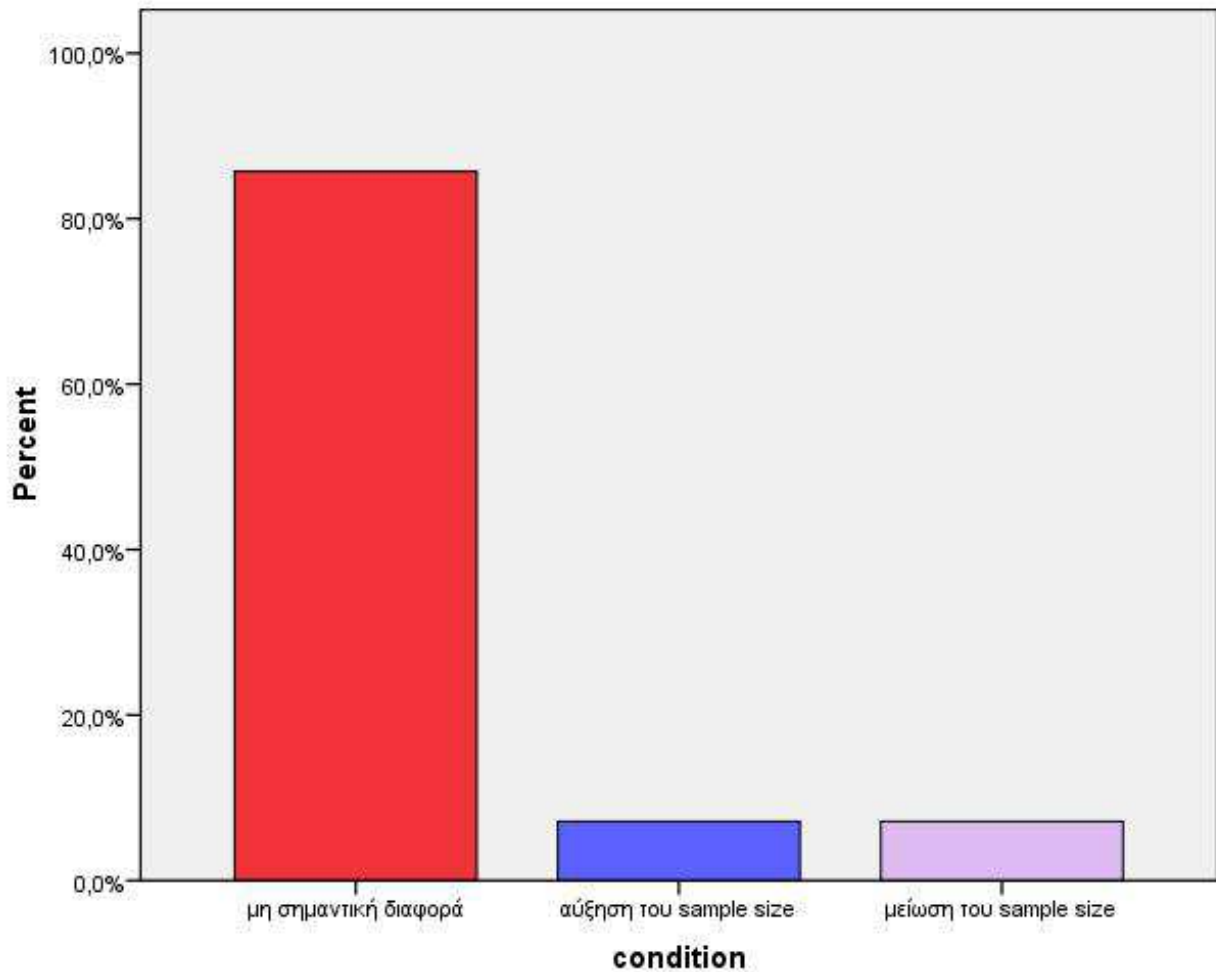


Γράφημα 58
Ποσοστά στατιστικής ενίσχυσης και εξασθένησης της σημαντικότητας που κατέδειξαν οι 1^{ες} μετά-αναλύσεις

Η επίδραση της μετά-ανάλυσης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των μελετών γενετικής συσχέτισης

Διάμεσος συμμετεχόντων υποκειμένων στις μελέτες

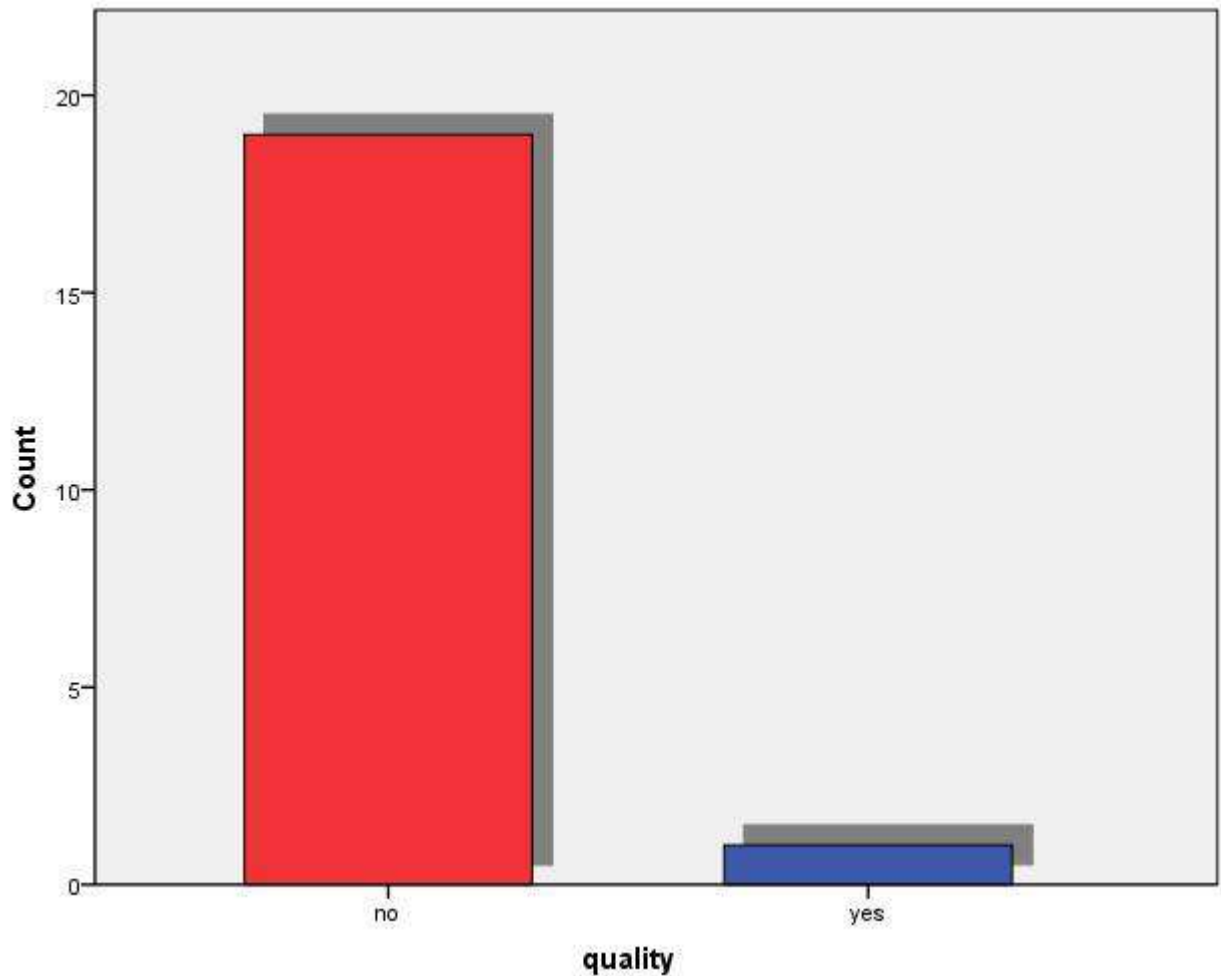
Το μέγεθος δείγματος (sample size) των μελετών γενετικής συσχέτισης που συμπεριλήφθησαν στις 1^{ες} και 2^{ες} μετά-αναλύσεις, εμφάνισε στατιστικώς σημαντική διαφορά σε 4 από τις 28 συγκρίσεις (**ποσοστό 14.28%**). Από αυτές, σε 2/28 περιπτώσεις (**ποσοστό 7.14%**) το μέγεθος δείγματος στη 2^η μετά-ανάλυση αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με τη 1^η μετά-ανάλυση, ενώ στις υπόλοιπες 2/28 περιπτώσεις (**ποσοστό 7.14%**) μειώθηκε σημαντικά, συγκριτικά πάντα με τη 1^η μετά-ανάλυση.



Γράφημα 59
Ποσοστά αύξησης και μείωσης του μεγέθους δείγματος της 2^{ης} μετά-ανάλυσης σε σύγκριση με τη 1^η μετά-ανάλυση

Συμμόρφωση στην ισορροπία Hardy-Weinberg

Σε 1 από τις 20 συγκρίσεις (**ποσοστό 5%**) ανιχνεύθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά, μεταξύ των ποσοστών συμμόρφωσης στην ισορροπία H-W στην ομάδα των υγιών μαρτύρων των μελετών γενετικής συσχέτισης, που συμπεριλήφθησαν στις 1^{ες} και 2^{ες} μετά-αναλύσεις.



Γράφημα 60
Ποσοστά στατιστικά σημαντικής βελτίωσης της ποιότητας (εκφρασμένης ως συμμόρφωση της
γενετυπικής κατανομής της ομάδας μαρτύρων στο HWE) των ΜΓΣ που συμπεριλήφθησαν στη
2^η μετά-ανάλυση σε σύγκριση με εκείνες που συμπεριέλαβε η 1^η μετά-ανάλυση
(no= μη στατιστικά σημαντική διαφορά
yes= στατιστικά σημαντική διαφορά)

Δ. Συζήτηση

Οι μελέτες γενετικής συσχέτισης (ΜΓΣ) διερευνούν τη σχέση ανάμεσα σε γονιδιακούς πολυμορφισμούς και ασθένειες, χρησιμοποιώντας ένα δείγμα πασχόντων από το εκάστοτε νόσημα και υγιών μαρτύρων. Το γεγονός αυτό επιτρέπει στις ΜΓΣ να συμπεριλάβουν ένα μεγάλο αριθμό προς εξέταση υποκειμένων, αυξάνοντας έτσι την ισχύ τους σε σύγκριση με άλλα είδη μελετών, όπως αυτές που βασίζονται σε οικογένειες (**family based**) [455]. Οι ΜΓΣ έχουν, τα τελευταία χρόνια, γίνει ιδιαίτερα δημοφιλείς για τη διερεύνηση πολύπλοκων ασθενειών και ο αριθμός των σχετικών δημοσιεύσεων έχει αυξηθεί θεαματικά και αναμένεται να μεγαλώσει ακόμη περισσότερο για τους εξής λόγους: ο σχεδιασμός και η εκτέλεση των μελετών αυτών είναι απλός σε σύγκριση με τις μελέτες οικογενειών, ενώ και οι μέθοδοι γενοτύπωσης γίνονται όλο πιο σύγχρονες και προσιτές [45]. Παρ'όλα αυτά, οι ΜΓΣ εμφανίζουν και σημαντικές αδυναμίες καθώς τα αποτελέσματά τους στερούνται επαληθευσιμότητας, καταλήγοντας έτσι συνήθως σε ανεπαρκή ή και αντιφατικά αποτελέσματα. Ως αίτια αυτού του φαινομένου, θα μπορούσαν να περιγραφούν ανεπάρκειες ως προς τον σχεδιασμό της μελέτης, το μέγεθος δείγματος καθώς και η γενετική ή περιβαλλοντική ανομοιομορφία μεταξύ των διαφόρων πληθυσμών.[456]

Η μετά-ανάλυση μπορεί να αποτελέσει ένα ισχυρό εργαλείο στην προσπάθεια σύνθεσης των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων των ΜΓΣ, στην ανίχνευση της μεταξύ τους ετερογένειας [457] και στην αξιολόγηση ποιοτικών χαρακτηριστικών τους. Ανάμεσα στα τελευταία, θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ζητήματα όπως ο ορισμός του φαινοτύπου, η τυφλότητα των εργαστηριακών μεθόδων, η αξιοπιστία των τεχνικών γενοτύπωσης, η διαστρωμάτωση του πληθυσμού και φυσικά η συμμόρφωση της γενοτυπικής κατανομής με την ισορροπία **Hardy-Weinberg**. [28]

Τυχόν διαφορές στον ορισμό του φαινοτύπου, μπορεί να αποτελέσουν πηγές ετερογένειας και να μειώσουν την ισχύ της μελέτης. Για παράδειγμα, στη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στη Διαβητική Νεφροπάθεια και το γονίδιο GLUT1, η επιλογή των ασθενών θα πρέπει να περιοριστεί σε ασθενείς με πρωτεϊνουρία και/ή χρόνια νεφρική νόσο και όχι με μικροαλβουμιουρία,[102] γιατί η τελευταία μπορεί να αναστραφεί στην πορεία της νόσου και άρα η συμπερίληψη τέτοιων ασθενών, να οδηγήσει σε υποεκτίμηση του μεγέθους της συσχέτισης.

Μεγάλη πηγή προκαταλήψεων μπορεί να αποτελέσει η γνώση του εργαστηριακού προσωπικού σε σχέση με τα χαρακτηριστικά των υπό εξέταση δειγμάτων, υποκειμένων κ.ο.κ. Παρ'όλα αυτά, λίγες ΜΓΣ αναφέρουν τυχόν τυφλότητα του προσωπικού ως προς τις πληροφορίες αυτές και κατά συνέπεια, οι προκαλούμενες από την έλλειψη τυφλότητας προκαταλήψεις, είναι δύσκολο να προσδιοριστούν.[28]

Τα λάθη στις μεθόδους γενοτύπωσης μπορεί να είναι αιτία σημαντικής σύγχυσης στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ΜΓΣ και επιπρόσθετα να μειώσουν σημαντικά την ισχύ των μελετών να ανιχνεύσουν πιθανές συσχετίσεις.[458] Φαίνεται, πως ο κύριος παράγοντας δημιουργίας τέτοιων σφαλμάτων είναι ο ανθρώπινος.[458] Απαιτείται ποιοτική αξιολόγηση των σχετικών μεθόδων για την πρόληψη παρατυπιών που μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένους υπολογισμούς γενετικού κινδύνου και απόκλιση από το HWE.[44]

Η διαστρωμάτωση πληθυσμού συνίσταται σε διαφορές ανάμεσα σε πληθυσμούς διαφορετικής φυλετικής προέλευσης ή σε πληθυσμούς με παρόμοια φυλετική αφετηρία, αλλά με περιορισμένη σύμμιξη. Η επιλογή προς μελέτη υποκειμένων από γενετικά ανομοιογενείς πληθυσμούς και σε αναντίστοιχες αναλογίες, αποτελεί δομικά

συγχυτικό παράγοντα στις ΜΓΣ. Έτσι, είναι δυνατό να δημιουργηθούν κίβδηλες συσχετίσεις ή αντίθετα, να αποτύχει η αποκάλυψη υπαρκτών σχέσεων.[28]

Είναι σήμερα σαφές, πως το κατά πόσο οι συχνότητες των γενοτύπων στην ομάδα των υγιών μαρτύρων (**control group**), συμφωνούν με αυτά που προβλέπει η ισορροπία H-W, αντανακλά στην ποιότητα του σχεδιασμού και της διεξαγωγής μίας ΜΓΣ. Αποκλίσεις από το HWE, πιθανά υποδηλώνουν διαστρωμάτωση πληθυσμού, λάθη στη γονοτύπωση ή προκαταλήψεις στην επιλογή των ατόμων που συνιστούν την ομάδα ελέγχου.[44, 459] Η αξιολόγηση της συμμόρφωσης στην ισορροπία H-W, πλέον περιλαμβάνεται στις οδηγίες για την κριτική αξιολόγηση των ΜΓΣ.[457] Ο έλεγχος για το ένα μία μελέτη συμβαδίζει με την εν λόγω ισορροπία, γίνεται με τη χρήση του exact test κατά Weir. [459]

Δεν υπάρχει, μέχρι σήμερα, κάποια ομόφωνη στρατηγική διαχείρισης της απόκλισης από το HWE στην ομάδα των μαρτύρων. Τρεις εναλλακτικές λύσεις έχουν προταθεί:

1. η διεξαγωγή μίας ανάλυσης ευαισθησίας (sensitivity analysis), αποκλείοντας από την ανάλυση όσες μελέτες αποκλίνουν σημαντικά από το HWE ή δεν παρέχουν σχετικές πληροφορίες.[457]
2. να αποκλειστούν εντελώς από τη μετά-ανάλυση όσες μελέτες δεν παρουσιάζουν HWE συμμόρφωση[460]
3. να διορθωθεί ο Συνολικός Λόγος Αναλογιών (Pooled Odds Ratio) και η διακύμανση του ως προς τις αποκλίσεις από το HWE.[461]

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης κατέδειξαν, πως η δημοσίευση μίας μετά-ανάλυσης, πιθανά δεν έχει σημαντική επίδραση στην ποιότητα των μετέπειτα ΜΓΣ, όπως αυτή εκφράζεται στη συμμόρφωση της γενοτυπικής κατανομής της ομάδας μαρτύρων στο HWE.

Το μικρό μέγεθος δείγματος (**sample size**) συνιστά συχνό πρόβλημα των ΜΓΣ και μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την ανεπαρκή ισχύ αυτών των μελετών, την αδυναμία δηλαδή να ανιχνεύσουν τη συνεισφορά ενός ή περισσοτέρων αλληλίων στον κίνδυνο εμφάνισης ενός νοσήματος.[45] Η πιο ρεαλιστική γενετική συσχέτιση ανάμεσα σε ένα γενετικό τόπο και κάποιο νόσημα, θα μπορούσε να αποδώσει έναν Λόγο Αναλογιών μεταξύ 1.1 και 1.5. Συνεπώς, για να επιτευχθεί μία ικανοποιητική ισχύς της τάξης του 80% για έναν Λόγο Αναλογιών 1.2, θα απαιτούνταν η συμπερίληψη περισσότερων από 10.000 υποκειμένων σε μια ΜΓΣ. Δεδομένου του ότι το παραπάνω μέγεθος δείγματος είναι ασφαλώς απαγορευτικό για ένα μόνο κέντρο, γίνεται αντιληπτό πως η μετά-ανάλυση ΜΓΣ έχει υψηλότερες πιθανότητες να εντοπίσει σημαντικές συσχετίσεις και να αυξήσει την ισχύ μιας ανάλυσης [457], αν και μέχρι σήμερα δεν έχει αναπτυχθεί κάποια επίσημη μεθοδολογία υπολογισμού της ισχύος μίας μετά-ανάλυσης.[28]

Η παρούσα μελέτη έδειξε πως η μετά-ανάλυση, πιθανώς, δεν έχει αξιολογηθεί επίδραση στην αύξηση του μεγέθους δείγματος των ΜΓΣ που την ακολούθησαν.

Οι ΜΓΣ απαιτούν προσεκτική επαλήθευση των αποτελεσμάτων τους [61] και η ανάγκη αυτή καθίσταται συχνά προβληματική, ειδικά κάτω από συνθήκες υψηλής ετερογένειας.[462] Αξίζει να σημειωθεί, πως η ετερογένεια είναι παρούσα ακόμα και μεταξύ μελετών με -φαινομενικά- παρόμοιους υπό εξέταση πληθυσμούς, κατά συνέπεια οι διαφορές μπορεί να αφορούν σε παραμέτρους οι οποίες δε μας είναι μέχρι σήμερα γνωστές. Η μετά-ανάλυση ως μέθοδος πάντως, έχει τη δύναμη να αποκαλύψει κρυμμένη μέχρι πρότινος διαφορετικότητα.

Είναι σήμερα σαφές πως σε ότι αφορά τα αποτελέσματα των ΜΓΣ, μεμονωμένα στατιστικά σημαντικότητα δεν εγγυάται υπαρκτή γενετικά συσχέτιση, όπως και αντίστροφα, έλλειψη σημαντικότητας δεν αποκλείει την πιθανότητα συσχέτισης.[61] Κάτι ανάλογο θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε και για τα αποτελέσματα των μετά-αναλύσεων των μελετών ΜΓΣ, με την επισήμανση όμως πως το ειδικό βάρος και η

αξιοπιστία μίας μετά-ανάλυσης υπερτερούν σαφώς ποιοτικά σε σχέση με μεμονωμένες ΜΓΣ, και άρα στα αποτελέσματα τους πρέπει πάντα να δίνεται η αρμόζουσα προσοχή.

Πράγματι, όπως η παρούσα διατριβή κατέδειξε, η συσσώρευση δεδομένων έρχεται να επιβεβαιώσει τη σημαντικότητα των γενετικών συσχετίσεων που οι πρώτες δημοσιευμένες μετά-αναλύσεις παρήγαγαν, αν και ομολογουμένως, η στατιστική ισχύς των παραπάνω συσχετίσεων εμφανίζει στο πέρασμα των ετών φθίνουσα πορεία.

Είναι επίσης ενδιαφέρον, πως η δημοσίευση μίας μετά-ανάλυσης, δε φαίνεται ούτε να πυροδοτεί αλλά ούτε και να επιβραδύνει το ρυθμό δημοσίευσης ΜΓΣ, σε ότι αφορά το ίδιο θέμα. Ο γοητευτικά απλός σχεδιασμός των ΜΓΣ και η σχετικά εύκολη διεξαγωγή των μελετών ασθενών-μαρτύρων σε σχέση με άλλους τύπους μελετών, η στροφή του ερευνητικού ενδιαφέροντος σε γονιδιακές προσεγγίσεις όσον αφορά την παθογένεια των νοσημάτων, αλλά και η ανάγκη για περαιτέρω αποσαφήνιση των συχνά συγκεχυμένων αποτελεσμάτων των ΜΓΣ, θα μπορούσαν να προταθούν ως πιθανές αιτίες της συνέχισης του ερευνητικού έργου, σε θέματα τα οποία έχουν ήδη διερευνήσει μετά-αναλύσεις.

Η συνεχής και ραγδαία αυξανόμενη παραγωγή γνώσης σχετικά με τη σχέση γενετικών πολυμορφισμών και νοσημάτων, έκανε επιτακτική την ανάγκη οργάνωσης, ταξινόμησης και αρχειοθέτησης των δεδομένων σε ηλεκτρονικές βάσεις.[463] Η βάση δεδομένων **CUMAGAS -Cumulative Meta-Analysis of Genetic Association Studies** (<http://biomath.med.uth.gr>), εκτελεί μετα-αναλύσεις για όλα τα γενετικά μοντέλα και παρέχει πληροφόρηση για τον σχεδιασμό της μελέτης και τα χαρακτηριστικά του εκάστοτε πολυμορφισμού.[73] Η παρούσα μελέτη εμπλούτισε τη CUMAGAS με δεδομένα από σχεδόν 400 ΜΓΣ, τα οποία είναι προσβάσιμα και διαθέσιμα σε ερευνητές από ολόκληρο τον πλανήτη, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε έρευνα στον τομέα της Γενετικής Επιδημιολογίας.

Η συγκεκριμένη ερευνητική προσπάθεια, συμπεριέλαβε άρθρα αποκλειστικά στα αγγλικά, είναι όμως γνωστό, ότι σαφή δεδομένα, επίσης προέρχονται από άλλες χώρες και άρθρα γραμμένα σε άλλες γλώσσες. Έτσι, η ανάλυση μπορεί να έχει χάσει αξιόλογες μελέτες, γραμμένες σε γλώσσα άλλη πλην της Αγγλικής.

Επίσης, η παρούσα μελέτη, στην περίπτωση ύπαρξης περισσότερων της μίας μετά-ανάλυσης που διερευνούσαν τη σχέση του ίδιου πολυμορφισμού με το ίδιο νόσημα, έλαβε υπόψιν μόνο τη πρωτύτερα δημοσιευμένη. Αυτό συνέβη για τους εξής λόγους:

1. Η δημοσίευση της 1^{ης} σημαντικής μετά-ανάλυσης θεωρήθηκε ως ένα σημείο-σταθμός στην εξέλιξη της έρευνας για το εκάστοτε νόσημα και το εκάστοτε ζεύγος γονίδιο-πολυμορφισμός.
2. Με τη μέθοδο αυτή, κατέστη δυνατή η σύγκριση μεταξύ ομοιόμορφων παραμέτρων των 1^{ων} και 2^{ων} μετά-αναλύσεων (π.χ γενετικό μοντέλο, μοντέλο σταθερών ή τυχαίων επιδράσεων), δεδομένου πως διαφορετικές μετά-αναλύσεις κάνουν χρήση διαφορετικών μεθοδολογιών υπολογισμού των αποτελεσμάτων.

Η εξατομικευμένη ιατρική που απορρέει από τα αποτελέσματα των ΜΓΣ, τείνει να μετατραπεί από μακρινή, μελλοντική προοπτική σε καθημερινά εφαρμοζόμενη πράξη: για παράδειγμα, παιδιά που πάσχουν από Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία ελέγχονται για την ύπαρξη ενός πολυμορφισμού που επηρεάζει την ενεργότητα του ενζύμου TPMT και αναλόγως προσαρμόζεται η δόση των χημειοθεραπευτικών σχημάτων, προκειμένου να αποφευχθούν θανατηφόρες παρενέργειες.[464] Ο γενότυπος *4/*4 του γονιδίου CYP2D6, έχει αναγνωρισθεί ως σημαντικός παράγοντας που μπορεί να προβλέψει την αποτελεσματικότητα της ταμοξιφένης και ανάλογες οδηγίες για την εφαρμογή στην κλινική πρακτική έχουν παραχθεί.[465] Ακόμη, οι δόσεις της

βαρφαρίνης μπορούν να ρυθμιστούν κατάλληλα, όταν οι κλινικοί λάβουν υπ'όψιν πολυμορφισμούς στα γονίδια VKORC1 και CYP2D9.[466]

Οι ΜΓΣ έχουν, μέχρι στιγμής, δώσει ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε ότι αφορά στην κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών, στην καθοδήγηση των θεραπευτικών μεθόδων καθώς και στις στρατηγικές πρόληψης των νοσημάτων.[467] Παρ'όλα αυτά, για να επιβεβαιωθούν οι προσδοκίες, οι μελλοντικοί ερευνητές θα πρέπει να βελτιώσουν προβλήματα και αναντιστοιχίες που έχουν να κάνουν με την ποιότητα των διεξαγομένων ΜΓΣ και η μετά-ανάλυση μπορεί να συνεισφέρει αξιολογικά προς αυτή την κατεύθυνση. Μόνο με τη συνεχή αναθεώρηση και εξέλιξη των ερευνητικών μας μεθόδων, μπορούμε να ελαττώσουμε την πιθανότητα ψευδώς θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων και να συνδέσουμε ακόμη πιο αξιόπιστα την καθημερινή ιατρική πρακτική με τα αποτελέσματα της έρευνας στον τομέα της Γενετικής Επιδημιολογίας, με τελικό αποδέκτη του οφέλους πάντα, τον ίδιο τον ασθενή.

Ε. Συμπεράσματα

- Οι ΜΓΣ έχουν, τα τελευταία χρόνια, γίνει ιδιαίτερα δημοφιλείς για τη διερεύνηση πολύπλοκων ασθενειών και ο αριθμός των σχετικών δημοσιεύσεων έχει αυξηθεί θεαματικά και αναμένεται να μεγαλώσει ακόμη περισσότερο.
- Οι ΜΓΣ εμφανίζουν σημαντικές αδυναμίες καθώς τα αποτελέσματα τους στερούνται επαληθευσιμότητας, καταλήγοντας έτσι συνήθως σε ανεπαρκή ή και αντιφατικά αποτελέσματα.
- Η μετά-ανάλυση μπορεί να αποτελέσει ένα ισχυρό εργαλείο στην προσπάθεια σύνθεσης των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων των ΜΓΣ, στην ανίχνευση της μεταξύ τους ετερογένειας και στην αξιολόγηση ποιοτικών χαρακτηριστικών τους.
- Είναι σήμερα σαφές, πως το κατά πόσο οι συχνότητες των γενοτύπων στην ομάδα των υγιών μαρτύρων (**control group**), συμφωνούν με αυτά που προβλέπει η ισορροπία Hardy-Weinberg, αντανακλά στην ποιότητα του σχεδιασμού και της διεξαγωγής μίας ΜΓΣ.
- Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης κατέδειξαν, πως η δημοσίευση μίας μετά-ανάλυσης, πιθανά δεν έχει σημαντική επίδραση στην ποιότητα των μετέπειτα ΜΓΣ, όπως αυτή εκφράζεται στη συμμόρφωση της γενοτυπικής κατανομής της ομάδας μαρτύρων στο HWE.
- Το μικρό μέγεθος δείγματος (**sample size**) συνιστά συχνό πρόβλημα των ΜΓΣ και μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την ανεπαρκή ισχύ αυτών των μελετών, την αδυναμία δηλαδή να ανιχνεύσουν τη συνεισφορά ενός ή περισσότερων αλληλίων στον κίνδυνο εμφάνισης ενός νοσήματος.
- Η μετά-ανάλυση ΜΓΣ έχει υψηλότερες πιθανότητες να εντοπίσει σημαντικές συσχετίσεις και να αυξήσει την ισχύ μίας ανάλυσης.
- Η παρούσα μελέτη έδειξε πως η μετά-ανάλυση, πιθανώς, δεν έχει αξιόλογη επίδραση στην αύξηση του μεγέθους δείγματος των ΜΓΣ που την ακολούθησαν.
- Οι ΜΓΣ απαιτούν προσεκτική επαλήθευση των αποτελεσμάτων τους και η ανάγκη αυτή καθίσταται συχνά προβληματική, ειδικά κάτω από συνθήκες υψηλής ετερογένειας.
- Η μετά-ανάλυση ως μέθοδος, έχει τη δύναμη να αποκαλύψει κρυμμένη μέχρι πρότινος διαφορετικότητα.
- Είναι σήμερα σαφές πως σε ότι αφορά τα αποτελέσματα των ΜΓΣ, μεμονωμένη στατιστικά σημαντικότητα δεν εγγυάται επαρκή γενετικά συσχέτιση, όπως και αντίστροφα, έλλειψη σημαντικότητας δεν αποκλείει την πιθανότητα συσχέτισης.
- Το ειδικό βάρος και η αξιοπιστία μίας μετά-ανάλυσης υπερτερούν σαφώς ποιοτικά σε σχέση με μεμονωμένες ΜΓΣ και άρα η ανάγνωση και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων τους, πρέπει να γίνεται με την αρμόζουσα προσοχή.
- Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η συσσώρευση δεδομένων έρχεται να επιβεβαιώσει τη σημαντικότητα των γενετικών συσχετίσεων που οι πρώτες δημοσιευμένες μετά-αναλύσεις παρήγαγαν.
- Ωστόσο, η στατιστική ισχύς των παραπάνω συσχετίσεων εμφανίζει στο πέρασμα των ετών φθίνουσα πορεία.
- Η δημοσίευση μίας μετά-ανάλυσης, δε φαίνεται ούτε να πυροδοτεί αλλά ούτε και να επιβραδύνει το ρυθμό δημοσίευσης ΜΓΣ, σε ότι αφορά το ίδιο θέμα.

- Ο γοητευτικά απλός σχεδιασμός των ΜΓΣ και η σχετικά εύκολη διεξαγωγή των μελετών ασθενών-μαρτύρων σε σχέση με άλλους τύπους μελετών, η στροφή του ερευνητικού ενδιαφέροντος σε γονιδιακές προσεγγίσεις όσον αφορά την παθογένεια των νοσημάτων, αλλά και η ανάγκη για περαιτέρω αποσαφήνιση των συχνά συγκεχυμένων αποτελεσμάτων των ΜΓΣ, θα μπορούσαν να προταθούν ως πιθανές αιτίες της εντατικής συνέχισης του ερευνητικού έργου, σε θέματα τα οποία έχουν ήδη διερευνηθεί μετά-αναλύσεις.
- Η συνεχής και ραγδαία αυξανόμενη παραγωγή γνώσης σχετικά με τη σχέση γενετικών πολυμορφισμών και νοσημάτων, έκανε επιτακτική την ανάγκη οργάνωσης, ταξινόμησης και αρχειοθέτησης των δεδομένων σε ηλεκτρονικές βάσεις.
- Η παρούσα μελέτη εμπλούτισε τη βάση δεδομένων CUMAGAS με δεδομένα από σχεδόν 400 ΜΓΣ, τα οποία είναι προσβάσιμα και διαθέσιμα σε ερευνητές από ολόκληρο τον πλανήτη, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε έρευνα στον τομέα της Γενετικής Επιδημιολογίας.
- Η εξατομικευμένη ιατρική που απορρέει από τα αποτελέσματα των ΜΓΣ, τείνει να μετατραπεί από μακρινή, μελλοντική προοπτική σε καθημερινά εφαρμοζόμενη πράξη.
- Η μετά-ανάλυση αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο σύνθεσης των αποτελεσμάτων των μελετών γενετικής συσχέτισης, που χαρακτηρίζεται από υψηλό βαθμό αξιοπιστίας και επαληθευσιμότητας των αποτελεσμάτων της.

ΣΤ. Περίληψη

Σκοπός: Να εξεταστεί η επίδραση των μετά-αναλύσεων μελετών γενετικής συσχέτισης (ΜΓΣ):

A) Στην εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και νοσημάτων.

B) Στη διαχρονική εξέλιξη ποιοτικών παραμέτρων των μελετών γενετικής συσχέτισης.

Γ) Στη διαμόρφωση του μεγέθους δείγματος των μελετών γενετικής συσχέτισης.

Δ) Στον ρυθμό δημοσίευσης των μελετών γενετικής συσχέτισης που εξετάζουν το ίδιο θέμα.

Μέθοδοι: Μέσω συστηματικής αναζήτησης στη βάση δεδομένων HuGE Navigator εντοπίστηκαν όλες οι δημοσιευμένες τα έτη 2000 και 2001 μετά-αναλύσεις, οι οποίες κατεδείκνυαν σημαντική συσχέτιση ανάμεσα σε γενετικούς πολυμορφισμούς και νοσήματα. Το δείγμα των μετά-αναλύσεων συμπληρώθηκε από μετά-αναλύσεις δημοσιευμένες τα έτη 2005 και 2006 από το Εργαστήριο Βιομαθηματικών του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, οι οποίες κατεδείκνυαν σημαντικά αποτελέσματα για τη συνολική ανάλυση. Στη συνέχεια, αναζητούνταν μέσω εκτεταμένης ηλεκτρονικής αναζήτησης στην ηλεκτρονική, βιβλιογραφική βάση Pubmed, όλες οι μελέτες γενετικής συσχέτισης οι οποίες διερευνούσαν τη σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού και του νοσήματος για τα οποία η σχετική μετά-ανάλυση είχε δώσει σημαντικά αποτελέσματα και οι οποίες είχαν δημοσιευθεί τουλάχιστον 12 μήνες μετά τον χρόνο δημοσίευσης της μετα-ανάλυσης.

Όλες οι κατάλληλες μελέτες, στη συνέχεια, μετά-αναλύονταν προκειμένου να διαπιστωθεί η εξέλιξη της σημαντικότητας μεταξύ νοσήματος και πολυμορφισμού. Από το σύνολο των μελετών που θεωρούνταν ως κατάλληλες για να συμπεριληφθούν στη μετα-ανάλυση που θα ακολουθούσε (συχνά αναφερόμενη στο εξής ως 2^η μετα-ανάλυση), υπολογίζονταν οι εξής παράμετροι προκειμένου να συγκριθούν με τις αντίστοιχες της πρώτης δημοσιευμένης στη HuGE Pub Lit σχετικής μετα-ανάλυσης (συχνά αναφερόμενη στο εξής ως 1^η μετα-ανάλυση).

- Ποσοστό των μελετών με συμμόρφωση της γονοτυπικής κατανομής στην ομάδα των μαρτύρων (controls group) στην ισορροπία Hardy–Weinberg.
- ασθενείς/μάρτυρες/σύνολο
- Διάμεσος (median) του αριθμού των υποκειμένων που συμπεριλαμβάνονταν στη μετα-ανάλυση

Το χ^2 test χρησιμοποιήθηκε και για τη σύγκριση των ποσοστών συμμόρφωσης στο HWE πριν και μετά την 1^η μετα-ανάλυση. (στάθμη σημαντικότητας $p < 0.05$) Η σύγκριση των διαμέσων του αριθμού συμμετεχόντων των δύο μετά-αναλύσεων έγινε με το μη παραμετρικό Mood's Median Test. (στάθμη σημαντικότητας $p < 0.05$) Οι συγκεντρωτικοί λόγοι αναλογιών της 1^{ης} και της 2^{ης} μετα-ανάλυσης συγκρίνονταν μεταξύ τους με το z-score. Όλες οι κατάλληλες για μετά-ανάλυση μελέτες καταχωρήθηκαν στη βάση δεδομένων CUMAGAS -Cumulative Meta-Analysis of Genetic Association Studies (<http://biomath.med.uth.gr>). Η απεικόνιση της εξέλιξης της σημαντικότητας μεταξύ πολυμορφισμών και νοσημάτων έγινε σε διαγράμματα τύπου forest plot. Οι μέσες τιμές του αριθμού των μελετών γενετικής συσχέτισης που συμπεριλήφθηκαν στις 1^{ες} και 2^{ες} μετά-αναλύσεις συγκρίθηκαν μεταξύ τους με το μη παραμετρικό test Mann-Whitney U.

Αποτελέσματα: Συνολικά εξετάστηκαν 52 μετά-αναλύσεις, από τις οποίες 28 αποκλείστηκαν από τη μελέτη για διάφορους λόγους. 24 μετά-αναλύσεις συμπεριλήφθησαν στη μελέτη, οι οποίες παρείχαν πληροφορίες για 23 νοσήματα, 21 γονίδια και 25 πολυμορφισμούς.

Σε 17 από τις 31 περιπτώσεις (ποσοστό 54.83%), η στατιστικά σημαντική συσχέτιση που κατέδειξε η 1^η μετά-ανάλυση επιβεβαιώνεται και από τη 2^η. Σε 14 από τις 31 περιπτώσεις (ποσοστό 45.17%) αντίθετα, η 2^η μετά-ανάλυση δεν επιβεβαιώνει τη 1^η καταδεικνύοντας μη σημαντική συσχέτιση. Σε 11 από τις 31 (ποσοστό 35.48%) συγκρίσεις μεταξύ των O.R.s και 95% C.I. 1^{ωv} και 2^{ωv} μετά-αναλύσεων, ανιχνεύθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Από αυτές, σε 9/31 περιπτώσεις (ποσοστό 29.03%), η σημαντικότητα της συσχέτισης πολυμορφισμού και νοσήματος που κατέδειξαν τα αποτελέσματα της 2^{ης} μετά-ανάλυσης ήταν στατιστικά σημαντικά εξασθενημένη σε σχέση με τα αποτελέσματα της 1^{ης}. Μόλις σε 2/31 συγκρίσεις (ποσοστό 6.45%), η σημαντικότητα της σχέσης πολυμορφισμού-νοσήματος στη 2^η μετά-ανάλυση βρέθηκε στατιστικά σημαντικά ενισχυμένη σε σύγκριση με την 1^η. Το μέγεθος δείγματος (sample size) των μελετών γενετικής συσχέτισης που συμπεριλήφθησαν στις 1^{ες} και 2^{ες} μετά-αναλύσεις, εμφάνισε στατιστικώς σημαντική διαφορά σε 4 από τις 28 συγκρίσεις (ποσοστό 14.28%). Από αυτές, σε 2/28 περιπτώσεις (ποσοστό 7.14%) το μέγεθος δείγματος στη 2^η μετά-ανάλυση αυξήθηκε σημαντικά σε σχέση με τη 1^η μετά-ανάλυση, ενώ στις υπόλοιπες 2/28 περιπτώσεις (ποσοστό 7.14%) μειώθηκε σημαντικά, συγκριτικά πάντα με τη 1^η μετά-ανάλυση. Σε 1 από τις 20 συγκρίσεις (ποσοστό 5%) ανιχνεύθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά, μεταξύ των ποσοστών συμμόρφωσης στην ισορροπία H-W στην ομάδα των υγιών μαρτύρων των μελετών γενετικής συσχέτισης, που συμπεριλήφθησαν στις 1^{ες} και 2^{ες} μετά-αναλύσεις. Αν και η μέση τιμή του αριθμού των μελετών που συμπεριέλαβαν οι 2^{ες} μετά-αναλύσεις είναι οριακά υψηλότερη (10,13 έναντι 9,62), όταν συγκριθεί με την αντίστοιχη μέση τιμή του αριθμού των μελετών που συμπεριέλαβαν οι 1^{ες} μετά-αναλύσεις, η διαφορά είναι στατιστικώς μη σημαντική. ($p=0.223$, Mann-Whitney U test).

Συμπεράσματα: Η μετά-ανάλυση αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο σύνθεσης των αποτελεσμάτων των μελετών γενετικής συσχέτισης, που χαρακτηρίζεται από υψηλό βαθμό αξιοπιστίας και επαληθευσιμότητας των αποτελεσμάτων της. Η μετά-ανάλυση δε φαίνεται να επιδρά αξιολογικά στην ποιότητα, στο μέγεθος δείγματος και στο ρυθμό δημοσίευσης των ΜΓΣ που ακολουθούν.

Summary

Objectives: To investigate the impact of first significant meta-analyses of Genetic Association Studies (GAS) on:

a. evolution of significance between genetic polymorphisms and diseases. b. quality, sample size and publication rate of subsequent GAS.

Methods: HuGE Navigator database was systematically searched for significant meta-analyses of GAS, published in 2000 and 2001 and also for meta-analyses published from the Department of Biomathematics, University of Thessaly in years 2005 and 2006, demonstrating significant results for the overall analysis. We also searched Pubmed database to identify all GAS published at least 12 months after first significant meta-analyses, till December 2009. All eligible studies were meta-analysed, using CUMAGAS database and pooled Odds Ratios and 95% Confidence Intervals (C.I.) of 1st and 2nd Meta-analyses were compared, using z-test. Percentages of HWE compliance in control group in 1st and 2nd meta-analyses were compared using χ^2 test, while medians of subjects included in 1st and 2nd meta-analyses were compared using non-parametric Modds Median test. Means of number of GAS, included in in 1st and 2nd meta-analyses were compared using non-parametric Mann-Whitney U test (level of significance for all tests $p < 0.05$)

Results: Totally 52 meta-analyses were examined, from which 28 were excluded from the analysis for various reasons. 24 meta-analyses were included in the study, providing information for 23 diseases, 21 genes and 25 genetic polymorphisms. Approximately 400 GAS were registered in CUMAGAS database and meta-analysed in 31 totally meta-analyses.

In 17 of 31 comparisons (54.83%), the significant results of 1st meta-analyses were replicated by those of the 2nd ones, but only in 2 of 31 comparisons (6.45%), the genetic association was found to be significantly strengthened. In 2/28 (7.14%) comparisons, the sample size of 1st meta-analysis was found to be significantly improved compared to the sample size of the 2nd meta-analysis, while in 1/20 (5%) comparison, percentages of HWE compliance in control group differed significantly between 1st and 2nd meta-analyses. Although mean of number of GAS included in 2nd meta-analyses was marginally higher (10,13 vs 9,62), Mann-Whitney test failed to detect significant difference ($p = 0.223$).

Conclusions: Meta-analysis consists a valuable tool for synthesis of conflicting results of GAS and its results are characterized by high degree of reliability and replication. Meta-analysis does not propably have remarkable effect on quality, sample size and publication rate of subsequent GAS.

Z. Βιβλιογραφικές Αναφορές

1. Sanchez-Guerra, M., et al., *Case-control study and meta-analysis of low density lipoprotein receptor-related protein gene exon 3 polymorphism in Alzheimer's disease*. *Neurosci Lett*, 2001. **316**(1): p. 17-20.
2. Rosenberg, W. and A. Donald, *Evidence based medicine: an approach to clinical problem-solving*. *BMJ*, 1995. **310**(6987): p. 1122-6.
3. Paneesha, S., et al., *Frequency, demographics and risk (according to tumour type or site) of cancer-associated thrombosis among patients seen at outpatient DVT clinics*. *Thromb Haemost*, 2009.
4. Simpson, E.L., et al., *Thrombophilia testing in people with venous thromboembolism: systematic review and cost-effectiveness analysis*. *Health Technol Assess*, 2009. **13**(2): p. iii, ix-x, 1-91.
5. Collins, R., et al., *Reduction in fatal pulmonary embolism and venous thrombosis by perioperative administration of subcutaneous heparin. Overview of results of randomized trials in general, orthopedic, and urologic surgery*. *N Engl J Med*, 1988. **318**(18): p. 1162-73.
6. Rashid, S.T., et al., *Venous thromboprophylaxis in UK medical inpatients*. *J R Soc Med*, 2005. **98**(11): p. 507-12.
7. Leizorovicz, A., et al., *Low molecular weight heparin in prevention of perioperative thrombosis*. *BMJ*, 1992. **305**(6859): p. 913-20.
8. Drummond, M., et al., *Economic evaluation of standard heparin and enoxaparin for prophylaxis against deep vein thrombosis in elective hip surgery*. *Br J Surg*, 1994. **81**(12): p. 1742-6.
9. McConnell, J. and R. Horton, *Preparing for pandemic influenza*. *Lancet*, 2005. **366**(9503): p. 2072.
10. While, A., C. George, and B. Murgatroyd, *Promoting influenza vaccination in older people: rationale and reality*. *Br J Community Nurs*, 2005. **10**(9): p. 427-30.
11. Sacks, H., T.C. Chalmers, and H. Smith, Jr., *Randomized versus historical controls for clinical trials*. *Am J Med*, 1982. **72**(2): p. 233-40.
12. Schulz, K.F., et al., *Empirical evidence of bias. Dimensions of methodological quality associated with estimates of treatment effects in controlled trials*. *JAMA*, 1995. **273**(5): p. 408-12.
13. Prendiville, W., D. Elbourne, and I. Chalmers, *The effects of routine oxytocic administration in the management of the third stage of labour: an overview of the evidence from controlled trials*. *Br J Obstet Gynaecol*, 1988. **95**(1): p. 3-16.
14. Begg, C., et al., *Improving the quality of reporting of randomized controlled trials. The CONSORT statement*. *JAMA*, 1996. **276**(8): p. 637-9.
15. Greenhalgh, T., *How to read a paper. The Medline database*. *BMJ*, 1997. **315**(7101): p. 180-3.
16. Hawkins, B.S. and S.W. Singer, *Perusing the literature*. *Control Clin Trials*, 1989. **10**(2): p. 211.
17. Dickersin, K., R. Scherer, and C. Lefebvre, *Identifying relevant studies for systematic reviews*. *BMJ*, 1994. **309**(6964): p. 1286-91.
18. Chalmers, I., K. Dickersin, and T.C. Chalmers, *Getting to grips with Archie Cochrane's agenda*. *BMJ*, 1992. **305**(6857): p. 786-8.
19. Moher, D., et al., *Assessing the quality of randomized controlled trials: an annotated bibliography of scales and checklists*. *Control Clin Trials*, 1995. **16**(1): p. 62-73.

20. Chalmers, T.C., *Problems induced by meta-analyses*. Stat Med, 1991. **10**(6): p. 971-9; discussion 979-80.
21. Laupacis, A., D.L. Sackett, and R.S. Roberts, *An assessment of clinically useful measures of the consequences of treatment*. N Engl J Med, 1988. **318**(26): p. 1728-33.
22. Berlin, J.A., et al., *A comparison of statistical methods for combining event rates from clinical trials*. Stat Med, 1989. **8**(2): p. 141-51.
23. Yusuf, S., et al., *Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials*. Prog Cardiovasc Dis, 1985. **27**(5): p. 335-71.
24. DerSimonian, R. and N. Laird, *Meta-analysis in clinical trials*. Control Clin Trials, 1986. **7**(3): p. 177-88.
25. Lilford, R.J. and D. Braunholtz, *The statistical basis of public policy: a paradigm shift is overdue*. BMJ, 1996. **313**(7057): p. 603-7.
26. Bailey, K.R., *Inter-study differences: how should they influence the interpretation and analysis of results?* Stat Med, 1987. **6**(3): p. 351-60.
27. Chatellier, G., et al., *The number needed to treat: a clinically useful nomogram in its proper context*. BMJ, 1996. **312**(7028): p. 426-9.
28. Zintzaras, E. and J. Lau, *Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches*. J Clin Epidemiol, 2008. **61**(7): p. 634-45.
29. Green, S.J., T.R. Fleming, and S. Emerson, *Effects on overviews of early stopping rules for clinical trials*. Stat Med, 1987. **6**(3): p. 361-9.
30. Burton, P.R., M.D. Tobin, and J.L. Hopper, *Key concepts in genetic epidemiology*. Lancet, 2005. **366**(9489): p. 941-51.
31. Botstein, D. and N. Risch, *Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease*. Nat Genet, 2003. **33 Suppl**: p. 228-37.
32. Watson, J.D. and F.H. Crick, *Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid*. Nature, 1953. **171**(4356): p. 737-8.
33. Lander, E.S., et al., *Initial sequencing and analysis of the human genome*. Nature, 2001. **409**(6822): p. 860-921.
34. Cotton, R.G. and C.R. Scriver, *Proof of "disease causing" mutation*. Hum Mutat, 1998. **12**(1): p. 1-3.
35. Collins, F.S., et al., *New goals for the U.S. Human Genome Project: 1998-2003*. Science, 1998. **282**(5389): p. 682-9.
36. Collins, F.S., M.S. Guyer, and A. Chakravarti, *Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation*. Science, 1997. **278**(5343): p. 1580-1.
37. Nickerson, D.A., et al., *Identification of clusters of biallelic polymorphic sequence-tagged sites (pSTSs) that generate highly informative and automatable markers for genetic linkage mapping*. Genomics, 1992. **12**(2): p. 377-87.
38. Chakravarti, A., *It's raining SNPs, hallelujah?* Nat Genet, 1998. **19**(3): p. 216-7.
39. Kuhner, M.K., et al., *Usefulness of single nucleotide polymorphism data for estimating population parameters*. Genetics, 2000. **156**(1): p. 439-47.
40. Stallings, R.L., et al., *Evolution and distribution of (GT)_n repetitive sequences in mammalian genomes*. Genomics, 1991. **10**(3): p. 807-15.
41. Peters, S.P., *Reporting and evaluating genetic association studies*. Respir Res, 2009. **10**: p. 109.
42. Salanti, G., et al., *Hardy-Weinberg equilibrium in genetic association studies: an empirical evaluation of reporting, deviations, and power*. Eur J Hum Genet, 2005. **13**(7): p. 840-8.

43. Trikalinos, T.A., et al., *Impact of violations and deviations in Hardy-Weinberg equilibrium on postulated gene-disease associations*. Am J Epidemiol, 2006. **163**(4): p. 300-9.
44. Xu, J., et al., *Positive results in association studies are associated with departure from Hardy-Weinberg equilibrium: hint for genotyping error?* Hum Genet, 2002. **111**(6): p. 573-4.
45. Zintzaras, E. and J. Lau, *Trends in meta-analysis of genetic association studies*. J Hum Genet, 2008. **53**(1): p. 1-9.
46. Hirschhorn, J.N., et al., *A comprehensive review of genetic association studies*. Genet Med, 2002. **4**(2): p. 45-61.
47. Cardon, L.R. and L.J. Palmer, *Population stratification and spurious allelic association*. Lancet, 2003. **361**(9357): p. 598-604.
48. Pritchard, J.K., et al., *Association mapping in structured populations*. Am J Hum Genet, 2000. **67**(1): p. 170-81.
49. Wall, J.D. and J.K. Pritchard, *Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome*. Nat Rev Genet, 2003. **4**(8): p. 587-97.
50. Green, B.F. and J.A. Hall, *Quantitative methods for literature reviews*. Annu Rev Psychol, 1984. **35**: p. 37-53.
51. Chelly, J. and J.L. Mandel, *Monogenic causes of X-linked mental retardation*. Nat Rev Genet, 2001. **2**(9): p. 669-80.
52. Lohmueller, K.E., et al., *Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease*. Nat Genet, 2003. **33**(2): p. 177-82.
53. Ueda, H., et al., *Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease*. Nature, 2003. **423**(6939): p. 506-11.
54. Ghossaini, M. and P.D. Pharoah, *Polygenic susceptibility to breast cancer: current state-of-the-art*. Future Oncol, 2009. **5**(5): p. 689-701.
55. Zondervan, K.T. and L.R. Cardon, *The complex interplay among factors that influence allelic association*. Nat Rev Genet, 2004. **5**(2): p. 89-100.
56. Horikawa, Y., et al., *Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus*. Nat Genet, 2000. **26**(2): p. 163-75.
57. Weedon, M.N., et al., *Meta-analysis and a large association study confirm a role for calpain-10 variation in type 2 diabetes susceptibility*. Am J Hum Genet, 2003. **73**(5): p. 1208-12.
58. Evans, J.C., et al., *Studies of association between the gene for calpain-10 and type 2 diabetes mellitus in the United Kingdom*. Am J Hum Genet, 2001. **69**(3): p. 544-52.
59. Rosenthal, R. and M.R. DiMatteo, *Meta-analysis: recent developments in quantitative methods for literature reviews*. Annu Rev Psychol, 2001. **52**: p. 59-82.
60. Cohn, L.D. and B.J. Becker, *How meta-analysis increases statistical power*. Psychol Methods, 2003. **8**(3): p. 243-53.
61. Ioannidis, J.P., et al., *Replication validity of genetic association studies*. Nat Genet, 2001. **29**(3): p. 306-9.
62. Munafò, M.R., et al., *Genetic polymorphisms and personality in healthy adults: a systematic review and meta-analysis*. Mol Psychiatry, 2003. **8**(5): p. 471-84.
63. Sen, S., M. Burmeister, and D. Ghosh, *Meta-analysis of the association between a serotonin transporter promoter polymorphism (5-HTTLPR) and anxiety-related personality traits*. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2004. **127B**(1): p. 85-9.
64. Egger, M., et al., *Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test*. BMJ, 1997. **315**(7109): p. 629-34.

65. Munafo, M., et al., *Are there sex differences in transdermal nicotine replacement therapy patch efficacy? A meta-analysis*. Nicotine Tob Res, 2004. **6**(5): p. 769-76.
66. Thompson, S.G. and J.P. Higgins, *How should meta-regression analyses be undertaken and interpreted?* Stat Med, 2002. **21**(11): p. 1559-73.
67. Ioannidis, J.P., et al., *Genetic associations in large versus small studies: an empirical assessment*. Lancet, 2003. **361**(9357): p. 567-71.
68. Lin, B.K., et al., *Tracking the epidemiology of human genes in the literature: the HuGE Published Literature database*. Am J Epidemiol, 2006. **164**(1): p. 1-4.
69. Zintzaras, E. and J.P. Ioannidis, *Heterogeneity testing in meta-analysis of genome searches*. Genet Epidemiol, 2005. **28**(2): p. 123-37.
70. Bogardus, S.T., Jr., J. Concato, and A.R. Feinstein, *Clinical epidemiological quality in molecular genetic research: the need for methodological standards*. JAMA, 1999. **281**(20): p. 1919-26.
71. Schaid, D.J. and S.J. Jacobsen, *Biased tests of association: comparisons of allele frequencies when departing from Hardy-Weinberg proportions*. Am J Epidemiol, 1999. **149**(8): p. 706-11.
72. Tregouet, D.A., P. Ducimetiere, and L. Tiret, *Testing association between candidate-gene markers and phenotype in related individuals, by use of estimating equations*. Am J Hum Genet, 1997. **61**(1): p. 189-99.
73. Zintzaras, E. and N. Zdoukopoulos, *A field synopsis and meta-analysis of genetic association studies in peripheral arterial disease: The CUMAGAS-PAD database*. Am J Epidemiol, 2009. **170**(1): p. 1-11.
74. Lewis, S. and M. Clarke, *Forest plots: trying to see the wood and the trees*. BMJ, 2001. **322**(7300): p. 1479-80.
75. Ashley-Koch, A., Q. Yang, and R.S. Olney, *Sickle hemoglobin (HbS) allele and sickle cell disease: a HuGE review*. Am J Epidemiol, 2000. **151**(9): p. 839-45.
76. Brockton, N., et al., *N-acetyltransferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review*. Am J Epidemiol, 2000. **151**(9): p. 846-61.
77. Cotton, S.C., et al., *Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review*. Am J Epidemiol, 2000. **151**(1): p. 7-32.
78. Crawford, D.C., J.M. Acuna, and S.L. Sherman, *FMR1 and the fragile X syndrome: human genome epidemiology review*. Genet Med, 2001. **3**(5): p. 359-71.
79. Dorman, J.S. and C.H. Bunker, *HLA-DQ locus of the human leukocyte antigen complex and type 1 diabetes mellitus: a HuGE review*. Epidemiol Rev, 2000. **22**(2): p. 218-27.
80. Geisler, S.A. and A.F. Olshan, *GSTM1, GSTT1, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a mini-HuGE review*. Am J Epidemiol, 2001. **154**(2): p. 95-105.
81. Hanson, E.H., G. Imperatore, and W. Burke, *HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review*. Human Genome Epidemiology. Am J Epidemiol, 2001. **154**(3): p. 193-206.
82. Kelada, S.N., et al., *Delta-aminolevulinic acid dehydratase genotype and lead toxicity: a HuGE review*. Am J Epidemiol, 2001. **154**(1): p. 1-13.
83. Rasmussen, S.A. and J.M. Friedman, *NF1 gene and neurofibromatosis 1*. Am J Epidemiol, 2000. **151**(1): p. 33-40.
84. Wang, S.S., et al., *Medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency human genome epidemiology review*. Genet Med, 1999. **1**(7): p. 332-9.
85. Zmuda, J.M., J.A. Cauley, and R.E. Ferrell, *Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants*. Epidemiol Rev, 2000. **22**(2): p. 203-17.
86. Lucotte, G., *Frequency analysis and allele map in favor of the celtic origin of the C282Y mutation of hemochromatosis*. Blood Cells Mol Dis, 2001. **27**(2): p. 549-56.

87. Qu, H., Y. Lu, and S. Lin, [*Meta-analysis on the association of ACE/ID polymorphism and essential hypertension in Chinese population*]. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 2001. **35**(6): p. 408-11.
88. Allen, R.A., et al., *Polymorphisms in the TNF-alpha and TNF-receptor genes in patients with coronary artery disease*. *Eur J Clin Invest*, 2001. **31**(10): p. 843-51.
89. Dermaut, B., et al., *Variable expression of presenilin 1 is not a major determinant of risk for late-onset Alzheimer's disease*. *J Neurol*, 2001. **248**(11): p. 935-9.
90. Elvidge, G., et al., *Allelic variation of a Ball polymorphism in the DRD3 gene does not influence susceptibility to bipolar disorder: results of analysis and meta-analysis*. *Am J Med Genet*, 2001. **105**(4): p. 307-11.
91. Heo, M., et al., *Pooling analysis of genetic data: the association of leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity*. *Genetics*, 2001. **159**(3): p. 1163-78.
92. Kinnear, C.J., et al., *Obsessive-compulsive disorder and the promoter region polymorphism (5-HTTLPR) in the serotonin transporter gene (SLC6A4): a negative association study in the Afrikaner population*. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2000. **3**(4): p. 327-331.
93. Lehmann, D.J., et al., *Using meta-analysis to explain the diversity of results in genetic studies of late-onset Alzheimer's disease and to identify high-risk subgroups*. *Neuroscience*, 2001. **108**(4): p. 541-54.
94. Russ, C., et al., *The microtubule associated protein Tau gene and Alzheimer's disease--an association study and meta-analysis*. *Neurosci Lett*, 2001. **314**(1-2): p. 92-6.
95. Schena, F.P., et al., *ACE gene polymorphism and IgA nephropathy: an ethnically homogeneous study and a meta-analysis*. *Kidney Int*, 2001. **60**(2): p. 732-40.
96. Zhu, M.M., J. Weedon, and L.T. Clark, *Meta-analysis of the association of platelet glycoprotein IIIa PlA1/A2 polymorphism with myocardial infarction*. *Am J Cardiol*, 2000. **86**(9): p. 1000-5, A8.
97. Ioannidis, J.P., et al., *Effects of CCR5-Delta32, CCR2-64I, and SDF-1 3'A alleles on HIV-1 disease progression: An international meta-analysis of individual-patient data*. *Ann Intern Med*, 2001. **135**(9): p. 782-95.
98. Kurokawa, N., et al., *Association of BMI with the beta3-adrenergic receptor gene polymorphism in Japanese: meta-analysis*. *Obes Res*, 2001. **9**(12): p. 741-5.
99. Zintzaras, E., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene and susceptibility to breast cancer: a meta-analysis*. *Clin Genet*, 2006. **69**(4): p. 327-36.
100. Zintzaras, E. and G.M. Hadjigeorgiou, *The role of G196A polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene in the cause of Parkinson's disease: a meta-analysis*. *J Hum Genet*, 2005. **50**(11): p. 560-6.
101. Zintzaras, E., P. Rodopoulou, and G.N. Koukoulis, *BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis*. *Dis Markers*, 2006. **22**(5-6): p. 317-26.
102. Zintzaras, E. and I. Stefanidis, *Association between the GLUT1 gene polymorphism and the risk of diabetic nephropathy: a meta-analysis*. *J Hum Genet*, 2005. **50**(2): p. 84-91.
103. Botto, L.D. and Q. Yang, *5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review*. *Am J Epidemiol*, 2000. **151**(9): p. 862-77.
104. Jee, S.H., et al., *The methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with increased cardiovascular risk in Japan, but not in other populations*. *Atherosclerosis*, 2000. **153**(1): p. 161-8.
105. Marchetti, M., A. Pistorio, and G. Barosi, *Extended anticoagulation for prevention of recurrent venous thromboembolism in carriers of factor V Leiden--cost-effectiveness analysis*. *Thromb Haemost*, 2000. **84**(5): p. 752-7.

106. Alhenc-Gelas, M., et al., *The FXIII Val 34 Leu mutation and the risk of venous thrombosis*. *Thromb Haemost*, 2000. **84**(6): p. 1117-8.
107. Zusterzeel, P.L., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in preeclampsia and the HELLP syndrome*. *Hypertens Pregnancy*, 2000. **19**(3): p. 299-307.
108. Kluijtmans, L.A. and A.S. Whitehead, *Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and predisposition to atherothrombotic disease; evidence that all three MTHFR C677T genotypes confer different levels of risk*. *Eur Heart J*, 2001. **22**(4): p. 294-9.
109. Rasmussen, H.B., M.A. Kelly, and J. Clausen, *Additive effect of the HLA-DR15 haplotype on susceptibility to multiple sclerosis*. *Mult Scler*, 2001. **7**(2): p. 91-3.
110. Di Castelnuovo, A., et al., *Platelet glycoprotein receptor IIIa polymorphism PLA1/PLA2 and coronary risk: a meta-analysis*. *Thromb Haemost*, 2001. **85**(4): p. 626-33.
111. Carter, M.J., et al., *Association of the interleukin 1 receptor antagonist gene with ulcerative colitis in Northern European Caucasians*. *Gut*, 2001. **48**(4): p. 461-7.
112. Golbe, L.I., et al., *The tau A0 allele in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2001. **16**(3): p. 442-7.
113. Wu, A.H. and G.J. Tsongalis, *Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases*. *Am J Cardiol*, 2001. **87**(12): p. 1361-6.
114. Faraone, S.V., et al., *Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D(4) receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder*. *Am J Psychiatry*, 2001. **158**(7): p. 1052-7.
115. Houlston, R.S. and I.P. Tomlinson, *Polymorphisms and colorectal tumor risk*. *Gastroenterology*, 2001. **121**(2): p. 282-301.
116. Efstathiadou, Z., A. Tsatsoulis, and J.P. Ioannidis, *Association of collagen Ialpha 1 Sp1 polymorphism with the risk of prevalent fractures: a meta-analysis*. *J Bone Miner Res*, 2001. **16**(9): p. 1586-92.
117. Neamat-Allah, M., et al., *Analysis of the association between diabetic nephropathy and polymorphisms in the aldose reductase gene in Type 1 and Type 2 diabetes mellitus*. *Diabet Med*, 2001. **18**(11): p. 906-14.
118. Boekholdt, S.M., et al., *Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review*. *Circulation*, 2001. **104**(25): p. 3063-8.
119. Garred, P., et al., *Association of mannose-binding lectin gene variation with disease severity and infections in a population-based cohort of systemic lupus erythematosus patients*. *Genes Immun*, 2001. **2**(8): p. 442-50.
120. Zintzaras, E., et al., *The relationship between C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and retinopathy in type 2 diabetes: a meta-analysis*. *J Hum Genet*, 2005. **50**(6): p. 267-75.
121. Zintzaras E, Koufakis T, et al., *A meta-analysis of genotypes and haplotypes of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in acute lymphoblastic leukemia*. *Eur J Epidemiol*, 2006. **21**(7): p. 501-10.
122. Zintzaras, E., et al., *Do alcohol-metabolizing enzyme gene polymorphisms increase the risk of alcoholism and alcoholic liver disease?* *Hepatology*, 2006. **43**(2): p. 352-61.
123. Zintzaras, E., *Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms with genetic susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis*. *J Hum Genet*, 2006. **51**(7): p. 618-24.

124. Zintzaras, E., G. Kitsios, and I. Stefanidis, *Endothelial NO synthase gene polymorphisms and hypertension: a meta-analysis*. Hypertension, 2006. **48**(4): p. 700-10.
125. Zintzaras, E., *C677T and A1298C methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in schizophrenia, bipolar disorder and depression: a meta-analysis of genetic association studies*. Psychiatr Genet, 2006. **16**(3): p. 105-15.
126. Frosst, P., et al., *A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase*. Nat Genet, 1995. **10**(1): p. 111-3.
127. van der Put, N.M., et al., *A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?* Am J Hum Genet, 1998. **62**(5): p. 1044-51.
128. Jacques, P.F., et al., *Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations*. Circulation, 1996. **93**(1): p. 7-9.
129. Rozen, R., *Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)*. Thromb Haemost, 1997. **78**(1): p. 523-6.
130. Brustolin, S., R. Giugliani, and T.M. Felix, *Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders*. Braz J Med Biol Res. **43**(1): p. 1-7.
131. Metz, J., et al., *The significance of subnormal serum vitamin B12 concentration in older people: a case control study*. J Am Geriatr Soc, 1996. **44**(11): p. 1355-61.
132. Nurk, E., et al., *Plasma total homocysteine is influenced by prandial status in humans: the Hordaland Homocysteine Study*. J Nutr, 2001. **131**(4): p. 1214-6.
133. Weiss, N., et al., *Endothelial dysfunction and atherothrombosis in mild hyperhomocysteinemia*. Vasc Med, 2002. **7**(3): p. 227-39.
134. Herbert, V., *Making sense of laboratory tests of folate status: folate requirements to sustain normality*. Am J Hematol, 1987. **26**(2): p. 199-207.
135. Glynn, S.A. and D. Albanes, *Folate and cancer: a review of the literature*. Nutr Cancer, 1994. **22**(2): p. 101-19.
136. Mason, J.B. and T. Levesque, *Folate: effects on carcinogenesis and the potential for cancer chemoprevention*. Oncology (Williston Park), 1996. **10**(11): p. 1727-36, 1742-3; discussion 1743-4.
137. Lashner, B.A., et al., *Effect of folate supplementation on the incidence of dysplasia and cancer in chronic ulcerative colitis. A case-control study*. Gastroenterology, 1989. **97**(2): p. 255-9.
138. Giovannucci, E., *Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review*. J Nutr, 2002. **132**(8 Suppl): p. 2350S-2355S.
139. Kim, Y.I., *Folate and carcinogenesis: evidence, mechanisms, and implications*. J Nutr Biochem, 1999. **10**(2): p. 66-88.
140. Zingg, J.M. and P.A. Jones, *Genetic and epigenetic aspects of DNA methylation on genome expression, evolution, mutation and carcinogenesis*. Carcinogenesis, 1997. **18**(5): p. 869-82.
141. Laird, P.W. and R. Jaenisch, *The role of DNA methylation in cancer genetic and epigenetics*. Annu Rev Genet, 1996. **30**: p. 441-64.
142. Lewis, J. and A. Bird, *DNA methylation and chromatin structure*. FEBS Lett, 1991. **285**(2): p. 155-9.
143. Baylin, S.B., et al., *Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia*. Adv Cancer Res, 1998. **72**: p. 141-96.
144. Hubner, R.A. and R.S. Houlston, *MTHFR C677T and colorectal cancer risk: A meta-analysis of 25 populations*. Int J Cancer, 2007. **120**(5): p. 1027-35.

145. Kim, D.H., *The interactive effect of methyl-group diet and polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase on the risk of colorectal cancer*. *Mutat Res*, 2007. **622**(1-2): p. 14-8.
146. Battistelli, S., et al., *Total plasma homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with colorectal carcinoma*. *World J Gastroenterol*, 2006. **12**(38): p. 6128-32.
147. Cao, H.X., et al., *Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and susceptibility to colorectal cancer*. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2008. **9**(2): p. 203-8.
148. Chang, S.C., et al., *Role of MTHFR polymorphisms and folate levels in different phenotypes of sporadic colorectal cancers*. *Int J Colorectal Dis*, 2007. **22**(5): p. 483-9.
149. Curtin, K., et al., *MTHFR C677T and A1298C polymorphisms: diet, estrogen, and risk of colon cancer*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004. **13**(2): p. 285-92.
150. Eklof, V., et al., *The reduced folate carrier (RFC1) 80G>A and folate hydrolase 1 (FOLH1) 1561C>T polymorphisms and the risk of colorectal cancer: a nested case-referent study*. *Scand J Clin Lab Invest*, 2007: p. 1-9.
151. El Awady, M.K., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and the risk of colorectal carcinoma in a sample of Egyptian individuals*. *Cancer Biomark*, 2009. **5**(6): p. 233-40.
152. Fernandez-Peralta, A.M., et al., *Association of polymorphisms MTHFR C677T and A1298C with risk of colorectal cancer, genetic and epigenetic characteristic of tumors, and response to chemotherapy*. *Int J Colorectal Dis*. **25**(2): p. 141-51.
153. Hubner, R.A., et al., *MTHFR C677T has differential influence on risk of MSI and MSS colorectal cancer*. *Hum Mol Genet*, 2007. **16**(9): p. 1072-7.
154. Iacopetta, B., et al., *The MTHFR C677T and DeltaDNMT3B C-149T polymorphisms confer different risks for right- and left-sided colorectal cancer*. *Int J Cancer*, 2009. **125**(1): p. 84-90.
155. Jiang, Q., et al., *Diets, polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase, and the susceptibility of colon cancer and rectal cancer*. *Cancer Detect Prev*, 2005. **29**(2): p. 146-54.
156. Keku, T., et al., *5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase codon 677 and 1298 polymorphisms and colon cancer in African Americans and whites*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002. **11**(12): p. 1611-21.
157. Kim, D.H., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, alcohol intake, and risks of colon and rectal cancers in Korea*. *Cancer Lett*, 2004. **216**(2): p. 199-205.
158. Koushik, A., et al., *Nonsynonymous polymorphisms in genes in the one-carbon metabolism pathway and associations with colorectal cancer*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006. **15**(12): p. 2408-17.
159. Kury, S., et al., *Low-penetrance alleles predisposing to sporadic colorectal cancers: a French case-controlled genetic association study*. *BMC Cancer*, 2008. **8**: p. 326.
160. Landi, S., et al., *A comprehensive analysis of phase I and phase II metabolism gene polymorphisms and risk of colorectal cancer*. *Pharmacogenet Genomics*, 2005. **15**(8): p. 535-46.
161. Le Marchand, L., et al., *The MTHFR C677T polymorphism and colorectal cancer: the multiethnic cohort study*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005. **14**(5): p. 1198-203.
162. Lima, C.S., et al., *Polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) and the age of onset of sporadic colorectal adenocarcinoma*. *Int J Colorectal Dis*, 2007. **22**(7): p. 757-63.
163. Derwinger, K., et al., *A study of the MTHFR gene polymorphism C677T in colorectal cancer*. *Clin Colorectal Cancer*, 2009. **8**(1): p. 43-8.

164. Haghghi, M.M., et al., *Association between MTHFR polymorphism (C677T) with nonfamilial colorectal cancer*. *Oncol Res*, 2009. **18**(2-3): p. 57-63.
165. Matsuo, K., et al., *One-carbon metabolism related gene polymorphisms interact with alcohol drinking to influence the risk of colorectal cancer in Japan*. *Carcinogenesis*, 2005. **26**(12): p. 2164-71.
166. Mokarram, P., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T genotype affects promoter methylation of tumor-specific genes in sporadic colorectal cancer through an interaction with folate/vitamin B12 status*. *World J Gastroenterol*, 2008. **14**(23): p. 3662-71.
167. Otani, T., et al., *Folate, vitamin B6, vitamin B12, and vitamin B2 intake, genetic polymorphisms of related enzymes, and risk of colorectal cancer in a hospital-based case-control study in Japan*. *Nutr Cancer*, 2005. **53**(1): p. 42-50.
168. Plaschke, J., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and risk of sporadic and hereditary colorectal cancer with or without microsatellite instability*. *Cancer Lett*, 2003. **191**(2): p. 179-85.
169. Pufulete, M., et al., *Folate status, genomic DNA hypomethylation, and risk of colorectal adenoma and cancer: a case control study*. *Gastroenterology*, 2003. **124**(5): p. 1240-8.
170. Sachse, C., et al., *A pharmacogenetic study to investigate the role of dietary carcinogens in the etiology of colorectal cancer*. *Carcinogenesis*, 2002. **23**(11): p. 1839-49.
171. Sharp, L., et al., *Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, intakes of folate and related B vitamins and colorectal cancer: a case-control study in a population with relatively low folate intake*. *Br J Nutr*, 2008. **99**(2): p. 379-89.
172. Theodoratou, E., et al., *Dietary vitamin B6 intake and the risk of colorectal cancer*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008. **17**(1): p. 171-82.
173. Toffoli, G., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-->T polymorphism and risk of proximal colon cancer in north Italy*. *Clin Cancer Res*, 2003. **9**(2): p. 743-8.
174. Ulvik, A., et al., *Colorectal cancer and the methylenetetrahydrofolate reductase 677C -> T and methionine synthase 2756A -> G polymorphisms: a study of 2,168 case-control pairs from the JANUS cohort*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004. **13**(12): p. 2175-80.
175. Wang, J., et al., *Associations between 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase codon 677 and 1298 genetic polymorphisms and environmental factors with reference to susceptibility to colorectal cancer: a case-control study in an Indian population*. *Int J Cancer*, 2006. **118**(4): p. 991-7.
176. Yin, G., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and colorectal cancer: the Fukuoka Colorectal Cancer Study*. *Cancer Sci*, 2004. **95**(11): p. 908-13.
177. Zeybek, U., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with gastric and colorectal cancer*. *Cell Biochem Funct*, 2007. **25**(4): p. 419-22.
178. de Vogel, S., et al., *Genetic variants of methyl metabolizing enzymes and epigenetic regulators: associations with promoter CpG island hypermethylation in colorectal cancer*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2009. **18**(11): p. 3086-96.
179. Gallegos-Arreola, M.P., et al., *Association of the 677C -->T polymorphism in the MTHFR gene with colorectal cancer in Mexican patients*. *Cancer Genomics Proteomics*, 2009. **6**(3): p. 183-8.

180. Syngal, S., et al., *Phenotypic characteristics associated with the APC gene I1307K mutation in Ashkenazi Jewish patients with colorectal polyps*. JAMA, 2000. **284**(7): p. 857-60.
181. Gryfe, R., et al., *Inherited colorectal polyposis and cancer risk of the APC I1307K polymorphism*. Am J Hum Genet, 1999. **64**(2): p. 378-84.
182. Bougatef, K., et al., *No evidence of the APC D1822V missense variant's pathogenicity in Tunisian patients with sporadic colorectal cancer*. Pathol Biol (Paris), 2009. **57**(3): p. e67-71.
183. Dundar, M., et al., *How the I1307K adenomatous polyposis coli gene variant contributes in the assessment of risk of colorectal cancer, but not stomach cancer, in a Turkish population*. Cancer Genet Cytogenet, 2007. **177**(2): p. 95-7.
184. Fidder, H.H., et al., *Genetic analyses in consecutive israeli jewish colorectal cancer patients*. Am J Gastroenterol, 2005. **100**(6): p. 1376-80.
185. Niell, B.L., et al., *Genetic anthropology of the colorectal cancer-susceptibility allele APC I1307K: evidence of genetic drift within the Ashkenazim*. Am J Hum Genet, 2003. **73**(6): p. 1250-60.
186. Strul, H., et al., *The I1307K adenomatous polyposis coli gene variant does not contribute in the assessment of the risk for colorectal cancer in Ashkenazi Jews*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2003. **12**(10): p. 1012-5.
187. Zauber, N.P., et al., *Clinical and genetic findings in an Ashkenazi Jewish population with colorectal neoplasms*. Cancer, 2005. **104**(4): p. 719-29.
188. Vega, A., et al., *Minisatellite variant repeat (MVR) analysis of the HRAS1 minisatellite locus*. Electrophoresis, 1998. **19**(18): p. 3084-9.
189. Firgaira, F.A., et al., *HRAS1 rare minisatellite alleles and breast cancer in Australian women under age forty years*. J Natl Cancer Inst, 1999. **91**(24): p. 2107-11.
190. Pierotti, M.A., A. Micheli, and S.B. Sutcliffe, *The 3rd International Cancer Control Congress: international collaboration in an era of cancer as a global concern*. Tumori, 2009. **95**(5): p. 565-7.
191. La Vecchia, C., et al., *Selected micronutrient intake and the risk of gastric cancer*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1994. **3**(5): p. 393-8.
192. Boccia, S., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and susceptibility to gastric adenocarcinoma in an Italian population*. Biomarkers, 2007. **12**(6): p. 635-44.
193. Gotze, T., et al., *Gene polymorphisms of folate metabolizing enzymes and the risk of gastric cancer*. Cancer Lett, 2007. **251**(2): p. 228-36.
194. Galvan-Portillo, M.V., et al., *Gastric cancer in relation to the intake of nutrients involved in one-carbon metabolism among MTHFR 677 TT carriers*. Eur J Nutr, 2009. **48**(5): p. 269-76.
195. Vollset, S.E., et al., *The association of gastric cancer risk with plasma folate, cobalamin, and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2007. **16**(11): p. 2416-24.
196. Binder, V., *Genetic epidemiology in inflammatory bowel disease*. Dig Dis, 1998. **16**(6): p. 351-5.
197. Arend, W.P., *Interleukin 1 receptor antagonist. A new member of the interleukin 1 family*. J Clin Invest, 1991. **88**(5): p. 1445-51.
198. Tarlow, J.K., et al., *Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat*. Hum Genet, 1993. **91**(4): p. 403-4.

199. Arend, W.P. and C.J. Guthridge, *Biological role of interleukin 1 receptor antagonist isoforms*. Ann Rheum Dis, 2000. **59 Suppl 1**: p. i60-4.
200. Vijgen, L., et al., *Interleukin-1 receptor antagonist VNTR-polymorphism in inflammatory bowel disease*. Genes Immun, 2002. **3**(7): p. 400-6.
201. Nohara, H., et al., *Association between the interleukin-1 receptor antagonist polymorphism and ulcerative colitis with younger age at diagnosis*. Immunol Lett, 2003. **90**(1): p. 53-7.
202. Carter, M.J., et al., *Functional correlates of the interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in the colonic mucosa in ulcerative colitis*. Genes Immun, 2004. **5**(1): p. 8-15.
203. Mittal, R.D., H.K. Bid, and U.C. Ghoshal, *IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism in patients with inflammatory bowel disease in India*. Scand J Gastroenterol, 2005. **40**(7): p. 827-31.
204. Celik, Y., et al., *Cytokine gene polymorphisms in Turkish patients with inflammatory bowel disease*. Scand J Gastroenterol, 2006. **41**(5): p. 559-65.
205. Queiroz, D.M., et al., *Immune response and gene polymorphism profiles in Crohn's disease and ulcerative colitis*. Inflamm Bowel Dis, 2009. **15**(3): p. 353-8.
206. Rosenquist, T.H., S.A. Ratashak, and J. Selhub, *Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(26): p. 15227-32.
207. Pietrzyk, J.J., et al., *Polymorphisms of the 5,10-methylenetetrahydrofolate and the methionine synthase reductase genes as independent risk factors for spina bifida*. J Appl Genet, 2003. **44**(1): p. 111-3.
208. Perez, A.B., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): incidence of mutations C677T and A1298C in Brazilian population and its correlation with plasma homocysteine levels in spina bifida*. Am J Med Genet A, 2003. **119A**(1): p. 20-5.
209. Sadewa, A.H., et al., *C677T mutation in the MTHFR gene was not found in patients with frontoethmoidal encephalocele in East Java, Indonesia*. Pediatr Int, 2004. **46**(4): p. 409-14.
210. Rendeli, C., et al., *Homocysteine, folate, lipid profile and MTHFR genotype and disability in children with myelomeningocele*. Childs Nerv Syst, 2006. **22**(10): p. 1316-21.
211. Arbour, L., et al., *Spina bifida, folate metabolism, and dietary folate intake in a Northern Canadian aboriginal population*. Int J Circumpolar Health, 2002. **61**(4): p. 341-51.
212. Dalal, A., et al., *MTHFR 677C-->T and 1298A-->C polymorphisms: evaluation of maternal genotypic risk and association with level of neural tube defect*. Gynecol Obstet Invest, 2007. **63**(3): p. 146-50.
213. Brenner, B. and A. Aharon, *Thrombophilia and adverse pregnancy outcome*. Clin Perinatol, 2007. **34**(4): p. 527-41, v.
214. Roberts, J.M. and C.W. Redman, *Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension*. Lancet, 1993. **341**(8858): p. 1447-51.
215. Wouters, M.G., et al., *Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss*. Fertil Steril, 1993. **60**(5): p. 820-5.
216. Morrison, E.R., et al., *Prothrombotic genotypes are not associated with pre-eclampsia and gestational hypertension: results from a large population-based study and systematic review*. Thromb Haemost, 2002. **87**(5): p. 779-85.
217. Watanabe, H., et al., *Evidence for an association of the R485K polymorphism in the coagulation factor V gene with severe preeclampsia from screening 35 polymorphisms in 27 candidate genes*. Thromb Haemost, 2001. **86**(6): p. 1594-5.

218. Prasmusinto, D., et al., *The methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-->T polymorphism and preeclampsia in two populations*. *Obstet Gynecol*, 2002. **99**(6): p. 1085-92.
219. Prasmusinto, D., et al., *Ethnic differences in the association of factor V Leiden mutation and the C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism with preeclampsia*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2004. **112**(2): p. 162-9.
220. Pegoraro, R.J., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in black South Africans and the association with preeclampsia*. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2004. **83**(5): p. 449-54.
221. Perez-Mutul, J., et al., *A mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene is not associated with preeclampsia in women of southeast Mexico*. *Arch Med Res*, 2004. **35**(3): p. 231-4.
222. Williams, M.A., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-->T polymorphism and plasma folate in relation to pre-eclampsia risk among Peruvian women*. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2004. **15**(5): p. 337-44.
223. De Maat, M.P., et al., *Preeclampsia and its interaction with common variants in thrombophilia genes*. *J Thromb Haemost*, 2004. **2**(9): p. 1588-93.
224. Yilmaz, H., et al., *Association of pre-eclampsia with hyperhomocysteinaemia and methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism in a Turkish population*. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2004. **44**(5): p. 423-7.
225. Also-Rallo, E., et al., *Polymorphisms of genes involved in homocysteine metabolism in preeclampsia and in uncomplicated pregnancies*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2005. **120**(1): p. 45-52.
226. Davalos, I.P., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and Factor V Leiden variant in Mexican women with preeclampsia/eclampsia*. *Blood Cells Mol Dis*, 2005. **35**(1): p. 66-9.
227. Jaaskelainen, E., et al., *MTHFR C677T polymorphism is not associated with placental abruption or preeclampsia in Finnish women*. *Hypertens Pregnancy*, 2006. **25**(2): p. 73-80.
228. Demir, S.C., et al., *The relationship between pregnancy induced hypertension and congenital thrombophilia*. *Saudi Med J*, 2006. **27**(8): p. 1161-6.
229. Dalmaz, C.A., et al., *Relationship between polymorphisms in thrombophilic genes and preeclampsia in a Brazilian population*. *Blood Cells Mol Dis*, 2006. **37**(2): p. 107-10.
230. Dusse, L.M., et al., *Inherited thrombophilias and pre-eclampsia in Brazilian women*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2007. **134**(1): p. 20-3.
231. Stonek, F., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and pregnancy complications*. *Obstet Gynecol*, 2007. **110**(2 Pt 1): p. 363-8.
232. Canto, P., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and glutathione S-transferase P1 A313G are associated with a reduced risk of preeclampsia in Maya-Mestizo women*. *Hypertens Res*, 2008. **31**(5): p. 1015-9.
233. Stanley-Christian, H., et al., *Fetal genotype for specific inherited thrombophilias is not associated with severe preeclampsia*. *J Soc Gynecol Investig*, 2005. **12**(3): p. 198-201.
234. Ford, E.S., et al., *Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies*. *Int J Epidemiol*, 2002. **31**(1): p. 59-70.
235. Brattstrom, L. and D.E. Wilcken, *Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect?* *Am J Clin Nutr*, 2000. **72**(2): p. 315-23.
236. Wald, D.S., M. Law, and J.K. Morris, *Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis*. *BMJ*, 2002. **325**(7374): p. 1202.

237. Abu-Amero, K.K., C.A. Wyngaard, and N. Dzimiri, *Prevalence and role of methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-->T and 1298 A-->C polymorphisms in coronary artery disease in Arabs*. Arch Pathol Lab Med, 2003. **127**(10): p. 1349-52.
238. Agirbasli, D., et al., *Interaction among 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase, plasminogen activator inhibitor and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms predicts the severity of coronary artery disease in Turkish patients*. Coron Artery Dis, 2006. **17**(5): p. 413-7.
239. Var, A., et al., *Impact of hemostatic gene single point mutations in patients with non-diabetic coronary artery disease*. Mol Biol Rep, 2009. **36**(8): p. 2235-43.
240. Alam, M.A., et al., *Association of polymorphism in the thermolabile 5, 10-methylene tetrahydrofolate reductase gene and hyperhomocysteinemia with coronary artery disease*. Mol Cell Biochem, 2008. **310**(1-2): p. 111-7.
241. Almawi, W.Y., et al., *Factor V G1691A, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase [MTHFR] C677T gene polymorphism in angiographically documented coronary artery disease*. J Thromb Thrombolysis, 2004. **17**(3): p. 199-205.
242. Aydin, M., et al., *Association of genetic variants in Methylenetetrahydrofolate Reductase and Paraoxonase-1 genes with homocysteine, folate and vitamin B12 in coronary artery disease*. Mol Cell Biochem, 2009. **325**(1-2): p. 199-208.
243. Bennouar, N., et al., *Thermolabile Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Polymorphism and Homocysteine Are Risk Factors for Coronary Artery Disease in Moroccan Population*. J Biomed Biotechnol, 2007. **2007**(1): p. 80687.
244. Botto, N., et al., *Genetic polymorphisms in folate and homocysteine metabolism as risk factors for DNA damage*. Eur J Hum Genet, 2003. **11**(9): p. 671-8.
245. Falchi, A., et al., *Prevalence of genetic risk factors for coronary artery disease in Corsica island (France)*. Exp Mol Pathol, 2005. **79**(3): p. 210-3.
246. Freitas, A.I., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine and coronary artery disease: the A1298C polymorphism does matter. Inferences from a case study (Madeira, Portugal)*. Thromb Res, 2008. **122**(5): p. 648-56.
247. Friso, S., et al., *A1298C methylenetetrahydrofolate reductase mutation and coronary artery disease: relationships with C677T polymorphism and homocysteine/folate metabolism*. Clin Exp Med, 2002. **2**(1): p. 7-12.
248. Ghazouani, L., et al., *Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms in Tunisian patients with severe coronary artery disease*. J Thromb Thrombolysis, 2009. **27**(2): p. 191-7.
249. Girelli, D., et al., *The interaction between MTHFR 677 C-->T genotype and folate status is a determinant of coronary atherosclerosis risk*. J Nutr, 2003. **133**(5): p. 1281-5.
250. Guerzoni, A.R., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and its association with coronary artery disease*. Sao Paulo Med J, 2007. **125**(1): p. 4-8.
251. Ho, C.H., et al., *Influence of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism, B vitamins and other factors on plasma homocysteine and risk of thromboembolic disease in Chinese*. J Chin Med Assoc, 2005. **68**(12): p. 560-5.
252. Ilhan, N., et al., *The 677 C/T MTHFR polymorphism is associated with essential hypertension, coronary artery disease, and higher homocysteine levels*. Arch Med Res, 2008. **39**(1): p. 125-30.
253. Jones, G.T., et al., *The methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism does not associate with susceptibility to abdominal aortic aneurysm*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2005. **30**(2): p. 137-42.

254. Kalina, A. and A.E. Czeizel, *The methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism (C677T) is associated with increased cardiovascular mortality in Hungary*. Int J Cardiol, 2004. **97**(2): p. 333-4.
255. Kolling, K., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms, plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels and the extent of coronary artery disease*. Am J Cardiol, 2004. **93**(10): p. 1201-6.
256. Kumar, Y., et al., *High prevalence of hyperhomocysteinemia in young population of North India - a potential risk factor for coronary artery disease?* Thromb Res, 2009. **123**(5): p. 800-2.
257. Lima, L.M., et al., *Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase in subjects undergoing coronary angiography*. Arq Bras Cardiol, 2007. **88**(2): p. 167-72.
258. Mukherjee, M., et al., *A low prevalence of the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Asian Indians*. Clin Genet, 2002. **61**(2): p. 155-9.
259. Rahimi, Z., et al., *Factor V G1691A, prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T are not associated with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus in western Iran*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2009. **20**(4): p. 252-6.
260. Ranjith, N., R.J. Pegoraro, and L. Rom, *Risk factors and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in a young South African Indian-based population with acute myocardial infarction*. Cardiovasc J S Afr, 2003. **14**(3): p. 127-32.
261. Rios, D.L., et al., *Sex-specific effect of the thermolabile C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene on angiographically assessed coronary artery disease in Brazilians*. Hum Biol, 2007. **79**(4): p. 453-61.
262. Sarecka-Hujar, B., I. Zak, and J. Krauze, *Carrier-state of two or three polymorphic variants of MTHFR, IL-6 and ICAM1 genes increases the risk of coronary artery disease*. Kardiol Pol, 2008. **66**(12): p. 1269-77.
263. Strauss, E., J. Gluszek, and A.L. Pawlak, *Age and hypertension related changes in genotypes of MTHFR 677C>T, 1298A>C and PON1 -108C>T SNPs in men with coronary artery disease (CAD)*. J Physiol Pharmacol, 2005. **56 Suppl 2**: p. 65-75.
264. Taymaz, H., et al., *Sequence variations within the genes related to hemostatic imbalance and their impact on coronary artery disease in Turkish population*. Thromb Res, 2007. **119**(1): p. 55-62.
265. Undas, A., et al., *Folic acid administration and antibodies against homocysteinylated proteins in subjects with hyperhomocysteinemia*. Thromb Haemost, 2006. **96**(3): p. 342-7.
266. Vinukonda, G., et al., *Genetic and environmental influences on total plasma homocysteine and coronary artery disease (CAD) risk among South Indians*. Clin Chim Acta, 2009. **405**(1-2): p. 127-31.
267. Yilmaz, H., et al., *C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and serum homocysteine levels in Turkish patients with coronary artery disease*. Cell Biochem Funct, 2006. **24**(1): p. 87-90.
268. Zak, I., et al., *Carrier-state of D allele in ACE gene insertion/deletion polymorphism is associated with coronary artery disease, in contrast to the C677-->T transition in the MTHFR gene*. Acta Biochim Pol, 2003. **50**(2): p. 527-34.
269. Kerkeni, M., et al., *Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and risk of coronary artery disease*. Ann Clin Biochem, 2006. **43**(Pt 3): p. 200-6.

270. Kadziela, J., et al., *The C677T mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene, plasma homocysteine concentration and the risk of coronary artery disease*. *Kardiol Pol*, 2003. **59**(7): p. 17-26; discussion 26.
271. Dalal, A.B., et al., *Association of coronary artery disease with polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and methylenetetrahydrofolate reductase gene*. *Indian Heart J*, 2006. **58**(4): p. 330-5.
272. Zuntar, I., et al., *Croatian population data for the C677T polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase: frequencies in healthy and atherosclerotic study groups*. *Clin Chim Acta*, 2003. **335**(1-2): p. 95-100.
273. Sun, J., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism associated with susceptibility to coronary heart disease in Chinese type 2 diabetic patients*. *Mol Cell Endocrinol*, 2005. **229**(1-2): p. 95-101.
274. Lin, P.T., et al., *High plasma homocysteine is associated with the risk of coronary artery disease independent of methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T genotypes*. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2008. **17**(2): p. 330-8.
275. Rossi, G.P., et al., *Hyperhomocysteinemia predicts total and cardiovascular mortality in high-risk women*. *J Hypertens*, 2006. **24**(5): p. 851-9.
276. Rothenbacher, D., et al., *Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase genotype: association with risk of coronary heart disease and relation to inflammatory, hemostatic, and lipid parameters*. *Atherosclerosis*, 2002. **162**(1): p. 193-200.
277. Szperl, M., et al., *Genetic variants in hypertensive patients with coronary artery disease and coexisting atheromatous renal artery stenosis*. *Med Sci Monit*, 2008. **14**(12): p. CR611-6.
278. Nair, K.G., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation and hyperhomocysteinemia as a risk factor for coronary heart disease in the Indian population*. *J Assoc Physicians India*, 2002. **50 Suppl**: p. 9-15.
279. Angeline, T., et al., *Prevalence of MTHFR gene polymorphisms (C677T and A1298C) among Tamilians*. *Exp Mol Pathol*, 2004. **77**(2): p. 85-8.
280. Angeline, T., N. Jeyaraj, and G.J. Tsongalis, *MTHFR Gene polymorphisms, B-vitamins and hyperhomocysteinemia in young and middle-aged acute myocardial infarction patients*. *Exp Mol Pathol*, 2007. **82**(3): p. 227-33.
281. Celik, M., et al., *Thrombophilia in young patients with acute myocardial infarction*. *Saudi Med J*, 2008. **29**(1): p. 48-54.
282. El-Sammak, M., et al., *Elevated plasma homocysteine is positively associated with age independent of C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in selected Egyptian subjects*. *Int J Med Sci*, 2004. **1**(3): p. 181-192.
283. Helfenstein, T., et al., *Prevalence of myocardial infarction is related to hyperhomocysteinemia but not influenced by C677T methylenetetrahydrofolate reductase and A2756G methionine synthase polymorphisms in diabetic and non-diabetic subjects*. *Clin Chim Acta*, 2005. **355**(1-2): p. 165-72.
284. Iqbal, M.P., et al., *Lack of association of methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T mutation with coronary artery disease in a Pakistani population*. *J Mol Genet Med*, 2005. **1**(1): p. 26-32.
285. Khare, A., et al., *Combination of thrombophilia markers in acute myocardial infarction of the young*. *Indian J Med Sci*, 2004. **58**(9): p. 381-8.
286. Nakai, K., et al., *Highly multiplexed genotyping of coronary artery disease-associated SNPs using MALDI-TOF mass spectrometry*. *Hum Mutat*, 2002. **20**(2): p. 133-8.
287. Salazar-Sanchez, L., et al., *Common polymorphisms and cardiovascular factors in patients with myocardial infarction of Costa Rica*. *Rev Biol Trop*, 2006. **54**(1): p. 1-11.

288. Shioji, K., et al., *An association analysis between genetic polymorphisms of matrix metalloproteinase-3 and methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction in Japanese*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(3): p. 527-8.
289. Szabo, G.V., A. Kunstar, and G. Acsady, *Methylenetetrahydrofolate reductase and nitric oxide synthase polymorphism in patients with atherosclerosis and diabetes*. Pathol Oncol Res, 2009. **15**(4): p. 631-7.
290. Tanis, B.C., et al., *Folate, homocysteine levels, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C --> T variant, and the risk of myocardial infarction in young women: effect of female hormones on homocysteine levels*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(1): p. 35-41.
291. Yamada, Y., et al., *Assessment of genetic risk for myocardial infarction*. Thromb Haemost, 2006. **96**(2): p. 220-7.
292. Zhang, G. and C. Dai, *Gene polymorphisms of homocysteine metabolism-related enzymes in Chinese patients with occlusive coronary artery or cerebral vascular diseases*. Thromb Res, 2001. **104**(3): p. 187-95.
293. Martini, C.H., et al., *No effect of polymorphisms in prothrombotic genes on the risk of myocardial infarction in young adults without cardiovascular risk factors*. J Thromb Haemost, 2005. **3**(1): p. 177-9.
294. Lefkowitz, J., E.F. Plow, and E.J. Topol, *Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine*. N Engl J Med, 1995. **332**(23): p. 1553-9.
295. Weiss, E.J., et al., *A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis*. N Engl J Med, 1996. **334**(17): p. 1090-4.
296. Abboud, N., et al., *Polymorphisms of human platelet alloantigens HPA-1 and HPA-2 associated with severe coronary artery disease*. Cardiovasc Pathol, 2009.
297. Abu-Amero, K.K., C.A. Wyngaard, and N. Dzimiri, *Association of the platelet glycoprotein receptor IIIa (PLA1/PLA1) genotype with coronary artery disease in Arabs*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2004. **15**(1): p. 77-9.
298. Grove, E.L., et al., *The platelet polymorphism PLA2 is a genetic risk factor for myocardial infarction*. J Intern Med, 2004. **255**(6): p. 637-44.
299. *No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age*. Circulation, 2003. **107**(8): p. 1117-22.
300. Kozieradzka, A., et al., *The effect of glycoprotein IIIa A1/A2 gene polymorphism on one-year outcome in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention*. Kardiol Pol, 2006. **64**(12): p. 1350-5; discussion 1356.
301. Lagercrantz, J., et al., *No evidence that the PLA1/PLA2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa is implicated in angiographically characterized coronary atherosclerosis and premature myocardial infarction*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2003. **14**(8): p. 749-53.
302. Naran, N.H., N. Chetty, and N.J. Crowther, *The prevalence of the platelet glycoprotein IIIa Pl(A1/A2) polymorphism in three South African ethnic groups and its effect on platelet function*. Thromb Res, 2008. **123**(2): p. 316-23.
303. Pegoraro, R.J. and N. Ranjith, *Plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) and platelet glycoprotein IIIa (PGIIIa) polymorphisms in young Asian Indians with acute myocardial infarction*. Cardiovasc J S Afr, 2005. **16**(5): p. 266-70.
304. Smith, F.B., et al., *Relationship of the platelet glycoprotein PLA and fibrinogen T/G+1689 polymorphisms with peripheral arterial disease and ischaemic heart disease*. Thromb Res, 2003. **112**(4): p. 209-16.

305. Weber, A.A., et al., *Low incidence of paradoxical platelet activation by glycoprotein IIb/IIIa inhibitors*. Thromb Res, 2002. **106**(1): p. 25-9.
306. Zotz, R.B., et al., *Association of polymorphisms of platelet membrane integrins alpha IIb(beta)3 (HPA-1b/Pl) and alpha2(beta)1 (alpha807TT) with premature myocardial infarction*. J Thromb Haemost, 2005. **3**(7): p. 1522-9.
307. Rao, L.V. and S.I. Rapaport, *Activation of factor VII bound to tissue factor: a key early step in the tissue factor pathway of blood coagulation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85**(18): p. 6687-91.
308. Spronk, H.M., D. van der Voort, and H. Ten Cate, *Blood coagulation and the risk of atherothrombosis: a complex relationship*. Thromb J, 2004. **2**(1): p. 12.
309. Ogawa, M., et al., *R353Q polymorphism, activated factor VII, and risk of premature myocardial infarction in Japanese men*. Circ J, 2004. **68**(6): p. 520-5.
310. Ekstrom, M., et al., *Coagulation factor VII and inflammatory markers in patients with coronary heart disease*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2007. **18**(5): p. 473-7.
311. Geng, X., et al., *Polymorphisms in the genes for coagulation factor II, V, VII in patients undergoing coronary angiography*. J Zhejiang Univ Sci, 2003. **4**(3): p. 369-73.
312. Jeffery, S., et al., *A protective contribution of the Q allele of the R353Q polymorphism of the Factor VII gene in individuals with chronic stable angina?* Int J Cardiol, 2005. **100**(3): p. 395-9.
313. Kakko, S., et al., *Polymorphisms of genes affecting thrombosis and risk of myocardial infarction*. Eur J Clin Invest, 2002. **32**(9): p. 643-8.
314. McCarthy, J.J., et al., *Large scale association analysis for identification of genes underlying premature coronary heart disease: cumulative perspective from analysis of 111 candidate genes*. J Med Genet, 2004. **41**(5): p. 334-41.
315. Pegoraro, R.J., N. Ranjith, and L. Rom, *Coagulation gene polymorphisms as risk factors for myocardial infarction in young Indian Asians*. Cardiovasc J S Afr, 2005. **16**(3): p. 152-7.
316. Redman, C.M. and H. Xia, *Fibrinogen biosynthesis. Assembly, intracellular degradation, and association with lipid synthesis and secretion*. Ann N Y Acad Sci, 2001. **936**: p. 480-95.
317. Abrignani, M.G., et al., *Increased plasma levels of fibrinogen in acute and chronic ischemic coronary syndromes*. Cardiologia, 1999. **44**(12): p. 1047-52.
318. Maghzal, G.J., S.O. Brennan, and P.M. George, *Fibrinogen B beta polymorphisms do not directly contribute to an altered in vitro clot structure in humans*. Thromb Haemost, 2003. **90**(6): p. 1021-8.
319. Lu, X.F., et al., *Influence of fibrinogen beta-chain gene variations on risk of myocardial infarction in a Chinese Han population*. Chin Med J (Engl), 2008. **121**(16): p. 1549-53.
320. Mannila, M.N., et al., *Plasma fibrinogen concentration predicts the risk of myocardial infarction differently in various parts of Europe: effects of beta-fibrinogen genotype and environmental factors. The HIFMECH Study*. Thromb Haemost, 2004. **92**(6): p. 1240-9.
321. Rallidis, L.S., et al., *G-455A polymorphism of beta-fibrinogen gene and the risk of premature myocardial infarction in Greece*. Thromb Res. **125**(1): p. 34-7.
322. Sampaio, M.F., et al., *AMI is associated with polymorphisms in the NOS3 and FGB but not in PAI-1 genes in young adults*. Clin Chim Acta, 2007. **377**(1-2): p. 154-62.
323. Siegerink, B., F.R. Rosendaal, and A. Algra, *Genetic variation in fibrinogen; its relationship to fibrinogen levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke*. J Thromb Haemost, 2009. **7**(3): p. 385-90.

324. Hamsten, A., et al., *Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction*. Lancet, 1987. **2**(8549): p. 3-9.
325. Dawson, S.J., et al., *The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells*. J Biol Chem, 1993. **268**(15): p. 10739-45.
326. Ye, S., et al., *The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. Etude CasTemoins de l'infarctus du Myocarde*. Thromb Haemost, 1995. **74**(3): p. 837-41.
327. Crainich, P., et al., *Lack of association of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism with cardiovascular disease in the elderly*. J Thromb Haemost, 2003. **1**(8): p. 1799-804.
328. Isordia-Salas, I., et al., *Association of the plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism with ST elevation acute myocardial infarction in young patients*. Rev Esp Cardiol, 2009. **62**(4): p. 365-72.
329. Leander, K., et al., *PAI-1 level and the PAI-1 4G/5G polymorphism in relation to risk of non-fatal myocardial infarction: results from the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP)*. Thromb Haemost, 2003. **89**(6): p. 1064-71.
330. Onalan, O., et al., *Plasminogen activator inhibitor-1 4G4G genotype is associated with myocardial infarction but not with stable coronary artery disease*. J Thromb Thrombolysis, 2008. **26**(3): p. 211-7.
331. Rallidis, L.S., et al., *Reduced carriership of 4G allele of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism in very young survivors of myocardial infarction*. J Thromb Thrombolysis, 2009.
332. Yamada, Y., et al., *Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes*. N Engl J Med, 2002. **347**(24): p. 1916-23.
333. Juhan-Vague, I., et al., *The plasminogen activator inhibitor-1 -675 4G/5G genotype influences the risk of myocardial infarction associated with elevated plasma proinsulin and insulin concentrations in men from Europe: the HIFMECH study*. J Thromb Haemost, 2003. **1**(11): p. 2322-9.
334. Zhan, M., Y. Zhou, and Z. Han, *Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in patients with myocardial or cerebrovascular infarction in Tianjin, China*. Chin Med J (Engl), 2003. **116**(11): p. 1707-10.
335. Varga, E.A., *Genetics in the context of thrombophilia*. J Thromb Thrombolysis, 2008. **25**(1): p. 2-5.
336. Djordjevic, V., L. Rakicevic, and D. Radojkovic, *An overview of genetic risk factors in thrombophilia*. Srp Arh Celok Lek. **138 Suppl 1**: p. 79-81.
337. Segers, O. and E. Castoldi, *Factor V Leiden and activated protein C resistance*. Adv Clin Chem, 2009. **49**: p. 121-57.
338. Rees, D.C., M. Cox, and J.B. Clegg, *World distribution of factor V Leiden*. Lancet, 1995. **346**(8983): p. 1133-4.
339. Chaida, C., et al., *Prevalence of the FVQ506 mutation in the Hellenic population*. Thromb Haemost, 1996. **76**(1): p. 127.
340. Angeline, T., et al., *Prevalence of the Factor V G1691A and the Factor II/prothrombin G20210A gene polymorphisms among Tamilians*. Exp Mol Pathol, 2005. **79**(1): p. 9-13.
341. Butt, C., et al., *Combined carrier status of prothrombin 20210A and factor XIII-A Leu34 alleles as a strong risk factor for myocardial infarction: evidence of a gene-gene interaction*. Blood, 2003. **101**(8): p. 3037-41.
342. Hobikoglu, G.F., et al., *Factor V leiden is a risk factor for myocardial infarction in young Turkish men*. Acta Cardiol, 2004. **59**(6): p. 594-7.

343. Rallidis, L.S., et al., *Myocardial infarction under the age of 36: prevalence of thrombophilic disorders*. *Thromb Haemost*, 2003. **90**(2): p. 272-8.
344. Roldan, V., et al., *Five prothrombotic polymorphisms and the prevalence of premature myocardial infarction*. *Haematologica*, 2005. **90**(3): p. 421-3.
345. Settin, A., et al., *Frequency of factor V Leiden mutation in Egyptian cases with myocardial infarction*. *Hematology*, 2008. **13**(3): p. 170-4.
346. Tanis, B.C., et al., *Prothrombotic coagulation defects and cardiovascular risk factors in young women with acute myocardial infarction*. *Br J Haematol*, 2003. **122**(3): p. 471-8.
347. Yanqing, H., et al., *No association between thrombosis and factor V gene polymorphisms in Chinese Han population*. *Thromb Haemost*, 2003. **89**(3): p. 446-51.
348. Pestana, C.I., et al., *Factor V Leiden and the risk of venous thrombosis, myocardial infarction, and stroke: a case-control study in Venezuela*. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2009. **13**(4): p. 537-42.
349. Alluri, R.V., et al., *MTHFR C677T gene mutation as a risk factor for arterial stroke: a hospital based study*. *Eur J Neurol*, 2005. **12**(1): p. 40-4.
350. Cho, S.E., et al., *The methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene mutation is associated with hyperhomocysteinemia, cardiovascular disease and plasma B-type natriuretic peptide levels in Korea*. *Clin Chem Lab Med*, 2006. **44**(9): p. 1070-5.
351. Choi, B.O., et al., *Homozygous C677T mutation in the MTHFR gene as an independent risk factor for multiple small-artery occlusions*. *Thromb Res*, 2003. **111**(1-2): p. 39-44.
352. Goracy, I., et al., *C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk of ischemic stroke in Polish subjects*. *J Appl Genet*, 2009. **50**(1): p. 63-7.
353. He, J.A., et al., *Hyperhomocysteinaemia, Low Folate Concentrations and Methylene Tetrahydrofolate Reductase C677T Mutation in Acute Mesenteric Venous Thrombosis*. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2009.
354. Kawamoto, R., et al., *An association of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and ischemic stroke*. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2005. **14**(2): p. 67-74.
355. Li, Z., et al., *Elevated plasma homocysteine was associated with hemorrhagic and ischemic stroke, but methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism was a risk factor for thrombotic stroke: a Multicenter Case-Control Study in China*. *Stroke*, 2003. **34**(9): p. 2085-90.
356. Marcucci, R., et al., *Genetic determinants of fasting and post-methionine hyperhomocysteinemia in patients with retinal vein occlusion*. *Thromb Res*, 2003. **110**(1): p. 7-12.
357. Marcucci, R., et al., *Thrombophilic risk factors in patients with severe carotid atherosclerosis*. *J Thromb Haemost*, 2005. **3**(3): p. 502-7.
358. Moe, K.T., et al., *Association of acute ischemic stroke with the MTHFR C677T polymorphism but not with NOS3 gene polymorphisms in a Singapore population*. *Eur J Neurol*, 2008. **15**(12): p. 1309-14.
359. Sun, J.Z., et al., *Polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene association with homocysteine and ischemic stroke in type 2 diabetes*. *Neurol India*, 2009. **57**(5): p. 589-93.
360. Al-Allawi, N.A., A.S. Avo, and J.M. Jubrael, *Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in Iraqi patients with ischemic stroke*. *Neurol India*, 2009. **57**(5): p. 631-5.

361. Zak, I., et al., *The T allele of the 677C>T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an increased risk of ischemic stroke in Polish children.* J Child Neurol, 2009. **24**(10): p. 1262-7.
362. Fang, X., et al., *Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in patients with cerebral hemorrhage.* Neurol Res, 2005. **27**(1): p. 73-6.
363. Sandrim, V.C., et al., *Susceptible and protective eNOS haplotypes in hypertensive black and white subjects.* Atherosclerosis, 2006. **186**(2): p. 428-32.
364. Ignarro, L.J., et al., *Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(24): p. 9265-9.
365. Levy, A.S., et al., *Nitric oxide and coronary vascular endothelium adaptations in hypertension.* Vasc Health Risk Manag, 2009. **5**: p. 1075-87.
366. Cooke, G.E., A. Doshi, and P.F. Binkley, *Endothelial nitric oxide synthase gene: prospects for treatment of heart disease.* Pharmacogenomics, 2007. **8**(12): p. 1723-34.
367. Colomba, D., et al., *Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular damage in hypertensive subjects: an Italian case-control study.* Immun Ageing, 2008. **5**: p. 4.
368. Jemaa, R., et al., *Association of a 27-bp repeat polymorphism in intron 4 of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene with hypertension in a Tunisian population.* Clin Biochem, 2009. **42**(9): p. 852-6.
369. Nejatizadeh, A., et al., *Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes and circulating nitric oxide levels significantly associate with risk of essential hypertension.* Free Radic Biol Med, 2008. **44**(11): p. 1912-8.
370. Muszbek, L., V.C. Yee, and Z. Hevessy, *Blood coagulation factor XIII: structure and function.* Thromb Res, 1999. **94**(5): p. 271-305.
371. Balogh, I., et al., *Val34Leu polymorphism of plasma factor XIII: biochemistry and epidemiology in familial thrombophilia.* Blood, 2000. **96**(7): p. 2479-86.
372. Ariens, R.A., et al., *The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure.* Blood, 2000. **96**(3): p. 988-95.
373. Wells, P.S., et al., *Factor XIII Val34Leu variant is protective against venous thromboembolism: a HuGE review and meta-analysis.* Am J Epidemiol, 2006. **164**(2): p. 101-9.
374. Zidane, M., et al., *Frequency of the TAFI -438 G/A and factor XIII Val34Leu polymorphisms in patients with objectively proven pulmonary embolism.* Thromb Haemost, 2003. **90**(3): p. 439-45.
375. Cushman, M., et al., *Estrogen plus progestin and risk of venous thrombosis.* JAMA, 2004. **292**(13): p. 1573-80.
376. Wells, P.S., et al., *The factor XIII Val34Leu polymorphism: is it protective against idiopathic venous thromboembolism?* Blood Coagul Fibrinolysis, 2006. **17**(7): p. 533-8.
377. *ABO blood group but not haemostasis genetic polymorphisms significantly influence thrombotic risk: a study of 180 homozygotes for the Factor V Leiden mutation.* Br J Haematol, 2006. **135**(5): p. 697-702.
378. Salazar-Sanchez, L., et al., *The FXIII Val34Leu, common and risk factors of venous thrombosis in early middle-age Costa Rican patients.* Cell Biochem Funct, 2007. **25**(6): p. 739-45.
379. Cushman, M., et al., *Associations of the beta-fibrinogen Hae III and factor XIII Val34Leu gene variants with venous thrombosis.* Thromb Res, 2007. **121**(3): p. 339-45.
380. Hiltunen, L., et al., *An unfavorable combination of Factor V Leiden with age, weight, and blood group causes high risk of pregnancy-associated venous thrombosis: a population-based nested case-control study.* Thromb Res, 2007. **119**(4): p. 423-32.

381. Caprini, J.A., et al., *Thrombophilia testing in patients with venous thrombosis*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2005. **30**(5): p. 550-5.
382. Eichinger, S., et al., *Overweight, obesity, and the risk of recurrent venous thromboembolism*. Arch Intern Med, 2008. **168**(15): p. 1678-83.
383. Ivanov, P., et al., *Impact of thrombophilic genetic factors on pulmonary embolism: early onset and recurrent incidences*. Lung, 2008. **186**(1): p. 27-36.
384. Kearon, C., et al., *Comparison of 1 month with 3 months of anticoagulation for a first episode of venous thromboembolism associated with a transient risk factor*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(5): p. 743-9.
385. Palareti, G., et al., *Predictive value of D-dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia*. Circulation, 2003. **108**(3): p. 313-8.
386. Revel-Vilk, S., et al., *Prothrombotic conditions in an unselected cohort of children with venous thromboembolic disease*. J Thromb Haemost, 2003. **1**(5): p. 915-21.
387. Ruggeri, M., et al., *Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia*. Am J Hematol, 2002. **71**(1): p. 1-6.
388. Santamaria, M.G., et al., *Thrombophilic abnormalities and recurrence of venous thromboembolism in patients treated with standardized anticoagulant treatment*. Thromb Res, 2005. **116**(4): p. 301-6.
389. Tavil, B., et al., *Pulmonary thromboembolism in childhood: a single-center experience from Turkey*. Heart Lung, 2009. **38**(1): p. 56-65.
390. Monticciolo, O.A., et al., *The role of mannose-binding lectin in systemic lupus erythematosus*. Clin Rheumatol, 2008. **27**(4): p. 413-9.
391. Turner, M.W. and R.M. Hamvas, *Mannose-binding lectin: structure, function, genetics and disease associations*. Rev Immunogenet, 2000. **2**(3): p. 305-22.
392. Tsutsumi, A., R. Takahashi, and T. Sumida, *Mannose binding lectin: genetics and autoimmune disease*. Autoimmun Rev, 2005. **4**(6): p. 364-72.
393. Zandman-Goddard, G. and Y. Shoenfeld, *Infections and SLE*. Autoimmunity, 2005. **38**(7): p. 473-85.
394. Huang, Y.F., et al., *Increased frequency of the mannose-binding lectin LX haplotype in Chinese systemic lupus erythematosus patients*. Eur J Immunogenet, 2003. **30**(2): p. 121-4.
395. Momot, T., et al., *Lack of association of mannose binding lectin variant alleles with systemic lupus erythematosus*. Ann Rheum Dis, 2006. **65**(2): p. 278-9.
396. Takahashi, R., et al., *Association of mannose binding lectin (MBL) gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristics and progression of systemic lupus erythematosus*. Ann Rheum Dis, 2005. **64**(2): p. 311-4.
397. Tsai, Y.C., et al., *Lack of association of mannose-binding lectin gene polymorphisms with development and clinical manifestations of systemic lupus erythematosus in Chinese children*. Lupus, 2009. **18**(4): p. 372-6.
398. Monticciolo, O.A., et al., *Mannose-binding lectin gene polymorphisms in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus*. Lupus. **19**(3): p. 280-7.
399. Garcia-Laorden, M.I., et al., *Mannose binding lectin polymorphisms as a disease-modulating factor in women with systemic lupus erythematosus from Canary Islands, Spain*. J Rheumatol, 2003. **30**(4): p. 740-6.
400. Piao, W., et al., *Mannose-binding lectin is a disease-modifying factor in North American patients with systemic lupus erythematosus*. J Rheumatol, 2007. **34**(7): p. 1506-13.

401. Ulu, A., et al., *EPCR gene A3 haplotype and elevated soluble endothelial protein C receptor (sEPCR) levels in Turkish pediatric stroke patients*. *Thromb Res*, 2007. **120**(1): p. 47-52.
402. Duran, R., et al., *Factor V Leiden mutation and other thrombophilia markers in childhood ischemic stroke*. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2005. **11**(1): p. 83-8.
403. Zerbiniatti, C.V. and G. Bu, *LRP and Alzheimer's disease*. *Rev Neurosci*, 2005. **16**(2): p. 123-35.
404. Schellenberg, G.D., I. D'Souza, and P. Poorkaj, *The genetics of Alzheimer's disease*. *Curr Psychiatry Rep*, 2000. **2**(2): p. 158-64.
405. Waldron, E., S. Jaeger, and C.U. Pietrzik, *Functional role of the low-density lipoprotein receptor-related protein in Alzheimer's disease*. *Neurodegener Dis*, 2006. **3**(4-5): p. 233-8.
406. Bahia, V.S., et al., *Polymorphisms of APOE and LRP genes in Brazilian individuals with Alzheimer disease*. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2008. **22**(1): p. 61-5.
407. Bian, L., et al., *Association study of the A2M and LRP1 Genes with Alzheimer disease in the Han Chinese*. *Biol Psychiatry*, 2005. **58**(9): p. 731-7.
408. Helbecque, N., et al., *Islet-brain1/C-Jun N-terminal kinase interacting protein-1 (IB1/JIP-1) promoter variant is associated with Alzheimer's disease*. *Mol Psychiatry*, 2003. **8**(4): p. 413-22, 363.
409. Luedeking-Zimmer, E., et al., *Association of the 3' UTR transcription factor LBP-1c/CP2/LSF polymorphism with late-onset Alzheimer's disease*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003. **117B**(1): p. 114-7.
410. Kolsch, H., et al., *Association of the C766T polymorphism of the low-density lipoprotein receptor-related protein gene with Alzheimer's disease*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003. **121B**(1): p. 128-30.
411. Panza, F., et al., *Regional European differences in allele and genotype frequencies of low density lipoprotein receptor-related protein 1 polymorphism in Alzheimer's disease*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2004. **126B**(1): p. 69-73.
412. Pritchard, A., et al., *Association study and meta-analysis of low-density lipoprotein receptor related protein in Alzheimer's disease*. *Neurosci Lett*, 2005. **382**(3): p. 221-6.
413. Zhou, Y.T., et al., *Genetic association between low-density lipoprotein receptor-related protein gene polymorphisms and Alzheimer's disease in Chinese Han population*. *Neurosci Lett*, 2008. **444**(1): p. 109-11.
414. Vazquez-Higuera, J.L., et al., *Genetic interaction between tau and the apolipoprotein E receptor LRP1 Increases Alzheimer's disease risk*. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2009. **28**(2): p. 116-20.
415. Zappia, M., et al., *Association of tau gene polymorphism with Parkinson's disease*. *Neurol Sci*, 2003. **24**(3): p. 223-4.
416. Lincoln, J.A. and S.D. Cook, *An overview of gene-epigenetic-environmental contributions to MS causation*. *J Neurol Sci*, 2009. **286**(1-2): p. 54-7.
417. Rubio, J.P., et al., *Extended haplotype analysis in the HLA complex reveals an increased frequency of the HFE-C282Y mutation in individuals with multiple sclerosis*. *Hum Genet*, 2004. **114**(6): p. 573-80.
418. Kieling, C., et al., *The age at onset of attention deficit hyperactivity disorder*. *Am J Psychiatry*. **167**(1): p. 14-6.
419. Brimble, M.J., *Diagnosis and management of ADHD: a new way forward?* *Community Pract*, 2009. **82**(10): p. 34-7.
420. Coghill, D. and T. Banaschewski, *The genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder*. *Expert Rev Neurother*, 2009. **9**(10): p. 1547-65.

421. Ballon, N., et al., *Polymorphisms TaqI A of the DRD2, Ball of the DRD3, exon III repeat of the DRD4, and 3' UTR VNTR of the DAT: association with childhood ADHD in male African-Caribbean cocaine dependents?* Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2007. **144B**(8): p. 1034-41.
422. Cheuk, D.K., S.Y. Li, and V. Wong, *Exon 3 polymorphisms of dopamine D4 receptor (DRD4) gene and attention deficit hyperactivity disorder in Chinese children.* Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2006. **141B**(8): p. 907-11.
423. Johnson, K.A., et al., *Absence of the 7-repeat variant of the DRD4 VNTR is associated with drifting sustained attention in children with ADHD but not in controls.* Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2008. **147B**(6): p. 927-37.
424. Kereszturi, E., et al., *Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism is associated with methylphenidate response in ADHD children.* Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2008. **147B**(8): p. 1431-5.
425. Gabriela, M.L., et al., *Genetic interaction analysis for DRD4 and DAT1 genes in a group of Mexican ADHD patients.* Neurosci Lett, 2009. **451**(3): p. 257-60.
426. Smith, K.M., et al., *Association of the dopamine beta hydroxylase gene with attention deficit hyperactivity disorder: genetic analysis of the Milwaukee longitudinal study.* Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2003. **119B**(1): p. 77-85.
427. Feng, L.G., et al., *Association of plasma homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene variant with schizophrenia: A Chinese Han population-based case-control study.* Psychiatry Res, 2009. **168**(3): p. 205-8.
428. Garcia-Miss, M.D., et al., *Folate, homocysteine, interleukin-6, and tumor necrosis factor alfa levels, but not the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, are risk factors for schizophrenia.* J Psychiatr Res, 2009.
429. Cichoz-Lach, H., K. Celinski, and M. Slomka, *Alcohol-metabolizing enzyme gene polymorphisms and alcohol chronic pancreatitis among Polish individuals.* HBP (Oxford), 2008. **10**(2): p. 138-43.
430. Shimosegawa, T., K. Kume, and A. Masamune, *SPINK1, ADH2, and ALDH2 gene variants and alcoholic chronic pancreatitis in Japan.* J Gastroenterol Hepatol, 2008. **23 Suppl 1**: p. S82-6.
431. Kim, D.J., et al., *Major genetic components underlying alcoholism in Korean population.* Hum Mol Genet, 2008. **17**(6): p. 854-8.
432. Shin, S., et al., *An investigation of associations between alcohol use disorder and polymorphisms on ALDH2, BDNF, 5-HTTLPR, and MTHFR genes in older Korean men.* Int J Geriatr Psychiatry, 2009.
433. Uitterlinden, A.G., et al., *Relation of alleles of the collagen type I alpha 1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women.* N Engl J Med, 1998. **338**(15): p. 1016-21.
434. Grant, S.F., et al., *Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene.* Nat Genet, 1996. **14**(2): p. 203-5.
435. Alvarez-Hernandez, D., et al., *Influence of polymorphisms in VDR and COLIA1 genes on the risk of osteoporotic fractures in aged men.* Kidney Int Suppl, 2003(85): p. S14-8.
436. Husted, L.B., et al., *Haplotypes of promoter and intron 1 polymorphisms in the COLIA1 gene are associated with increased risk of osteoporosis.* Calcif Tissue Int, 2009. **84**(2): p. 85-96.
437. Tran, B.N., et al., *Enhancement of absolute fracture risk prognosis with genetic marker: the collagen I alpha 1 gene.* Calcif Tissue Int, 2009. **85**(5): p. 379-88.
438. Suzen, S. and E. Buyukbingol, *Recent studies of aldose reductase enzyme inhibition for diabetic complications.* Curr Med Chem, 2003. **10**(15): p. 1329-52.

439. Gosek, K., et al., *C-106T polymorphism in promoter of aldose reductase gene is a risk factor for diabetic nephropathy in type 2 diabetes patients with poor glycaemic control*. *Nephron Exp Nephrol*, 2005. **99**(3): p. e63-7.
440. Wang, Y., et al., *Phenotypic heterogeneity and associations of two aldose reductase gene polymorphisms with nephropathy and retinopathy in type 2 diabetes*. *Diabetes Care*, 2003. **26**(8): p. 2410-5.
441. Makiishi, T., et al., *C-106T polymorphism of AKR1B1 is associated with diabetic nephropathy and erythrocyte aldose reductase content in Japanese subjects with type 2 diabetes mellitus*. *Am J Kidney Dis*, 2003. **42**(5): p. 943-51.
442. Wolford, J.K., et al., *Variants in the gene encoding aldose reductase (AKR1B1) and diabetic nephropathy in American Indians*. *Diabet Med*, 2006. **23**(4): p. 367-76.
443. Hodgkinson, A.D., B.A. Millward, and A.G. Demaine, *Association of the p22phox component of NAD(P)H oxidase with susceptibility to diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes*. *Diabetes Care*, 2003. **26**(11): p. 3111-5.
444. Lajer, M., et al., *Association of aldose reductase gene Z+2 polymorphism with reduced susceptibility to diabetic nephropathy in Caucasian Type 1 diabetic patients*. *Diabet Med*, 2004. **21**(8): p. 867-73.
445. Yamamoto, T., et al., *Aldose reductase gene polymorphism is associated with progression of diabetic nephropathy in Japanese patients with type 1 diabetes mellitus*. *Diabetes Obes Metab*, 2003. **5**(1): p. 51-7.
446. Yang, B., et al., *Polymorphisms of the vascular endothelial growth factor and susceptibility to diabetic microvascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus*. *J Diabetes Complications*, 2003. **17**(1): p. 1-6.
447. Maeda, M., et al., *MTHFR gene polymorphism is susceptible to diabetic retinopathy but not to diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients*. *J Diabetes Complications*, 2008. **22**(2): p. 119-25.
448. Chen, C.L., et al., *Higher frequency of glutathione S-transferase deletions in black children with acute lymphoblastic leukemia*. *Blood*, 1997. **89**(5): p. 1701-7.
449. Faderl, S., et al., *Adult acute lymphoblastic leukemia: concepts and strategies*. *Cancer*. **116**(5): p. 1165-76.
450. Ribera, J.M. and A. Oriol, *Acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults*. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2009. **23**(5): p. 1033-42, vi.
451. Alcasabas, P., et al., *5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and the risk of acute lymphoblastic leukemia (ALL) in Filipino children*. *Pediatr Blood Cancer*, 2008. **51**(2): p. 178-82.
452. de Jonge, R., et al., *Polymorphisms in folate-related genes and risk of pediatric acute lymphoblastic leukemia*. *Blood*, 2009. **113**(10): p. 2284-9.
453. Yeoh, A.E., et al., *Genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia shows protection in Malay boys: results from the Malaysia-Singapore ALL Study Group*. *Leuk Res*. **34**(3): p. 276-83.
454. Oh, D., et al., *Association of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T and A1298C) polymorphisms in Korean patients with adult acute lymphoblastic leukemia*. *Anticancer Res*, 2007. **27**(5A): p. 3419-24.
455. Schaid, D.J., *Likelihoods and TDT for the case-parents design*. *Genet Epidemiol*, 1999. **16**(3): p. 250-60.
456. Colhoun, H.M., P.M. McKeigue, and G. Davey Smith, *Problems of reporting genetic associations with complex outcomes*. *Lancet*, 2003. **361**(9360): p. 865-72.
457. Munafo, M.R. and J. Flint, *Meta-analysis of genetic association studies*. *Trends Genet*, 2004. **20**(9): p. 439-44.

458. Pompanon, F., et al., *Genotyping errors: causes, consequences and solutions*. Nat Rev Genet, 2005. **6**(11): p. 847-59.
459. Zintzaras, E. and G.M. Hadjigeorgiou, *Association of paraoxonase 1 gene polymorphisms with risk of Parkinson's disease: a meta-analysis*. J Hum Genet, 2004. **49**(9): p. 474-81.
460. Attia, J., A. Thakkinstian, and C. D'Este, *Meta-analyses of molecular association studies: methodologic lessons for genetic epidemiology*. J Clin Epidemiol, 2003. **56**(4): p. 297-303.
461. Zintzaras, E., *Variance estimation of allele-based odds ratio in the absence of Hardy-Weinberg equilibrium*. Eur J Epidemiol, 2008. **23**(5): p. 323-6.
462. Vieland, V.J., K. Wang, and J. Huang, *Power to detect linkage based on multiple sets of data in the presence of locus heterogeneity: comparative evaluation of model-based linkage methods for affected sib pair data*. Hum Hered, 2001. **51**(4): p. 199-208.
463. Becker, K.G., et al., *The genetic association database*. Nat Genet, 2004. **36**(5): p. 431-2.
464. McLeod, H.L., et al., *Genetic polymorphism of thiopurine methyltransferase and its clinical relevance for childhood acute lymphoblastic leukemia*. Leukemia, 2000. **14**(4): p. 567-72.
465. Goetz, M.P., et al., *Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes*. J Clin Oncol, 2005. **23**(36): p. 9312-8.
466. Tai, G., et al., *In-vitro and in-vivo effects of the CYP2C9*11 polymorphism on warfarin metabolism and dose*. Pharmacogenet Genomics, 2005. **15**(7): p. 475-81.
467. Ku, C.S., et al., *The pursuit of genome-wide association studies: where are we now?* J Hum Genet.
468. Garcia-Fragoso, L., et al., *Presence of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation in Puerto Rican patients with neural tube defects*. J Child Neurol, 2002. **17**(1): p. 30-2.
469. Volcik, K.A., et al., *Evaluation of infant methylenetetrahydrofolate reductase genotype, maternal vitamin use, and risk of high versus low level spina bifida defects*. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2003. **67**(3): p. 154-7.
470. Kirke, P.N., et al., *Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study*. BMJ, 2004. **328**(7455): p. 1535-6.
471. Mills, J.L., et al., *Folate-related genes and omphalocele*. Am J Med Genet A, 2005. **136**(1): p. 8-11.
472. Relton, C.L., et al., *Genetic susceptibility to neural tube defect pregnancy varies with offspring phenotype*. Clin Genet, 2003. **64**(5): p. 424-8.
473. Relton, C.L., et al., *Low erythrocyte folate status and polymorphic variation in folate-related genes are associated with risk of neural tube defect pregnancy*. Mol Genet Metab, 2004. **81**(4): p. 273-81.
474. Herak, D.C., et al., *Inherited prothrombotic risk factors in children with stroke, transient ischemic attack, or migraine*. Pediatrics, 2009. **123**(4): p. e653-60.
475. Barreirinho, S., et al., *Inherited and acquired risk factors and their combined effects in pediatric stroke*. Pediatr Neurol, 2003. **28**(2): p. 134-8.
476. Berge, E., et al., *The factor V Leiden, prothrombin gene 20210GA, methylenetetrahydrofolate reductase 677CT and platelet glycoprotein IIIa 1565TC mutations in patients with acute ischemic stroke and atrial fibrillation*. Stroke, 2007. **38**(3): p. 1069-71.

477. Biswas, A., et al., *Prothrombotic factors and the risk of acute onset non-cardioembolic stroke in young Asian Indians*. *Thromb Res*, 2009. **124**(4): p. 397-402.
478. Bolaman, Z., et al., *Hereditary thrombophilic factors in stroke due to cerebral infarct*. *Am J Med Sci*, 2009. **337**(1): p. 11-3.
479. Botto, N., et al., *Prothrombotic mutations as risk factors for cryptogenic ischemic cerebrovascular events in young subjects with patent foramen ovale*. *Stroke*, 2007. **38**(7): p. 2070-3.
480. Cangoz, E., G. Deda, and N. Akar, *Effect of factor VIIIc levels in pediatric stroke patients*. *Pediatr Hematol Oncol*, 2004. **21**(3): p. 255-60.
481. Celiker, G., et al., *Prevalence of thrombophilic mutations and ACE I/D polymorphism in Turkish ischemic stroke patients*. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2009. **15**(4): p. 415-20.
482. Dindagur, N., T.P. Kruthika-Vinod, and R. Christopher, *Thrombophilic gene polymorphisms in puerperal cerebral veno-sinus thrombosis*. *J Neurol Sci*, 2006. **249**(1): p. 25-30.
483. Djordjevic, V., et al., *Genetic risk factors for arterial ischemic stroke in children: a possible MTHFR and eNOS gene-gene interplay?* *J Child Neurol*, 2009. **24**(7): p. 823-7.
484. Go, A.S., et al., *Factor V Leiden and risk of ischemic stroke in nonvalvular atrial fibrillation: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study*. *J Thromb Thrombolysis*, 2003. **15**(1): p. 41-6.
485. Karttunen, V., et al., *Factor V Leiden and prothrombin gene mutation may predispose to paradoxical embolism in subjects with patent foramen ovale*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2003. **14**(3): p. 261-8.
486. Lichy, C., et al., *Prothrombin G20210A mutation, but not factor V Leiden, is a risk factor in patients with persistent foramen ovale and otherwise unexplained cerebral ischemia*. *Cerebrovasc Dis*, 2003. **16**(1): p. 83-7.
487. Marcucci, R., et al., *Thrombophilic risk factors in patients with severe carotid atherosclerosis*. *J Thromb Haemost*, 2005. **3**(3): p. 502-7.
488. Moskau, S., et al., *Common genetic coagulation variants are not associated with ischemic stroke in a casecontrol study*. *Neurol Res*, 2009.
489. Eterovic, D., et al., *Lower contribution of factor V Leiden or G202104 mutations to ischemic stroke in patients with clinical risk factors: pair-matched case-control study*. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2007. **13**(2): p. 188-93.
490. Pezzini, A., et al., *Cumulative effect of predisposing genotypes and their interaction with modifiable factors on the risk of ischemic stroke in young adults*. *Stroke*, 2005. **36**(3): p. 533-9.
491. Pezzini, A., et al., *Inherited thrombophilia and stratification of ischaemic stroke risk among users of oral contraceptives*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2007. **78**(3): p. 271-6.
492. Rubattu, S., et al., *A role of TNF-alpha gene variant on juvenile ischemic stroke: a case-control study*. *Eur J Neurol*, 2005. **12**(12): p. 989-93.
493. Rubattu, S., et al., *Polymorphisms in prothrombotic genes and their impact on ischemic stroke in a Sardinian population*. *Thromb Haemost*, 2005. **93**(6): p. 1095-100.
494. de Paula Sabino, A., et al., *Factor V Leiden and increased risk for arterial thrombotic disease in young Brazilian patients*. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2006. **17**(4): p. 271-5.
495. Santamaria, A., et al., *Risk of ischemic stroke associated with functional thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor plasma levels*. *Stroke*, 2003. **34**(10): p. 2387-91.
496. Shi, C., et al., *The coagulation factor V Leiden, MTHFR C677T variant and eNOS 4ab polymorphism in young Chinese population with ischemic stroke*. *Clin Chim Acta*, 2008. **396**(1-2): p. 7-9

497. Simchen, M.J., et al., *Factor v Leiden and antiphospholipid antibodies in either mothers or infants increase the risk for perinatal arterial ischemic stroke*. *Stroke*, 2009. **40**(1): p. 65-70.
498. Szolnoki, Z., et al., *Evaluation of the modifying effects of unfavourable genotypes on classical clinical risk factors for ischaemic stroke*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2003. **74**(12): p. 1615-20.
499. Volzke, H., et al., *Interaction between factor V Leiden and serum LDL cholesterol increases the risk of atherosclerosis*. *Atherosclerosis*, 2005. **180**(2): p. 341-7.
500. Lichy, C., et al., *A common polymorphism of the protein Z gene is associated with protein Z plasma levels and with risk of cerebral ischemia in the young*. *Stroke*, 2004. **35**(1): p. 40-5.
501. Lichy, C., et al., *Risk of cerebral venous thrombosis and novel gene polymorphisms of the coagulation and fibrinolytic systems*. *J Neurol*, 2006. **253**(3): p. 316-20.
502. Boncoraglio, G., et al., *Hyperhomocysteinemia and other thrombophilic risk factors in 26 patients with cerebral venous thrombosis*. *Eur J Neurol*, 2004. **11**(6): p. 405-9.
503. Komitopoulou, A., et al., *Mutations and polymorphisms in genes affecting hemostasis proteins and homocysteine metabolism in children with arterial ischemic stroke*. *Cerebrovasc Dis*, 2006. **22**(1): p. 13-20.
504. Buyru, N., et al., *Factor V Leiden mutation in cerebrovascular disease*. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2005. **11**(3): p. 339-42.
505. Jonsson, E.G., et al., *Two methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) polymorphisms, schizophrenia and bipolar disorder: an association study*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008. **147B**(6): p. 976-82.