

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000265213





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΨΥΧΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Π.Α. ΙΩΑΝΝΙΔΗΣ**

**ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ
ΕΠΙΚΤΗΤΩΝ/ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΕ
ΠΟΛΥΣΥΝΘΕΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ**

**Ευάγγελος Σ. Ευαγγέλου
Νοσηλεύτης, MSc, MA**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2008



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)



Ημερομηνία αίτησης του κ. Ευαγγέλου Ευάγγελου:: 9-9-2004

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 539^α/23-11-2004

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Ιωαννίδης Ιωάννης Καθηγητής Υγιεινής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Αλαμάνος Ιωάννης Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής με έμφαση στην επιδημιολογία Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Δημολιάτης Ιωάννης Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 3-12-2004

«Μελέτες αλληλεπίδρασης γενετικών και επίκτητων/περιβαλλοντικών παραγόντων σε πολυσύνθετα νοσήματα»

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 626^α/22-1-2008

Γαλάρης Δημήτριος	Καθηγητής Βιολογικής Χημείας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ιωαννίδης Ιωάννης	Καθηγητής Υγιεινής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κυρίτσης Αθανάσιος	Καθηγητής Νευρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Παυλίδης Νικόλαος	Καθηγητής Παθολογίας –Ογκολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσατσούλης Αγαθοκλής	Καθηγητής Παθολογίας Ενδοκρινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Αλαμάνος Ιωάννης	Αναπληρωτής Καθηγητής Υγιεινής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών
Δημολιάτης Ιωάννης	Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 12-2-2008

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Ιωάννης Γουδέβενος

Καθηγητής Παθολογίας- Καρδιολογίας



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο αριθμός των κοινών νοσημάτων που έχουν κάποια γενετική συνιστώσα είναι μεγάλος. Διάφοροι γενετικοί παράγοντες έχουν προταθεί ως υπεύθυνοι τροποποίησης του κινδύνου εμφάνισης κάποιας νόσου όπως, νεοπλασίες, υπέρταση, διαβήτης, κατάθλιψη, νόσος του Parkinson κ.α.

Η επανάσταση της γενετικής πληροφορικής και η λεπτομερής καταγραφή και ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος έχουν ανοίξει νέους ορίζοντες στην ιατρική και αναμένεται να οδηγήσουν στην καλύτερη κατανόηση και αντιμετώπιση πολλών τέτοιων σύνθετων νοσημάτων που ο κληρονομικός παράγοντας διαδραματίζει σημαντικό αιτιολογικό ρόλο στην παθογένεσή τους. Όσο η γνώση μας στο πεδίο αυτό αυξάνει και βελτιώνεται, τόσο περισσότερο αντιληπτό γίνεται πως σπάνια πρόκειται για ένα μονογονιδιακό φαινόμενο. Φυσικά, το να ισχυριστεί κανείς πως τα γονίδια δρουν χωρίς να αλληλεπιδρούν με άλλους παράγοντες είναι επίσης οντοπικό. Διάφοροι επίκτητοι και περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να αλληλεπιδράσουν με γενετικούς παράγοντες κινδύνου και να επηρεάσουν την εμφάνιση μιας νόσου, τη βαρύτητα της ή την ανταπόκριση του ασθενούς σε μια θεραπεία.

Σε αυτή τη διδακτορική διατριβή αναλύουμε την υπάρχουσα βιβλιογραφία σε μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων και περιβάλλοντος κι αξιολογούμε τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά τους. Καταλήγουμε με προτάσεις βελτίωσης κι αξιοποίησης της τεράστιας πληροφορίας που καθημερινά συσσωρεύεται στο πεδίο της γενετικής επιδημιολογίας.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1.1. Γενετικές συσχετίσεις σε κοινά νοσήματα.....	1
1.1.2. Αλληλεπίδραση γενετικών και επίκτητων/περιβαλλοντικών παραγόντων.....	2
1.1.3. Κυνηγώντας μικρές σχέσεις.....	5
1.1.4. Κριτήρια επιδημιολογικής αξιοπιστίας.....	5
1.2.1. Περιγράφοντας τις αλληλεπιδράσεις γονιδίων/περιβαλλοντικών παραγόντων- Είδη μελετών.....	7
1.2.2. Μελέτες ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος.....	10
1.2.3. Μετα-ανάλυση μελετών ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος....	10
1.3.1. Δίκτυα (networks) επιστημόνων.....	13
1.3.2. Το δίκτυο HuGENet.....	14
1.3.3. Δημόσια κυκλοφορία των δεδομένων.....	18
Σκοπός διατριβής.....	21

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή.....	23
2.1. Απλές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.....	24
2.1.1. Υλικά και μέθοδος.....	24
2.1.1.1. Συλλογή δείγματος.....	24
2.1.1.2. Συλλογή δεδομένων.....	26
2.1.2. Αποτελέσματα.....	27
2.1.2.1. Γενικά.....	27
2.1.2.2. Περιγραφή του σχεδιασμού της μελέτης.....	28
2.1.2.3. Μεθοδολογία γονοτυπικού ελέγχου.....	28
2.1.2.4. Ανάλυση και συμπερασματολογία στα άρθρα.....	28
2.2. Συστηματικές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.....	32
2.2.1. Υλικά και μέθοδος.....	32
2.2.1.1. Συλλογή δείγματος.....	32
2.2.1.2. Συλλογή δεδομένων.....	32
2.2.2. Αποτελέσματα.....	33
2.2.2.1. Γενικά.....	33
2.2.2.2. Περιγραφικά.....	34



3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

- 3.1. Απλές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος..... 41
- 3.2. Συστηματικές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος..43

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... 47

5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....49

6. ABSTRACT..... 51

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... 53

8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1..... 61

9. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2..... 69



ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΩΝ

Σχήμα 1. Πιθανότητα μιας μελέτης να εκτιμά αληθή ευρήματα.....	4
Σχήμα 2. Σχετικός λόγος αναλογιών σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων και οικογενείς μελέτες.....	9
Σχήμα 3. Μετα-ανάλυση μελετών ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος.....	11
Σχήμα 4. Διάγραμμα ροής κατάλληλων μελετών.....	26
Εικόνα 1. Μηχανή αναζήτησης της HuGE Pub Lit.....	16

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Διεθνή δίκτυα επιστημόνων στη γενετική επιδημιολογία.....	16
Πίνακας 2. Κατανομή εκβάσεων σε διάφορες εντοπίσεις.....	18
Πίνακας 3. Κατανομή γονιδίων υπό εξέταση σε ασθενείς και μάρτυρες.....	19
Πίνακας 4. Αναφερόμενα χαρακτηριστικά στις μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.....	29
Πίνακας 5. Εκβάσεις που περιλαμβάνονται στο τυχαίο δείγμα των μελετών αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.....	30
Πίνακας 6. Περιβαλλοντικοί παράγοντες που περιλαμβάνονται στο τυχαίο δείγμα των μελετών αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.....	30
Πίνακας 7. Συστηματικές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.....	34
Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά μελετών που εμφάνισαν στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση γονιδίου/περιβάλλοντος.....	38



ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

HuGE: Human Genome Epidemiology

GSEC: Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens

HWE: Ισορροπία κατά Hardy- Weinberg (Hardy-Weinberg Equilibrium)

ROR: Relative Odds Ratio

OR: Odds ratio

CI: Confidence interval

ΔΕ: Διάστημα εμπιστοσύνης

GST: Glutathione S-transferase

CYP: Cytochrome p450

NAT: N-acetyltrasferase

EPX: Eosinophil peroxidase

ADH: Alcohol dehydrogenase

NQO: NAD(P)H dehydrogenase

MPO: Myeloperoxidase

MTHFR: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase

GPX: Glutathione peroxidase

MnSOD: Mn superoxide dismutase

XRCC: DNA repair protein

OGG: DNA N-glycosylase

VDR: Vitamin D receptor

ALDH: Aldehyde dehydrogenase

ESR1: Estrogen receptor 1



LPL: Lipoprotein lipase

CETP: Cholesteryl ester transfer protein

DRD1: Dopamine receptor D1

XPB/ERCC: Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency

LEPR: Leptin receptor

PPARG: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma



1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1.1. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΣΕ ΚΟΙΝΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Η επανάσταση της γενετικής πληροφορικής και η λεπτομερής καταγραφή και ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος (1, 2) έχουν ανοίξει νέους ορίζοντες στην ιατρική και αναμένεται να οδηγήσουν στην καλύτερη κατανόηση και αντιμετώπιση πολλών σύνθετων νοσημάτων που ο κληρονομικός παράγοντας διαδραματίζει σημαντικό αιτιολογικό ρόλο στην παθογένεσή τους.

Ένας μεγάλος αριθμός συνήθων νοσημάτων φαίνεται να έχουν μια κληρονομική συνιστώσα στην αιτιολογία τους. Μερικά χαρακτηριστικά παραδείγματα που μπορεί να συναντήσει κανείς είναι νεοπλασίες, καρδιαγγειακά νοσήματα, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, διαβήτης, άνοια, κατάθλιψη. Για όλες αυτές τις νόσους έχουν κατά καιρούς προταθεί διάφοροι γενετικοί παράγοντες που υποτίθεται ότι τροποποιούν τον κίνδυνο για την εμφάνιση της εκάστοτε νόσου, τη βαρύτητά της, ή την ανταπόκριση του ασθενούς στη θεραπεία (3). Όσο όμως οι γνώσεις μας στο χώρο αυτό πληθαίνουν και βελτιώνονται, τόσο γίνεται περισσότερο αντιληπτό πως ο γονιδιακός έλεγχος νοσημάτων σπάνια είναι ένα μονοδιάστατο φαινόμενο που εξαρτάται από ένα μόνο γονίδιο. Αν στην γενική επιδημιολογία το πλήθος των πιθανών υποθέσεων για αιτιολογικές συσχετίσεις είναι μεγάλο, στη μοριακή και γενετική επιδημιολογία είναι δυσθεώρητο (3, 4). Το σύνολο των αιτιολογικών υποθέσεων που θα μπορούσε να θεωρητικά να εξεταστεί είναι ένα νούμερο αστρονομικό: υπολογίζεται πως υπάρχουν πάνω από 4 εκατομμύρια γενετικοί πολυμορφισμοί στο ανθρώπινο γονιδίωμα (5), χιλιάδες κοινών ασθενειών με πιθανή ή πιθανολογούμενη γενετική συνιστώσα, πολλές υποομάδες ασθενών με



ιδιαίτερη κλινική σημασία, πολλές πιθανές εκβάσεις που μπορούν να εξεταστούν, και ούτω καθεξής (3, 4). Αν υπολογίσουμε πως υπάρχουν πάνω από 10000 νοσήματα και νοσολογικές καταστάσεις και μερικά εκατομμύρια πολυμορφισμοί που μπορεί να διερευνήσει κανείς εάν σχετίζονται ή όχι με ένα συγκεκριμένο νόσημα, τότε, εφαρμόζοντας τον πολλαπλασιαστικό κανόνα, οι πιθανές συσχετίσεις που μπορούν να διερευνηθούν είναι της τάξης των δισεκατομμυρίων.

Η αυτοματοποίηση της γονοτυπικής ανάλυσης τα τελευταία χρόνια, μέσα από απλές μεθόδους μοριακής βιολογίας που γίνονται συνεχώς διαθέσιμες και εύχρηστες, οδηγεί σε μια τεράστια συσσώρευση πληροφορίας. Επιπλέον, η κατάσταση γίνεται ακόμα πιο σύνθετη, καθώς είναι πλέον πολύ σπάνιο μόνο μια ομάδα ερευνητών να μελετήσει μια συγκεκριμένη γενετική συσχέτιση. Στις περισσότερες περιπτώσεις την πρώτη μελέτη την ακολουθούν άλλες που προσπαθούν να επιβεβαιώσουν ή να διαφοροποιήσουν τα αποτελέσματά της. Άλλες φορές, ένας μεγάλος αριθμός μελετών πραγματοποιούνται σχεδόν παράλληλα και ταυτόχρονα σε διαφορετικά ερευνητικά κέντρα με σκοπό τη διερεύνηση της ίδιας γενετικής συσχέτισης.

1.1.2. Αλληλεπίδραση γενετικών και επίκτητων/ περιβαλλοντικών παραγόντων

Τα πράγματα γίνονται περισσότερο πολύπλοκα, όταν για την ίδια συσχέτιση εξετάζονται πολλαπλές παραλλαγές του ίδιου γονιδίου ή ακόμα πολλαπλοί γενετικοί παράγοντες. Η ανάπτυξη μοριακών τεχνολογιών μεγάλου όγκου συνολικού έργου (high throughput) επιτρέπουν την ταυτόχρονη διερεύνηση πολλαπλών γενετικών παραγόντων μέσα από ταχύτατες αναλυτικές προσεγγίσεις (6-8). Επίσης, η ταυτόχρονη αντιμετώπιση με σύνθετα μοντέλα τόσο των γενετικών όσο και των



περιβαλλοντικών παραμέτρων που μπορεί να επηρεάζουν ένα νόσημα ή μια κατάσταση υγείας δημιουργεί ακόμα μεγαλύτερη πολυπλοκότητα (9).

Η ανάλυση της γενετικής πληροφορίας περιπλέκεται περαιτέρω από το γεγονός πως για τα περισσότερα νοσήματα και εκβάσεις με ενδιαφέρον για την ανθρώπινη υγεία, οι γενετικοί παράγοντες δεν επιδρούν στο κενό, αλλά τροποποιούν κινδύνους που διαμορφώνονται από εκθέσεις σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η κατανόηση της συνύπαρξης και αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων κάνει την αναλυτική πρόκληση ακόμα μεγαλύτερη. Είναι σύνηθες η αντιμετώπιση της πιθανής αλληλεπίδρασης μεταξύ γενετικών και εξωγενών παραγόντων να γίνεται επιτόλεια στην πλειονότητα των μελετών που έχουν καταχωρηθεί στη βιβλιογραφία μέχρι τώρα, ακόμα και στα ισχυρότερα επιστημονικά περιοδικά.

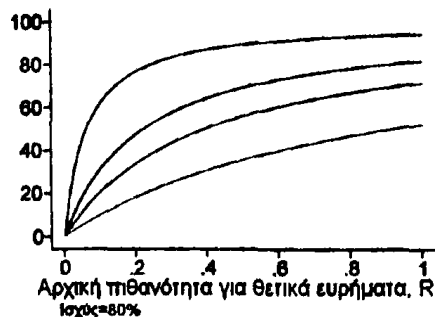
Με βάση τα παραπάνω, γίνεται εύκολα κατανοητό πως χρειάζεται κάποια συστηματική αυστηρή μεθοδολογία για να βάλει κάποια τάξη σε αυτόν τον τεράστιο και εκρηκτικά αυξανόμενο όγκο πληροφορίας. Έτσι λοιπόν, το να αναγνωρίσει κανείς τις αληθείς γενετικές σχέσεις μέσα στη θάλασσα των δυνατών συνδυασμών είναι δύσκολο. Τα παραπάνω έχουν πολύ μεγάλη πρακτική σημασία: ένα άμεσο και σημαντικότερο επακόλουθό τους είναι ότι, πολύ απλά, τα περισσότερα στατιστικά σημαντικά ευρήματα (και) σε αυτό το επιστημονικό πεδίο είναι *λανθασμένα και επισφαλή* (10-12), και ότι στην ουσία το μέγεθος των γενετικών συσχετίσεων που υπολογίζουμε είναι το *μέγεθος των συστηματικών μας σφαλμάτων* (Σχήμα 1) (4).

Οι συλλογισμοί αυτοί βοηθούν να κατανοήσουμε το τι συμβαίνει σήμερα στη γενετική επιδημιολογία. Ένα πολύ σημαντικό θέμα αφορά στην εγκυρότητα και την επαναληψιμότητα των προτεινόμενων επιδημιολογικών συσχετίσεων γενετικών δευκτών σε συνήθη νοσήματα.

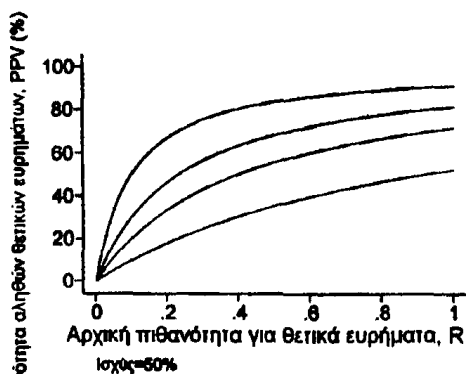


Σχήμα 1. Πιθανότητα μιας μελέτης να εκτιμά αληθή ευρήματα.

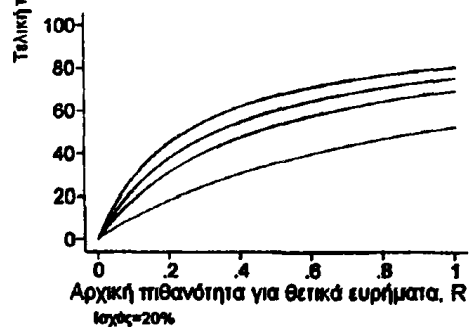
A



B



C



— $n=1$ - - - $n=5$. . . $n=10$ - . - $n=50$

Πριν καν εκπονηθεί μια δεδομένη μελέτη γενετικών συσχετίσεων, η πιθανότητά της να βρει ένα θετικό (στατιστικά σημαντικό) εύρημα είναι R . Η ακριβής τιμή του R εξαρτάται από το συγκεκριμένο ερώτημα και ερευνητικό πλαίσιο. Τυπικά, για μελέτες γενετικών συσχετίσεων η τιμή του R είναι πολύ μικρή ($<10^{-3}$) (12)



1.1.3. Κυνηγώντας μικρές σχέσεις

Η ανάπτυξη της τεχνολογίας έχει επιτρέψει στους ερευνητές να εξετάζουν παράλληλα χιλιάδες γενετικούς παράγοντες κινδύνου για πολυσύνθετα νοσήματα. Το μέγεθος του κινδύνου σε αυτά τα νοσήματα, όπως έχει αποδειχθεί σε εμπειρικές μελέτες, είναι τις περισσότερες φορές μικρό (συνήθως <2) (13). Οι ατομικές μελέτες είναι εξαιρετικά δύσκολο να διακρίνουν μικρές, έγκυρες και βιολογικά σημαίνουσες επιδράσεις, λόγω μεροληψίας και μεθοδολογικών προβλημάτων που υπάρχουν στο πεδίο της γενετικής επιδημιολογίας. Τα σφάλματα μπορεί να αφορούν μεροληψία δημοσίευσης ή σφάλματα αναφοράς, συγχυτικούς παράγοντες, λανθασμένη επιλογή των συμμετεχόντων στην εκάστοτε μελέτη, λάθη στον γονοτυπικό έλεγχο αλλά και στην αποθήκευση ή την ανάλυση των δειγμάτων, αποκλίσεις από την ισορροπία κατά Hardy-Weinberg, δυσταξινόμηση της έκθεσης και της έκβασης. Σε αυτά πρέπει να προσθέσει κανείς παρόμοια σφάλματα στον υπό εξέταση περιβαλλοντικό παράγοντα κινδύνου όταν πρόκειται να αναζητήσει σχέσεις αλληλεπίδρασης γονιδίων και περιβάλλοντος με κάποιο νόσημα.

1.1.4. Κριτήρια επιδημιολογικής αξιοπιστίας

Οι επιστήμονες έχουν βρεθεί, λοιπόν, μπροστά σε ένα τεράστιο πλήθος πιθανών συσχετίσεων, αναγκασμένοι να αναζητούν μικρές σχέσεις. Προκειμένου να αξιοποιηθεί η πληροφορία αυτή όσο το δυνατόν καλύτερα, έχουν αναπτυχθεί κάποια κριτήρια-οδηγοί για την αξιοπιστία των μελετών γενετικών συσχετίσεων. Κριτήρια που προτάθηκαν σε προγενέστερες εποχές, όπως αυτά του Brandford Hill (14) δεν είναι κατάλληλα για τέτοιου είδους μελέτες. Τα προτεινόμενα κριτήρια της επιδημιολογικής αξιοπιστίας περιλαμβάνουν το μέγεθος των δεδομένων, την σταθερή και ανεξάρτητη επικύρωση τους και την προστασία από τυχόν σφάλματα. Με βάση



τα κριτήρια αυτά μπορεί κανείς να αξιολογήσει την επιδημιολογική αξιοπιστία που προκύπτει από κάποιο άρθρο, ως ισχυρή, μέτρια, ή αδύναμη (15). Βέβαια πρόκειται για πρώτη προσπάθεια η οποία αναμένεται να ωφεληθεί τα μέγιστα από εμπειρικές μελέτες κι επαναξιολόγηση από άλλους ερευνητές.



1.2.1. Περιγράφοντας τις αλληλεπιδράσεις γονιδίων/περιβαλλοντικών παραγόντων- Είδη μελετών

Μελέτες ασθενών-μαρτύρων

Η μελέτη των αλληλεπιδράσεων γονιδίων/περιβάλλοντος απαιτεί πληροφορία πάνω στο δύο στοιχεία αυτής της σχέσης. Ο πιο διαδεδομένος σχεδιασμός έρευνας γονιδίου/έκθεσης σε περιβαλλοντικό παράγοντα, είναι η μελέτη ασθενών-μαρτύρων (case-control). Καθώς όμως οι μελέτες ασθενών μαρτύρων τυπικά ξεκινούν με συμβάματα που ήδη είναι γεγονός είναι πιθανόν να εμπεριέχουν πολλά από τα κλασσικά στοιχεία μεροληψίας όπως σφάλμα επιλογής, δυσταξινόμηση, επίδραση συγχυτικών παραγόντων (confounding).

Μελέτες κοόρτης

Αντίθετα οι προοπτικές μελέτες κοόρτης (cohort studies) ερευνούν ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα του πληθυσμού πριν την εμφάνιση της ασθένειας. Είναι πολύτιμες, λοιπόν, για την ανακάλυψη παραγόντων κινδύνων που μπορεί να οφείλονται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Πολλές μελέτες μεγάλης κλίμακας γονιδίων και περιβάλλοντος είναι καθοδόν περιλαμβάνοντας την UK Biobank (16) καθώς και μια προτεινόμενη αμερικάνικη κοόρτη (17) μεγάλης κλίμακας. Η χρησιμότητα τέτοιων μελετών είναι αμφιλεγόμενη καθώς το υψηλό κόστος και η μακρά διάρκεια έρχονται σε αντίθεση με τις αποδοτικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων.

Μελέτες 'μόνο ασθενών'

Άλλος ένας σχεδιασμός που έχει κερδίσει υποστηρικτές είναι αυτός που χρησιμοποιεί μόνο ασθενείς (case-only design) (18). Έχει αποδειχθεί πως όταν ο γονότυπος δεν συσχετίζεται με τον περιβαλλοντικό παράγοντα και η έκβαση είναι σπάνια, τότε πιθανή αλληλεπίδραση μπορεί να εξεταστεί χρησιμοποιώντας πληροφορία αποκλειστικά από τους ασθενείς. Σε αυτό το σχεδιασμό θα ανέμενε



κάποιος, η επίπτωση της έκθεσης στους έχοντες τον γονότυπο να είναι η ίδια με αυτή στους μη έχοντες τον γονότυπο ασθενείς. Στατιστικά σημαντικές αποκλίσεις από το αναμενόμενο αποτέλεσμα αποτελεί ένδειξη αλληλεπίδρασης μεταξύ του γονοτύπου και της έκθεσης. Φυσικά δεν πρέπει να παραβλέψουμε το γεγονός πως κάποια συστηματικά σφάλματα μπορεί να υπάρχουν. Βέβαια, η ιδέα της αποφυγής δημιουργίας ομάδας ελέγχου είναι ελκυστική. Παρόλα αυτά για να εκτιμήσουμε νέες, μη αποδεδειγμένες υποθέσεις είναι απαραίτητη η ύπαρξη της.

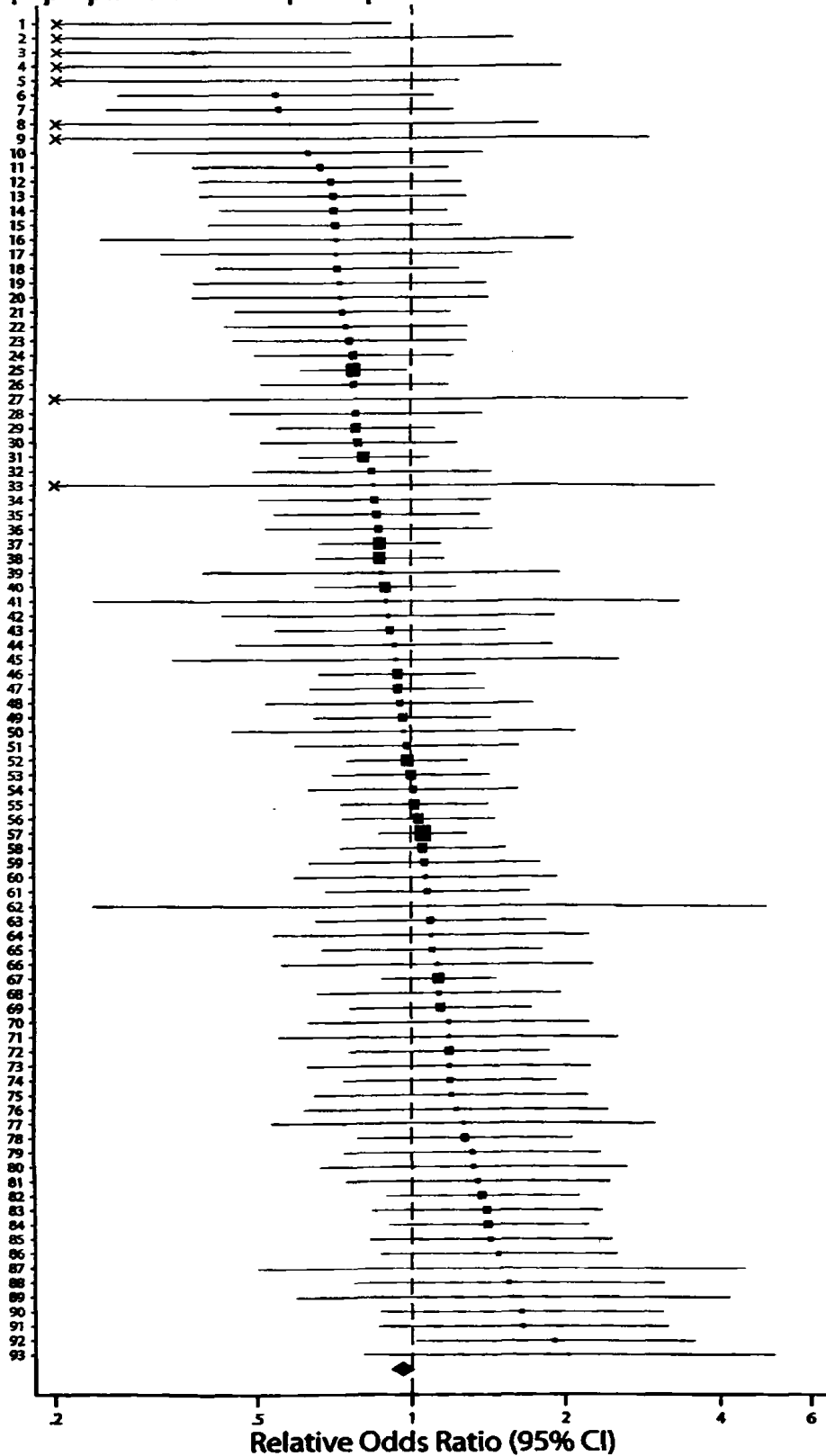
Οικογενείς μελέτες

Οι οικογενείς μελέτες (family-based studies) αποτελούν έναν εναλλακτικό σχεδιασμό για την έρευνα των αλληλεπιδράσεων μεταξύ γονιδίων και περιβαλλοντικών παραγόντων. Έχουν προταθεί διάφοροι μέθοδοι για τον υπολογισμό αυτών των αλληλεπιδράσεων ως επέκταση του Transmission/Disequilibrium Test (TDT). Η σύγκριση μεταξύ των οικογενών μελετών και των μελετών ασθενών-μαρτύρων αποδεικνύει πως οι οικογενείς σχεδιασμοί έχουν μεγαλύτερη ισχύ στο να ανακαλύψουν αλληλεπιδράσεις, όταν αυτές υπάρχουν, ειδικά όταν πρόκειται για αλλήλια με μικρές συχνότητες (19).

Προκειμένου να αξιολογήσουμε πιθανές διαφορές στην εκτίμηση των επιδράσεων των διαφορετικών σχεδιασμών σχεδιάσαμε μια εμπειρική μελέτη. Στην έρευνα αυτή συγκρίναμε τις επιδράσεις των οικογενών σχεδιασμών με τις επιδράσεις από μελέτες ασθενών-μαρτύρων. Χρησιμοποιήθηκαν μελέτες που στο ίδιο άρθρο, εξέταζαν τον ίδιο πολυμορφισμό για την ίδια έκβαση και με τους δύο σχεδιασμούς. Η αξιολόγηση 93 κατάλληλων συγκρίσεων έδειξε πως οι δύο σχεδιασμοί εκτιμούν με τον ίδιο τρόπο την σχέση γονιδίων/ασθένειας (Σχήμα 2). Αυτό σημαίνει πως οι δύο σχεδιασμοί δεν υπερεκτιμούν ή υποεκτιμούν συστηματικά κάποια πιθανή σχέση (20)



Σχήμα 2. Σχετικός λόγος αναλογιών (ROR) και 95% ΔΕ σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων έναντι οικογενών μελετών.



Όταν ο λόγος σχετικών αναλογιών $ROR > 1$ τότε οι σχεδιασμοί ασθενών-μαρτύρων υπολόγισαν μεγαλύτερες επιδράσεις από τις μελέτες σε οικογένειες για την ίδια σύγκριση. Η σύνθεση έγινε με μοντέλα τυχαίων επιδράσεων



1.2.2. Μελέτες ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος

Τον τελευταίο καιρό είμαστε μάρτυρες μιας εντυπωσιακής και συνάμα συναρπαστικής ροής δεδομένων από μελέτες ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος (Genome Wide Association studies). Η αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος έχει δώσει την δυνατότητα στους ερευνητές να διεξάγουν μελέτες ευρείας κλίμακας για διάφορα νοσήματα. Εκατοντάδες χιλιάδες πολυμορφισμοί μπορούν να μελετηθούν ταυτόχρονα σε κάθε συμμετέχοντα στην μελέτη, προκειμένου να αναζητηθούν πιθανοί γενετικοί παράγοντες που μπορεί να ευθύνονται για κάποια ασθένεια. Εφαρμόζοντας διάφορους σχεδιασμούς και στρατηγικές οι ερευνητές μπορούν να αναζητήσουν πιθανές συσχετίσεις για διάφορα νοσήματα.

Μπορεί λοιπόν κανείς να καταλήξει με χιλιάδες δεδομένα για γενετικούς παράγοντες κινδύνου, τα οποία θα μπορούν να συνδυαστούν με έκθεση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου. Παραδείγματα μιας τέτοιας προσπάθειας είναι η Framingham Heart Study 100K SNP, στην οποία θα εξεταστούν 17 φαινότυποι (21, 22) και η Women's Genome Health Study με 25000 συμμετέχοντες (22). Συνδυάζοντας λοιπόν κανείς τις ήδη υπάρχουσες «μητρικές» επιδημιολογικές βάσεις θα αποκτήσει μια τεράστια πληροφορία που θα δίνει μεγαλύτερη ευχέρεια στη μελέτη αλληλεπιδράσεων γονιδίων και περιβάλλοντος.

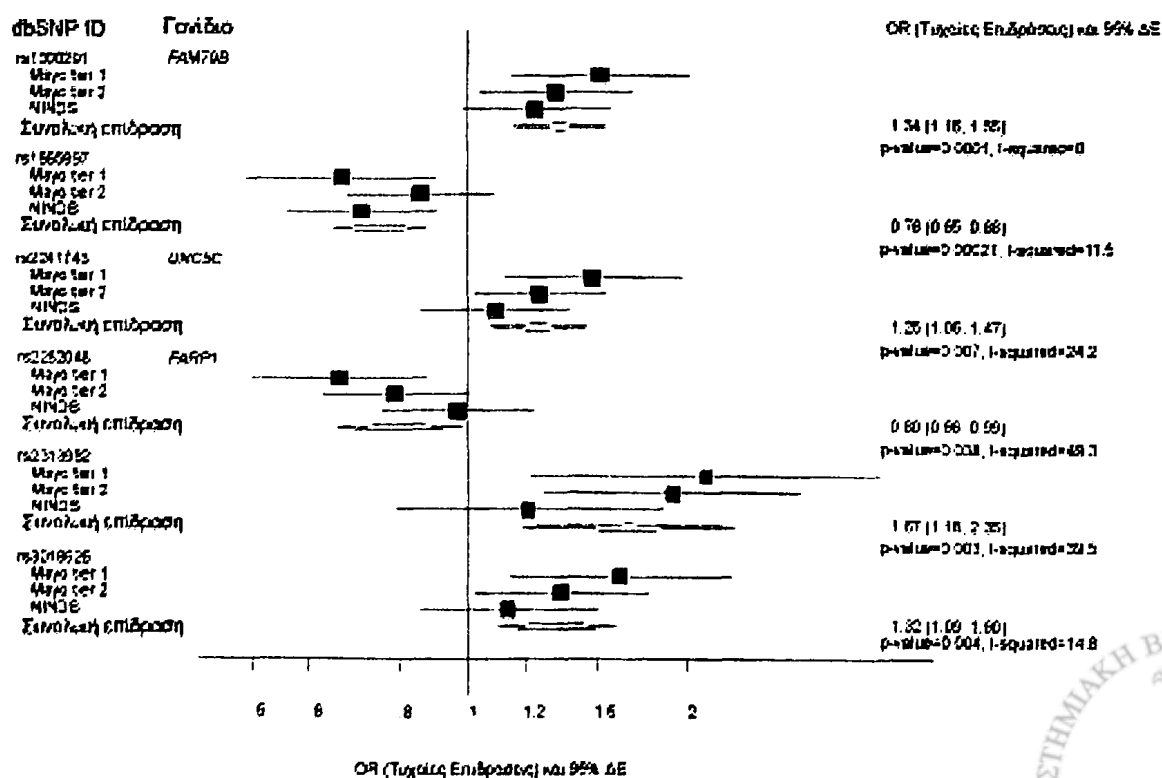
1.2.3. Μετα-ανάλυση σε μελέτες ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος

Η μετα-ανάλυση είναι η συστηματική μέθοδος ποσοτικής σύνθεσης και αξιολόγησης των δεδομένων. Πληροφορία που προέρχεται από μελέτες συσχέτισης ευρέως γονιδιώματος μπορεί να συντεθεί με τις κλασσικές μεθόδους της μετα-



ανάλυσης(23, 24), προκειμένου να αξιοποιηθούν στο έπακρο τα δεδομένα που είναι διαθέσιμα. Η μετα-ανάλυση είναι μια αποδεκτή μέθοδος για την αξιολόγηση της συνέπειας, της αξιοπιστίας και της επιβεβαίωσης προτεινόμενων γενετικών συσχετίσεων. Σε μια πρώτη προσπάθεια εφαρμογής της τεχνικής, δεδομένα από δύο τέτοιες μελέτες για την νόσο του Parkinson (25, 26), μετα-αναλύθηκαν και διάφορες στρατηγικές προτάθηκαν ώστε να αξιοποιηθούν τα δεδομένα (27). Στη μελέτη του Maraganore και συνεργατών (25) μελετήθηκαν σε πρώτο στάδιο περίπου 200000 πολυμορφισμοί σε 1443 ζεύγη αδερφών, ενώ σε δεύτερο στάδιο περίπου 2000 πολυμορφισμοί μελετήθηκαν σε 332 άτομα με σχεδιασμό ασθενών μαρτύρων. Στη μελέτη του Fung και συνεργατών (26) περίπου 400000 πολυμορφισμοί γονοτυπήθηκαν σε 276 ασθενείς και 276 υγιή άτομα. Με βάση τις στρατηγικές που εφαρμόστηκαν 6 νέοι πολυμορφισμοί έδειξαν ότι τυγχάνουν προσοχής για τη νόσο του Parkinson (27) (Σχήμα 3).

Σχήμα 3. Μετα-ανάλυση μελετών ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος.



Σύνθεση με μοντέλα τυχαίων επιδράσεων της διαθέσιμης πληροφορίας από μελέτες συσχέτισης ευρέως γονιδιώματος για την νόσο του Parkinson.

Ένα γεγονός άξιο αναφοράς που χρήζει προσοχής είναι το ότι μόνο το 16% των μελετούμενων πολυμορφισμών (~32000) ήταν κοινοί στις δύο βάσεις δεδομένων. Επομένως πρέπει να γίνουν προσπάθειες ώστε να μεγιστοποιηθεί η αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των διάφορων εμπορικών γονοτυπικών πλατφόρμων.

Είναι εμφανές, λοιπόν, πως όταν κι εφόσον διατεθούν ανάλογα δεδομένα στα οποία θα περιέχεται πληροφορία για έκθεση σε επιβαρυντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, νέες προοπτικές θα ανοίξουν για την μελέτη αλληλεπιδράσεων γονιδίων και περιβάλλοντος. Φυσικά, η ετερογένεια μεταξύ των μελετών πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στην σύνθεση των δεδομένων από μελέτες ευρέως γονιδιώματος (28, 29).



1.3.1. Δίκτυα (networks) επιστημόνων

Όπως είναι αντιληπτό η προσπάθεια να εντοπιστούν οι παράγοντες που επηρεάζουν σύνθετα νοσήματα εμποδίζεται από μικρές μελέτες, διαφόρων ειδών σφάλματα (δημοσίευσης κι αναφοράς) και έλλειψης κοινών κανόνων σε παγκόσμια βάση. Δεν είναι λίγοι αυτοί που προτείνουν την δημιουργία δικτύων που θα αποτελούνται από ομάδες ερευνητών που συλλέγουν πληροφορία για την γενετική επιδημιολογία (30-32). Ήδη, 23 ομάδες ερευνητών που αντιπροσωπεύουν αρκετές εκατοντάδες μικρότερες ομάδες έχουν συνταχθεί με αυτή την πρωτοβουλία. Σκοπός του ευρύτερου αυτού δικτύου είναι να δημιουργήσει ένα μητρώο των ερευνητών και των ομάδων τους, να αποτελέσει πηγή αναφοράς και σύνδεσης μεταξύ των ομάδων, να προσφέρει μεθοδολογική υποστήριξη, να προάγει τον κατάλληλο σχεδιασμό των μελετών και την ανάλυσή τους, να αξιοποιήσει την κοινή πληροφορία και να διευκολύνει την γρήγορη επιβεβαίωση των ευρημάτων. Στον πίνακα 1 συνοψίζονται οι διάφορες ομάδες καθώς και το ερευνητικό αντικείμενο κάθε μιας από αυτές, ενώ παρουσιάζεται κι ένας αδρός αριθμός συμμετεχόντων σε αυτά τα δίκτυα..



Πίνακας 1. Διεθνή δίκτυα επιστημόνων στη γενετική επιδημιολογία.

Πεδίο	Δίκτυο	Ν ομάδων (Ν συμμετεχόντων σε χιλιάδες)
Νόσος του Parkinson	Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease (GEO-PD) consortium	18(10)
Λοίμωξη HIV	International Meta-analysis of HIV Host Genetics	30(7)
Καρδιαγγειακές νόσοι	Fibrinogen Studies Collaboration and Emerging Risk Factors Collaboration	50(200)
Κρανιοεγκεφαλικές ανωμαλίες	Craniofacial anomalies network developed by the International Collaborative Research on Craniofacial Anomalies Project	9(4)
Οστεοπόρωση	Genetic Markers of Osteoporosis	10(30)
Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο	International Meta-analysis of Antiphospholipid Syndrome Genetics	9(4)
Παιδική ανάπτυξη και μεταβολισμός	Birth Cohorts Consortium	24(55)
Πρόωρος τοκετός	Preterm Birth International Collaborative (PREBIC)/Preterm Birth and Genetics International Alliances (PREGENIA)	10(20)
Καρκίνος, καρδιαγγειακά, διαβήτης, γήρανση	European Prospective Investigation on Cancer, chronic diseases and nutrition (EPIC)	521(120)
Λέμφωμα	International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph)	15(20)
Καρκίνος πνεύμονα	International Lung Cancer Consortium (ILCCO)	30(51)
Καρκίνος κεφαλής και τραχήλου	International Head and Neck Cancer Consortium (INHANCE)	13(28)
Μελάνωμα	Melanoma Genetics Consortium (GenoMeL)	12(3)
Καρκίνος παγκρέατος	Pancreatic Cancer: Genetic Epidemiology (PACGENE) Consortium	10(5)
Καρκίνοι μαστού και προστάτη	Breast and Prostate Cancer and Hormone-Related Variants Cohort Consortium	6(13+20)
Εγκεφαλικοί όγκοι	Brain Tumor Epidemiology Consortium (BTEC)	22
Καρκίνοι μαστού -παχέως εντέρου	Breast and Colon Cancer Family Registries	10(34+30)
Καρκίνος	Cancer Genetics Network (CGN)/Informatics Technology Group	8(24)
Ακτινοβολία και καρκίνος μαστού	Women's, Environmental, Cancer, and Radiation Epidemiology (WECARE) Study Consortium	15(2)
Περιβαλλοντικά ογκογονίδια	International Collaborative Study on Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens (GSEC)	130(58)
Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή	International Pooled Analysis of Children Born after Assisted Procedures (APIKIDS)	6(7)
Γονίδια ανακατασκευής DNA και καρκίνος	Web-based meta-analysis on DNA repair genes and cancer risk	5

1.3.2. Το δίκτυο HuGENet

Το δίκτυο HuGENet ιδρύθηκε το 1998 ως μια ανοιχτή παγκόσμια συνεργασία επιστημόνων από την κλινική ιατρική, δημόσια υγεία κι άλλα συναφή πεδία με σκοπό



την ανάπτυξη και την διάδοση της γενετικής πληροφορίας (33). Το δίκτυο HuGENet προάγει την συστηματική έρευνα και την σύνθεση της υπάρχουσας πληροφορίας δημοσιεύοντας, σε συνεργασία με διεθνή περιοδικά, ανασκοπήσεις που είναι γνωστές ως HuGE reviews. Το 2001 το δίκτυο της HuGE (HuGENet) δημιούργησε την βάση δεδομένων της δημοσιευμένης βιβλιογραφίας της HuGE (HuGE Pub Lit) (34). Πρόκειται για μια συνεχώς ανανεώσιμη βάση δεδομένων όπου ο καθένας έχει την δυνατότητα να αναζητήσει άρθρα γενετικής επιδημιολογίας. Οι σχετικές με το αντικείμενο δημοσιεύσεις εντοπίζονται στην Pubmed σε εβδομαδιαία βάση από έναν γενετικό επιδημιολόγο ο οποίος καταγράφει το σχεδιασμό της μελέτης, τα γονίδια, τις ασθένειες και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που είναι δυνατόν να αλληλεπιδρούν. Αυτή η πληροφορία καθώς και ο τίτλος, οι υπόλοιποι συγγραφείς της μελέτης, η περίληψη, το περιοδικό, η ημερομηνία της δημοσίευσης κι ένας μοναδικός αύξων αριθμός καταχωρούνται στην HuGE Pub Lit. Ήδη η βάση περιέχει πάνω από 31500 καταχωρήσεις κάθε μορφής. Οι μετα-αναλύσεις είναι 660, οι ανασκοπήσεις HuGE 65, και τα άρθρα που αφορούν μελέτες συσχέτισης ευρείας κλίμακας γονιδιώματος 93. Έχουν αποθηκευτεί πληροφορίες για 1946 νοσήματα και 3164 γονίδια (35).

Όπως προκύπτει πρόκειται για μια πολυσχιδή βάση. Ανάλυση με διάφορα μοντέλα επικύρωσης, συμπεριλαμβανομένων αλγόριθμων νευρωνικών δικτύων έχει δείξει ότι η βάση έχει ευαισθησία υψηλότερη από 94% για τη συλλογή σχετικών μελετών. Η βάση διαθέτει επίσης μια πολύ φιλική μηχανή αναζήτησης όπως φαίνεται στο παρακάτω αντίγραφο της σχετικής ηλεκτρονικής σελίδας που διευκολύνει την επιλογή μελετών.



Εικόνα 1. Μηχανή αναζήτησης της HuGE Pub Lit.

Genes: Enter a gene(s) or select an item from the Gene Menu.

☐ **Gene(s)** **Gene Menu**

Search gene through GDB

Current Selected Gene(s)

Indicate "And" or "Or" if more than one gene.
Or

Disease/Conditions: Enter a disease/condition or select an item from the Disease Menu.

☐ **Disease(s)** **Disease/Condition Menu**

Current Selected Disease(s)

Indicate "And" or "Or" if more than one disease.
Or

Environmental or Personal Factors: Enter a Factor or select an item from the Factor Menu.

☐ **Factor(s)** **Factor Menu**

Current Selected Factor(s)

Indicate "And" or "Or" if more than one factor.
Or

☐ **Topic:** Choose a topic category below. View definitions by rolling cursor over check boxes.

- | | |
|--|---|
| ☐ Human genome epidemiology (HuGE) | ☐ Newborn screening |
| ☐ Genotype prevalence | ☐ Pharmacogenomics/toxicogenomics |
| ☐ Gene-disease associations | ☐ Family history |
| ☐ Gene-environment interactions | ☐ Ethical/social issues |
| ☐ Gene-gene interactions | ☐ Policy and legislation |
| ☐ Genetic testing | ☐ Economic evaluation/decision analysis |
| ☐ Analytic validity | ☐ Practice guidelines/recommendations |
| ☐ Clinical validity | ☐ Training |
| ☐ Clinical utility | ☐ Health services/programs |
| ☐ Laboratory practice | ☐ Genomics and health-general |
| ☐ Laboratory quality assurance | |

Σημείωση: Πρόκειται για την παλιά μηχανή αναζήτησης που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη διατριβή.

Πλέον, η καινούργια της μορφή μπορεί να βρεθεί στην ιστοσελίδα <http://www.hugenavigator.net> ως

HuGE Navigator v.1



Επιπλέον, το δίκτυο HuGENet προκειμένου να εκμεταλευνεί στο έπακρο την ταχέως αναπτυσσόμενη βιβλιογραφία και να βελτιώσει την σύνθεση της πληροφορίας από τις μελέτες γενετικής συσχέτισης, έχει προτείνει μια σειρά οδηγιών, που έχουν ως σκοπό την βελτίωση της συστηματικής έρευνας στο πεδίο αυτό. Γι'αυτό το λόγο έχει προχωρήσει στην έκδοση του εγχειριδίου ανασκοπήσεων της HuGE (36).

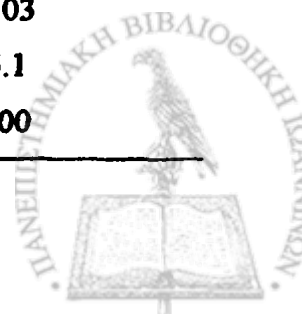


1.3.3. Δημόσια κυκλοφορία των δεδομένων

Άλλος ένας στόχος των συνασπισμών είναι να κάνουν διαθέσιμα τα δεδομένα τους στο ευρύ επιστημονικό κοινό ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν κι από άλλους ερευνητές. Μία τέτοια διεθνής συνεργατική προσπάθεια έχει συντελέσει στην δημιουργία της βάσεως δεδομένων GSEC (Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens). Σκοπός της προσπάθειας αυτής είναι η διαθεσιμότητα δειγμάτων μεγάλου μεγέθους, ώστε οι μελέτες συσχέτισης μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων να έχουν επαρκή στατιστική ισχύ. Τα δείγματα που συλλέγονται είναι διαθέσιμα σε όλους τους συμμετέχοντες αφού γίνουν έλεγχοι ποιότητας και διατίθενται για ανάλυση μετά την υποβολή ανάλογης πρότασης (37, 38). Στην βάση του συνασπισμού έχουν συνεισφέρει πληροφορία 167 ερευνητές, για 49719 ασθενείς και 66336 συμμετέχοντες στην ομάδα ελέγχου για διάφορες εκβάσεις. Στους πίνακες 2 και 3 παρουσιάζεται αναλυτικά η πληροφορία που περιέχει η βάση δεδομένων της GSEC.

Πίνακας 2. Κατανομή εκβάσεων σε διάφορες εντοπίσεις.

Εντόπιση	Απόλυτη συχνότητα περιστατικών	Σχετική συχνότητα
Πνεύμονας	15300	30.8
Ουροδόχος κύστη	4793	9.6
Μαστός	6450	13.0
Κεφαλή και τράχηλος	5224	10.5
Παχύ έντερο	8584	17.3
Στόμαχος	2177	4.4
Λευχαιμία/Λέμφωμα	2010	4.0
Δέρμα	1628	3.3
Προστάτης	861	10.7
Ωοθήκες	147	0.03
Άλλες εντοπίσεις	2545	5.1
Σύνολο	49719	100

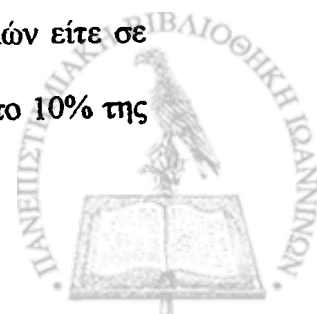


Πίνακας 3. Κατανομή γονιδίων υπό εξέταση σε ασθενείς και μάρτυρες.

Γονίδιο	Ομάδα ελέγχου (v)	Ομάδα ελέγχου (%)	Ασθενείς (v)	Ασθενείς (%)
GSTM1	42132	63.5	34355	69.1
GSTT1	34703	52.3	27369	55.1
CYP1A1	19476	29.4	13793	27.8
CYP2E1	7318	11.0	6339	12.8
CYP2D6	6655	10.0	6228	12.5
NAT2	12868	19.4	9087	18.3
GSTM3	4323	6.4	4505	9.1
GSTP1	16046	24.2	15186	30.6
EPX	5710	8.6	4190	8.4
NAT1	5951	9.0	3855	7.8
ADH3	1783	2.7	663	1.3
NQO1	4561	6.9	4350	8.8
CYP1B1	4852	7.3	4604	9.3
MPO	5177	7.8	4730	9.5
MTHFR	10858	16.4	7053	14.2

Σημ: Περισσότερα από ένα γονίδια μπορεί να εξετάζονται σε έναν συμμετέχοντα

Πέρα από τα αναμφισβήτητα οφέλη για την επιστημονική κοινότητα από την δημόσια κυκλοφορία και κοινή χρήση των δεδομένων υπάρχει όφελος και για τον ίδιο τον επιστήμονα. Προσφέροντας τα δεδομένα αυξάνεται ταυτόχρονα η απήχηση της επιστημονικής προσπάθειάς του. Έχει βρεθεί πως οι μελέτες που διέθεσαν δημόσια τα δεδομένα τους έλαβαν περισσότερες αναφορές στην βιβλιογραφία από αυτές που δεν τα διέθεσαν (39). Βέβαια, αυτό που πρέπει να εξασφαλίζεται είναι η προστασία και η εύκολη πρόσβαση των διαθέσιμων δεδομένων. Η απόφαση για τον χώρο και τρόπο δημοσίευσης και διάθεσής τους είναι κρίσιμη. Αρκετές φορές η αποθήκευση τους είτε ως πρόσθετη πληροφορία σε ιστοχώρους περιοδικών είτε σε προσωπικές/επαγγελματικές ιστοσελίδες είναι βραχύβια (40, 41). Σχεδόν το 10% της



επιστημονικής πληροφορίας που παρέχεται μέσω συνδέσμων από τις σελίδες παγκόσμιας φήμης περιοδικών (*Science, Nature, Cell, New England Journal of Medicine, Lancet, Proceeding of the National Academy of Sciences USA*) χάνεται μέσα στην πρώτη πενταετία (22).

Κεντρικό ρόλο στην προσπάθεια αυτή διαδραματίζει η προσπάθεια ώστε τα δεδομένα να είναι διαθέσιμα και προσβάσιμα από το αμερικάνικο Εθνικό Κέντρο Πληροφορίας για την Βιοτεχνολογία (National Center for Biotechnology Information) της Εθνικής Βιβλιοθήκης της Ιατρικής (National Library of Medicine) (42).



Σκοπός διατριβής

Η Γενετική Επιδημιολογία είναι ένα ραγδαία αναπτυσσόμενο επιστημονικό πεδίο. Όπως προαναφέρθηκε, ενώ ο αριθμός των ερευνών που μελετούν γενετικές συσχετίσεις και κοινά νοσήματα είναι συνεχώς αυξανόμενος, λίγες είναι οι στατιστικά σημαντικές σχέσεις που έχουν αναπαραχθεί σε πολλαπλές μελέτες (43, 44). Η αποτυχία επικύρωσης των μελετών μπορεί να οφείλεται σε χαμηλή στατιστική ισχύ, πολλαπλούς ελέγχους και σφάλματα. Για την βελτίωση της αξιοπιστίας των μελετών γενετικών συσχετίσεων είναι απαραίτητο οι συγγραφείς των εκάστοτε μελετών να παρουσιάζουν και να περιγράφουν με σαφήνεια τους υπό μελέτη πληθυσμούς, τις μεθόδους συλλογής των δεδομένων, τις μεθόδους ανάλυσης και την συμπερασματολογία. Στη διατριβή αυτή, γίνεται μια προσπάθεια λεπτομερούς αξιολόγησης του τρόπου αναφοράς των μελετών και η διερεύνηση των επιπρόσθετων μεθοδολογικών ελλείψεων και των προβλημάτων που αναδύονται για την κατανόηση αλληλεπιδράσεων μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων σε συσχετίσεις με σημαντικά νοσήματα. Στόχος της διατριβής είναι να βελτιστοποιήσει τη δυνατότητα αξιολόγησης και ευρύτερα ωφέλιμης χρήσης της εκρηκτικά αυξανόμενης γενετικής πληροφορίας στην ιατρική και να διερευνήσει τυχόν πηγές σφαλμάτων, ελλείψεων πληροφορίας, και μεροληψιών ώστε να αντιμετωπιστούν με τον καταλληλότερο δυνατό τρόπο.



2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή

Το ειδικό μέρος της διδακτορικής διατριβής αποτελείται από δύο μέρη. Αρχικά εξετάζεται ένα τυχαίο δείγμα από απλές μελέτες γενετικών συσχετίσεων στις οποίες αξιολογούνται πιθανές αλληλεπιδράσεις γονιδίων και περιβάλλοντος σε σύνθετα γενετικά νοσήματα. Στο δεύτερο μέρος, αξιολογούνται όλες οι συστηματικές ανασκοπήσεις που έχουν έως τώρα εμφανιστεί στη βιβλιογραφία την περίοδο 2001-2006 και αφορούν συσχετίσεις γονιδίων και έκθεσης σε περιβαλλοντικούς παράγοντες για πολυσύνθετα νοσήματα



2.1. ΑΠΛΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ/ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

2.1.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1.1.1. Συλλογή δείγματος

Το 2001 το δίκτυο της HuGENet δημιούργησε μια βάση βιβλιογραφίας της γενετικής πληροφορίας (HuGE Published Literature database-HuGE Pub Lit). Πρόκειται για μια συνεχώς ανανεούμενη πηγή, όπου κάποιος μπορεί να αναζητήσει πληροφορία για μελέτες γενετικών συσχετίσεων μέσω του διαδικτύου. Οι σχετικές μελέτες καταχωρούνται εβδομαδιαίως, μετά από αναζήτηση στην PubMed, από έναν επιδημιολόγο ο οποίος καταγράφει το σχεδιασμό της μελέτης, τα γονίδια και τις εκβάσεις που μελετούνται καθώς και τυχόν περιβαλλοντικούς παράγοντες που αλληλεπιδρούν. Αυτή τη στιγμή (Ιανουάριος 2008) η βάση περιέχει περίπου 31500 άρθρα που εξετάζουν μελέτες γενετικών συσχετίσεων. Η πληροφορία αυτή καθώς και ο τίτλος του άρθρου, οι συγγραφείς, η περίληψη, το περιοδικό, η ημερομηνία δημοσίευσης και ο μοναδικός κωδικός της PubMed αποθηκεύονται στη βάση HuGE Pub Lit.

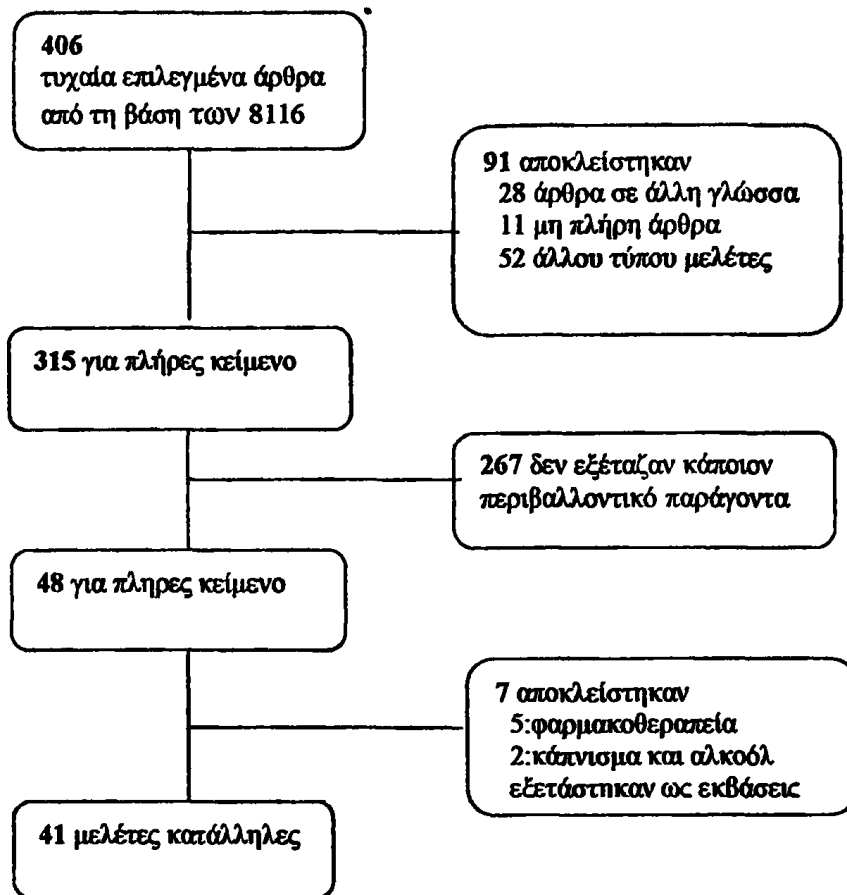
Για να συλλέξουμε άρθρα για την ανάλυση αναζητήσαμε στην HuGE Pub Lit άρθρα που μελετούσαν αλληλεπιδράσεις γονιδίων περιβάλλοντος. Οι οικογενείς μελέτες δεν συλλέγονται με συστηματικό τρόπο στην HuGE Pub Lit και γι' αυτό τον λόγο αποκλείστηκαν από την μελέτη. Επιπλέον, περιορίσαμε την ανάλυση σε πλήρη άρθρα. Άρθρα διαφορετικής μορφής (γράμματα στον εκδότη, περιλήψεις κτλ) μπορεί να περιλαμβάνουν περιληπτικά δεδομένα και να αυξάνουν την ετερογένεια του δείγματος μας. Μόνο άρθρα στην Αγγλική γλώσσα συμπεριλήφθησαν στο δείγμα.



Από την αναζήτηση που κάναμε επιλέξαμε τυχαία 5% των άρθρων που δημοσιεύτηκαν μεταξύ του 2001-2003 και καταλογογραφήθηκαν στην HuGE Pub Lit πριν την 30/5 του 2004 ($n=8115$). Έτσι, συλλέχθηκε ένα δείγμα 406 άρθρων. Από αυτά 91 άρθρα αποκλείστηκαν για τους ακόλουθους λόγους: άλλη γλώσσα πέραν της Αγγλικής ($n=28$), μελέτες σάρωσης του πληθυσμού ($n=23$), κλινικές δοκιμές ή φαρμακογενωμικές μελέτες ($n=16$), μη πλήρη άρθρα ($n=11$), απέτυχαν να εκπληρώσουν τα κριτήρια εισαγωγής στην HuGE Pub Lit μετά από προσεκτικότερη σκέψη ($n=6$), οικογενείς μελέτες ($n=3$), μελέτες γενετικών μελετών ($n=2$) και μετα-αναλύσεις ($n=2$). Από αυτό το τυχαίο δείγμα, απομονώθηκαν-μετά από μελέτη πλήρους κειμένου- 48 δυνητικά κατάλληλες μελέτες για την διδακτορική διατριβή. Από αυτές 5 αποκλείστηκαν γιατί εξέταζαν ως παράγοντα έκθεσης κάποια φαρμακοθεραπεία ενώ σε άλλες δυο μελέτες το κάπνισμα και το αλκοόλ μελετήθηκαν ως τελικές εκβάσεις κι όχι ως παράγοντας έκθεσης. Καταλήξαμε, λοιπόν, με 41 κατάλληλες μελέτες που εξέταζαν με τον έναν ή τον άλλο τρόπο την αλληλεπίδραση γονιδίων και περιβάλλοντος (Σχήμα 4).



Σχήμα 4. Διάγραμμα ροής κατάλληλων μελετών



2.1.1.2. Συλλογή δεδομένων

Τα δεδομένα συλλέχθηκαν από δύο ανεξάρτητους ερευνητές. Όλες οι διαφορές συζητήθηκαν μεταξύ των ερευνητών και κατέληξαν σε συμφωνία. Για τα άρθρα 2001-2003 αναπτύχθηκε μια βάση συλλογής δεδομένων και δοκιμάστηκε πιλοτικά σε 10 άρθρα. Η βάση δεδομένων αναμορφώθηκε ανάλογα με τα αποτελέσματα της πιλοτικής μελέτης, προκειμένου να εξασφαλιστεί πως οι ορισμοί που χρησιμοποιήθηκαν για την συλλογή δεδομένων ήταν ακριβείς και σαφείς. Η τελική φόρμα διαμορφώθηκε έτσι ώστε να συλλέγουν δεδομένα για τον σχεδιασμό της μελέτης, την γονοτυπική μέθοδο, την διαστρωμάτωση του πληθυσμού, τις μεθόδους ανάλυσης και την συμπερασματολογία. Σε περιπτώσεις αναφοράς πολλαπλών ομάδων συμμετεχόντων, καταγράψαμε το δείγμα της μεγαλύτερης ομάδας για τις



μελέτες κοόρτης και τις συγχρονικές μελέτες και της μεγαλύτερης ομάδας ασθενών ή υγιών για τις μελέτες ασθενών-μαρτύρων. Τα δεδομένα συλλέγονταν ξεχωριστά για τις ομάδες των ασθενών και των μαρτύρων στις μελέτες ασθενών-μαρτύρων. Αντίθετα, στις μελέτες κοόρτης και στις συγχρονικές μελέτες τα δεδομένα συλλέγονταν για όλους τους συμμετέχοντες ανεξάρτητα από την κατάσταση της ασθένειας. Για τις ανάγκες της ανάλυσης, τα δεδομένα των ασθενών και των μαρτύρων συνδυάζονταν ώστε να μπορούν να γίνουν υπολογισμοί για όλους τους συμμετέχοντες. Οι πληροφορίες (π.χ η μέση ή διάμεση ηλικία και η κατανομή φύλου) θεωρούνταν πως δίνονταν για όλο τον πληθυσμό, μόνο εάν δίνονταν για όλες τις ομάδες ασθενών και μαρτύρων. Επιπλέον, για τις μελέτες ασθενών-μαρτύρων καταγράψαμε πως ασθενείς και μάρτυρες προέρχονται από τον ίδιο πληθυσμό σε σχέση με τις παρακάτω κατηγορίες: 1) γεωγραφική περιοχή 2) κλινικός πληθυσμός 3) γενικός πληθυσμός 4) ασαφής ή καθόλου πληροφορία σχετικά με την επιλογή των κατάλληλων μαρτύρων.

2.1.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1.2.1. Γενικά

Από το τυχαίο δείγμα των μελετών γενετικής συσχέτισης απομονώθηκαν 48 άρθρα που ήταν δυνητικά κατάλληλα για την μελέτη. Μετά από προσεκτικότερη μελέτη 5 απορρίφθηκαν καθώς εξέταζαν λήψη φαρμάκων, ορμονών, βιταμινών ή άλλες ιατρικές παρεμβάσεις. Άλλα 2 άρθρα μελέτησαν την εξάρτηση στο κάπνισμα και στο αλκοόλ αλλά ως έκβαση κι όχι ως παράγοντα κινδύνου. Τελικά 41 μελέτες που δημοσιεύτηκαν σε 27 περιοδικά κρίθηκαν κατάλληλες (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1).



2.1.2.2. Περιγραφή του σχεδιασμού της μελέτης

Είκοσι οχτώ μελέτες ήταν ασθενών-μαρτύρων, 10 συγχρονικές, 2 μελέτες κοόρτης και μία case-only. Οι μελέτες αυτές δημοσιεύτηκαν σε 27 διεθνή περιοδικά.. Ο διάμεσος αριθμός δείγματος των μελετών ήταν 354 με ενδοτεταρτημοριακό εύρος 201- 774. Οχτώ άρθρα είχαν πληθυσμό >1000. Μόνο σε 4 άρθρα έγινε κάποια αναφορά στην ισχύ της μελέτης. Βασικά χαρακτηριστικά της μελέτης όπως κάποια αναφορά στην ηλικία και στο φύλο των συμμετεχόντων έλειπαν από 6 και 3 άρθρα αντίστοιχα.

2.1.2.3. Μεθοδολογία γονοτυπικού ελέγχου

Το 17.1% ($v=7$) των άρθρων ανέφεραν πως τα αποτελέσματα του γονοτυπικού ελέγχου επικυρώθηκαν με διπλό έλεγχο δειγμάτων. Σε 6 μελέτες η επικύρωση έγινε με διαφορετικές μεθόδους. Τυφλή αξιολόγηση του γονοτυπικού ελέγχου ως προς την έκβαση και της έκβασης ως προς τον γονοτυπικό έλεγχο δεν αναφέρθηκε σε κανένα άρθρο (Πίνακας 4). Μόνο στο 22% ($v=9$) των άρθρων αναφέρθηκε ότι έχουν χαθεί άτομα στην πορεία της μελέτης.

2.1.2.4. Ανάλυση και συμπερασματολογία στα άρθρα

Στο 65.9% ($v=27$) των άρθρων μελετήθηκε ένας περιβαλλοντικός παράγοντας, δύο εξετάστηκαν στο 29.3% ($v=12$) των άρθρων, ενώ τρεις ή παραπάνω στο 4.9% ($v=2$). Εκτιμήσαμε πως η έκθεση στον περιβαλλοντικό παράγοντα θα μπορούσε να δυσταξινομηθεί σε περισσότερα από τα 4/5 των άρθρων (Πίνακας 4).



**Πίνακας 4. Αναφερόμενα χαρακτηριστικά στις μελέτες αλληλεπίδρασης
γονιδίων/περιβάλλοντος.**

Αναφερόμενο χαρακτηριστικό	Απόλυτη συχνότητα	Σχετική Συχνότητα (%)
Αριθμός περιβαλλοντικών παραγόντων που εξετάστηκαν στις αλληλεπιδράσεις γονιδίων-περιβάλλοντος		
1	27	65.9
2	12	29.3
≥3	2	4.8
Πιθανότητα δυσταξινόμησης των περιβαλλοντικών παραγόντων		
Όχι	3	7.3
Ασαφές	4	9.8
Ναι	34	82.9
Περιγράφηκαν τα πιθανά σφάλματα μέτρησης των περιβαλλοντικών παραγόντων		
Όχι	38	92.7
Ναι	3	7.3
Χρησιμοποιήθηκαν δοσο-εξαρτώμενα μοντέλα		
Όχι	38	92.7
Ναι	3	7.3
Αναφέρθηκε εάν ο γονοτυπικός έλεγχος ήταν τυφλός στον περιβαλλοντικό παράγοντα		
Τυφλός	0	0.0
Ασαφές	41	100.0
Αναφέρθηκε εάν ο περιβαλλοντικός παράγοντας ήταν τυφλός στον γονοτυπικό έλεγχο		
Τυφλός	0	0.0
Ασαφές	41	100.0
Εάν εξετάστηκε η αλληλεπίδραση γονιδίων περιβάλλοντος, ο κίνδυνος ποσοτικοποιήθηκε ως κίνδυνος αναλογιών (OR) ή λόγος κινδύνων (Risk Ratio)		
Όχι	18	43.9
Ναι	23	56.1
Εάν εξετάστηκε η αλληλεπίδραση γονιδίων περιβάλλοντος, ο κίνδυνος ποσοτικοποιήθηκε ως απόλυτη διαφορά		
Όχι	41	100.0
Ναι	0	0.0
Εάν εξετάστηκε η αλληλεπίδραση γονιδίων περιβάλλοντος, ο κίνδυνος ποσοτικοποιήθηκε ως αποδοτέο κλάσμα (attributable fraction)		
Όχι	41	100.0
Ναι	0	0.0
Υσχυρισμός για στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση γονιδίων-περιβάλλοντος		
Όχι	30	73.2
Ναι	11	26.8

Οι κυριότερες εκβάσεις που μελετήθηκαν ήταν διάφοροι τύποι καρκίνου και
καρδιαγγειακά προβλήματα (Πίνακας 3). Το κάπνισμα και το αλκοόλ εξετάστηκαν



στο σύνολο σχεδόν των μελετών (38/41), είτε ανεξάρτητα είτε σε συνδυασμό με κάποιους άλλους παράγοντες (Πίνακας 4).

Πίνακας 5. Εκβάσεις που περιλαμβάνονται στο τυχαίο δείγμα των μελετών αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.

Έκβαση	Απόλυτη συχνότητα	Σχετική Συχνότητα (%)
Καρκίνος	14	29.2
Καρδιαγγειακά	12	25.0
Περιοδοντίτιδα	3	6.2
Ατοπία και άσθμα	2	4.2
Άλλες εκβάσεις	17	35.4

Πίνακας 6. Περιβαλλοντικοί παράγοντες που περιλαμβάνονται στο τυχαίο δείγμα των μελετών αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.

Παράγοντας έκθεσης	Απόλυτη συχνότητα	Σχετική Συχνότητα (%)
Κάπνισμα	22	53.66
Κάπνισμα, Αλκοόλ	7	17.09
Αλκοόλ	2	4.88
Αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες, κάπνισμα	1	2.44
Έκθεση σε UV ακτινοβολία	1	2.44
Κάπνισμα, διαιτητικές συνήθειες, αλκοόλ	1	2.44
Κάπνισμα, έκθεση σε άλλους καρκινογόνους παράγοντες	1	2.44
Οργανικά λιπάσματα	1	2.44
Ραδόνιο, αρσενικό, καπνός, αλκοόλ	1	2.44
Κάπνισμα, διατροφικές συνήθειες	1	2.44
Κάπνισμα, έκθεση σε εργασιακούς κινδύνους	1	2.44
Κοινωνικοοικονομικό περιβάλλον	1	2.44

Ελάχιστες μελέτες παρουσίασαν μια περιγραφή πιθανών πηγών σφαλμάτων μέτρησης των περιβαλλοντικών κινδύνων ή χρησιμοποίησαν δοσο-εξαρτώμενα μοντέλα. Σε κανένα από τα άρθρα δεν αναφέρθηκε εάν η αξιολόγηση του περιβαλλοντικού παράγοντα ήταν τυφλή ως προς τον γονότυπο ή εάν το εργαστηριακό προσωπικό που έκανε τους γενετικούς ελέγχους ήταν τυφλό ως προς



τον περιβαλλοντικό παράγοντα. Ο κίνδυνος ποσοτικοποιήθηκε ως λόγος κινδύνου (Risk Ratio) ή ως λόγος αναλογιών (Odds Ratio) σε περισσότερα από τα μισά άρθρα. Αποδοτέα κλάσματα (attributable fraction) ή απόλυτες διαφορές (absolute differences) δεν χρησιμοποιήθηκαν ποτέ. Στο 26.8% ($n=11$) των άρθρων υπήρξε ο ισχυρισμός πως βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις γονιδίων-περιβάλλοντος (Πίνακας 4).



2.2. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ / ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

2.2.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.2.1.1. Συλλογή δείγματος

Και σε αυτή την περίπτωση η συλλογή του δείγματος έγινε με τη συμβολή της βάσης δεδομένων HuGE Pub Lit. Σκοπός ήταν να δημιουργήσουμε μια βάση δεδομένων από μετα-αναλύσεις που δημοσιεύθηκαν από το 2001-2006 και οι οποίες αναφέρουν κάποιο μέγεθος επίδρασης (effect size) για μία τουλάχιστον ομάδα ασθενών στους οποίους μελετήθηκε τουλάχιστον ένας γενετικός κι ένας περιβαλλοντικός παράγοντας κινδύνου. Συμπεριλάβαμε μετα-αναλύσεις ανεξάρτητα από το εύρος της διαθέσιμης πληροφορίας και τον τύπο της μελέτης. Η λήψη φαρμάκων, ορμονών, βιταμινών ή άλλες ιατρικές παρεμβάσεις δεν αξιολογούνται ως περιβαλλοντικοί παράγοντες. Εξαιρέσαμε μελέτες που συνθέτουν ξεχωριστά στο ίδιο άρθρο την επίδραση των γενετικών παραγόντων από αυτή της περιβαλλοντικής έκθεσης. Επίσης εξαιρέσαμε τις μελέτες εκείνες που δεν εξέτασαν συστηματικά την αλληλεπίδραση μεταξύ ενός γενετικού πολυμορφισμού και ενός περιβαλλοντικού παράγοντα. Άρθρα γραμμένα αποκλειστικά στην αγγλική γλώσσα συμπεριλήφθησαν στο δείγμα

2.2.1.2. Συλλογή δεδομένων

Σε όσες μελέτες κρίθηκαν κατάλληλες για το δείγμα μας καταγράψαμε τον τύπο της μελέτης, τον αριθμό των γενετικών πολυμορφισμών, τον αριθμό και το είδος της περιβαλλοντικής έκθεσης και εάν η μελέτη της αλληλεπίδρασης γονιδίων



περιβάλλοντος ήταν η κύρια ή δευτερεύουσα ανάλυση. Επίσης, καταγράψαμε τον αριθμό και το μέγεθος των μελετών που συμπεριελήφθησαν σε κάθε ανάλυση, το μέγεθος της συνολικής επίδρασης (summary effect size) και εάν ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0.05$), με ποιο στατιστικό μοντέλο υπολογίστηκε και το εάν και με ποιο τρόπο αξιολογήθηκε η ετερογένεια της μελέτης. Ακόμη, καταγράψαμε εάν υπήρχε κάποια αναφορά για τυφλοποίηση του γενετικού ελέγχου στον περιβαλλοντικό παράγοντα, εάν έγινε ο έλεγχος ισορροπίας κατά Hardy-Weinberg και εάν είχε αξιολογηθεί η πιθανότητα ο παράγοντας έκθεσης να έχει δυσταξινομηθεί.

Πέραν των ανωτέρων χαρακτηριστικών καταγράψαμε τα εξής:

- α) εάν οι μελέτες εξέτασαν την επίδραση μιας περιβαλλοντικής έκθεσης έναντι της μη έκθεσης σε μια συγκεκριμένη γενετική ομάδα καθώς
- β) εάν εξέτασαν την επίδραση της παρουσίας ή της απουσίας ενός γενετικού παράγοντα σε μια συγκεκριμένη ομάδα έκθεσης.
- γ) την επίδραση όλων των πιθανών συνδυασμών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων
- δ) άλλοι πιθανοί συνδυασμοί.

Εν τέλει καταγράψαμε εάν οι ερευνητές δηλώνουν πως υπάρχει κάποια σχέση αλληλεπίδρασης γονιδίου/περιβάλλοντος και προσπαθήσαμε να αξιολογήσουμε εάν ο ισχυρισμός αυτός είναι δικαιολογημένος δεδομένου του μεγέθους και της αβεβαιότητας των παρατηρούμενων επιδράσεων.

2.2.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.2.2.1 Γενικά

Από την βάση των συστηματικών μελετών της HuGE 55 μελέτες επιλέχθηκαν αρχικά ως δυνητικά κατάλληλες για την μελέτη. Από αυτές 9 εξέταζαν φάρμακα,



ορμόνες, βιταμίνες ή άλλες ιατρικές παρεμβάσεις, 5 μελέτες δεν εξέτασαν ξεχωριστά τον γενετικό και τον περιβαλλοντικό παράγοντα κινδύνου, 4 δεν είχαν επαρκή δεδομένα ώστε να προχωρήσουν σε σύνθεση και τέλος 2 εξέταζαν το οικογενειακό ιστορικό. Επομένως, 35 άρθρα συμπεριλαμβάνονται σε αυτή τη μελέτη (ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2).

2.2.2.2. Περιγραφικά

Μελετήθηκαν κυρίως διάφοροι καρκίνοι με συχνότερους τον καρκίνο του πνεύμονα ($n=6$), του παχέως εντέρου ($n=5$) και της ουροδόχου κύστης ($n=4$). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες περιελάμβαναν κυρίως το κάπνισμα ($n=29$) και το αλκοόλ ($n=10$). Οι γενετικοί παράγοντες κινδύνου που μελετήθηκαν, ήταν γνωστά ογκογονίδια, τα οποία ως επί τω πλείστον περιέχονται στην βάση της GSEC, όπως το GST, CYP. Στον πίνακα 7 συνοψίζονται όλες οι σχέσεις που μελετήθηκαν.

Πίνακας 7. Συστηματικές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος.

Έκβαση	Περιβαλλοντικός παράγοντας	Γονίδιο
Καρκίνος γαστρεντερικού ^a	κάπνισμα, αλκοόλ	CYP1E1
Καρκίνος γαστρεντερικού ^a	κάπνισμα	GSTM1
Καρκίνος πνεύμονα ^a	κάπνισμα	CYP1A1
Καρκίνος πνεύμονα ^a	κάπνισμα, έκθεση στο εργασιακό περιβάλλον	GSTT1
Καρκίνος ουροδόχου ^a	κάπνισμα	GSTM1
Καρκίνος πνεύμονα ^a	κάπνισμα	MPO, GSTM3, NQO1, NAT2, GPX1, GSTP, GSTM3, GSTT1
Καρκίνος πνεύμονα ^a	κάπνισμα	GSTM1, GYP1A1
Καρκίνος πνεύμονα ^a	κάπνισμα	GSTM1
Καρκίνος παχέως εντέρου ^a	κάπνισμα	GSTM1



Καρκίνος ουροδόχου ^a	κάπνισμα	NAT2, GSTM1
Καρκίνος μαστού ^a	κάπνισμα	GSTM1, GSTT1, GSTP1
Καρκίνος μαστού ^a	κάπνισμα	NAT2, NAT1, CYP1A1, GSTM1, GSTT1, MnSOD2, XRCC1, OGG1
Διάφοροι καρκίνοι ^a	κάπνισμα	VDR
Καρκίνος παχέως εντέρου ^a	γαλακτοκομικά προϊόντα	MTHFR
Καρκίνος οισοφάγου ^a	κάπνισμα, αλκοόλ	
Καρκίνος γαστρεντερικού ^a		
Καρκίνος παγκρέατος ^a		
Καρκίνος κεφαλής και τραχήλου ^a	κάπνισμα	GSTP1, GSTM1, GSTT1, CYP1A1
Καρκίνος ουροδόχου ^a	κάπνισμα, έκθεση στο εργασιακό περιβάλλον	NAT2
Καρκίνος ουροδόχου ^a	κάπνισμα, βενζιδίνη	NAT2
Καρκίνος πνεύμονα ^a	κάπνισμα	NQO1
Καρκίνος κεφαλής και τραχήλου ^a	αλκοόλ	ADH1C
Καρκίνος οισοφάγου ^a	αλκοόλ	ALDH2
Έμφραγμα μυοκαρδίου ^b	κάπνισμα, δείκτης μάζας σώματος	ESR1
Διαβήτης ^b	Δείκτης μάζας σώματος	LPL
Καρδιαγγειακές παθήσεις ^b	Κάπνισμα, δείκτης μάζας σώματος, αλκοόλ	CETP
Καρκίνος παχέως εντέρου ^b	Κάπνισμα, δείκτης μάζας σώματος, φυσική δραστηριότητα, αλκοόλ, κόκκινο κρέας	MTHFR, NAT2, GSTM1, GSTT1
Επίπεδα λιπιδίων ^b	Δίαιτα, δείκτης μάζας σώματος	CYP7A1
Κατανάλωση αλκοόλ ^b	Κάπνισμα	DRD2
Διαβήτης, καρδιαγγειακά ^b	Δείκτης μάζας σώματος	LPL



Καρδιαγγειακά ^b	κάπνισμα	MTHFR
Καρκίνος μαστού ^c	• Κάπνισμα, αλκοόλ, πολυχλωριούχα βιφαίνδια	CYP1A1
Καρκίνος παχέως εντέρου ^c	αλκοόλ	MTHFR
Καρδιαγγειακά ^c	κάπνισμα	XRCC3
Καρκίνος ^c	Κάπνισμα, αλκοόλ, έκθεση σε εργασιακούς παράγοντες, ηλιακή ακτινοβολία	XPD/ERCC2
Καρκίνος παχέως εντέρου ^c	Δίαιτα, κάπνισμα, αλκοόλ	MTHFR, NAT2, GSTM1, GSTT1
Καρδιαγγειακά νοσήματα ^c	Κάπνισμα	NOS3
Παχυσαρκία ^c	Δίαιτα	LEPR, PPARG

a: Από κοινού ανάλυση γονιδίου-περιβάλλοντος

b: Συνεκτίμηση του περιβαλλοντικού παράγοντα από κοινού με άλλους

c: Δεν έγινε σύνθεση των δεδομένων

Σε 21 άρθρα οι ερευνητές προχώρησαν σε κάποια από κοινού ανάλυση του γενετικού κινδύνου με τον περιβαλλοντικό παράγοντα.. Σε 8 άρθρα η πληροφορία δεν ήταν επαρκής προκειμένου οι να προχωρήσουν στο υπολογισμό ενός μεγέθους επίδρασης. Παρόλα αυτά περιέλαβαν τον περιβαλλοντικό παράγοντα μαζί με άλλους παράγοντες σε κάποιο μοντέλο (συνήθως γραμμικό) προκειμένου να υπολογιστεί κάποιος στατιστικό μέτρο κινδύνου. Τέλος σε 7 άρθρα, οι ερευνητές αν και προχώρησαν σε συστηματική εξαγωγή των μελετών και περιγραφή τους, δεν προχώρησαν σε σύνθεση της ανασυρόμενης πληροφορίας. Σύμφωνα με τους ερευνητές, είτε η πληροφορία δεν ήταν επαρκής, είτε θεώρησαν πως οι μελέτες ήταν υπερβολικά ετερογενείς μεταξύ τους.

Στις 21 μελέτες όπου οι ερευνητές προχώρησαν σε κάποια σύνθεση των δεδομένων, 7 προχώρησαν σε σύνθεση των δεδομένων χρησιμοποιώντας μεθόδους



μετα-ανάλυσης ενώ 12 χρησιμοποίησαν ατομικά δεδομένα ώστε να προχωρήσουν σε αναλύσεις. Συνολικά έγιναν 46 συγκρίσεις. Σε 2 μελέτες οι ερευνητές χρησιμοποίησαν και τις δύο μεθόδους. Ο διάμεσος αριθμός των μελετών που χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή συμπερασμάτων είναι 7 με ενδοτεταρτημοριακό εύρος (2-9). Η μελέτη σχεδιάστηκε ώστε να αξιολογήσει ως κύρια ανάλυση τις αλληλεπιδράσεις γονιδίων περιβάλλοντος σε 4 περιπτώσεις. Η ετερογένεια εξετάστηκε σε 13 περιπτώσεις, ενώ η ισορροπία κατά Hardy-Weinberg, συζητήθηκε ή υπολογίστηκε σε 7 άρθρα, ενώ σε κανένα άρθρο δεν παρουσιάστηκε εάν υπήρχε κάποια τυφλοποίηση. Περιορισμοί στις μελέτες συζητούνται σε 8 άρθρα, με κυριότερους την δυσταξινόμηση του περιβαλλοντικού παράγοντα και την ανεπάρκεια στατιστικής ισχύος στον υπολογισμό των σχέσεων.

Σε 4 άρθρα οι ερευνητές δήλωσαν πως βρήκαν κάποια σχέση αλληλεπίδρασης μεταξύ γενετικού και περιβαλλοντικού παράγοντα. Σε 2 μελέτες εκτιμήθηκε ο κίνδυνος για καρκίνο του πνεύμονα, σε μία για καρκίνο της ουροδόχου κύστης, ενώ ένα άρθρο συμπεριλάμβανε διάφορες μορφές καρκίνου. Ο περιβαλλοντικός παράγοντας κινδύνου ήταν το κάπνισμα σε 3 περιπτώσεις, ενώ σε μία έκθεση στην εργασία σε διάφορους καρκινογόνους παράγοντες. Στον πίνακα 8 παρουσιάζονται με λεπτομέρειες οι 3 σχέσεις στις οποίες εμφανίζεται κάποια σχέση κατά δήλωση των ερευνητών.



Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά μελετών που εμφάνισαν στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση γονιδίου/περιβάλλοντος

Έτος	Έκβαση	Περιβάλλον	Γονίδιο	Ομοιογενής Ομάδα κινδύνου	N μελετών	Ισχυρισμός	Είδος ανάλυσης	Έλεγχος αλληλεπίδρασης	Περιορισμοί
2003	Καρκίνος πνεύμονα	Κάπνισμα	CYP1A1	Όχι	11	Κίνδυνος αυξημένος στους μη καπνιστές	Λογαριθμιστική παλινδρόμηση ατομικών δεδομένων	Λόγος πιθανοφανειών	Πιθανή δυσταξινόμηση καπνίσματος, μικρή στατιστική ισχύς
2006	Καρκίνος πνεύμονα	Έκθεση στην εργασία	GSTT1	Όχι	25	Κίνδυνος αυξημένος στους εκτεθειμένους	Λογαριθμιστική παλινδρόμηση ατομικών δεδομένων	Λόγος πιθανοφανειών	Μη επαρκής πληροφωρία για ποσότητα και χρόνο έκθεσης
2005	Καρκίνος ουροδόχου κύστης	Κάπνισμα	NAT2	Ασαφές	22	Κίνδυνος αυξημένος στους καπνιστές	Μετα-ανάλυση	Έλεγχος για πολλαπλασιαστική αλληλεπίδραση	Δεν αναφέρονται
2003	Καρκίνος (πνεύμονα, ουροδόχου, παγκρέατος)	Κάπνισμα	XRCC1	Όχι	7	Κίνδυνος αυξημένος στους ελαφρούς καπνιστές, μειωμένος στους βαρείς	Μετά-ανάλυση	Δεν αναφέρεται	Διαφορετικές πηγές ασθενών και μαρτύρων

Σε μια περίπτωση που εξέταζε αποκλειστικά μη καπνιστές, η στατιστικά σημαντική επίδραση χάνονταν μετά τον αποκλεισμό κάποιων μελετών. Η μελέτη αυτή που εξέταζε τη σχέση του CYP1A1 είχε αλληλοκαλυπτόμενη πληροφορία με την μελέτη που περιγράφηκε πιο πάνω και παρουσιάζεται στον πίνακα 8. Τέλος υπάρχουν και δύο περιπτώσεις (καρκίνος του πνεύμονα και κάπνισμα) όπου αν και το αποτέλεσμα δεν ήταν στατιστικά σημαντικό, οι ερευνητές αναφέρουν πως υπάρχει κάποια σχέση αλληλεπίδρασης μεταξύ του μελετούμενου γενετικού παράγοντα και του καπνίσματος.



3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 Απλές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος

Οι εκβάσεις στο τυχαίο δείγμα αφορούσαν κυρίως καρκίνο και καρδιαγγειακά νοσήματα, ενώ οι κύριοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν το κάπνισμα και το αλκοόλ. Η αναφορά διάφορων ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών στις μελέτες ήταν φτωχή.

Το μέγεθος του δείγματος και η ισχύς της μελέτης μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων. Πολλές μετα-αναλύσεις βρήκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα μικρών και μεγάλων μελετών γενετικών συσχετίσεων (43, 44). Στο τυχαίο δείγμα μας μόνο 17% των μελετών είχαν πάνω από 1000 συμμετέχοντες. Επίσης, ελάχιστες μελέτες προχώρησαν σε κάποια ανάλυση ισχύος. Υπάρχουν ενδείξεις πως οι γενετικοί παράγοντες έχουν μικρή επίδραση στον κίνδυνο να αναπτύξει κάποιος μια σύνθετη πολυπαραγοντική ασθένεια (45, 46). Ο κίνδυνος αυτός είναι πιο δύσκολο να μετρηθεί και να ποσοτικοποιηθεί όταν υπεισέρχεται και ο περιβαλλοντικός παράγοντας. Είναι προφανές πως χιλιάδες, εάν όχι δεκάδες χιλιάδες συμμετέχοντες μπορεί να απαιτούνται ώστε να επιτευχθεί η απαραίτητη ισχύς που θα επιτρέψει την εντόπιση αληθινών αλληλεπιδράσεων γονιδίων-περιβάλλοντος (45, 47-49).

Η αξιολόγηση των σφαλμάτων επιλογής ήταν περιορισμένη στις μελέτες που εξετάσαμε. Αν και οι μελέτες παρείχαν κάποιες ποιοτικές πληροφορίες των συμμετεχόντων (όπως καταγωγή και κριτήρια εισόδου στη μελέτη), η αναφορά ήταν περιορισμένη ακόμη και για απλούς ποσοτικούς δείκτες, όπως η ηλικία και το φύλο. Άλλες σημαντικές πληροφορίες όπως ο αριθμός των ατόμων που εξαιρέθηκαν ή ο αριθμός των ατόμων που δεν γονοτυπήθηκαν πολλές φορές παραλείπεται.



Η δυσταξινόμηση είναι άλλος ένας παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την ισχύ και την μεροληψία των αποτελεσμάτων μιας μελέτης (12, 49-53). Υπολογίσαμε πως πέρα από τις φαινοτυπικές εκβάσεις, περίπου τα 4/5 των μελετών εμφανίζουν ισχυρή πιθανότητα να δυσταξινομήσουν τους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Επίσης, ελάχιστες μελέτες χρησιμοποίησαν μέτρα, όπως η τυφλοποίηση του τεχνικού προσωπικού και η επιβεβαιωτική επανάληψη τυχαίων δειγμάτων, που θα μπορούσαν να περιορίσουν την δυσταξινόμηση του γενετικού παράγοντα (53).

Ο αριθμός των μελετών γενετικών συσχετίσεων συνεχώς αυξάνεται. Παρόλα αυτά ελάχιστα ευρήματα έχουν επιβεβαιωθεί. Πιθανές αιτίες αυτού του φαινομένου είναι όλες οι κλασσικές πηγές σφαλμάτων και μεροληψίας όπως χαμηλή ισχύς του δείγματος, σφάλματα μέτρησης και συγχυτικοί παράγοντες. Αντιλαμβάνεται κανείς πως στις μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος το πρόβλημα γίνεται οξύτερο, καθώς ένας νέος παράγοντας, ο περιβαλλοντικός, υπεισέρχεται στη μελέτη πολλαπλασιάζοντας τα πιθανά σφάλματα και τις μεροληψίες.

Η χρήση κοινών μεθοδολογικών προσεγγίσεων και τρόπων αναφοράς της πληροφορίας μπορεί να ενισχύσει την διαφάνεια της ερευνητικής μεθοδολογίας(6, 54). Αυτό θα συμβάλλει στην εντόπιση της επιλεκτικής αναφοράς και πηγών μεροληψίας και σύγχυσης, ενώ θα επιτρέψει την ολοκληρωμένη σύνθεση των δεδομένων ή τις μετα-ανάλυσης. Πρόσφατα τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης παρουσιάστηκαν σε μια ομάδα εργασίας της HuGENet που έχει ως σκοπό την ενίσχυση της αναφοράς των μελετών γενετικών συσχετίσεων (Strengthening the Reporting of Genetic Associations [STREGA])(55). Η ομάδα κατέληξε με την επέκταση της δήλωσης STROBE (Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology) (56) ώστε να αντιμετωπίσει συγκεκριμένες προκλήσεις που δημιουργούνται σε μελέτες γενετικών συσχετίσεων.



Για να συνοψίσουμε, η διατριβή αυτή παρέχει απτές ενδείξεις πως η αναφορά των διάφορων χαρακτηριστικών στις μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος είναι κάτω του επιθυμητού. Από τη στιγμή που η ξεκάθαρη και σωστή αναφορά είναι βασικό χαρακτηριστικό που συμβάλλει στην αξιολόγηση της ανάλυσης, η θέσπιση τυποποιημένων κανόνων αναφοράς μπορεί να βοηθήσει στην αναπαραγωγή μελετών γενετικών συσχετίσεων στο μέλλον

3.2. Συστηματικές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος

Οι εκβάσεις στην συντριπτική πλειονότητα των μελετών ήταν νεοπλασματικές νόσοι. Το κάπνισμα και το αλκοόλ ήταν οι περιβαλλοντικοί παράγοντες έκθεσης που σχεδόν μονοπώλησαν το ενδιαφέρον στη συγκεκριμένη βιβλιογραφία. Πολλές από τις έρευνες χρησιμοποίησαν ατομικά δεδομένα προκειμένου να εξετάσουν πιθανές σχέσεις. Οι περισσότερες μελέτες δεν σχεδιάστηκαν με κύριο σκοπό την να εξετάσουν την αλληλεπίδραση γονιδίων και περιβάλλοντος ενώ η πληροφορία για την τυφλοποίηση και την ισορροπία κατά Hardy- Weinberg ήταν ελλιπής. Οι περισσότερες ερευνητικές προσπάθειες προήρθαν από τον διεθνή συνασπισμό GSEC(37) ακολουθώντας αρκετές φορές τους προτεινόμενους κανόνες ανασκοπήσεων του δικτύου HuGENet (HuGE Reviews).

Είναι αναμενόμενο οι συστηματικές μελέτες που εξετάζουν από κοινού κάποιο γενετικό και περιβαλλοντικό παράγοντα να κουβαλούν όλα τα προβλήματα της έρευνας των απλών μελετών αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος που περιγράφηκε παραπάνω. Είναι λοιπόν λογικό, η ποσοτική σύνθεση δεδομένων από απλές μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος να αποτελεί έναν δυσεπίλυτο γρίφο ακόμη και για τις πιο αξιόλογες των ομάδων, ή να είναι και πρακτικά αδύνατη

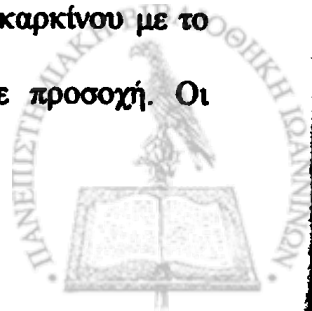


ορισμένες φορές. Σε αρκετές περιπτώσεις οι ερευνητές δεν προχώρησαν σε σύνθεση των δεδομένων.

Όταν η αξιολόγηση διάφορων πηγών μεροληψίας, όπως των σφαλμάτων επιλογής, σφαλμάτων μέτρησης, συγχυτικών παραγόντων του παράγοντα έκθεσης απουσιάζει από μία μελέτη, αντανακλάται στη σύνθεση των μελετών αυτών. Η δυσταξινόμηση του παράγοντα έκθεσης μπορεί να επηρεάσει την εκτίμηση μιας αλληλεπίδρασης. Το μέγεθος της μεροληψίας εξαρτάται από την επίπτωση της δυσταξινομούμενης έκθεσης και από το μοντέλο αλληλεπίδρασης που χρησιμοποιείται(10). Είναι επίσης χρήσιμο να γνωρίζει κανείς εάν οι αξιολογητές είναι 'τυφλοί' στην έκβαση, στα αποτελέσματα της γονοτύπισης και στον εκθετικό παράγοντα κινδύνου. Μη τυφλή αξιολόγηση μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετική δυσταξινόμηση. Στις συστηματικές μελέτες που εξετάστηκαν υπήρχε παντελής έλλειψη αυτής της πληροφορίας.

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που εμφανίστηκαν να αλληλεπιδρούν με κάποιον γενετικό πολυμορφισμό είναι το κάπνισμα και η έκθεση σε παράγοντες στον εργασιακό χώρο. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές περιγράφηκαν ως παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα και της ουροδόχου κύστης. Παρόλα αυτά, από τις σχέσεις που εμφανίστηκαν ως στατιστικά σημαντικές δεν έλειπαν οι περιοριστικοί εκείνοι παράγοντες που μπορεί να τις ακυρώνουν. Μη επαρκής στατιστική ισχύς, μεθοδολογικά προβλήματα, πιθανή δυσταξινόμηση του περιβαλλοντικού παράγοντα εμφανίζονται σε όλες αυτές τις μελέτες.

Χαρακτηριστικά, και σε αυτές τις σχέσεις που παρουσιάστηκαν ως στατιστικά σημαντικές, οι ορισμοί για την ομάδα των καπνιστών ήταν διαφορετικοί σε κάθε μελέτη. Ακόμη, λοιπόν και σε μια κλασσική σχέση όπως αυτή του καρκίνου με το κάπνισμα ο κίνδυνος που προκύπτει πρέπει να προσεγγίζεται με προσοχή. Οι



περιορισμοί που αναφέρθηκαν μπορούν εύκολα να οδηγήσουν σε υπερεκτίμηση (ή υποεκτίμηση) του υπολογιζόμενου μέτρου κινδύνου(57).

Αν και ο όρος «αλληλεπίδραση γονιδίου-περιβάλλοντος» χρησιμοποιείται συχνά υπονοώντας μια συγκεκριμένη σχέση μεταξύ γονιδίου και περιβάλλοντος, υπάρχουν πολλά μαθηματικά μοντέλα που προσπαθούν να αξιολογήσουν μια στατιστική σχέση μεταξύ γονιδίων και περιβάλλοντος. Ως αποτέλεσμα της συνεχούς συσσώρευσης πληροφορίας οι ερευνητές μπορούν να εξετάσουν χιλιάδες γονίδια και την αλληλεπίδραση τους με το περιβάλλον. Η βελτιστοποίηση της ανάλυσης και παρουσίασης τέτοιων σχέσεων είναι πραγματική πρόκληση. Διάφορες μέθοδοι έχουν προταθεί για την επίτευξη του σκοπού αυτού (18, 58-60). Φυσικά, η ανάλυση αλληλεπιδράσεων χρησιμοποιεί συνήθως πολύπλοκα μοντέλα και μεθόδους με αποτέλεσμα τα δεδομένα να είναι δύσκολο να ερμηνευτούν και γενικευτούν (61). Η επίλυση των μεθοδολογικών προβλημάτων σε συνδυασμό με την βελτίωση της αναφοράς των απλών μελετών θα οδηγήσει και στην βελτίωση των συστηματικών μελετών

Το επόμενο ουσιαστικό βήμα προκειμένου να αναζητηθούν πιθανές σχέσεις γονιδίων-περιβάλλοντος θα είναι η ποσοτική σύνθεση δεδομένων από μελέτες συσχέτισης ευρέως γονιδιώματος. Η μετα-ανάλυση των δεδομένων από τέτοιες μελέτες είναι εφικτή αλλά επιδέχεται βελτίωση. Μέχρι στιγμής λίγες τέτοιου είδους αναλύσεις έχουν δημοσιευτεί και σε καμιά από αυτές δεν εξετάστηκε κάποιος περιβαλλοντικός παράγοντας (27). Καταχώρηση δεδομένων για κινδύνους έκθεσης, μεγαλύτερη αλληλοκάλυψη μεταξύ των διάφορων πλατφόρμων (27) καθώς και υπολογισμός της ετερογένειας (29) αποτελούν σημαντικά στοιχεία για την αξιοποίηση των μελετών αυτών.



4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η γενετική αποτελεί ένα ταχύτατα αναπτυσσόμενο πεδίο και οι υποσχέσεις που έχει δώσει για τη μεταμόρφωση της ιατρικής, τόσο σε προληπτικό όσο και σε θεραπευτικό επίπεδο, είναι τεράστιες. Οι εφαρμογές της γενετικής πληροφορίας αναμένεται να αποτελέσουν την κινητήρια δύναμη για την μεταμόρφωση τόσο της ατομικής υγείας, όσο και αυτής ολόκληρων πληθυσμών. Τα οικονομικά οφέλη προσδοκάται να είναι εξαιρετικά μεγάλα για τις κοινωνίες που θα μπορέσουν να τιθασεύσουν πιο αποτελεσματικά και γρήγορα αυτή την τεράστια πληροφορία.

Ο έλεγχος γενετικών παραγόντων κινδύνου αναμένεται να είναι πολύ χρήσιμος για την εφαρμογή προληπτικών μέτρων σε ομάδες ατόμων υψηλού κινδύνου. Είναι χαρακτηριστικό πως τις εξελίξεις στη γενετική τις παρακολουθούν με ενδιαφέρον όχι μόνο ειδικοί επιστήμονες, αλλά και το γενικότερο κοινό, όπως και πληθώρα επιχειρηματιών από διάφορους κλάδους, όπως ασφαλιστικές εταιρείες, ιδρύματα κοινωνικών παροχών, εταιρείες βιοτεχνολογίας και διαγνωστικών κ.α. Ήδη εμπορικές εταιρείες έχουν αναπτύξει προγράμματα ανάλυσης του γονιδιώματος. Λανθασμένη ή διαστρεβλωμένη γενετική πληροφορία αναμένεται να οδηγήσει σε λανθασμένη χρήση διαγνωστικών, προληπτικών, και θεραπευτικών μέτρων. Το κόστος λανθασμένων γενετικών επιλογών μπορεί να είναι τεράστιο για άτομα και για ολόκληρες κοινωνίες.

Οι μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος για σύνθετα πολυπαραγοντικά νοσήματα έχουν πολύ δρόμο να διανύσουν ώστε να κινηθούν προς την σωστή κατεύθυνση. Πρόκειται για μελέτες που πάσχουν από τα κλασσικά προβλήματα της επιδημιολογίας. Παρόλη την πληροφορία για γενετικούς και



περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου, ελάχιστες σχέσεις μπορούν να επιβιώσουν. Ο κύριος λόγος είναι πως οι μελέτες σχεδιάζονται με πρωταρχικό σκοπό να εξετάσουν μοναδικούς παράγοντες κινδύνου κι όχι τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Άμεσο αποτέλεσμα είναι η δυσχέρεια στην σύνθεση της υπάρχουσας πληροφορίας ώστε να ενισχυθούν τυχόν υπάρχουσες ενδείξεις.

Τα ουσιαστικότερα βήματα που θα συμβάλουν στην βελτίωση και αξιοποίηση της πληροφορίας αυτής είναι: α) Δημιουργία ή/και ενίσχυση διεθνών συνεργιών που θα δουλεύουν προς κοινή κατεύθυνση β) υιοθέτηση της δήλωσης STreGA ώστε να βελτιωθεί η ποιότητα των μελετών που πρόκειται να δουν το φως της δημοσιότητας και γ) αξιοποίηση των τεράστιων μελετών ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος ώστε να επωφεληθούμε από τον όγκο της γενετικής πληροφορίας.



5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η επανάσταση της γενετικής πληροφορικής και η λεπτομερής καταγραφή και ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος έχουν ανοίξει νέους ορίζοντες στην ιατρική και αναμένεται να οδηγήσουν στην καλύτερη κατανόηση και αντιμετώπιση πολλών σύνθετων νοσημάτων που ο κληρονομικός παράγοντας διαδραματίζει σημαντικό αιτιολογικό ρόλο στην παθογένεσή τους. Τέλος, η ανάλυση της γενετικής πληροφορίας περιπλέκεται περαιτέρω από το γεγονός πως για τα περισσότερα νοσήματα και εκβάσεις με ενδιαφέρον για την ανθρώπινη υγεία, οι γενετικοί παράγοντες δεν επιδρούν στο κενό, αλλά τροποποιούν κινδύνους που διαμορφώνονται από εκθέσεις σε περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Η συλλογή του δείγματος έγινε με τη συμβολή της βάσης δεδομένων HuGE Pub Lit. Σκοπός ήταν να δημιουργήσουμε μια βάση δεδομένων από μελέτες γενετικών συσχετίσεων καθώς μετα-αναλύσεις που δημοσιεύθηκαν από το 2001-2006 και οι οποίες αναφέρουν κάποιο μέγεθος επίδρασης (effect size) για μία τουλάχιστον ομάδα ασθενών στους οποίους μελετήθηκε τουλάχιστον ένας γενετικός κι ένας περιβαλλοντικός παράγοντας κινδύνου.

Οι εκβάσεις στο τυχαίο δείγμα αφορούσαν κυρίως σε καρκίνο και καρδιαγγειακά, ενώ οι κύριοι περιβαλλοντικοί παράγοντες υπό μελέτη ήταν το κάπνισμα και το αλκοόλ. Η αναφορά διάφορων ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών στις μελέτες ήταν φτωχή.

Οι μελέτες αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος για σύνθετα πολυπαραγοντικά νοσήματα έχουν πολύ δρόμο να διανύσουν ώστε να κινηθούν προς την σωστή κατεύθυνση. Τα ουσιαστικότερα βήματα που θα συμβάλουν στην βελτίωση και αξιοποίηση της πληροφορίας αυτής είναι: α) Δημιουργία ή/και ενίσχυση διεθνών συνεργιών που θα δουλεύουν προς κοινή κατεύθυνση β) υιοθέτηση της δήλωσης



STreGA ώστε να βελτιωθεί η ποιότητα των μελετών που πρόκειται να δουν το φως της δημοσιότητας και γ) αξιοποίηση των τεράστιων μελετών ευρείας κλίμακας συσχέτισης γονιδιώματος ώστε να επωφεληθούμε από τον όγκο της γενετικής πληροφορίας.



6. ABSTRACT

Gene-environment interactions of complex genetic diseases

Evangelos Evangelou

Purpose: Several thousand human genome epidemiology association studies are published every year investigating the relationship between common genetic variants and diverse phenotypes. However, it is unknown whether these studies provide sufficient and transparent reporting.

Methods: Articles were randomly selected from a continuously updated database of human genome epidemiology association studies to be representative of genetic epidemiology literature and from a systematic reviews' data-base, available through HuGE network. The following dimensions were assessed: study design, genotyping method, population stratification, analysis, and inferences. We also evaluated the reporting of studies involving gene-environment interactions.

Results: Most studies examined multiple polymorphisms from one gene using relatively small study populations. Measures needed to assess selection bias and methods used to minimize the misclassification of the genotype, outcome, and environmental exposure or to identify population stratification were not reported consistently. Systematic reviews were also affected from poor reporting.

Conclusion: We conclude that the reporting of human genome epidemiology association studies is suboptimal and, while some improvements were seen over time, efforts are still needed to enhance and standardize the reporting of this literature. The situation reflects to systematic reviews, where investigators were unable to synthesize the available information in many cases. To improve reporting and evidence from gene-environment studies researchers should a) establish/strengthen international



collaborations b) adopt STreGA statement for the improvement of the quality of published manuscripts and c) to handle the large volume of the available information from genome wide association studies



7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. The International HapMap Project. *Nature* 2003;426:789-96.
2. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291:1304-51.
3. Ioannidis JP. Genetic associations: false or true? *Trends Mol Med* 2003;9:135-8.
4. Ioannidis JP. Molecular bias. *Eur J Epidemiol* 2005;20:739-45.
5. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409:928-33.
6. Little J, Khoury MJ, Bradley L, et al. The human genome project is complete. How do we develop a handle for the pump? *Am J Epidemiol* 2003;157:667-73.
7. Slonim DK. From patterns to pathways: gene expression data analysis comes of age. *Nat Genet* 2002;32 Suppl:502-8.
8. Hanash S. Disease proteomics. *Nature* 2003;422:226-32.
9. Yang Q, Khoury MJ, Friedman JM, Flanders WD. On the use of population attributable fraction to determine sample size for case-control studies of gene-environment interaction. *Epidemiology* 2003;14:161-7.



10. Wacholder S, Chanock S, Garcia-Closas M, El Ghormli L, Rothman N. Assessing the probability that a positive report is false: an approach for molecular epidemiology studies. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:434-42.
11. Ioannidis JPA. Why most published research findings are false. *PLoS Med* 2005;2:e124.
12. Ioannidis JP. Why most published research findings are false. *PLoS Med* 2005;2:e124.
13. Khoury MJ, Little J, Gwinn M, Ioannidis JP. On the synthesis and interpretation of consistent but weak gene-disease associations in the era of genome-wide association studies. *Int J Epidemiol* 2007;36:439-45.
14. Hill AB. The Environment and Disease: Association or Causation? *Proc R Soc Med* 1965;58:295-300.
15. Ioannidis JP, Boffetta P, Little J, et al. Assessment of cumulative evidence on genetic associations: interim guidelines. *Int J Epidemiol* 2007.
16. Foster MW, Sharp RR. Will investments in large-scale prospective cohorts and biobanks limit our ability to discover weaker, less common genetic and environmental contributors to complex diseases? *Environ Health Perspect* 2005;113:119-22.
17. Collins FS. The case for a US prospective cohort study of genes and environment. *Nature* 2004;429:475-7.



18. Yang Q, Khoury MJ, Flanders WD. Sample size requirements in case-only designs to detect gene-environment interaction. *Am J Epidemiol* 1997;146:713-20.
19. Schaid DJ. Case-parents design for gene-environment interaction. *Genet Epidemiol* 1999;16:261-73.
20. Evangelou E, Trikalinos TA, Salanti G, Ioannidis JP. Family-based versus unrelated case-control designs for genetic associations. *PLoS Genet* 2006;2:e123.
21. Cupples LA, Arruda HT, Benjamin EJ, et al. The Framingham Heart Study 100K SNP genome-wide association study resource: overview of 17 phenotype working group reports. *BMC Med Genet* 2007;8 Suppl 1:S1.
22. Ridker PM, Chasman DI, Zee RY, et al. Rationale, Design, and Methodology of the Women' Genome Health Study: A Genome-Wide Association Study of More Than 25 000 Initially Healthy American Women. *Clin Chem* 2007.
23. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986;7:177-88.
24. Lau J, Ioannidis JP, Schmid CH. Quantitative synthesis in systematic reviews. *Ann Intern Med* 1997;127:820-6.
25. Maraganore DM, de Andrade M, Lesnick TG, et al. High-resolution whole-genome association study of Parkinson disease. *Am J Hum Genet* 2005;77:685-93.



26. Fung HC, Scholz S, Matarin M, et al. Genome-wide genotyping in Parkinson's disease and neurologically normal controls: first stage analysis and public release of data. *Lancet Neurol* 2006;5:911-6.
27. Evangelou E, Maraganore DM, Ioannidis JP. Meta-analysis in genome-wide association datasets: strategies and application in Parkinson disease. *PLoS ONE* 2007;2:e196.
28. Ioannidis JP, Patsopoulos NA, Evangelou E. Uncertainty in heterogeneity estimates in meta-analyses. *Bmj* 2007;335:914-6.
29. Ioannidis JP, Patsopoulos NA, Evangelou E. Heterogeneity in meta-analyses of genome-wide association investigations. *PLoS ONE* 2007;2:e841.
30. Ioannidis JP, Gwinn M, Little J, et al. A road map for efficient and reliable human genome epidemiology. *Nat Genet* 2006;38:3-5.
31. Ioannidis JP, Bernstein J, Boffetta P, et al. A network of investigator networks in human genome epidemiology. *Am J Epidemiol* 2005;162:302-4.
32. Seminara D, Khoury MJ, O'Brien TR, et al. The emergence of networks in human genome epidemiology: challenges and opportunities. *Epidemiology* 2007;18:1-8.
33. Khoury MJ, Dorman JS. The Human Genome Epidemiology Network. *Am J Epidemiol* 1998;148:1-3.



34. Lin BK, Clyne M, Walsh M, et al. Tracking the epidemiology of human genes in the literature: the HuGE Published Literature database. *Am J Epidemiol* 2006;164:1-4.
35. Yu W YA, Clyne M, et al. . HuGE Literature Finder. HuGE Navigator. Available at:

<http://www.hugenavigator.net/HuGENavigator/startPagePubLit.do/>.
36. Little J HJe. The HuGENet Review Handbook, version 1.0.
37. Taioli E. International collaborative study on genetic susceptibility to environmental carcinogens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:727-8.
38. Gaspari L, Marinelli D, Taioli E. International collaborative study on genetic susceptibility to environmental carcinogens (GSEC): an update. *Int J Hyg Environ Health* 2001;204:39-42.
39. Piwowar HA, Day RS, Fridsma DB. Sharing detailed research data is associated with increased citation rate. *PLoS ONE* 2007;2:e308.
40. Santos C, Blake J, States DJ. Supplementary data need to be kept in public repositories. *Nature* 2005;438:738.
41. Evangelou E, Trikalinos TA, Ioannidis JP. Unavailability of online supplementary scientific information from articles published in major journals. *Faseb J* 2005;19:1943-4.
42. The database of genotype and Phenotype (dbGap). Available at:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gap>.



43. Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med* 2002;4:45-61.
44. Ioannidis JP, Trikalinos TA, Ntzani EE, Contopoulos-Ioannidis DG. Genetic associations in large versus small studies: an empirical assessment. *Lancet* 2003;361:567-71.
45. Ioannidis JP, Trikalinos TA, Khoury MJ. Implications of small effect sizes of individual genetic variants on the design and interpretation of genetic association studies of complex diseases. *Am J Epidemiol* 2006;164:609-14.
46. Zondervan KT, Cardon LR. The complex interplay among factors that influence allelic association. *Nat Rev Genet* 2004;5:89-100.
47. Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M, Lander ES, Hirschhorn JN. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet* 2003;33:177-82.
48. Davey Smith G, Ebrahim S, Lewis S, Hansell AL, Palmer LJ, Burton PR. Genetic epidemiology and public health: hope, hype, and future prospects. *Lancet* 2005;366:1484-98.
49. Newton-Cheh C, Hirschhorn JN. Genetic association studies of complex traits: design and analysis issues. *Mutat Res* 2005;573:54-69.
50. Hattersley AT, McCarthy MI. What makes a good genetic association study? *Lancet* 2005;366:1315-23.



51. Page GP, George V, Go RC, Page PZ, Allison DB. "Are we there yet?": Deciding when one has demonstrated specific genetic causation in complex diseases and quantitative traits. *Am J Hum Genet* 2003;73:711-9.
52. Pompanon F, Bonin A, Bellemain E, Taberlet P. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nat Rev Genet* 2005;6:847-59.
53. Romero R, Kuivaniemi H, Tromp G, Olson J. The design, execution, and interpretation of genetic association studies to decipher complex diseases. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1299-312.
54. Little J, Bradley L, Bray MS, et al. Reporting, appraising, and integrating data on genotype prevalence and gene-disease associations. *Am J Epidemiol* 2002;156:300-10.
55. STrengthening the REporting of Genetic Associations (STREGA). 2006.
56. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *PLoS Med* 2007;4:e296.
57. Zhang L, Mukherjee B, Ghosh M, Gruber S, Moreno V. Accounting for error due to misclassification of exposures in case-control studies of gene-environment interaction. *Stat Med* 2007.



58. Botto LD, Khoury MJ. Commentary: facing the challenge of gene-environment interaction: the two-by-four table and beyond. *Am J Epidemiol* 2001;153:1016-20.
59. Salanti G, Higgins JP, White IR. Bayesian synthesis of epidemiological evidence with different combinations of exposure groups: application to a gene-gene-environment interaction. *Stat Med* 2006;25:4147-63.
60. Mukherjee B, Chatterjee N. Exploiting Gene-Environment Independence for Analysis of Case-Control Studies: An Empirical Bayes-Type Shrinkage Estimator to Trade-Off between Bias and Efficiency. *Biometrics* 2007.
61. Culverhouse RC, Suarez BK, Beckmann L, et al. Gene by environment interactions. *Genet Epidemiol* 2007;31 Suppl 1:S68-74.



8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

Βιβλιογραφία απλών μελετών αλληλεπίδρασης γονιδίων/περιβάλλοντος

1. Ratnasinghe D, Yao SX, Tangrea JA, et al. Polymorphisms of the DNA repair gene *XRCC1* and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:119-123
2. Zee RY, Lindpaintner K, Struk BA, et al. Prospective evaluation of the CD14 C(-260)T gene polymorphism and the risk of myocardial infraction. *Atherosclerosis* 2001;154:699-702
3. Povey A, Guppy MJ, Wood M, et al. Cytochrome P2 polymorphisms and susceptibility to scleroderma following exposure to organic solvents. *Arthritis Rheum* 2001;44:662-665
4. Hanna E, MacLeod S, Vural E, et al. Genetic deletions of glutathione S-transferase as a risk factor in squamous cell carcinoma of the larynx: A preliminary report. *Am J of Otolaryngol* 2001;21:121-123
5. Krajcinovic M, Ghadirian P, Richer C, et al. Genetic susceptibility to breast cancer in French-Canadians: Role of carcinogen-metabolizing enzymes and gene-environment interactions. *Int J Cancer* 2001;92:220-225
6. Gsur A, Haidinger G, Hinteregger S, et al. Polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (*GSTP1*, *GSTM1* and *GSTT1*) and prostate cancer risk. *Int J Cancer* 2001;95:152-155



7. Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Failure to detect an association with *IL1* genotypes in European Caucasians with generalized early onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28:430-436
8. Hetet G, Elbaz A, Gariépy J, et al. Association studies between haemochromatosis gene mutations and the risk of cardiovascular diseases. *Eur J Clin Invest* 2001;31:382-388
9. Takagi S, Baba S, Iwai N, et al. The aldehyde dehydrogenase 2 gene is a risk factor for hypertension in Japanese but does not alter the sensitivity to pressor effects of alcohol: the Suita study. *Hypertens Res* 2001;24:365-370
10. Luscombe CJ, French ME, Liu S, et al. Outcome in prostate cancer associations with skin type and polymorphism in pigmentation-related genes. *Carcinogenesis* 2001;22:1343-1347
11. Konno S, Hizawa N, Yamaguchi E, et al. (CCTTT)_n repeat polymorphism in the NOS2 gene promoter is associated with atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:810-814
12. Basham VM, Pharoah PD, Healy CS, et al. Polymorphisms in *CYP1A1* and smoking: no association with breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2001;22:1797-1800
13. Orlandi G, Fanucchi S, Mancuso M, et al. Dissection and atherosclerosis of carotid arteries in the young: role of the apolipoprotein E polymorphism. *Eur J Neurol* 2002;9:19-21



14. Wang G, Qian R, Li Q, et al. The association between PPP1R3 gene polymorphisms and type 2 diabetes mellitus. *Chin Med J (Engl)* 2001;114:1258-1262
15. Zavras AI, Wu T, Laskaris G, et al. Interaction between a single nucleotide polymorphism in the alcohol dehydrogenase 3 gene, alcohol consumption and oral cancer risk. *Int J Cancer* 2002;97:526-530
16. Craandijk J, van Krugten MV, Verweij CL, et al. Tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29:28-34
- 17. Wang L, Habuchi T, Takahashi T, et al. No association between HER-2 gene polymorphism at codon 655 and a risk of bladder cancer. *Int J Cancer* 2002;97:787-790
18. Lueders KK, Hu S, McHugh L, et al. Genetic and functional analysis of single nucleotide polymorphisms in the β 2-neuronal nicotinic acetylcholine receptor gene(CHRNB2). *Nicotine Tob Res* 2002;4:115-125
19. Alm JS, Sanjeevi CB, Miller EN, et al. Atopy in children in relation to BCG vaccination and genetic polymorphisms at SLC11A1 (formerly NRAMP1) and D2S1471. *Genes Immun* 2002;3:71-7
20. Fuentes RM, Perola M, Nissinen A, et al. ACE gene and physical activity, blood pressure, and hypertension: a population study in Finland. *J Appl Physiol* 2002;92:2508-2512



21. Tuimala J, Szekely G, Gundy S, et al. Genetic polymorphisms of DNA repair and xenobiotic-metabolizing enzymes: role in mutagen sensitivity. *Carcinogenesis* 2002;23:1003-1008
22. Li D, Walcott FL, Chang P, et al. Genetic and environmental determinants on tissue response to in vitro carcinogen exposure and risk of breast cancer. *Cancer Res* 2002;62:4566-4570
23. Sun F, Tsuritani I, Yamada Y. Contribution of genetic polymorphisms in ethanol-metabolizing enzymes to problem drinking behavior in middle-aged Japanese men. *Behav Genet* 2002;32:229-236
24. Johnstone EC, Clark TG, Griffiths SE, et al. Polymorphisms in dopamine metabolic enzymes and tobacco consumption in smokers: seeking confirmation of the association in a follow-up study. *Pharmacogenetics* 2002;12:585-687
25. Chen Q, Reis SE, Kammerer CM, et al. Association between the Severity of Angiographic Coronary Artery Disease and Paraoxonase Gene Polymorphisms in the National Heart, Lung, and Blood Institute-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study. *Am J Hum Gen* 2003;72:13-22
26. Hefler LA, Worda C, Huber JC, et al. A polymorphism of the *Nos3* gene and age at natural menopause. *Fertil Steril* 2002;78:1184-1186
27. Koivu TA, Fan YM, Mattila KM, et al. The effect of hormone replacement therapy on atherosclerotic severity in relation to *ESR1* genotype in postmenopausal women. *Maturitas* 2003;44:29-38



28. Fortunato G, Rubba P, Panico S, et al. A paraoxonase gene polymorphism, PON 1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women. *Atherosclerosis* 2003;167:141-148
29. Berglundh T, Donati M, Hahn-Zoric M, et al. Association of the-1087 *IL 10* gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol* 2003;30:249-254
30. Beilby JP, Hunt CC, Palmer LJ, et al. Apolipoprotein E gene polymorphisms are associated with carotid plaque formation but not with intima-media wall thickening: results from the Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Study (CUDAS). *Stroke* 2003;34:869-874
31. Read RC, Cannings C, Naylor SC, et al. Variation within genes encoding interleukin-1 and the interleukin-1 receptor antagonist influence the severity of meningococcal disease. *Ann Intern Med* 2003;138:534-541
32. Ha SJ, Kim JS, Myung JW, et al. Analysis of genetic polymorphisms of steroid 5 α -reductase type 1 and 2 genes in Korean men with androgenetic alopecia. *J Dermatol Sci* 2003;31:135-141
33. Liang G, Xing D, Miao X, et al. Sequence variations in the DNA repair gene XPD and risk of lung cancer in a Chinese population. *Int J Cancer* 2003;105:669-673



34. Katsuda N, Hamajima N, Tamakoshi A, et al. Helicobacter pylori seropositivity and the myeloperoxidase G-463A polymorphism in combination with interleukin-1B C-31T in Japanese health checkup examinees. *Jpn J Clin Oncol* 2003;33:192-197
35. Martinez ME, O'Brien TG, Fultz KE, et al. Pronounced reduction in adenoma recurrence associated with aspirin use and a polymorphism in the ornithine decarboxylase gene. *PNAS* 2003;100:7859-7864
36. Ma Q, Lin G, Qin Y, et al. *GSTP1* A¹⁵⁷⁸G (Ile¹⁰⁵Val) polymorphism in benzidine-exposed workers: an association with cytological grading of exfoliated urothelial cells. *Pharmacogenetics* 2003;13:409-415
37. Tanis BC, Bloemenkamp DG, Van De Bosch MA, Kemmeren JM, et al. Prothrombotic coagulation defects and cardiovascular risk factors in young women with acute myocardial infarction. *Br J Haematol* 2003;122:471-478
38. Apostoli P, Neri G, Lucas D, et al. Influence of genetic polymorphisms of CYP1A1 and GSTM1 on the urinary levels of 1-hydroxypyrene. *Toxicol Lett* 2003;144:27-34
39. Kietthubthew S, Sriplung H, Au WW, et al. The p53 codon 72 polymorphism and risk of oral cancer in southern Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2003;4:209-214
40. Jaskula-Sztul R, Sokolowski W, Gajeczka M, et al. Association of arylamine N-acetyltransferase (NAT1 and NAT2) genotypes with urinary bladder cancer risk. *J Appl Genet* 2001;42:223-231



41. Haiman CA, Henderson SO, Bretsky P et al. Genetic variation in angiotensin I-converting enzyme (*ACE*) and breast cancer risk: The multiethnic cohort. *Cancer Res* 2003;63:6984-6987



9. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

Βιβλιογραφία συστηματικών μελετών αλληλεπίδρασης γονιδίων/
περιβάλλοντος

1. Boccia S, De Lauretis A, Gianfanga F, et al. *CYP2E1PstI/RsaI* polymorphism and interaction with tobacco, alcohol and *GSTs* in gastric cancer susceptibility: a meta-analysis of the literature. *Carcinogenesis* 2007;28:101-106
2. La Torre G, Boccia S, Ricciardi G. Glutathione *S*-transferase M1 status and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Letters* 2005;217:53-60
3. Le Marchand L, Guo C, Benhamou S, et al. Pooled analysis of the *CYP1A1* exon 7 polymorphism and lung cancer (United States). *Cancer Causes and Control* 2003;14:339-346
4. Raimondi S, Paracchini V, Autrup H, et al. Meta- and pooled analysis of *GSTT1* and lung cancer: A HUGE-GSEC review. *American Journal of Epidemiology* 2006;164:1027-1042
5. Engel LS, Taioli E, Pfeiffer R, et al. Pooled analysis and meta-analysis of glutathione *S*-transferase M1 and bladder cancer: A HuGE review. *American Journal of Epidemiology* 2002;156:95-109
6. Skuladottir H, Autrup H, Autrup J, et al. Polymorphisms in genes involved in xenobiotic metabolism and lung cancer risk under the age of 60 years. A pooled study of lung cancer patients in Denmark and Norway. *Lung Cancer* 2005;48:187-199



7. Hung RJ, Boffeta P, Brockmoller J, et al. CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian non-smokers: a pooled analysis. *Carcinogenesis* 2003;24:875-882
8. Benhamou S, Lee WJ, Alexandrie AK, et al. Meta- and pooled analyses of the effects of glutathione S-transferase M1 polymorphisms and smoking on lung cancer risk. *Carcinogenesis* 2002;23:1343-1350
9. Smits KM, Gaspari L, Weijenberg MP, et al. Interaction between smoking, *GSTM1* deletion and colorectal cancer: results from the GSEC study. *Biomarkers* 2003;8:299-310
10. Garcia-Closas M, Malats N, Silverman D, et al. *NAT2* slow acetylation, *GSTM1* null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet* 2005;366:649-659
11. Vogl FD, Taioli E, Maugard C, et al. Glutathione S-transferases M1, T1, and P1 and breast cancer: A pooled analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:1473-1479
12. Terry PD, Goodman M. Is the association between cigarette smoking and breast cancer modified by genotype? A review of epidemiologic studies and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:602-611
13. Hung RJ, Hall J, Brennan P, et al. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005;162:925-942



14. Slattery ML, Neuhausen SL, Hoffman M, et al. Dietary calcium, vitamin D, *VDR* genotypes and colorectal cancer. *Int J Cancer* 2004;111:750-756
15. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A. Folate intake *MTHFR* polymorphisms, and risk of esophageal, gastric and pancreatic cancer: A meta-analysis. *Gastroenterology* 2006;131:1271-1283
16. Hashibe M, Brennan P, Strange RC, et al. Meta- and pooled analyses of *GSTM1*, *GSIT1*, *GSTP1*, and *CYP1A1* genotypes and risk of head and neck cancer.
17. Vineis P, Marinelli D, Autrup H, et al. Current smoking, occupation, *N*-acetyltransferase-2 and bladder cancer: A pooled analysis of genotype-based studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:1249-1252
18. Carreon T, Ruder AM, Schulte PA, et al. NAT2 slow acetylation and bladder cancer in workers exposed to benzidine. *Int J Cancer* 2006;118:161-168
19. Chao C, Zhang ZF, Berthiller J, et al. NAD(P)H: Quinone oxidoreductase 1 (*NQO1*) Pro187Ser polymorphism and the risk of lung, bladder, and colorectal cancers: A meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:979-987
20. Brennan P, Lewis S, Hashibe M, et al. Pooled analysis of alcohol dehydrogenase genotypes and head and neck cancer: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2004;159:1-16



21. Lewis SJ, Davey Smith G. Alcohol, ALDH2, and esophageal cancer: A meta-analysis which illustrates the potentials and limitations of a mendelian randomization approach. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1967-1971
22. Hu Y, Liu W, Huanf R, et al. A systematic review and meta-analysis of the relationship between lipoprotein lipase Asn291Ser variant and diseases. *J Lipid Res* 2006;47:1908-1914
23. Klerk M, Verhoef P, Clarker R, et al. *MTHFR* 677C→T polymorphism and risk of coronary heart disease: A meta-anaysis. *JAMA* 2002;208:2023-2031
24. Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, et al. Cholesteryl ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardiovascular risk, and efficacy of pravastatin treatment: individual patient meta-analysis of 13677 subjects. *Circulation* 2005;111:278-287
25. Huth C, Heid IM, Vollmert C, et al. *IL6* gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes. Joint analysis of individual participants' data from 21 studies. *Diabetes* 2006;55:2915-2921
26. Hofman MK, Weggemans RM, Zock PL, et al. CYP7A1 A-278C polymorphism affects the response of plasma lipids after dietary cholesterol of cafestol interventions in humans. *J Nutr* 2004;134:2200-2204



27. Munafo MR, Johnstone EC, Welsh KI, et al. Association between the DRD2 gene Taq1A (C32806T) polymorphism and alcohol consumption in social drinkers. *The Pharmacogenomics Journal* 2005;5:96-101
28. Kim-Cohen J, Caspi A, Taylor A, et al. MAOA, maltreatment, and gene-environment interaction predicting children's mental health: new evidence and a meta-analysis. *Mol Psychiatry* 2006;11:903-913
29. Paracchini V, Pedott P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005;162:101-114
30. Casas JP, Cavalleri G, Bautista L, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2006;164:921-935
31. Masson LF, Sharp L, Cotton SC, et al. Cytochrome P-450 1A1 gene polymorphisms and risk of breast cancer: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005;161:901-915
32. Houlston RS, Tomlinson IP. Polymorphisms and colorectal tumor risk. *Gastroenterology* 2001;121:282-301
33. Manuguerra M, Saletta F, Karagas MR, et al. *XRCC3* and *XPD/ERCC2* single nucleotide polymorphisms and the risk of cancer: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2006;164:297-302
34. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: Apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004;141:137-147



35. Kono S, Chen K. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and colorectal cancer and adenoma. *Cancer Sci* 2005;96:535-542
36. Lewis SJ, Harbord RM, Harris R, et al. Meta-analyses of observational and genetic association studies of folate intakes or levels and breast cancer risk. *JNCI* 2006;98:1607-1622

