



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΨΥΧΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΝΟΣΩΝ**

ΛΑΖΑΡΟΣ ΜΠΕΛΜΠΑΣΗΣ

Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΨΥΧΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΩΝ ΝΟΣΩΝ**

ΛΑΖΑΡΟΣ ΜΠΕΛΜΠΑΣΗΣ

Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής 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. Μπελμπάση Λάζαρου: 25-8-2015

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 781^α/29-9-2015

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Ευαγγέλου Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής με έμφαση στην Κλινική Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Ντζάνη Ευαγγελία, Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής με ιδιαίτερη έμφαση στην Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωαννίδης Ιωάννης, Professor of Health Research and Policy, School of Medicine Stanford University

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 12-10-2015

«Αξιολόγηση συσχετίσεων περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου και νευρολογικών νόσων»

Ημερομηνία ανασυγκρότησης της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 906^α/25-11-2019

Επιβλέπων

Ευαγγέλου Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής με έμφαση στην Κλινική Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Τζουλάκη Ιωάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής με έμφαση στην Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωαννίδης Ιωάννης, Professor of Health Research and Policy, School of Medicine Stanford University

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 908^α/17-12-2019

Σκαπινάκης Πέτρος	Καθηγητής Ψυχιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τατσιώνη Αθηνά	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Γενικής Ιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ευαγγέλου Ευάγγελος	Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής με έμφαση στην Κλινική και Μοριακή Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μαυρίδης Δημήτριος	Επίκουρος Καθηγητής Στατιστικής στην Εκπαίδευση του Τμήματος Δημοτικής Εκπαίδευσης του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τζουλάκη Ιωάννα	Επίκουρη Καθηγήτρια Υγιεινής με έμφαση στην Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσιλίδης Κωνσταντίνος	Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής με έμφαση στην Επιδημιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωαννίδης Ιωάννης

Professor of Health Research and Policy, Stanford University School of Medicine

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 6-2-2020

Ιωάννινα 29-4-2020

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατιστάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



Η Γραμματέας του Τμήματος


ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ

Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτελεί μία ενδεδειγμένη μελέτη της βιβλιογραφίας για την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στον κίνδυνο ανάπτυξης χρόνιων νευρολογικών νοσημάτων. Συγκεκριμένα, σε όλη την έκταση της διδακτορικής διατριβής, ως περιβαλλοντικός παράγοντας νοείται οποιαδήποτε μη γενετική έκθεση, είτε πρόκειται για περιβαλλοντική έκθεση, είτε για βιολογικό δείκτη ή για συννοσηρές παθήσεις. Η παρούσα διδακτορική διατριβή εστιάζει στην πολλαπλή σκλήρυνση, την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, τη νόσο του Parkinson και τις άνοιες.

Στο *Γενικό Μέρος* της διδακτορικής διατριβής (*Κεφάλαιο 1*) παρουσιάζεται μία εισαγωγή στην επιδημιολογία των χρόνιων νευρολογικών νοσημάτων, παραθέτοντας στοιχεία για την επίπτωση, τον επιπολασμό και το φορτίο νοσηρότητας των νοσημάτων αυτών, όπως επίσης και μια σύνοψη της γνώσης των παραγόντων κινδύνου για την ανάπτυξη των νοσημάτων αυτών. Επιπροσθέτως, στο *Γενικό Μέρος* της διδακτορικής διατριβής (*Κεφάλαιο 2*) συμπεριλαμβάνεται μία περιγραφή των βασικών ερευνητικών και μεθοδολογικών εννοιών που θα εφαρμοστούν στη συνέχεια, συμπεριλαμβανομένης της μετα-ανάλυσης και της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Στο *Ειδικό Μέρος* της διδακτορικής διατριβής περιγράφονται τα αποτελέσματα από τέσσερις δημοσιευμένες ερευνητικές εργασίες (*Κεφάλαιο 3 – 6*). Καθώς η παρούσα διδακτορική διατριβή ασχολείται με σύγχρονες ερευνητικές μεθόδους που δεν έχουν περιγραφεί εκτενώς στην ελληνική βιβλιογραφία, η τεχνική ορολογία παρέχεται ταυτόχρονα στην ελληνική και στην αγγλική γλώσσα χάριν καλύτερης κατανόησης. Το κείμενο της διδακτορικής διατριβής ολοκληρώνεται με μία γενική συζήτηση σχετικά με τα ευρήματα των τεσσάρων ερευνητικών εργασιών, τις προεκτάσεις και εφαρμογές των ευρημάτων αυτών στη Δημόσια Υγεία και τις μελλοντικές προτάσεις για ερευνητικές

δραστηριότητες με βάση τα ευρήματα αυτά (*Κεφάλαιο 7*). Θα ήθελα να αναφέρω ότι η υλοποίηση της διδακτορικής διατριβής χρηματοδοτήθηκε από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών.

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής ολοκληρώνονται 10 χρόνια εκπαίδευσής μου στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας, καθώς από την αρχή των προπτυχιακών μου σπουδών μνήθηκα στο χώρο της Βιοστατιστικής και της Επιδημιολογίας. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής για την καθοδήγηση και την ενθάρρυνση που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής. Συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον κ. Ιωαννίδη και τον κ. Ευαγγέλου, καθώς αποτέλεσαν τους μέντορες μου στην επιδημιολογική έρευνα από το πρώτο έτος των φοιτητικών μου χρόνων στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της Επταμελούς Επιτροπής για τις χρήσιμες υποδείξεις τους, τα εύστοχα σχόλια τους και την κριτική αξιολόγηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Λάζαρος Μπελμπάσης

Ιωάννινα, Φεβρουάριος 2020

Πίνακας περιεχομένων

Πρόλογος	i
Πίνακας περιεχομένων	iii
Ευρετήριο Πινάκων.....	ix
Ευρετήριο Εικόνων	xiii
Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή στη Νευρο-Επιδημιολογία	1
1.1 ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ	2
1.2 ΠΛΑΓΙΑ ΑΜΥΟΤΡΟΦΙΚΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ	4
1.3 ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ PARKINSON	6
1.4 ΆΝΟΙΑ.....	8
Κεφάλαιο 2 Στοιχεία επιδημιολογικής έρευνας.....	13
2.1 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ	13
2.1.1 <i>Μία σύντομη ιστορική αναδρομή</i>	13
2.1.2 <i>Η συστηματική ανασκόπηση.....</i>	13
2.1.3 <i>Τα βασικά μοντέλα μετα-ανάλυσης</i>	14
2.1.4 <i>Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών.....</i>	15
2.1.5 <i>Το διάστημα πρόβλεψης</i>	16
2.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΣ.....	16
2.2.1 <i>Η έννοια του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης</i>	16
2.2.2 <i>Διερεύνηση της επίδρασης των μικρών μελετών.....</i>	17
2.3 ΣΦΑΛΜΑ ΠΕΡΙΣΣΕΙΑΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	18
2.4 ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΠΕΛΙΟΥ.....	19
2.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑΣ.....	22

2.6	ΤΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ.....	24
2.7	ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΕΝΔΕΛΙΑΝΗΣ ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΣΗΣ	30
2.7.1	<i>Η έννοια της Μενδελιανής τυχαιοποίησης.....</i>	30
2.7.2	<i>Βασικές προϋποθέσεις της Μενδελιανής τυχαιοποίησης.....</i>	31
2.7.3	<i>Μενδελιανή τυχαιοποίηση με συνοπτικού επιπέδου δεδομένα</i>	32
2.7.4	<i>Βασικές μέθοδοι ανάλυσης στη μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης</i>	34
2.7.5	<i>Η μέθοδος MR-Egger</i>	35
2.7.6	<i>Η μέθοδος MR-PRESSO.....</i>	36
2.7.7	<i>Πολυμεταβλητή ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης.....</i>	37
	Σκοπός της διδακτορικής διατριβής.....	39
	Κεφάλαιο 3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση: Μία ανασκόπηση πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων	41
3.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	41
3.2	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	42
3.2.1	<i>Συστηματική βιβλιογραφική αναζήτηση</i>	42
3.2.2	<i>Κριτήρια επιλογής μελετών</i>	43
3.2.3	<i>Εξαγωγή δεδομένων.....</i>	43
3.2.4	<i>Στατιστική ανάλυση.....</i>	44
3.2.5	<i>Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας.....</i>	45
3.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	48
3.4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	62
	Κεφάλαιο 4 Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson: Μία ανασκόπηση πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων	69

4.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	69
4.2	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	70
4.2.1	<i>Συστηματική βιβλιογραφική αναζήτηση</i>	<i>70</i>
4.2.2	<i>Κριτήρια επιλογής μελετών</i>	<i>70</i>
4.2.3	<i>Εξαγωγή δεδομένων.....</i>	<i>71</i>
4.2.4	<i>Στατιστική ανάλυση.....</i>	<i>71</i>
4.2.5	<i>Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας.....</i>	<i>73</i>
4.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	76
4.4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	111
 Κεφάλαιο 5 Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για τις άνοιες: Μία ανασκόπηση		
πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων.....		119
5.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	119
5.2	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	120
5.2.1	<i>Συστηματική βιβλιογραφική αναζήτηση</i>	<i>120</i>
5.2.2	<i>Κριτήρια επιλογής μελετών</i>	<i>121</i>
5.2.3	<i>Εξαγωγή δεδομένων.....</i>	<i>121</i>
5.2.4	<i>Στατιστική ανάλυση.....</i>	<i>122</i>
5.2.5	<i>Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας.....</i>	<i>123</i>
5.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	126
5.4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	161
 Κεφάλαιο 6 Παράγοντες κινδύνου για την πολλαπλή σκλήρυνση κατά τη νεαρή ηλικία:		
Μία συνδυασμένη μελέτη κοόρτης και Μενδελιανής τυχαιοποίησης		171
6.1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	171

6.2	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	172
6.2.1	<i>Περιγραφή της υβριδικής μελέτης.....</i>	172
6.2.2	<i>Η μελέτη UK Biobank.....</i>	173
6.2.3	<i>Ο πληθυσμός της μελέτης</i>	174
6.2.4	<i>Επιλογή των μεταβλητών</i>	175
6.2.5	<i>Στατιστική ανάλυση για τη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης</i>	176
6.2.6	<i>Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης</i>	177
6.2.7	<i>Υπολογισμός στατιστικής ισχύος για την υβριδική προσέγγιση</i>	180
6.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	181
6.3.1	<i>Μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης στην UK Biobank.....</i>	182
6.3.2	<i>Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης για την ηλικία εμμηναρχής.....</i>	189
6.3.3	<i>Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης για την παιδική παχυσαρκία</i>	190
6.3.4	<i>Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης για την ευκολία μαυρίσματος</i>	190
6.3.5	<i>Υπολογισμός στατιστικής ισχύος για τη υβριδική μέθοδο</i>	193
6.3.6	<i>Πολυμεταβλητή ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης.....</i>	198
6.4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	198
	Κεφάλαιο 7 Γενική συζήτηση.....	207
7.1	ΣΥΝΟΨΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	207
7.2	ΣΗΜΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ.....	210
7.3	ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑ	213
	Συμπεράσματα	215
	Περίληψη στην Ελληνική γλώσσα.....	217
	Περίληψη στην Αγγλική γλώσσα.....	221

Βιβλιογραφία.....	223
--------------------------	------------

Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1. Κριτήρια για την αξιολόγηση της επιδημιολογικής αξιοπιστίας των συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων και κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση.	28
Πίνακας 2. Κριτήρια για την αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας των συσχετίσεων ανάμεσα σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου και τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση.	47
Πίνακας 3. Τα αποτελέσματα των 16 μετα-αναλύσεων για το ρόλο των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου στην πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση εφαρμόζοντας το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και σταθερής επίδρασης.	53
Πίνακας 4. Ετερογένεια μεταξύ των μελετών, στατιστική δοκιμασία του Egger και δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας στις 16 μετα-αναλύσεις σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση.	57
Πίνακας 5. Αξιολόγηση της επιδημιολογικής αξιοπιστίας των 16 συσχετίσεων ανάμεσα σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και τον κίνδυνο ανάπτυξης πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης.	61
Πίνακας 6. Μεθοδολογικά κριτήρια για την αξιολόγηση των συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων και κινδύνου για τη νόσο του Parkinson	75
Πίνακας 7. Αποτελέσματα της μεθοδολογικής αξιολόγησης των μελετών παρατήρησης στα 15 άρθρα που εφάρμοσαν την κλίμακα Newcastle-Ottawa	80
Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά και ποσοτική σύνθεση στις 75 μετα-αναλύσεις για περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου στη νόσο του Parkinson	83
Πίνακας 9. Ετερογένεια μεταξύ των μελετών, συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας στις 75 μετα-αναλύσεις που αφορούν περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson	95

Πίνακας 10. Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας των 75 μετα-αναλύσεων για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου της νόσου του Parkinson.....	108
Πίνακας 11. Αποτελέσματα της ανάλυσης ευαισθησίας εστιασμένη σε προοπτικές μελέτες κοόρτης για τις συσχετίσεις που χαρακτηρίζονται από πολύ υψηλή και υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία.....	110
Πίνακας 12. Μεθοδολογικά κριτήρια για την αξιολόγηση των συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου για τις άνοιες	125
Πίνακας 13. Λίστα των 40 άρθρων που αποκλείστηκαν επειδή μία μεγαλύτερη μετα-ανάλυση για το ίδιο ερευνητικό ερώτημα ήταν διαθέσιμη	129
Πίνακας 14. Αποτελέσματα της μεθοδολογικής αξιολόγησης των μελετών παρατήρησης στα 10 άρθρα που εφάρμοσαν την κλίμακα Newcastle-Ottawa	131
Πίνακας 15. Αποτελέσματα των 76 μετα-αναλύσεων για τη συσχέτιση των περιβαλλοντικών παραγόντων με τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου του Alzheimer, οποιασδήποτε μορφής άνοιας και αγγειακής άνοιας.	135
Πίνακας 16. Ετερογένεια μεταξύ των μελετών, συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας στις 76 μετα-αναλύσεις που αφορούν περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για τις άνοιες	146
Πίνακας 17. Σύνοψη της αξιολόγησης της επιδημιολογικής εγκυρότητας των περιβαλλοντικών παραγόντων που παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer, οποιαδήποτε μορφή άνοιας και αγγειακή άνοια	156
Πίνακας 18. Ανάλυση ευαισθησίας των προοπτικών μελετών κοόρτης για τις συσχετίσεις που παρουσίασαν πολύ υψηλή (Κατηγορία I) και υψηλή (Κατηγορία II) επιδημιολογική εγκυρότητα.....	158

Πίνακας 19. Αποτελέσματα των μοντέλων λογιστικής παλινδρόμησης για τη συσχέτιση 13 παραγόντων κινδύνου με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση στη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης	185
Πίνακας 20. Αποτελεσμάτα της πολυμεταβλητής ανάλυσης για τις 3 συσχετίσεις με στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης	188
Πίνακας 21. Αποτελέσματα των αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης για τη συσχέτιση της ηλικίας εμμηναρχής, του δείκτη μάζας σώματος στην παιδική ηλικία και της ευκολίας μαυρίσματος με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση	192
Πίνακας 22. Υπολογισμοί στατιστικής ισχύος για τον υβριδικό σχεδιασμό MR-EWAS και για τη διενέργεια πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης λαμβάνοντας υπόψιν τη διόρθωση κατά Bonferroni λόγω πολλαπλών στατιστικών δοκιμασιών ($\alpha = 0.001$ για 50 συσχετίσεις και $\alpha = 0.0005$ για 100 συσχετίσεις)	195

Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1. Ενδεικτικό διάγραμμα ροής της διαδικασίας διεξαγωγής μιας ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας.....	21
Εικόνα 2. Οι τρεις προϋποθέσεις που πρέπει να ισχύουν για να αποτελεί ένας γενετικός πολυμορφισμός κατάλληλη βοηθητική μεταβλητή σε μία ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης.....	33
Εικόνα 3. Διάγραμμα ροής της βιβλιογραφικής αναζήτησης για συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις για παράγοντες κινδύνου της πλάγιας αμνοτροφικής σκλήρυνσης.....	49
Εικόνα 4. Διάγραμμα ροής της βιβλιογραφικής αναζήτησης για συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου της νόσου του Parkinson.....	77
Εικόνα 5. Διάγραμμα ροής της βιβλιογραφικής αναζήτησης για συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου των διαφόρων μορφών άνοιας.....	128
Εικόνα 6. Διάγραμμα ροής της διαδικασίας επιλογής των συμμετεχόντων για τη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης από τον πληθυσμό της UK Biobank.....	184
Εικόνα 7. Καμπύλες της στατιστικής ισχύος σε συνάρτηση με το ποσοστό της ερμηνευόμενης μεταβλητότητας για τον παράγοντα κινδύνου για τον υβριδικό σχεδιασμό MR-EWAS και για τη διενέργεια πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης λαμβάνοντας υπόψιν τη διόρθωση.....	196

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή στη Νευρο-Επιδημιολογία

Τα νευρολογικά νοσήματα αποτελούν τη συχνότερη αιτία αναπηρίας και τη δεύτερη συχνότερη αιτία θανάτου παγκοσμίως (1). Κατά τα τελευταία 30 χρόνια, έχει παρατηρηθεί αύξηση των θανάτων και της αναπηρίας που οφείλονται στα χρόνια νευρολογικά νοσήματα, ενώ έχει σημειωθεί μείωση του αριθμού των θανάτων και της αναπηρίας που προκαλούνται από τα λοιμώδη νευρολογικά νοσήματα (1). Λαμβάνοντας υπόψιν τον αυξανόμενο αντίκτυπο των νευρολογικών νοσημάτων στην υγεία και στα συστήματα υγείας, η συνεργασία επιστημόνων, η οποία είναι επιφορτισμένη με το πρόγραμμα *Global Burden of Disease*, επεσήμανε την αναγκαιότητα να δοθεί έμφαση και να διατεθούν οικονομικοί πόροι στην έρευνα και στην οργάνωση των συστημάτων υγείας, προκειμένου εφαρμοστούν στρατηγικές πρόληψης και αντιμετώπισης των νοσημάτων αυτών (1). Ο τρίτος από τους 17 στόχους της αειφόρου ανάπτυξης (*sustainable development goals*), οι οποίοι διατυπώθηκαν από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (*World Health Organization*), αφορά τη διασφάλιση και την προαγωγή της υγείας όλων των ανθρώπων σε όλες τις ηλικίες. Βάσει των εκτιμήσεων για το φορτίο νοσηρότητας των χρόνιων νευρολογικών νοσημάτων, καθίσταται σαφές ότι η πρόληψη των νοσημάτων αυτών θα συμβάλει αποφασιστικά στην επίτευξη του στόχου αυτού (2).

Τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα αποτελούν μια κατηγορία νευρολογικών νοσημάτων, τα οποία χαρακτηρίζονται από προοδευτική απώλεια συγκεκριμένου πληθυσμού νευρώνων του κεντρικού νευρικού συστήματος (3). Τα νοσήματα αυτά διαφοροποιούνται μεταξύ τους βάσει της συσσώρευσης συγκεκριμένων πρωτεϊνών και

της ανατομικής περιοχής που προσβάλλεται, αλλά μοιράζονται κοινούς μοριακούς παθογενετικούς μηχανισμούς (3,4). Σύμφωνα με τις εκτιμήσεις του προγράμματος *Global Burden of Disease* (2), τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα, που προκαλούν το μεγαλύτερο αριθμό ετών ζωής προσαρμοσμένα στην ανικανότητα (*disability-adjusted life years*), είναι η νόσος του Alzheimer και άλλες μορφές άνοιας, η νόσος του Parkinson, η πολλαπλή σκλήρυνση και η νόσος του κινητικού νευρώνα. Στο κεφάλαιο αυτό, θα αναφερθούν ορισμένα στοιχεία για την επιδημιολογία των νοσημάτων αυτών.

1.1 ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Η πολλαπλή σκλήρυνση (*multiple sclerosis*) αποτελεί τη συχνότερη χρόνια εκφυλιστική νόσο του κεντρικού νευρικού συστήματος σε νεαρούς ενήλικες (5). Η νόσος αφορά κυρίως τους νεαρούς ενήλικες, καθώς η επίπτωση της νόσου αυξάνεται κατά το τέλος της εφηβικής ηλικίας, κορυφώνεται κατά το τέλος της 3^{ης} και την αρχή της 4^{ης} δεκαετίας της ζωής, στη συνέχεια μειώνεται σταδιακά και ελαχιστοποιείται μετά την ηλικία των 50 ετών (6).

Η συχνότητα της πολλαπλής σκλήρυνσης παρουσιάζει μεταβλητότητα με βάση το γεωγραφικό τόπο. Συγκεκριμένα, η συχνότητα της νόσου είναι χαμηλή στις περιοχές που βρίσκονται κοντά στον ισημερινό, ενώ η συχνότητα αυξάνεται σταδιακά με την αύξηση του γεωγραφικού πλάτους και στα δύο ημισφαίρια (6). Σύμφωνα με την έκθεση του *Multiple Sclerosis International Federation*, ο υψηλότερος επιπολασμός παρατηρείται στη Βόρειο Αμερική (140 ασθενείς ανά 100,000 άτομα) και στην Ευρώπη (108 ασθενείς ανά 100,000 άτομα) και ο χαμηλότερος επιπολασμός καταγράφεται στην υποσαχάρια Αφρική (2.1 ασθενείς ανά 100,000 άτομα) και στην Ανατολική Ασία (2.2 ασθενείς ανά 100,000 άτομα) (7). Οι διαφορές που παρατηρούνται στον επιπολασμό

της πολλαπλής σκλήρυνσης έχουν εν μέρει αποδοθεί στη διαφορά του επιπέδου των παρεχόμενων υπηρεσιών υγείας στις διάφορες γεωγραφικές περιοχές, όπως επίσης και σε διαφορές στο προσδόκιμο επιβίωσης (8).

Η πολλαπλή σκλήρυνση είναι μία πολυπαραγοντική νόσος, δηλαδή ένας συνδυασμός γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων διαμορφώνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου. Οι πρώτες μελέτες γενετικών συσχετίσεων ανέδειξαν τη σχέση των γονιδίων *HLA* με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση (9). Η κατανόηση του γενετικού υποβάθρου της πολλαπλής σκλήρυνσης επιταχύνθηκε ιδιαίτερα με την εμφάνιση των μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (*genome-wide association studies*). Συγκεκριμένα, η τελευταία μετα-ανάλυση μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης αποκάλυψε 233 ανεξάρτητους γενετικούς πολυμορφισμούς που σχετίζονται με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση σε ένα δείγμα 47,351 ασθενών και 68,284 μαρτύρων (9).

Οι πρώτες ενδείξεις για το ρόλο των περιβαλλοντικών παραγόντων στη διαμόρφωση του κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση προέρχονται από μελέτες σε μετανάστες (10,11). Συγκεκριμένα, έχει φανεί ότι η επίπτωση της πολλαπλής σκλήρυνσης σε μετανάστες κυμαίνεται μεταξύ της επίπτωσης στον τόπο καταγωγής τους και της επίπτωσης στον τόπου μετανάστευσης. Επιπλέον, μετανάστες που μετακινούνται από μία περιοχή με υψηλή επίπτωση της νόσου προς μία περιοχή με χαμηλότερη επίπτωση εμφανίζουν μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Ωστόσο, μετανάστες που μετακινούνται ακολουθώντας την αντίθετη κατεύθυνση διατηρούν το χαμηλό κίνδυνο του τόπου καταγωγής τους (10).

Η βιβλιογραφία που μελετά τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για την πολλαπλή σκλήρυνση διαχωρίζει τους παράγοντες αυτούς σε λοιμώδεις και μη

λοιμώδεις (11). Η λοίμωξη από τον ιό Epstein-Barr αποτελεί το βασικό λοιμώδη παράγοντα κινδύνου που έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση, με μηχανισμό που βασίζεται στην αλληλεπίδραση του ιού με το ανοσοποιητικό σύστημα (6,11). Τα αυξημένα επίπεδα βιταμίνης D έχουν συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση (6). Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της βιταμίνης D επηρεάζονται από την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία και η συσχέτιση αυτή έχει χρησιμοποιηθεί για να ερμηνευθεί η παρατηρούμενη διαφορά στην επίπτωση και τον επιπολασμό της νόσου με βάση το γεωγραφικό πλάτος (12). Το κάπνισμα συνδέεται επίσης με αυξημένο κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση και έχουν προταθεί αρκετοί βιολογικοί μηχανισμοί για την ερμηνεία της σχέσης αυτής, όπως η διαταραχή του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού και η ανοσοτροποποιητική δράση (6). Στην Ενότητα 2.7, παρουσιάζεται μία δημοσιευμένη ανασκόπηση πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την πολλαπλή σκλήρυνση (13,14).

1.2 ΠΛΑΓΙΑ ΑΜΥΟΤΡΟΦΙΚΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Η πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση (*amyotrophic lateral sclerosis*) είναι μία εκφυλιστική νόσος των κινητικών νευρώνων του εγκεφάλου, του εγκεφαλικού στελέχους και του νωτιαίου μυελού, η οποία καταλήγει σε προοδευτική αδυναμία, και ατροφία των σκελετικών μυών (15,16). Η πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση διαχωρίζεται στην οικογενή μορφή και στη σποραδική μορφή με βάση την παρουσία θετικού οικογενειακού ιστορικού, γεγονός που παρατηρείται σε περίπου 5% των περιστατικών της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης (15). Η επίπτωση της νόσου σε ευρωπαϊκούς πληθυσμούς αντιστοιχεί σε 2 – 4 νέα περιστατικά ανά έτος ανά 100,000

άτομα στο γενικό πληθυσμό και ο δια βίου κίνδυνος είναι 1:350 για της άνδρες και 1:400 για της γυναίκες (15).

Θεωρείται πολυπαραγοντική νόσος, δηλαδή η αιτιολογία της εντοπίζεται σε συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Μία συστηματική εκτίμηση της επίδρασης των γενετικών πολυμορφισμών στον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση παρουσιάστηκε στη βάση δεδομένων *ALSGene*, η οποία συνιστά μία συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για μελέτες γενετικής συσχέτισης αναφορικά με τη νόσο αυτή (17). Σε αυτή τη βάση δεδομένων, συλλέχθηκαν συστηματικά περισσότερες από 90 ανεξάρτητες επιδημιολογικές μελέτες σχετικά με περισσότερους από 250 γενετικούς πολυμορφισμούς που εδράζονται σε 90 γονίδια. Η αρχική βιβλιογραφική αναζήτηση της συγκεκριμένης βάσης περιλάμβανε 21 μετα-αναλύσεις, από τις οποίες 2 παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στο επίπεδο $P\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$. Η πιο πρόσφατη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης για τη νόσο ανέδειξε 4 γενετικούς πολυμορφισμούς με στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($P\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$), μελετώντας ένα συνολικό πληθυσμό 12,577 ασθενών και 23,475 μαρτύρων (18).

Το ενδιαφέρον για τη συνεισφορά των περιβαλλοντικών παραγόντων στον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση έχει εστιαστεί κυρίως σε επαγγελματικές εκθέσεις. Συγκεκριμένα, η επαγγελματική έκθεση σε μόλυβδο, σε αλουμίνιο και σε υδράργυρο έχει ενοχοποιηθεί για αυξημένο κίνδυνο για τη νόσο μέσω της δράσης των παραγόντων αυτών ως νευροτοξίνες (16). Επιπλέον λεπτομέρειες σχετικά με τη συνεισφορά των περιβαλλοντικών παραγόντων στη διαμόρφωση του κινδύνου για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 3.

1.3 ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ PARKINSON

Η νόσος του Parkinson (*Parkinson's disease*) αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη νευροεκφυλιστική νόσο του κεντρικού νευρικού συστήματος μετά τη νόσο του Alzheimer (19). Η νόσος περιεγράφηκε το 1817 για πρώτη φορά από τον ιατρό *James Parkinson*, ο οποίος περιέγραψε λεπτομερώς τα κινητικά συμπτώματα της νόσου και την πρόγνυσή της σε μία σειρά 6 ασθενών (20). Η νόσος του Parkinson χαρακτηρίζεται από απώλεια των ντοπαμινεργικών νευρώνων στη μέλαινα ουσία (*substantia nigra*) που οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα ντοπαμίνης στο ραβδωτό σώμα και σε διαταραχή του ελέγχου της κίνησης (21). Σε παθολογοανατομικό επίπεδο, τα χαρακτηριστικά της νόσου είναι η παρουσία νευρωνικών ηωσινοφιλικών εγκλείστων που ονομάζονται σωμάτια Lewy (*Lewy bodies*) και η συσσώρευση της α-συνουκλεΐνης (*alpha-synuclein*) (21). Ο χρυσός κανόνας για τη διάγνωση της νόσου του Parkinson είναι η παθολογοανατομική εξέταση του εγκεφάλου, αλλά κατά τη διάρκεια της ζωής η διάγνωση βασίζεται μόνο στην κλινική εικόνα του ασθενούς (22). Δεν υπάρχουν εργαστηριακές ή απεικονιστικές εξετάσεις για τη διάγνωση της νόσου του Parkinson με βεβαιότητα και για το λόγο αυτό η διάγνωση βασίζεται στο ιατρικό ιστορικό και τη νευρολογική εξέταση (21).

Τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου του Parkinson περιλαμβάνουν τόσο κινητικά όσο και μη κινητικά σημεία και συμπτώματα, όπως η γνωσιακή έκπτωση, η δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος, η κατάθλιψη, οι διαταραχές του ύπνου και οι διαταραχές στην όσφρηση (23). Για τον παραπάνω λόγο, η νόσος του Parkinson θεωρείται μία αρκετά ετερογενής νόσος που μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε ποικίλους φαινοτύπους.

Η νόσος του Parkinson εμφανίζεται συχνότερα σε ασθενείς άνω των 50 ετών και η επίπτωσή της αυξάνεται με την αύξηση της ηλικίας (23). Οι εκτιμήσεις για την επίπτωση και τον επιπολασμό της νόσου ποικίλουν ανάλογα με την εφαρμοζόμενη μεθοδολογία. Στις αναπτυγμένες χώρες, ο επιπολασμός της νόσου του Parkinson εκτιμάται σε 0.3% του γενικού πληθυσμού, ενώ περίπου το 1% των ατόμων άνω των 60 ετών εκτιμάται ότι πάσχει από τη νόσο (19). Σε μια μετα-ανάλυση μελετών, παρατηρήθηκε αύξηση του επιπολασμού της νόσου με την αύξηση της ηλικίας (24). Σύμφωνα με την ίδια μετα-ανάλυση, ο επιπολασμός της νόσου εκτιμάται σε 315 περιστατικά (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 113 – 873) ανά 100,000 άτομα ηλικίας άνω των 40 ετών (24). Σε μια μελέτη, στην οποία εφαρμόστηκαν πολλαπλά διαφορετικά διαγνωστικά κριτήρια για τον προσδιορισμό του επιπολασμού της νόσου του Parkinson, παρατηρήθηκε μεγάλη διαφορά της εκτίμησης του επιπολασμού ανάλογα με το συνδυασμό των κλινικών σημείων και συμπτωμάτων (22). Η επίπτωση της νόσου του Parkinson υπολογίζεται σε 8 – 18 νέα περιστατικά ανά 100,000 προσωπο-έτη (19). Η έναρξη της νόσου σπάνια τοποθετείται πριν από την ηλικία των 50 ετών και έχει παρατηρηθεί μια ραγδαία αύξηση της επίπτωσης μετά την ηλικία των 60 ετών (19).

Η νόσος του Parkinson θεωρείται μια πολυπαραγοντική νόσος με αιτιολογία που αποδίδεται σε συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου. Μία ενδεδειγμένη και συστηματική αξιολόγηση των γενετικών πολυμορφισμών που σχετίζονται με τη νόσο πραγματοποιήθηκε σε μία δημοσιευμένη σύνοψη πεδίου (*PDGene*) των μελετών γενετικής συσχέτισης για τη νόσο του Parkinson (25). Σε αυτή τη σύνοψη, πραγματοποιήθηκε μετα-ανάλυση για συνολικά 867 γενετικούς πολυμορφισμούς που εδράζονται σε 328 γενετικούς τόπους (*genetic loci*). Σε καυκάσιους πληθυσμούς, 12 ανεξάρτητοι μονήρεις νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (*single nucleotide polymorphisms*) έφτασαν στο επίπεδο της ευρείας γονιδιωματικής

στατιστικής σημαντικότητας, δηλαδή $P\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$, το οποίο αποτελεί το καθιερωμένο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας στις μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (26). Σε ασιατικούς πληθυσμούς, μόνο 4 ανεξάρτητοι μονήρεις νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί έφτασαν στο επίπεδο της ευρείας γονιδιωματικής στατιστικής σημαντικότητας.

Αναφορικά με το περιβαλλοντικό υπόβαθρο του κινδύνου για τη νόσο, αρκετοί παράγοντες κινδύνου έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Από αυτούς τους παράγοντες αξίζει να αναφερθούν το κάπνισμα, η κατανάλωση καφεΐνης, η έκθεση σε φυτοφάρμακα και άλλες επαγγελματικές εκθέσεις, τα επίπεδα του ουρικού οξέος στον ορό και η φυσική δραστηριότητα (27). Εκτενής συζήτηση για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που σχετίζονται με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson παρατίθεται στο Κεφάλαιο 4, όπου παρουσιάζεται μία σύνοψη πεδίου των μετα-αναλύσεων για το θέμα αυτό (28).

1.4 ΆΝΟΙΑ

Η άνοια αποτελεί ένα κλινικό σύνδρομο που αντιστοιχεί σε ένα εύρος συμπτωμάτων που επηρεάζουν τη μνήμη, τη συμπεριφορά και τη λεκτική και μη-λεκτική επικοινωνία του ασθενούς. Η άνοια είναι αρκετά ετερογενής και διακρίνεται σε υπότυπους, οι οποίοι διαφοροποιούνται στις κλινικές εκδηλώσεις, την παθοφυσιολογία, την πρόγνωση και τη θεραπεία (29,30). Η νόσος του Alzheimer αποτελεί η συχνότερη μορφή άνοιας, η οποία χαρακτηρίζεται από χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση αμυλοειδικών πλακών και νευροϊνιδιακών πλεγμάτων στον εγκέφαλο (31). Η δεύτερη σε συχνότητα μορφή άνοιας, μετά τη νόσο του Alzheimer, είναι η

αγγειακή άνοια, η οποία προκύπτει ως αποτέλεσμα ισχαιμικών ή αιμορραγικών αγγειακών συμβαμάτων στον εγκέφαλο (32).

Η άνοια αποτελεί μια συχνή και εξουθενωτική νόσο με μεγάλη επίδραση στην ποιότητα ζωής του ασθενούς αλλά και με μεγάλη επίπτωση στη δημόσια υγεία, καθώς συνδέεται με υψηλό κόστος στα συστήματα υγείας. Σύμφωνα με τον οργανισμό *Alzheimer's Disease International* (33), υπολογίζεται ότι 47 εκατομμύρια άνθρωποι ζούσαν παγκοσμίως με άνοια κατά το έτος 2015. Επίσης, ο αριθμός αυτός αναμένεται να διπλασιάζεται κάθε 20 περίπου χρόνια, φτάνοντας τα 75 εκατομμύρια ανθρώπους κατά το έτος 2030 και τα 132 εκατομμύρια ανθρώπους κατά το έτος 2050. Επιπλέον, υπολογίζεται ότι η επίπτωση της άνοιας αντιστοιχεί σε περισσότερα από 9.9 εκατομμύρια νέα περιστατικά ετησίως, παρατήρηση που μπορεί να ερμηνευτεί ως ένα νέο περιστατικό άνοιας ανά 3.2 δευτερόλεπτα. Σχετικά με το οικονομικό φορτίο της άνοιας στα συστήματα υγείας παγκοσμίως, εκτιμάται ότι η περίθαλψη ασθενών με άνοια αντιστοιχεί σε περισσότερα από 800 δισεκατομμύρια δολάρια και αναμένεται να αυξηθεί σε 2 τρισεκατομμύρια δολάρια κατά το έτος 2030.

Η βαρύτητα της άνοιας σε επίπεδο δημόσιας υγείας απεικονίζεται στην πρωτοβουλία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, ο οποίος ανέλαβε την έναρξη του *Global Dementia Observatory* το Δεκέμβριο του 2017, προκειμένου να παρέχει συνεχή επιτήρηση για τη συλλογή δεδομένων που αφορούν το σχεδιασμό των συστημάτων υγείας σε παγκόσμιο επίπεδο. Επίσης, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ανέλαβε τη σύνταξη του *WHO Global Action Plan on the Public Health Response to Dementia* που αποτελεί ένα παγκόσμιο πλάνο δράσης για την αντιμετώπιση των αυξανόμενων περιστατικών άνοιας σε επίπεδο δημόσιας υγείας (34).

Οι διάφορες μορφές άνοιας αποτελούν πολυπαραγοντικά νοσήματα, όπου εμπλέκονται τόσο περιβαλλοντικοί όσο και γενετικοί παράγοντες κινδύνου. Οι μελέτες γονιδιακής συσχέτισης έχουν συνοψιστεί και αξιολογηθεί με συστηματική προσέγγιση σε δύο δημοσιευμένες συνόψεις πεδίου για τη νόσο του Alzheimer και την αγγειακή άνοια (35–37). Στη σύνοψη πεδίου για τη νόσο του Alzheimer συνοψίστηκαν τα αποτελέσματα από 789 μελέτες παρατήρησης σχετικά με 802 γενετικούς πολυμορφισμούς που εδράζονται σε 277 γονίδια (36). Πλέον του καθιερωμένου πολυμορφισμού APOE-ε4, 20 γενετικοί πολυμορφισμοί που εδράζονται σε 13 γονίδια παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα και υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα, όπως αυτή αξιολογήθηκε με την εφαρμογή των κριτηρίων της Βενετίας (38). Περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα κριτήρια αυτά αναφέρονται στην Ενότητα 2.5. Τα ευρήματα αυτής της σύνοψης πεδίου έχουν αναρτηθεί στη διαδικτυακή βάση δεδομένων *AlzGene* (<http://www.alzgene.org>). Η τελευταία ενημέρωση της βάσης περιλαμβάνει 1395 άρθρα δημοσιευμένα έως τον Απρίλιο του 2011, σχετικά με 2973 πολυμορφισμούς σε 695 γονίδια. Μία αντίστοιχη σύνοψη πεδίου έχει δημοσιευθεί για τη μελέτη της Γενετικής Επιδημιολογίας της αγγειακής άνοιας (37). Στη σύνοψη αυτή, συλλέχθηκαν συστηματικά 104 άρθρα που μελετούσαν συνολικά 72 γενετικούς πολυμορφισμούς σε 47 γονίδια. Τρεις γενετικοί πολυμορφισμοί παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για αγγειακή άνοια.

Η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στον κίνδυνο ανάπτυξης άνοιας είναι πιο ασαφής σε σύγκριση με το γενετικό υπόβαθρο της νόσου. Για τη νόσο του Alzheimer, έχουν προταθεί η κατανάλωση αλκοόλ, το κάπνισμα, η φυσική δραστηριότητα, η παχυσαρκία, το νοητικό απόθεμα (*cognitive reserve*) και ο σακχαρώδης διαβήτης ως πιθανοί τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου (31). Για την

αγγειακή άνοια, πιθανοί παράγοντες κινδύνου αποτελούν το επίπεδο εκπαίδευσης, η κατάθλιψη και παράγοντες που συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα (32). Αναλυτική συζήτηση των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου για τις άνοιες παρατίθεται στο Κεφάλαιο 5.

Κεφάλαιο 2

Στοιχεία επιδημιολογικής έρευνας

Στο κεφάλαιο αυτό, παρουσιάζεται μία εισαγωγή στις επιδημιολογικές έννοιες που θα συζητηθούν στα παρακάτω κεφάλαια και στις ερευνητικές μεθοδολογίες που εμπεριέχονται στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Συγκεκριμένα, θα γίνει αναφορά στη μεθοδολογία της μετα-ανάλυσης, την προσέγγιση της ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας και τη μεθοδολογία της Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

2.1 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑ-ΑΝΑΛΥΣΗ

2.1.1 Μία σύντομη ιστορική αναδρομή

Ο *Karl Pearson* αποτελεί τον πρώτο ερευνητή που εφάρμοσε τη μέθοδο της μετα-ανάλυσης, δηλαδή μια στατιστική σύνθεση των αποτελεσμάτων από ανεξάρτητες μελέτες για να προκύψει μια συνολική εκτίμηση του μεγέθους του αποτελέσματος (39). Σύμφωνα με τον ψυχολόγο *Gene Glass*, ο οποίος εισήγαγε στη βιβλιογραφία τον όρο «μετα-ανάλυση», η μετα-ανάλυση ορίζεται ως η στατιστική ανάλυση ενός μεγάλου πλήθους αποτελεσμάτων από ανεξάρτητες μελέτες με σκοπό την ενσωμάτωση των αποτελεσμάτων τους σε ένα συνολικό αποτέλεσμα (40). Στο χώρο της Ιατρικής, η επιτακτική ανάγκη για μετα-αναλύσεις τονίστηκε από τον ιατρό και επιδημιολόγο *Archie Cochrane*, προκειμένου οι επαγγελματίες υγείας να λαμβάνουν αποφάσεις βασισμένες στα διαθέσιμα επιστημονικά τεκμήρια (41).

2.1.2 Η συστηματική ανασκόπηση

Σε μία συστηματική ανασκόπηση, εφαρμόζεται μία συστηματική προσέγγιση για την αναζήτηση της βιβλιογραφίας εφαρμόζοντας έναν αναλυτικό αλγόριθμο αναζήτησης σε μία ή περισσότερες βιβλιογραφικές βάσεις, με στόχο τον εντοπισμό των μελετών που πληρούν συγκεκριμένα κριτήρια επιλεξιμότητας (42). Ο στόχος της συστηματικής ανασκόπησης είναι ο εντοπισμός όλων των διαθέσιμων μελετών σχετικά με ένα συγκεκριμένο ερευνητικό ερώτημα (40). Στη συνέχεια, η μέθοδος της μετα-ανάλυσης μπορεί να εφαρμοστεί με στόχο την ποσοτική σύνθεση των αποτελεσμάτων των μελετών σχετικά με συγκεκριμένα ερευνητικά ερωτήματα (41), δηλαδή η μετα-ανάλυση προκύπτει από την ανάγκη να συνοψιστούν ποσοτικά οι μελέτες που έχουν εντοπιστεί από τη διαδικασία της συστηματικής ανασκόπησης. Το βασικό πλεονέκτημα της μετα-ανάλυσης είναι ότι διαθέτει μεγαλύτερη στατιστική ισχύ για να ανιχνεύσει την παρουσία μιας συσχέτισης σε σύγκριση με μια μονήρη μελέτη (43).

2.1.3 Τα βασικά μοντέλα μετα-ανάλυσης

Τα δύο βασικά στατιστικά μοντέλα για μετα-ανάλυση είναι το μοντέλο σταθερής επίδρασης (*fixed-effect model*) και το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (*random-effects model*) (44). Σύμφωνα με το μοντέλο σταθερής επίδρασης, υποθέτουμε ότι υπάρχει ένα αληθινό μέγεθος αποτελέσματος για όλες τις μελέτες της μετα-ανάλυσης και ότι όλες οι διαφορές στα παρατηρούμενα αποτελέσματα οφείλονται σε σφάλμα δειγματοληψίας (*sampling error*). Σύμφωνα με το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, υποθέτουμε ότι το αληθινό μέγεθος αποτελέσματος είναι διαφορετικό σε κάθε μελέτη. Στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, θεωρούμε ότι το μέγεθος αποτελέσματος των μελετών που έχουν δημοσιευτεί αντιπροσωπεύουν ένα τυχαίο δείγμα από μια συγκεκριμένη κατανομή αυτών των μεγεθών αποτελέσματος (44). Η παρούσα διδακτορική διατριβή ασχολείται με μετα-αναλύσεις επιδημιολογικών μελετών παρατήρησης. Αναμένεται

μεθοδολογική ετερογένεια μεταξύ των μελετών αυτών, οπότε η στατιστική συμπερασματολογία βασίζεται στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων.

2.1.4 Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών

Οι συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μπορούν να προσφέρουν ικανοποιητικές και ακριβείς απαντήσεις σε διάφορα ερωτήματα στο χώρο της ιατρικής (45). Ωστόσο, για την εξαγωγή ασφαλούς συμπεράσματος, πρέπει να εξεταστεί η ετερογένεια μεταξύ των μελετών της μετα-ανάλυσης. Σε μία μετα-ανάλυση, η ετερογένεια μεταξύ των μελετών προσφέρει σημαντική πληροφορία σχετικά με την μεταβλητότητα του αποτελέσματος των μελετών (46). Για το λόγο αυτό, είναι σημαντικό σε μία μετα-ανάλυση να εξετάζεται η συνοχή (*consistency*) που παρατηρείται ανάμεσα στα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών (45).

Αρχικά, αναπτύχθηκε το στατιστικό *Cochran's Q*, το οποίο αντιστοιχεί στο άθροισμα του τετραγώνου της απόκλισης του αποτελέσματος καθεμίας μελέτης από το συνολικό αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης χρησιμοποιώντας για καθεμία μελέτη ως βάρος το βάρος της στη μετα-ανάλυση (45,47). Στη συνέχεια, εφαρμόζεται μία στατιστική δοκιμασία για τον έλεγχο της ετερογένειας, όπου η τιμή του στατιστικού *Cochran's Q* συγκρίνεται με μία χ^2 κατανομή με $k - 1$ βαθμούς ελευθερίας, όπου k είναι ο αριθμός των μελετών της μετα-ανάλυσης. Όμως, σε μετα-αναλύσεις με μικρό αριθμό μελετών, αυτή η στατιστική δοκιμασία έχει χαμηλή στατιστική ισχύ (45).

Για το λόγο αυτό, αναπτύχθηκε το στατιστικό I^2 , το οποίο εκφράζει το βαθμό της συνοχής μεταξύ των αποτελεσμάτων των μελετών της μετα-ανάλυσης (45). Το μέγεθος αυτό περιγράφει το ποσοστό της συνολικής μεταβλητότητας μεταξύ των μελετών που οφείλεται στην ετερογένεια και όχι στην τύχη. Υπολογίζεται με βάση το στατιστικό *Cochran's Q* και λαμβάνει τιμές από 0% έως 100%.

2.1.5 Το διάστημα πρόβλεψης

Το διάστημα πρόβλεψης (*prediction interval*) παρουσιάζει την ετερογένεια στην ίδια κλίμακα με τον εκτιμητή του αποτελέσματος. Το διάστημα πρόβλεψης εκτιμά το αναμενόμενο πραγματικό αποτέλεσμα σε μελλοντικές μελέτες σχετικά με το ίδιο ερευνητικό ερώτημα (46). Το διάστημα πρόβλεψης αποτελεί μία μέθοδος για να εκτιμηθεί η μεταβλητότητα του αποτελέσματος της υπό εξέταση συσχέτισης σε διαφορετικές μεθοδολογικές συνθήκες. Επί απουσίας ετερογένειας μεταξύ των μελετών, το 95% διάστημα πρόβλεψης συμπίπτει με το 95% διάστημα εμπιστοσύνης (46). Όμως, σε μετα-αναλύσεις με παρουσία ετερογένειας μεταξύ των μελετών, το 95% διάστημα πρόβλεψης θα είναι πιο ευρύ από το 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

2.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΣ

2.2.1 Η έννοια του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης

Το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης (*publication bias*) αποτελεί ένα από τα βασικά ζητήματα εγκυρότητας μιας συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης (48). Το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης οφείλεται στο γεγονός ότι οι μελέτες που δεν περικλείονται σε μια μετα-ανάλυση διαφέρουν ως προς το μέγεθος αποτελέσματος από τις μελέτες που έχουν συμπεριληφθεί στη μετα-ανάλυση (48). Μία ομάδα στατιστικών δοκιμασιών διερευνά την επίδραση των μικρού μεγέθους μελετών (*small-study effects*) σε μία μετα-ανάλυση, δηλαδή ανιχνεύει εάν οι μικρού μεγέθους μελέτες παρουσιάζουν συστηματικά μεγαλύτερα μεγέθη αποτελέσματος συγκριτικά με τις

μεγάλου μεγέθους μελέτες. Αυτές οι στατιστικές δοκιμασίες παρέχουν ενδείξεις παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης.

2.2.2 Διερεύνηση της επίδρασης των μικρών μελετών

Η πρώτη γραφική μέθοδος που αναπτύχθηκε για τον έλεγχο της παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης αποτελεί το διάγραμμα χοάνης (*funnel plot*). Το διάγραμμα αυτό αποτελεί ένα διάγραμμα συσχέτισης (*scatter plot*) του αποτελέσματος μιας μελέτης (άξονας x) με κάποιο μέτρο αβεβαιότητας της αντίστοιχης μελέτης (άξονας y) (49,50). Τα επικρατέστερα μέτρα αβεβαιότητας της μελέτης είναι το τυπικό σφάλμα και η ακρίβεια της μελέτης, δηλαδή το αντίστροφο του τυπικού σφάλματος. Η παρουσία ασυμμετρίας στο διάγραμμα χοάνης αξιολογείται ως ένδειξη παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης. Ωστόσο, έχουν προταθεί επιπλέον λόγοι που μπορεί να ερμηνεύσουν την ασυμμετρία σε ένα διάγραμμα χοάνης (49,51). Επιπλέον, η οπτική εξέταση της ασυμμετρίας στο διάγραμμα χοάνης θεωρείται ανακριβής μέθοδος για τη διερεύνηση της παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης (52,53).

Υπάρχουν αρκετές στατιστικές μέθοδοι για τον έλεγχο της επίδρασης των μικρών μελετών στο αποτέλεσμα μιας μετα-ανάλυσης (48). Από τις μεθόδους αυτές, θα αναφερθεί η στατιστική δοκιμασία παλινδρόμησης του Egger (49), η οποία θα εφαρμοστεί στο ειδικό μέρος της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Η μέθοδος αυτή αποτελεί ένα μοντέλο σταθμισμένης παλινδρόμησης, όπου ο λόγος του αποτελέσματος μίας μελέτης προς το τυπικό σφάλμα της μελέτης αυτής χρησιμοποιείται ως εξαρτημένη μεταβλητή και η ακρίβεια της μελέτης (δηλαδή το αντίστροφο του τυπικού σφάλματος) χρησιμοποιείται ως ανεξάρτητη μεταβλητή (48). Το βασικό πλεονέκτημα της δοκιμασίας αυτής αποτελεί η σχετικά υψηλή στατιστική ισχύς, αλλά παρατηρείται

αυξημένο σφάλμα τύπου Ι όταν εφαρμόζεται σε μετα-αναλύσεις με υψηλή ετερογένεια μεταξύ των μελετών ή σε μετα-αναλύσεις με μεγάλο αριθμό μελετών (48).

2.3 ΣΦΑΛΜΑ ΠΕΡΙΣΣΕΙΑΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Η παρουσία του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης σημαίνει ότι οι μελέτες που παρουσιάζουν στατιστικό σημαντικό αποτέλεσμα είναι πιο πιθανό να δημοσιευτούν συγκριτικά με τις μελέτες που δεν έχουν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (54). Επίσης, αρκετές φορές, σε μία μελέτη, παρατηρείται επιλεκτική αναφορά των αναλύσεων και των αποτελεσμάτων που αποδίδουν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Αν μία μη στατιστικά σημαντική μελέτη καταφέρει να δημοσιευτεί, αυτό πραγματοποιείται καθυστερημένα. Η παρουσία των σφαλμάτων αυτών οδηγεί σε μία περίσσεια των στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων σε σχέση με το πραγματικό ποσοστό των μελετών αυτών (54). Για την εκτίμηση του σφάλματος αυτού, προτάθηκε μία στατιστική δοκιμασία, η οποία βασίζεται στη σύγκριση του παρατηρούμενου και του αναμενόμενου αριθμού των στατιστικά σημαντικών μελετών σε μία μετα-ανάλυση με βάση μία χ^2 δοκιμασία (54).

Η δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας (*excess statistical significance test*) έχει εφαρμοστεί σε αρκετά πεδία με παρόμοια αποτελέσματα. Μία από τις πρώτες εφαρμογές του αφορούσε το πεδίο των γενετικών συσχετίσεων στη νόσο του Alzheimer (55). Στη μελέτη αυτή, αξιολογήθηκαν συνολικά 175 μετα-αναλύσεις και σε 19 από αυτές εντοπίστηκε σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Ένα ενδιαφέρον εύρημα προέκυψε κατά τη διερεύνηση του σφάλματος αυτού σε ολόκληρο το πεδίο, όπου το ποσοστό των στατιστικά σημαντικών

μελετών ήταν 17.4% και το αναμενόμενο ποσοστό ήταν 12.2%. Η διαφορά αυτή ήταν αρκετά μεγάλη με $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$.

Επιπλέον, η εφαρμογή αυτής της στατιστικής δοκιμασίας στο πεδίο των βιολογικών ανέδειξε παρουσία σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας στο 32% των μετα-αναλύσεων που αφορούσαν τη μελέτη βιολογικών δεικτών για τον κίνδυνο καρκίνου (56) και στο 52% των μετα-αναλύσεων που αφορούσαν τη μελέτη βιολογικών δεικτών για τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου (57).

2.4 ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΠΕΔΙΟΥ

Κατά την τελευταία δεκαετία, έχει παρατηρηθεί ραγδαία αύξηση του ρυθμού δημοσίευσης συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων. Ταυτόχρονα, έχει δημιουργηθεί η ανάγκη για σύνοψη της βιβλιογραφίας σχετικά με ένα συγκεκριμένο ερευνητικό ερώτημα με στόχο τόσο τη συνολική μεθοδολογική και επιδημιολογική αποτίμηση της βιβλιογραφίας όσο και την ανίχνευση πιθανών σφαλμάτων στις δημοσιευμένες μελέτες παρατήρησης και μετα-αναλύσεις.

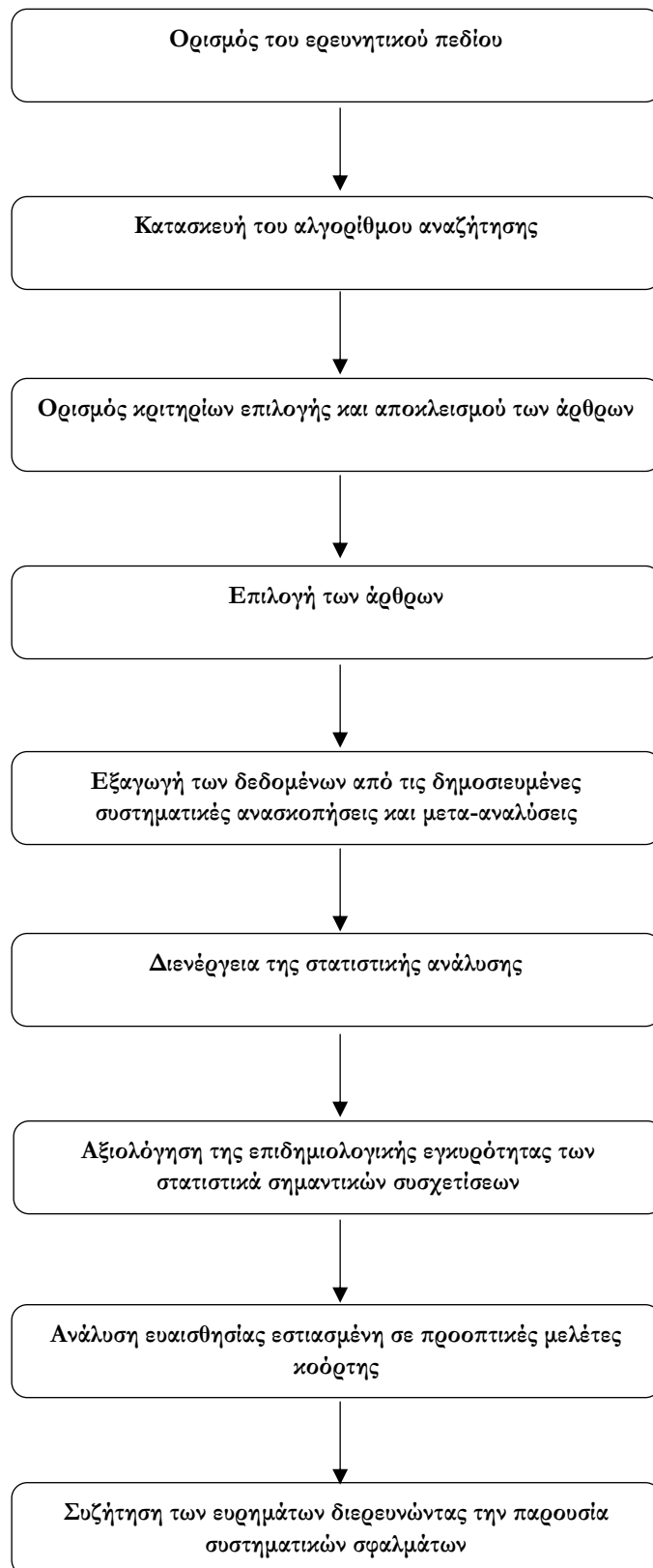
Ο όρος «ανασκόπηση πεδίου τύπου ομπρέλας» (*umbrella review*) εμφανίστηκε στην ιατρική βιβλιογραφία περί το 2009 σε ένα άρθρο ανασκόπησης που δημοσιεύτηκε στο *Canadian Medical Association Journal* (58). Ένας αντίστοιχος όρος που έχει χρησιμοποιηθεί στην ιατρική βιβλιογραφία αποτελεί η «σύνοψη πεδίου» (*field synopsis*), ο οποίος εμφανίστηκε για πρώτη φορά περί το 2007, ενώ περιεγράφηκε αναλυτικά σε ένα άρθρο ανασκόπησης που δημοσιεύτηκε στο *American Journal of Epidemiology* κατά το 2009 (59). Ο σχεδιασμός της ανασκόπησης πεδίου έκανε την εμφάνισή του στο πεδίο της Γενετικής Επιδημιολογίας στοχεύοντας στη συστηματική αξιολόγηση των μελετών γενετικής συσχέτισης για έναν συγκεκριμένο ερευνητικό

πεδίο. Συγκεκριμένα, αναφέρεται ότι «μία σύνοψη πεδίου αποτελεί ένα τακτικά επικαιροποιούμενο στιγμιότυπο της γνώσης σχετικά με τις γενετικές συσχετίσεις σε ένα συγκεκριμένο ερευνητικό πεδίο, το οποίο ορίζεται ως μία νοσολογική οντότητα, ένας φαινότυπος ή μία οικογένεια γονιδίων (59). Αξίζει να αναφερθεί ότι από τις αρχές του 2007 έως το τέλος του 2013 δημοσιεύτηκαν συνολικά 61 ανασκοπήσεις πεδίου που αφορούσαν συνολικά 52 νοσολογικές οντότητες (35). Μετέπειτα, η προσέγγιση της σύνοψης πεδίου μετακίνησε από το πεδίο της Γενετικής Επιδημιολογίας στους υπόλοιπους χώρους της επιδημιολογικής έρευνας. Παρατίθεται ως παράδειγμα μία δημοσιευμένη σύνοψη πεδίου για μία οφθαλμολογική πάθηση, το πτερύγιο, που συγκέντρωσε όλες τις επιδημιολογικές μελέτες που επικεντρώθηκαν στη μελέτη παραγόντων κινδύνου για την πάθηση αυτή (60).

Με την πάροδο του χρόνου, κατά την τελευταία δεκαετία, οι συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις έχουν γίνει αρκετά προσφιλείς, δεδομένου του αυξανόμενου αριθμού μελετών παρατήρησης. Μέσα σε αυτό το πλαίσιο, κατέστη σαφές ότι ίσως είναι προτιμότερο και πιο αποτελεσματικό να συλλέγονται δημοσιευμένες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις που σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο ερευνητικό ερώτημα.

Στην **Εικόνα 1**, απεικονίζεται το διάγραμμα ροής της διαδικασίας διεξαγωγής μιας ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας.

Εικόνα 1. Ενδεικτικό διάγραμμα ροής της διαδικασίας διεξαγωγής μιας ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας



2.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑΣ

Ένα βασικό ζήτημα στην επιδημιολογική έρευνα αποτελεί η αξιολόγηση της αξιοπιστίας των ευρημάτων, προκειμένου να περιοριστεί η πιθανότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων. Στις ακόλουθες παραγράφους, θα γίνει μία συνοπτική αναφορά διαφόρων κριτηρίων αξιολόγησης της επιδημιολογικής εγκυρότητας που έχουν εφαρμοστεί κατά καιρούς τόσο στο πεδίο της Γενετικής Επιδημιολογίας όσο και στο πεδίο της Περιβαλλοντικής Επιδημιολογίας.

Στο πεδίο της Γενετικής Επιδημιολογίας, πριν από μία δεκαετία περίπου, διατυπώθηκαν από μία ομάδα επιστημόνων τα κριτήρια της Βενετίας (*Venice criteria*) (38). Στόχος των κριτηρίων αυτών ήταν η αξιολόγηση της επιδημιολογικής αξιοπιστίας (*epidemiological credibility*), η οποία ορίστηκε ως «η πιθανότητα να είναι πραγματική μία συσχέτιση μετά τη συσσώρευση επιδημιολογικών τεκμηρίων», σε μελέτες γενετικής συσχέτισης (38). Τα κριτήρια της Βενετίας βασίστηκαν σε τρεις άξονες: το μέγεθος του δείγματος, την επικύρωση των αποτελεσμάτων και την παρουσία συστηματικών σφαλμάτων. Ένα μεγάλο μέγεθος δείγματος είναι απαραίτητο για να εξασφαλιστεί επαρκής στατιστική ισχύ για την ανίχνευση μιας συσχέτισης και για να υπερβεί μία συσχέτιση ένα αυστηρό όριο στατιστικής σημαντικότητας. Επίσης, η επικύρωση μιας συσχέτισης από μετέπειτα μελέτες αποτελεί ένα σημαντικό κριτήριο για την επιδημιολογική εγκυρότητά της, το οποίο έγκειται τόσο στην επαναληψιμότητα των ευρημάτων όσο και στην ομοιογένεια μεταξύ των διαθέσιμων μελετών. Στα κριτήρια της Βενετίας προτείνεται, ως παράδειγμα, η αξιολόγηση του βαθμού επικύρωσης ενός ευρήματος με τη χρήση του στατιστικού μέτρου I^2 . Επίσης, επισημαίνεται ότι η ετερογένεια μεταξύ των μελετών μπορεί να οφείλεται είτε στην παρουσία συστηματικών σφαλμάτων που επηρεάζουν το παρατηρούμενο αποτέλεσμα των μελετών, είτε μπορεί να οφείλεται στα διαφορετικά χαρακτηριστικά του

πληθυσμού και του σχεδιασμού των μελετών αυτών. Το τελευταίο βήμα στην αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας των γενετικών συσχετίσεων αποτελεί η εκτίμηση της παρουσίας συστηματικών σφαλμάτων. Σύμφωνα με μία συστηματική αξιολόγηση των δημοσιευμένων συνόψεων πεδίου, τα κριτήρια της Βενετίας έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την αξιολόγηση των γενετικών συσχετίσεων (35). Λίγα χρόνια αργότερα από την εμφάνισή τους, η εφαρμογή των κριτηρίων της Βενετίας επεκτάθηκε στην αξιολόγηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων (61).

Στο πεδίο της Περιβαλλοντικής Επιδημιολογίας, η κεντρική ιδέα της αξιολόγησης των επιδημιολογικών συσχετίσεων βασίζεται στα κριτήρια του *Bradford Hill* (62). Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθούν τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται από τον οργανισμό *World Cancer Research Fund* για την αξιολόγηση της συσχέτισης των διατροφικών παραγόντων κινδύνου στον κίνδυνο για καρκίνο (61). Σύμφωνα με τα κριτήρια αυτά, για να θεωρηθεί ότι μία συσχέτιση έχει υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα αξιολογείται η παρουσία μελετών κοόρτης, η ετερογένεια μεταξύ των μελετών, η μεθοδολογική ποιότητα των μελετών, η παρουσία δοσο-εξαρτώμενης σχέσης μεταξύ παράγοντα κινδύνου και έκβασης και η παρουσία πειραματικών μελετών σε ανθρώπους ή ζωικά μοντέλα. Αναφορικά με τη μεθοδολογική ποιότητα των μελετών, αξιολογείται ο σχεδιασμός και η στατιστική ανάλυση ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα επίδρασης τυχαίου ή συστηματικών σφαλμάτων στο παρατηρούμενο αποτέλεσμα. Ωστόσο, κατά τα τελευταία χρόνια υπάρχει συζήτηση στην επιστημονική βιβλιογραφία κατά πόσο η εφαρμογή των κριτηρίων του *Bradford Hill* μπορεί να αποκλείσει την παρουσία ψευδώς θετικών ευρημάτων (63).

2.6 ΤΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΤΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ

Στο σημείο αυτό θα επανέλθουμε στο σχεδιασμό των ανασκοπήσεων πεδίου τύπου ομπρέλας και θα εξετάσουμε τη διαδικασία με την οποία πραγματοποιείται η αξιολόγηση των τεκμηρίων. Η πρώτη ανασκόπηση πεδίου τύπου ομπρέλας στο χώρο των νευρολογικών νοσημάτων αφορούσε την πολλαπλή σκλήρυνση (13). Παράλληλα, η ερευνητική εργασία αποτελεί την πρώτη προσπάθεια συστηματικής αξιολόγησης πολλαπλών μετα-αναλύσεων, εφαρμόζοντας ένα συνδυασμό μεθοδολογικών κριτηρίων στο χώρο των ανασκοπήσεων πεδίου τύπου ομπρέλας. Στο σημείο αυτό, κρίνεται σκόπιμο να γίνει εκτενής αναφορά στο σχεδιασμό και στα ευρήματα αυτής της ερευνητικής εργασίας, καθώς η ανασκόπηση πεδίου τύπου ομπρέλας συνιστά βασικό ερευνητικό σχεδιασμό της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Στην ανασκόπηση πεδίου για την πολλαπλή σκλήρυνση, πραγματοποιήθηκε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας μέσω τη βιβλιογραφικής βάσης *PubMed* από τη δημιουργία της έως και τις 22 Νοεμβρίου 2014, προκειμένου να εντοπιστούν οι συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης που εξετάζουν τη συσχέτιση περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου με τον κίνδυνο ανάπτυξης πολλαπλής σκλήρυνσης. Για τη βιβλιογραφική αναζήτηση, χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος αλγόριθμος: “*multiple sclerosis*” AND (“*systematic review*” OR *meta-analysis*). Από τη συστηματική ανασκόπηση προέκυψαν 609 άρθρα, εκ των οποίων 20 άρθρα πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής.

Τρία από τα 20 άρθρα περιγράφουν μία συστηματική ανασκόπηση χωρίς ποσοτική σύνθεση των αποτελεσμάτων των μελετών παρατήρησης. Τα άρθρα αυτά αφορούν τη μελέτη του stress (5 μελέτες παρατήρησης, 503 ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση), της κοινωνικοοικονομικής κατάστασης (21 μελέτες παρατήρησης, 7632 ασθενείς με

πολλαπλή σκλήρυνση) και των επιπέδων προλακτίνης στον ορό (23 μελέτες παρατήρησης, 1199 ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση) ως παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη πολλαπλής σκλήρυνσης.

Τα υπόλοιπα 17 άρθρα περιλαμβάνουν 44 μετα-αναλύσεις συσχέτισης παραγόντων κινδύνου με την πολλαπλή σκλήρυνση. 20 από τις 44 μετα-αναλύσεις (46 %) μελέτησαν τη συσχέτιση λοιμώξεων ή εμβολιασμών με τον κίνδυνο πολλαπλής σκλήρυνσης. 7 από τις 44 μετα-αναλύσεις (16 %) εξέτασαν τους βιολογικούς δείκτες της λοίμωξης από τον ιό Epstein-Barr ή τη λοιμώδη μονοπυρήνωση. Οι υπόλοιπες μετα-αναλύσεις εξέτασαν βιοχημικούς δείκτες ($n = 5$), μυοσκελετικούς δείκτες ($n = 3$), συνοσσηρές παθήσεις ($n = 5$), χειρουργεία, τραυματικά συμβάντα ή ατυχήματα ($n = 8$) και έκθεση σε τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες ($n = 3$).

Από τις 44 μετα-αναλύσεις, οι 23 μετα-αναλύσεις (52%) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα με όριο $P\text{-value} < 0.05$. Όμως, όταν εφαρμόστηκε ένα αυστηρότερο όριο για τη στατιστική σημαντικότητα ($P\text{-value} < 0.001$), προκειμένου να μειωθεί ο αριθμός των πιθανώς ψευδώς θετικών ευρημάτων, μόνο 11 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Επίσης, 21 μετα-αναλύσεις (48%) παρουσίασαν μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($50\% \leq I^2 \leq 75\%$) και 12 μετα-αναλύσεις (27%) παρουσίασαν πολύ μεγάλη ετερογένεια ($I^2 > 75\%$). Ενδείξεις συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης εντοπίστηκαν σε 6 μετα-αναλύσεις, ενώ ενδείξεις σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας εντοπίστηκαν σε 4 μετα-αναλύσεις.

Στη συνέχεια, οι συσχετίσεις αυτές αξιολογήθηκαν με την εφαρμογή μιας σειράς μεθοδολογικών κριτηρίων, τα οποία αποφασίστηκαν στα πλαίσια των κριτηρίων αξιολόγησης *Venice criteria*, που εφαρμόζονται στις συνόψεις πεδίου (*field synopsis*).

Τα κριτήρια αυτά βασίστηκαν σε τρεις άξονες (μέγεθος δείγματος, επικύρωση των αποτελεσμάτων, παρουσία σφαλμάτων). Το μέγεθος του δείγματος εκτιμήθηκε με βάση το συνολικό αριθμό ασθενών των μελετών μιας μετα-ανάλυσης. Η επικύρωση των αποτελεσμάτων βασίστηκε στην ετερογένεια μεταξύ των μελετών μιας μετα-ανάλυσης, όπως αυτή ποσοτικοποιείται με το στατιστικό μέτρο I^2 και το 95% διάστημα πρόβλεψης, τα οποία περιεγράφηκαν στην Ενότητα 2.1. Η παρουσία σφαλμάτων εκτιμήθηκε με βάση το συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης, το σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας και το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων της μετα-ανάλυσης. Τα κριτήρια αυτά περιγράφονται αναλυτικά στον **Πίνακα 1**.

Με βάση τα κριτήρια αυτά, αναγνωρίστηκε ότι η παρουσία υψηλού τίτλου αντισωμάτων *IgG* έναντι του πυρηνικού αντιγόνου του ιού *Epstein-Barr*, το ιστορικό λοιμώδους μονοπυρήνωσης και το κάπνισμα αυξάνουν τον κίνδυνο για εμφάνιση πολλαπλής σκλήρυνσης. Ένα επιπλέον βασικό εύρημα αυτής της ανασκόπησης πεδίου αποτελεί η απουσία συσχετισμού των εμβολιασμών με τον κίνδυνο εμφάνισης πολλαπλής σκλήρυνσης. Επίσης, τονίστηκε η χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία για τη συσχέτιση της χρόνιας εγκεφαλονωτιαία φλεβικής ανεπάρκειας με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση.

Τέσσερα χρόνια μετά τη δημοσίευση της αρχικής ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας για την πολλαπλή σκλήρυνση, δόθηκε η ευκαιρία για μία επιπλέον ανάλυση των παραγόντων κινδύνου για τη νόσο σε ένα άρθρο ανασκόπησης στο *Multiple Sclerosis Journal* (14). Λαμβάνοντας υπόψιν την εμπειρία από μετέπειτα ανασκοπήσεις πεδίου τύπου ομπρέλας τόσο από το πεδίο της νευρολογίας όσο και από άλλα πεδία (28,64–66), έγινε σαφές ότι το στατιστικό όριο $P\text{-value} < 0.001$ αποτελεί ένα ιδιαίτερα ελαστικό όριο, καθώς η συσσώρευση μελετών μπορεί εύκολα να

οδηγήσει σε αυτό, χωρίς απαραίτητα να υπάρχει επιδημιολογική αξιοπιστία. Για το λόγο αυτό, οι συσχετίσεις των παραγόντων κινδύνου με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση επαναξιολογήθηκαν με βάση τα αναθεωρημένα κριτήρια που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**.

Πίνακας 1. Κριτήρια για την αξιολόγηση της επιδημιολογικής αξιοπιστίας των συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων και κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση.

Αρχικά κριτήρια αξιολόγησης		Αναθεωρημένα κριτήρια αξιολόγησης	
Κατηγορία αξιολόγησης	Κριτήρια	Κατηγορία αξιολόγησης	Κριτήρια
Υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία I)	➤ $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων της μετα-ανάλυσης, ➤ > 1000 ασθενείς, ➤ $I^2 < 50\%$, ➤ 95% διαστήματα πρόβλεψης που δεν περιλαμβάνουν το μηδενικό αποτέλεσμα, ➤ απουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας	Πολύ υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία I)	➤ > 1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, ➤ $I^2 < 50\%$, ➤ 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλαμβάνει το μηδενικό αποτέλεσμα, ➤ απουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας
		Υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία II)	➤ > 1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, ➤ στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη της μετα-ανάλυσης

Αρχικά κριτήρια αξιολόγησης		Αναθεωρημένα κριτήρια αξιολόγησης	
Κατηγορία αξιολόγησης	Κριτήρια	Κατηγορία αξιολόγησης	Κριτήρια
Μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία II)	➤ $P\text{-value} < 0.05$ αλλά $P\text{-value} > 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, ➤ $I^2 < 50\%$, ➤ απουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας	Μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία III)	➤ > 1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων
Χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία III)	➤ $P\text{-value} < 0.05$ αλλά $P\text{-value} > 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων	Χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία IV)	➤ $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων

2.7 ΜΕΛΕΤΕΣ ΜΕΝΔΕΛΙΑΝΗΣ ΤΥΧΑΙΟΠΟΙΗΣΗΣ

2.7.1 Η έννοια της Μενδελιανής τυχαιοποίησης

Ένας βασικός στόχος της επιδημιολογικής έρευνας είναι η ανίχνευση συσχετίσεων μεταξύ παραγόντων και βιο-ιατρικών φαινομένων και η διάκριση μεταξύ των αιτιωδών συσχετίσεων και των συσχετίσεων που παρατηρούνται λόγω παρουσίας σφαλμάτων. Τα αποτελέσματα της επιδημιολογικής έρευνας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την τεκμηριωμένη λήψη αποφάσεων στην κλινική πράξη και στην πρακτική της Δημόσιας Υγείας. Η εξαγωγή συμπερασμάτων για επιδημιολογικές συσχετίσεις με βάση τις μελέτες παρατήρησης ενέχει κινδύνους για σφάλματα, που οφείλονται κυρίως στην παρουσία συγχυτικών παραγόντων, συστηματικού σφάλματος επιλογής και συστηματικού σφάλματος πληροφορίας (67,68).

Ο χρυσός κανόνας για την ανίχνευση των αιτιολογικών παραγόντων κινδύνου για μια νόσο είναι οι τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές. Τεκμήρια από προηγούμενες μελέτες υποστηρίζουν ότι τα συμπεράσματα των μελετών παρατήρησης δεν επιβεβαιώνονται σε μετέπειτα τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές, όπως συνέβη στην περίπτωση της λήψης ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης από μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για την πρόληψη καρδιαγγειακών νόσων και στην περίπτωση της λήψης συμπληρωμάτων βιταμίνης E για την πρόληψη του καρκίνου και των καρδιαγγειακών νόσων (69). Επιπλέον, υπάρχουν επιδημιολογικές συσχετίσεις, όπως αυτές που αφορούν το κάπνισμα και την κατανάλωση αλκοόλ, για τις οποίες δεν είναι ηθικά αποδεκτός ο σχεδιασμός τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών (69). Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων που προαναφέρθηκαν, έχει προταθεί ο σχεδιασμός της Μενδελιανής τυχαιοποίησης (*Mendelian randomization*), ο οποίος αναλύεται στις ακόλουθες παραγράφους.

Ο όρος «Μενδελιανή τυχαιοποίηση» αναφέρεται στη διαδικασία του τυχαίου διαχωρισμού των αλληλίων κατά το σχηματισμό των γαμετών. Αυτή η διαδικασία οδηγεί σε μία κατανομή των αλληλίων στον πληθυσμό, η οποία είναι ανεξάρτητη από περιβαλλοντικούς παράγοντες που λειτουργούν ως συγχυτικοί παράγοντες στις επιδημιολογικές συσχετίσεις (67). Η μεθοδολογία της Μενδελιανής τυχαιοποίησης αναφέρεται στις επιδημιολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν γενετικούς πολυμορφισμούς για τη μελέτη αιτιακών συσχετίσεων μεταξύ μη γενετικών παραγόντων κινδύνου και νοσημάτων ή εκβάσεων σχετιζόμενων με την υγεία (70). Συγκεκριμένα, η μέθοδος της Μενδελιανής τυχαιοποίησης χρησιμοποιεί τη μέθοδο των βοηθητικών μεταβλητών (*instrumental variables*), όπου η γενετική πληροφορία αξιοποιείται ως βοηθητική μεταβλητή. Μια βοηθητική μεταβλητή είναι μια μεταβλητή η οποία συσχετίζεται με την έκβαση μόνο μέσω της ισχυρής συσχέτισής της με μια ενδιάμεση μεταβλητή, η οποία αποτελεί την έκθεση που μας ενδιαφέρει (69). Η μεθοδολογία των βοηθητικών μεταβλητών αρχικά εφαρμόστηκε στο πεδίο της οικονομετρίας και εισήχθη στην ιατρική έρευνα κατά την τελευταία 15ετία (69).

2.7.2 Βασικές προϋποθέσεις της Μενδελιανής τυχαιοποίησης

Για την εφαρμογή της μεθόδου της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, υπάρχουν ορισμένες προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούνται σχετικά με τους γενετικούς πολυμορφισμούς που χρησιμοποιούνται ως βοηθητικές μεταβλητές. Οι προϋποθέσεις αυτές απορρέουν από τη μεθοδολογία των βοηθητικών μεταβλητών (**Εικόνα 2**). Συγκεκριμένα, πρέπει ο γενετικός πολυμορφισμός να (71):

1. σχετίζεται με τον υπό μελέτη παράγοντα κινδύνου,
2. να μη σχετίζεται με οποιοδήποτε συγχυτικό παράγοντα της σχέσης μεταξύ του παράγοντα κινδύνου και της έκβασης, και

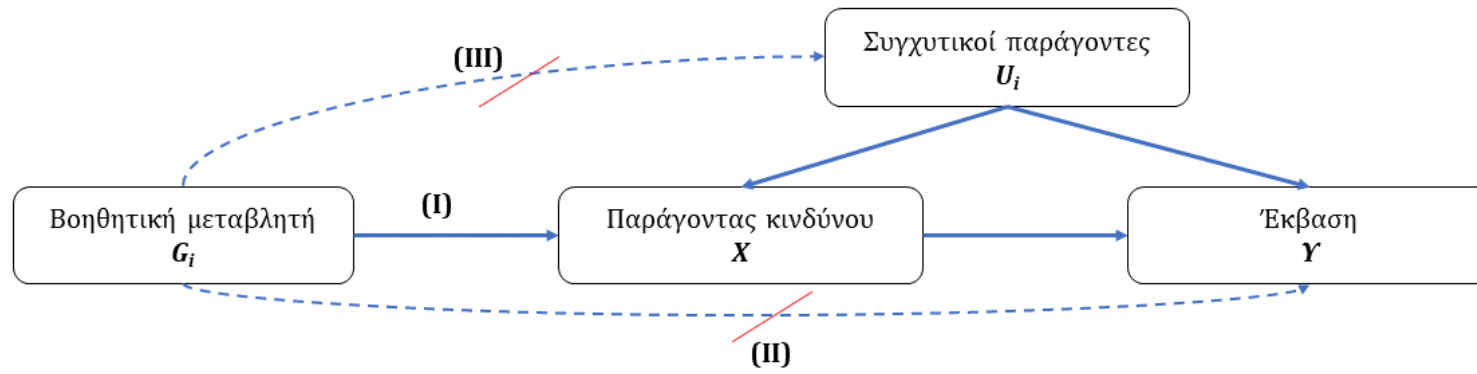
3. να μη σχετίζεται με την έκβαση παρά μόνο διαμέσου του υπό μελέτη παράγοντα κινδύνου

Οι προϋποθέσεις αυτές σημαίνουν ότι δεν υπάρχει εναλλακτικό αιτιολογικό μονοπάτι από το γενετικό πολυμορφισμό προς την έκβαση εκτός από το μονοπάτι διαμέσου του υπό μελέτη παράγοντα κινδύνου (72).

2.7.3 Μενδελιανή τυχαιοποίηση με συνοπτικού επιπέδου δεδομένα

Η Μενδελιανή τυχαιοποίηση με τη χρήση συνοπτικού επιπέδου (*summary data Mendelian randomization*) δεδομένων σημαίνει ότι χρησιμοποιούνται συνοπτικού επιπέδου δεδομένα για τη σχέση της βοηθητικής μεταβλητής τόσο με την έκθεση όσο και με την έκβαση (73). Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στην ανάπτυξη της Μενδελιανής τυχαιοποίησης δύο δειγμάτων (*two-sample Mendelian randomization*), η οποία αξιοποιεί συνοπτικού επιπέδου δεδομένα για την έκθεση και την έκβαση που αφορούν ανεξάρτητους, δηλαδή μη επικαλυπτόμενους, πληθυσμούς (73). Τα συνοπτικού επιπέδου δεδομένα αυτά μπορούν είτε να αντληθούν από μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης είτε να υπολογιστούν άμεσα από δεδομένα ατομικού επιπέδου (73). Η στατιστική μεθοδολογία της Μενδελιανής τυχαιοποίησης με συνοπτικού επιπέδου δεδομένα βασίζεται στη μέθοδο της μετα-ανάλυσης (73–75).

Εικόνα 2. Οι τρεις προϋποθέσεις που πρέπει να ισχύουν για να αποτελεί ένας γενετικός πολυμορφισμός κατάλληλη βοηθητική μεταβλητή σε μία ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης.



2.7.4 Βασικές μέθοδοι ανάλυσης στη μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης

Στο σημείο αυτό, θα αναφερθούν ορισμένες βασικές μέθοδοι ανάλυσης που εφαρμόζονται κατά την ανάλυση συνοπτικού επιπέδου δεδομένων στο πλαίσιο της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Συγκεκριμένα, θα περιγραφεί η μέθοδος της αντίστροφης διακύμανσης (*inverse variance method*) και η μέθοδος της σταθμισμένης διαμέσου (*weighted median method*).

Ακολουθώντας τη μέθοδο της Μενδελιανής τυχαιοποίησης και σύμφωνα με την προσέγγιση της βοηθητικής μεταβλητής, η αιτιώδης σχέση της έκθεσης με την έκβαση μπορεί να υπολογιστεί από το λόγο της εκτίμησης της σχέσης του γενετικού πολυμορφισμού με την έκβαση προς την εκτίμηση της σχέσης του γενετικού πολυμορφισμού με την έκθεση, δεδομένου ότι ισχύουν οι τρεις προϋποθέσεις που προαναφέρθηκαν. Αν οι γενετικοί πολυμορφισμοί, οι οποίοι συμμετέχουν στη βοηθητική μεταβλητή, δεν σχετίζονται μεταξύ τους, δηλαδή δεν βρίσκονται σε ανισορροπία σύνδεσης (*linkage disequilibrium*), τότε οι λόγοι των εκτιμητών μπορούν να συνδυαστούν σε μία συγκεντρωτική εκτίμηση βάσει της μεθοδολογίας της μετα-ανάλυσης, ακολουθώντας τη μέθοδο της αντίστροφης διακύμανσης. Στην περίπτωση που όλοι οι γενετικοί πολυμορφισμοί ικανοποιούν τις τρεις βασικές προϋποθέσεις της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, τότε η εκτίμηση βάσει της μεθόδου της αντίστροφης διακύμανσης αποτελεί μία αξιόπιστη εκτίμηση της αιτιώδους σχέσης της έκθεσης με την έκβαση (76).

Σε περίπτωση που ακόμη και ένας γενετικός πολυμορφισμός δεν πληροί τις τρεις προαναφερθείσες προϋποθέσεις, εισάγεται μεροληψία στην εκτίμηση του αιτιώδους αποτελέσματος ακολουθώντας τη μέθοδο της αντίστροφης διακύμανσης. Μελέτες προσομοίωσης έχουν δείξει ότι η μέθοδος της σταθμισμένης διαμέσου παρέχει

αμερόληπτη εκτίμηση της αιτιώδους σχέσης της έκθεσης με την έκβαση αρκεί το 50% των γενετικών πολυμορφισμών της βοηθητικής μεταβλητής να είναι πληρούν τις προϋποθέσεις της Μενδελιανής τυχαιοποίησης (76). Η βασική προϋπόθεση, που πρέπει να ισχύει κατά την εφαρμογή της μεθόδου της σταθμισμένης διαμέσου, είναι ποσοστό μεγαλύτερο από το 50% των βαρών να προέρχεται από γενετικούς πολυμορφισμούς που πληρούν τις προϋποθέσεις της Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

2.7.5 Η μέθοδος MR-Egger

Η μέθοδος MR-Egger αποτελεί μία στατιστική μέθοδο η οποία μπορεί να εφαρμοστεί όταν οι προϋποθέσεις της βοηθητικής μεταβλητής δεν ισχύουν, αλλά ισχύει μία ασθενέστερη προϋπόθεση (72,75). Βασίζεται στην επέκταση της στατιστικής δοκιμασίας του Egger, η οποία εφαρμόζεται ευρέως στο πεδίο της μετα-ανάλυσης για την αξιολόγηση του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης, στη Μενδελιανή τυχαιοποίηση με τη χρήση συνοπτικού επιπέδου δεδομένων. Συγκεκριμένα, η μέθοδος MR-Egger αποτελεί μία γραμμική παλινδρόμηση των εκτιμητών της σχέσης μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και έκβασης με τους εκτιμητές της σχέσης μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και έκθεσης (76).

Η μέθοδος αυτή αποτελείται από τρία στοιχεία (72):

1. μία εκτίμηση της μέσης πλειοτροπικής δράσης των γενετικών πολυμορφισμών, η οποία εκφράζεται από την σταθερά (*intercept*) της γραμμικής παλινδρόμησης, και
2. μία εκτίμηση της αιτιώδους σχέσης της έκθεσης με την έκβαση, η οποία εκφράζεται από την κλίση (*slope*) της γραμμικής παλινδρόμησης.

Μία στατιστικά σημαντική σταθερά στη μέθοδο MR-Egger ερμηνεύεται ως παρουσία πλειοτροπίας και ως μεροληψία της εκτίμησης από τη μέθοδο της

αντίστροφης διακύμανσης (72). Σε περίπτωση απουσίας πλειοτροπίας, η εκτίμηση της αιτιώδους σχέσης ανάμεσα στην έκθεση και την έκβαση βάσει της μεθόδου MR-Egger ταυτίζεται με την αντίστοιχη εκτίμηση βάσει της μεθόδου της αντίστροφης διακύμανσης. Επιπλέον, η εκτίμηση της αιτιώδους σχέσης μέσω της μεθόδου MR-Egger αποτελεί αξιόπιστη εκτίμηση ακόμη και στην περίπτωση που παραβιάζεται η τρίτη προϋπόθεση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, που περιγράφηκε παραπάνω (72).

2.7.6 Η μέθοδος MR-PRESSO

Μία θεμελιώδης προϋπόθεση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης αποτελεί η απουσία οριζόντιας πλειοτροπίας. Η προϋπόθεση αυτή σημαίνει ότι η βοηθητική μεταβλητή που χρησιμοποιείται στην ανάλυση επηρεάζει την έκβαση αποκλειστικά διαμέσου της υπό μελέτης έκθεσης (68). Οριζόντια πλειοτροπία (*horizontal pleiotropy*) παρατηρείται όταν ο γενετικός πολυμορφισμός επηρεάζει την έκβαση μέσω διαφορετικού αιτιολογικού μονοπατιού, εκτός από τον υπό μελέτη παράγοντα κινδύνου, ή όταν ο πολυμορφισμός έχει άμεση συσχέτιση με την υπό μελέτη έκβαση (77). Η παραβίαση της υπόθεσης της απουσίας οριζόντιας πλειοτροπίας μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, οδηγώντας σε μεροληπτικές εκτιμήσεις του αιτιώδους αποτελέσματος, απώλεια στατιστικής ισχύος και πιθανώς ψευδώς θετικά ευρήματα (78).

Σχετικά πρόσφατα, αναπτύχθηκε η στατιστική μέθοδος MR-PRESSO για να εκτιμηθεί η οριζόντια πλειοτροπία σε αναλύσεις Μενδελιανής τυχαιοποίησης με συνοπτικού επιπέδου δεδομένα και χρήση πολλαπλών γενετικών πολυμορφισμών ως βοηθητικές μεταβλητές (78). Η μέθοδος αυτή αποτελείται από τρία στοιχεία:

1. μία στατιστική δοκιμασία για την ανίχνευση οριζόντιας πλειοτροπίας (*global test*),

2. μία διόρθωση του εκτιμητή της αιτιώδους σχέσης λαμβάνοντας υπόψιν την παρουσία οριζόντιας πλειοτροπίας μέσω αφαίρεσης των ακραίων γενετικών πολυμορφισμών (*outlier test*), και
3. μία στατιστική δοκιμασία (*distortion test*) για τον έλεγχο της διαφοράς στους εκτιμητές του αιτιώδους αποτελέσματος πριν και μετά την αφαίρεση των ακραίων γενετικών πολυμορφισμών.

Η μέθοδος *MR-PRESSO* βασίζεται σε μία παλινδρόμηση όπου το αποτέλεσμα των πολυμορφισμών στην έκβαση συσχετίζεται με το αποτέλεσμα των ίδιων γενετικών πολυμορφισμών στην έκθεση. Στην παλινδρόμηση αυτή, η κλίση της γραμμής αντιπροσωπεύει την εκτίμηση της αιτιώδους σχέσης της έκθεσης με την έκβαση (78).

2.7.7 Πολυμεταβλητή ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης

Στην παραδοσιακή προσέγγιση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, ελέγχεται η αιτιώδης συσχέτιση ανάμεσα σε έναν παράγοντα κινδύνου και μία έκβαση, επιλέγοντας ως βοηθητικές μεταβλητές γενετικούς πολυμορφισμούς που σχετίζονται αποκλειστικά με τον υπό εξέταση παράγοντα κινδύνου (79). Ωστόσο, πολλοί γενετικοί πολυμορφισμοί σχετίζονται με πολλαπλούς παράγοντες κινδύνου, ένα φαινόμενο που ονομάζεται πλειοτροπία (*pleiotropy*).

Σε μία πολυμεταβλητή ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης (*multivariable Mendelian randomization analysis*), οι γενετικοί πολυμορφισμοί πρέπει να πληρούν ορισμένες προϋποθέσεις, προκειμένου η ανάλυση να είναι έγκυρη. Οι γενετικοί πολυμορφισμοί, που χρησιμοποιούνται ως βοηθητικές μεταβλητές, πρέπει να σχετίζονται με ένα σύνολο από παράγοντες κινδύνου. Δεν είναι απαραίτητο όλοι οι γενετικοί πολυμορφισμοί να σχετίζονται με όλους τους παράγοντες κινδύνου, αλλά

ένας πολυμορφισμός δεν μπορεί να σχετίζεται με την έκβαση παρά μόνο διαμέσου των υπό εξέταση παραγόντων κινδύνου.

Συγκεκριμένα, για κάθε ένα γενετικό πολυμορφισμό, υποθέτουμε ότι (79):

1. ο πολυμορφισμός σχετίζεται με έναν ή περισσότερους από τους παράγοντες κινδύνου,
2. ο πολυμορφισμός δεν σχετίζεται με συγχυτικό παράγοντα οποιασδήποτε σχέσης παράγοντα κινδύνου – αποτελέσματος, και
3. ο πολυμορφισμός είναι υπό όρους ανεξάρτητος (*conditionally independent*) της έκβασης δεδομένων των παραγόντων κινδύνου και των συγχυτικών παραγόντων.

Σκοπός της διδακτορικής διατριβής

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει ως στόχους:

1. την εφαρμογή της μεθοδολογίας της ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας για την παρουσίαση μιας συστηματικής αξιολόγησης της επιδημιολογικής αξιοπιστίας του ρόλου των περιβαλλοντικών παραγόντων στον κίνδυνο ανάπτυξης
 - i. πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης (*Κεφάλαιο 3*),
 - ii. νόσου του Parkinson (*Κεφάλαιο 4*), και
 - iii. άνοιας, συμπεριλαμβανομένων της νόσου του Alzheimer και της αγγειακής άνοιας (*Κεφάλαιο 5*), και
2. την εφαρμογή ενός υβριδικού τύπου επιδημιολογικής μελέτης για τη διερεύνηση του ρόλου περιβαλλοντικών παραγόντων, οι οποίοι δρουν από την περιγεννητική περίοδο έως τη νεαρή ενήλικη ζωή, στον κίνδυνο ανάπτυξης πολλαπλής σκλήρυνσης (*Κεφάλαιο 6*).

Κεφάλαιο 3

Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση: Μία ανασκόπηση πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων¹

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση είναι μια ταχέως εξελισσόμενη, νευροεκφυλιστική νόσος που επηρεάζει τους κινητικούς νευρώνες του εγκεφάλου, του εγκεφαλικού στελέχους και του νωτιαίου μυελού (16). Στην πλειοψηφία των περιστατικών, η πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση είναι σποραδική, δηλαδή δεν έχει γνωστή αιτιολογία, ενώ περίπου το 10% των περιστατικών είναι οικογενή ακολουθώντας επικρατή τρόπο κληρονομικότητας (80). Στην Ευρώπη, η επίπτωση της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης είναι περίπου 2 νέα περιστατικά ανά έτος ανά 100,000 άτομα (81) και ο επιπολασμός της νόσου είναι 5.40 περιστατικά ανά 100,000 άτομα (82). Ο δια βίου κίνδυνος ανάπτυξης πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης είναι 1:350 για τους άνδρες και 1:400 για τις γυναίκες (15). Υπάρχει εμφανής γενετική προδιάθεση για την ανάπτυξη της νόσου, αλλά περιβαλλοντικοί παράγοντες ενδέχεται να εμπλέκονται εξίσου στην αιτιολογία της νόσου (16). Μεταξύ των περιβαλλοντικών εκθέσεων που έχουν ενοχοποιηθεί για τον κίνδυνο ανάπτυξης πλάγιας αμυοτροφικής

¹ Η παρούσα ερευνητική εργασία βασίζεται στην ακόλουθη επιστημονική δημοσίευση (340):

Belbasis L, Bellou V, Evangelou E. Environmental Risk Factors and Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Umbrella Review and Critical Assessment of Current Evidence from Systematic Reviews and Meta-analyses of Observational Studies. *Neuroepidemiology* 2016;46(2):96-105

σκλήρυνσης περιλαμβάνονται η έκθεση σε μόλυβδο και άλλα βαρέα μέταλλα και τα φυτοφάρμακα, ενώ ιστορικό προηγούμενης κρανιο-εγκεφαλικής κάκωσης μπορεί να συσχετίζεται με τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου (16). Η αποσαφήνιση τη συμμετοχής των περιβαλλοντικών παραγόντων στον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση θα οδηγήσει στην καλύτερη κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών που οδηγούν στην ανάπτυξη της νόσου. Λόγω της πληθώρας των δημοσιευμένων μελετών παρατήρησης, οι συστηματικές ανασκοπήσεις σε συνδυασμό με μετα-ανάλυση αποτελούν την καταλληλότερη προσέγγιση για την αναγνώριση αξιόπιστων παραγόντων κινδύνου.

Η παρούσα ερευνητική εργασία στοχεύει στην εφαρμογή της προσέγγισης της ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας για να αξιολογηθεί η πιθανή παρουσία σφαλμάτων στις συσχετίσεις των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου με την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, όπως έχουν συνοψιστεί σε δημοσιευμένες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις. Ένας επιπλέον στόχος αποτελεί η αναγνώριση των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου που παρουσιάζουν υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία.

3.2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.2.1 Συστηματική βιβλιογραφική αναζήτηση

Πραγματοποιήθηκε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας στην βιβλιογραφική βάση *PubMed* έως την 20^η Αυγούστου 2015 για να αναγνωριστούν οι δημοσιευμένες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης που εξετάζουν τη συσχέτιση περιβαλλοντικών παραγόντων με τον κίνδυνο ανάπτυξης πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης. Στη συστηματική

ανασκόπηση, χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος αλγόριθμος: (“*amyotrophic lateral sclerosis*” OR “*motor neuron disease*”) AND (“*systematic review*” OR *meta-analysis*). Η διαδικασία της βιβλιογραφικής αναζήτησης πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές.

3.2.2 Κριτήρια επιλογής μελετών

Αποκλείστηκαν μελέτες που εξέταζαν τη συσχέτιση μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και του κινδύνου ανάπτυξης πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης, καθώς οι συσχετίσεις αυτές έχουν ήδη αξιολογηθεί στη βάση δεδομένων *ALSGene* (<http://www.alsgene.org/>). Επίσης, αποκλείστηκαν μετα-αναλύσεις που εξέταζαν παράγοντες κινδύνου για άλλες νόσου του κινητικού νευρώνα εκτός από την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Στην περίπτωση που υπήρχαν διαθέσιμες περισσότερες από μία μετα-αναλύσεις για την ίδια συσχέτιση, επιλέχθηκε η μετα-ανάλυση που περιλάμβανε τις περισσότερες μελέτες παρατήρησης και που περιέγραφε ικανοποιητικά τον πληθυσμό και το μέτρο αποτελέσματος για τις μελέτες παρατήρησης. Δεν εφαρμόστηκε γλωσσικός περιορισμός κατά την επιλογή των μελετών. Η διαδικασία της επιλογής των μελετών πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές.

3.2.3 Εξαγωγή δεδομένων

Από κάθε ένα άρθρο που επιλέχθηκε, καταγράφηκε το όνομα του πρώτου συγγραφέα, το επιστημονικό περιοδικό και το έτος δημοσίευσης και ο αριθμός των επιδημιολογικών μελετών. Επιπλέον, καταγράφηκε ο αριθμός των ασθενών και των υγιών συμμετεχόντων σε κάθε μία μελέτη. Όταν το μέγεθος του δείγματος δεν ήταν διαθέσιμο στη δημοσιευμένη μετα-ανάλυση, η πληροφορία αντλήθηκε από το άρθρο της δημοσιευμένης επιδημιολογικής μελέτης. Στην περίπτωση που πραγματοποιήθηκε

μετα-ανάλυση των μελετών, καταγράφηκε επιπλέον το σχετικό μέτρο αποτελέσματος (σταθμισμένη διαφορά μέσων όρων, σχετικός κίνδυνος, λόγος αναλογιών, λόγος κινδύνων) μαζί με το αντίστοιχο διάστημα εμπιστοσύνης. Η εξαγωγή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε από δύο ανεξάρτητους ερευνητές.

3.2.4 Στατιστική ανάλυση

Για κάθε μετα-ανάλυση, υπολογίστηκε το συνολικό αποτέλεσμα με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης εφαρμόζοντας το μοντέλο σταθερής επίδρασης και το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (83,84). Επίσης, υπολογίστηκε το 95% διάστημα πρόβλεψης, το οποίο λαμβάνει υπόψιν την ετερογένεια μεταξύ των μελετών για να εκτιμήσει την αβεβαιότητα στο αποτέλεσμα μιας μελλοντικής μελέτης που εξετάζει το ίδιο ερευνητικό ερώτημα (46,85). Στην περίπτωση των μετα-αναλύσεων όπου η έκθεση ήταν συνεχής μεταβλητή, το αποτέλεσμα μετατράπηκε από τυποποιημένη διαφορά μέσων όρων (*standardized mean difference*) σε λόγο αναλογιών (*odds ratio*) με μια συγκεκριμένη εξίσωση (86). Για τη μεγαλύτερη μελέτη κάθε μετα-ανάλυσης, υπολογίστηκε το τυπικό σφάλμα (*standard error*) του αποτελέσματος και εξετάστηκε αν το τυπικό σφάλμα είναι μικρότερο από 0.10, το οποίο αντιστοιχεί σε μια διαφορά του αποτελέσματος από το ανώτερο ή κατώτερο όριο του 95% διαστήματος εμπιστοσύνης μικρότερη από 0.20 στη λογαριθμική κλίμακα.

Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών αξιολογήθηκε με το στατιστικό μέγεθος I^2 (47), το οποίο λαμβάνει τιμές από 0% έως 100% και αντιστοιχεί στο ποσοστό της συνολικής μεταβλητότητας του αποτελέσματος που οφείλεται στην ετερογένεια και όχι στην τύχη (87).

Εφαρμόστηκε η στατιστική δοκιμασία παλινδρόμησης του Egger για να αξιολογηθεί η παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης (49). Μία τιμή P -

$value < 0.10$ σε συνδυασμό με ένα πιο συντηρητικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη σε σύγκριση με το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης (ακολουθώντας το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων) αξιολογήθηκε ως ένδειξη παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης.

Επιπλέον, εφαρμόστηκε η στατιστική δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας, η οποία εξετάζει εάν ο παρατηρούμενος αριθμός των στατιστικά σημαντικών μελετών είναι μεγαλύτερος από τον αναμενόμενο αριθμό (54). Ο αναμενόμενος αριθμός προκύπτει ως το άθροισμα της στατιστικής ισχύος των μελετών μιας μετα-ανάλυσης. Το πραγματικό αποτέλεσμα μιας συσχέτισης δεν είναι γνωστό. Για το λόγο αυτό, θεωρήθηκε ότι το πραγματικό αποτέλεσμα προσεγγίζεται περισσότερο από το αποτέλεσμα της μεγαλύτερης μελέτης (88). Σε μία μετα-ανάλυση, μεγαλύτερη μελέτη θεωρήθηκε η μελέτη με το μικρότερο τυπικό σφάλμα. Η στατιστική ισχύς των μελετών υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας μια μη κεντρική t κατανομή (89). Για να υπάρχει ένδειξη περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας, έπρεπε στην αντίστοιχη στατιστική δοκιμασία να προκύπτει $P-value < 0.10$.

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα *STATA*, version 12.0 (*STATA Corp LP, College Station, Texas*).

3.2.5 Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας

Στη συνέχεια, εφαρμόστηκε ένα σύνολο μεθοδολογικών κριτηρίων με στόχο την αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων. Για να θεωρηθεί μία συσχέτιση ότι έχει υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία Ι*) πρέπει να βασίζεται σε περισσότερους από 1000 ασθενείς, να έχει $P-value < 0.001$ στη μετα-ανάλυση με το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, να μην έχει μεγάλη ετερογένεια ($I^2 < 50\%$), να έχει 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περικλείει

το μηδενικό αποτέλεσμα και να μην έχει ενδείξεις παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης ή σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Μία συσχέτιση με μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία II*) έπρεπε να μην έχει μεγάλη ετερογένεια ($I^2 < 50\%$) και να μην έχει ενδείξεις παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης ή σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Οι υπόλοιπες στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις θεωρήθηκε ότι έχουν χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία III*). Μία σύνοψη των κριτηρίων που εφαρμόστηκαν παρουσιάζεται στον **Πίνακα 2**.

Πίνακας 2. Κριτήρια για την αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας των συσχετίσεων ανάμεσα σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου και τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση.

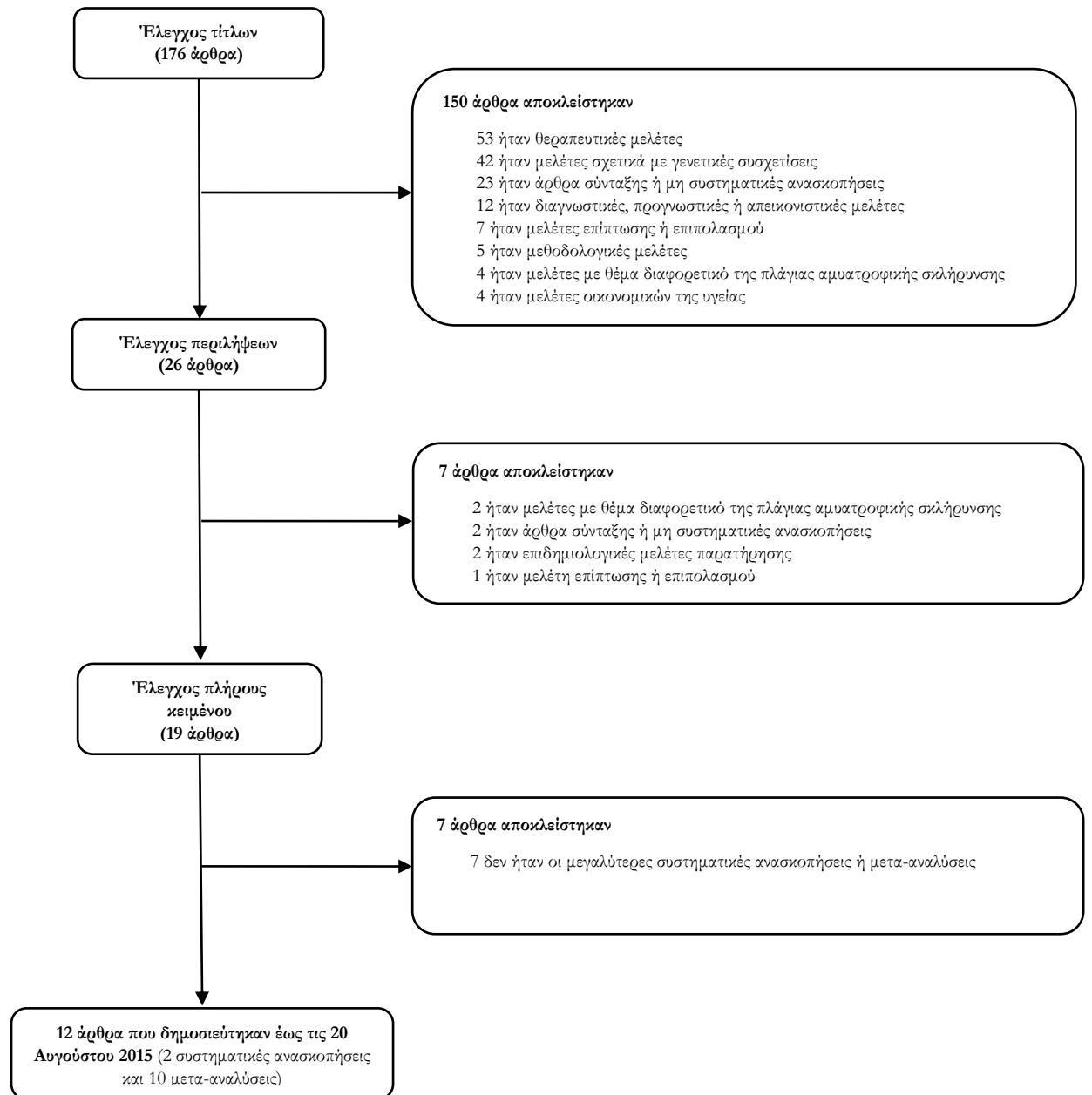
Κατηγορία αξιολόγησης	Κριτήρια
Υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα (Κατηγορία I)	➤ $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων της μετα-ανάλυσης, ➤ > 1000 ασθενείς, ➤ $I^2 < 50\%$, ➤ 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλαμβάνει το μηδενικό αποτέλεσμα, ➤ απουσία ενδείξεων για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας
Μέτρια επιδημιολογική εγκυρότητα (Κατηγορία II)	➤ $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων ➤ $I^2 < 50\%$ ➤ απουσία ενδείξεων για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας
Χαμηλή επιδημιολογική εγκυρότητα (Κατηγορία III)	➤ $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων

3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η αναζήτηση στη βιβλιογραφική βάση *PubMed* κατέληξε σε 176 άρθρα, από τα οποία 12 πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη. Το διάγραμμα ροής της βιβλιογραφικής αναζήτησης παρουσιάζεται στην **Εικόνα 3**. Δύο από τα 12 άρθρα αφορούσαν συστηματικές ανασκοπήσεις χωρίς ποσοτική σύνθεση των μελετών παρατήρησης (90,91). Τα υπόλοιπα 10 άρθρα ήταν συστηματικές ανασκοπήσεις που περιλάμβαναν μετα-ανάλυση για 16 συσχετίσεις. Επτά άρθρα αποκλείστηκαν κατά την εξέταση του πλήρους κειμένου, επειδή υπήρχαν διαθέσιμες μετα-αναλύσεις με μεγαλύτερο αριθμό μελετών παρατήρησης. Τα άρθρα αυτά αφορούσαν την έκθεση σε χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία (92), το κάπνισμα (93), τα φυτοφάρμακα (94–96) και την έκθεση σε βαρέα μέταλλα (95,97).

Οι δύο συστηματικές ανασκοπήσεις μελετών παρατήρησης αφορούσαν τη φυσική δραστηριότητα και το σακχαρώδη διαβήτη ως παράγοντες κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση (90,91). Και στις δύο ανασκοπήσεις, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα διαθέσιμα τεκμήρια είναι περιορισμένα και αρκετά ετερογενή και δεν είναι εφικτή η εξαγωγή συμπεράσματος με βάση τις διαθέσιμες μελέτες. Και στις δύο ανασκοπήσεις, οι συγγραφείς αναφέρουν ότι δεν πραγματοποιήθηκε μετα-ανάλυση, επειδή υπήρχε μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών όσον αφορά το σχεδιασμό των μελετών και τον ορισμό της έκθεσης.

Εικόνα 3. Διάγραμμα ροής της βιβλιογραφικής αναζήτησης για συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-ανалύσεις για παράγοντες κινδύνου της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης.



Ο διάμεσος αριθμός μελετών ανά μετα-ανάλυση ήταν 8 (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, 5 – 9) και ο διάμεσος αριθμός ασθενών με πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση ήταν 1779 (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, 937 – 2911). Οι 16 μετα-αναλύσεις αφορούν βιολογικούς δείκτες ($n = 5$), διατροφικούς παράγοντες ($n = 2$), έκθεση σε τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες ($n = 5$) και ιατρικό ιστορικό ($n = 2$). Σε 11 μετα-αναλύσεις, ο συνολικός αριθμός των ασθενών με πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση ήταν μεγαλύτερος από 1000 άτομα.

Εννέα από τις 16 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα με όριο $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων. Πέντε από τις μετα-αναλύσεις αυτές είχαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα με όριο $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και οι μετα-αναλύσεις αυτές αφορούν τη συσχέτιση της αγροτικής εργασίας, της έκθεσης σε μόλυβδο, των ω_3 λιπαρών οξέων, των φυτοφαρμάκων και των επιπέδων ουρικού οξέος στον ορό με τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν μεγάλη ($50\% \leq I^2 \leq 75\%$) σε 5 μετα-αναλύσεις και πολύ μεγάλη ($I^2 > 75\%$) σε 3 μετα-αναλύσεις. Οι μετα-αναλύσεις με πολύ μεγάλη ετερογένεια αφορούσαν τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης στον ορό, τα επίπεδα της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (*high density lipoprotein, HDL*) στον ορό και τα επίπεδα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (*low density lipoprotein, LDL*) στον ορό. Μόνο 2 μετα-αναλύσεις είχαν 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα και οι μετα-αναλύσεις αυτές αφορούσαν την έκθεση σε μόλυβδο και τα ω_3 λιπαρά οξέα. Σε 8 από τις 16 μετα-αναλύσεις, το τυπικό σφάλμα της μεγαλύτερης μελέτης παρατήρησης ήταν μικρότερο από 0.10 στη λογαριθμική κλίμακα του λόγου αναλογιών. Τα αποτελέσματα των μετα-αναλύσεων εφαρμόζοντας το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και το μοντέλο σταθερής επίδρασης

καθώς και η ετερογένεια μεταξύ των μελετών παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3** και τον **Πίνακα 4**.

Δύο μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (P -value <0.10) στη στατιστική δοκιμασία παλινδρόμησης του Egger. Σε μία από αυτές τις μετα-αναλύσεις, η μεγαλύτερη μελέτη παρατήρησης παρουσίασε πιο συντηρητικό αποτέλεσμα συγκριτικά με το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, πληρώντας τα κριτήρια για την παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης. Επίσης, 5 από τις 16 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στον παρατηρούμενο και τον αναμενόμενο αριθμό των στατιστικά σημαντικών μελετών, όπως προέκυψε από τη δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας (P -value <0.10). Αυτές οι μετα-αναλύσεις αφορούσαν τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης στον ορό, τα επίπεδα της HDL στον ορό, τα επίπεδα της LDL στον ορό, τις στατίνες και τα φυτοφάρμακα. Τα αποτελέσματα της στατιστικής δοκιμασίας του Egger και της δοκιμασίας περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας παρατίθενται στον **Πίνακα 4**.

Επτά από τις 16 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (P -value >0.05 στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων). Από τις υπόλοιπες 9 μετα-αναλύσεις, δύο συσχετίσεις (έκθεση σε χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία και επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό) παρουσίασαν μεγάλη ετερογένεια και μία συσχέτιση (ω_3 λιπαρά οξέα) παρουσίασε ενδείξεις για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης, ενώ μία επιπλέον συσχέτιση (έκθεση σε φυτοφάρμακα) παρουσίασε ενδείξεις για σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Το επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας για τις συσχετίσεις αυτές ήταν χαμηλό (*Κατηγορία III*). Από τις υπόλοιπες 5 μετα-αναλύσεις, 4 μετα-αναλύσεις (έκθεση σε άλλα βαρέα μέταλλα, ενασχόληση με αγροτικές εργασίες, κρανιο-εγκεφαλικές κακώσεις και β -

καροτένιο) είχαν 95% διάστημα πρόβλεψης που περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα, ενώ μία μετα-ανάλυση (έκθεση σε άλλα βαρέα μέταλλα) είχε λιγότερους από 1000 ασθενείς. Αυτές οι 4 μετα-αναλύσεις αξιολογήθηκαν ως συσχετίσεις με μέτρια επιδημιολογική εγκυρότητα (*Κατηγορία II*).

Από τις 16 συσχετίσεις που μελετήθηκαν στη συγκεκριμένη ανασκόπηση πεδίου, μόνο η συσχέτιση που αφορούσε τη σχέση της έκθεσης σε μόλυβδο με τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση συγκέντρωσε υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα (*Κατηγορία I*), δηλαδή μελετήθηκε σε περισσότερους από 1000 ασθενείς, είχε *P-value* < 0.001 στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, δεν είχε υψηλή ετερογένεια ($I^2 < 50\%$), είχε 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα και δεν υπήρχε ένδειξη για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης ή σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Η συσχέτιση αυτή είχε λόγο αναλογιών ίσο με 1.81 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 1.39 – 2.35), *P-value* = 2.13×10^{-6} και $I^2 = 12.7\%$. Η μετα-ανάλυση αυτή περιλάμβανε συνολικά 1228 ασθενείς με πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Μία σύνοψη της αξιολόγησης της επιδημιολογικής αξιοπιστίας των 16 μετα-αναλύσεων παρουσιάζεται στον **Πίνακα 5**.

Πίνακας 3. Τα αποτελέσματα των 16 μετα-αναλύσεων για το ρόλο των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου στην πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση εφαρμόζοντας το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και σταθερής επίδρασης.

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς και υγιείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		Εκτίμηση		
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Βιολογικοί δείκτες στον ορό									
Abraham et al., 2014 (98)	Ουρικό οξύ	311/515	3	OR*	0.31 (0.18–0.52)	1.27×10^{-5}	0.001–1.37	0.34 (0.26–0.45)	3.94×10^{-15}
Huang et al., 2015 (99)	HDL	1,930/3,635	8	OR*	1.05 (0.75–1.46)	7.94×10^{-1}	0.33–3.27	0.97 (0.87–1.08)	5.56×10^{-1}
Huang et al., 2015 (99)	LDL	1,930/3,635	8	OR*	0.95 (0.44–2.05)	9.02×10^{-1}	0.06–15.85	0.97 (0.86–1.08)	5.41×10^{-1}
Huang et al., 2015 (99)	Ολική χοληστερόλη	1,930/3,635	8	OR*	0.99 (0.59–1.68)	9.96×10^{-1}	0.15–6.49	1.06 (0.95–1.19)	2.81×10^{-1}
Huang et al., 2015 (99)	Τριγλυκερίδια	1,930/3,635	6	OR*	0.98 (0.82–1.17)	8.37×10^{-1}	0.64–1.51	0.98 (0.86–1.11)	7.52×10^{-1}
Διατροφικοί παράγοντες									

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς και υγιείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	<i>P</i>	95% ΔΠ	Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	<i>P</i>
Fitzgerald et al., 2013 (100)	β-καροτένιο	1,093/1,052,482	9	RR	0.92 (0.87–0.97)	2.24×10^{-3}	0.86–0.98	0.92 (0.87–0.97)	2.24×10^{-3}
Fitzgerald et al., 2014 (101)	ω ₃ λιπαρά οξέα	994/1,055,843	8	RR	0.71 (0.59–0.85)	1.95×10^{-4}	0.49–1.01	0.74 (0.64–0.86)	9.35×10^{-5}
<i>Ιατρικό ιστορικό</i>									
Chen et al., 2007 (102)	Κρανιο- εγκεφαλική κάκωση	2,563/3,977	8	OR	1.65 (1.09–2.51)	1.80×10^{-2}	0.59–4.64	1.66 (1.26–2.18)	2.76×10^{-4}
Zheng et al., 2013 (103)	Στατίνες	765/128,405	3	RR	1.15 (0.78–1.70)	4.85×10^{-1}	0.01–1.06	1.10 (0.92–1.30)	3.01×10^{-1}
<i>Τοξικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες</i>									
Alonso et al., 2010 (104)	Κάπνισμα	3,958/3,016,341	20	RR	1.12 (0.98–1.27)	1.03×10^{-1}	0.70–1.77	1.13 (1.05–1.22)	2.00×10^{-3}
Kang et al., 2014 (105)	Αγροτικές εργασίες	9,338/2,605,321	10	OR	1.42 (1.17–1.73)	3.75×10^{-4}	0.90–2.26	1.38 (1.24–1.54)	1.16×10^{-8}

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς και υγιείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Kang et al., 2014 (105)	Φυτοφάρμακα	9,534/3,716,144	15	OR	1.44 (1.22–1.70)	2.04×10^{-5}	0.94–2.20	1.38 (1.25–1.52)	1.64×10^{-10}
Kang et al., 2014 (105)	Αγροτική διαβίωση	559/1,032	5	OR	1.25 (0.84–1.88)	2.76×10^{-1}	0.35–4.54	1.19 (0.93–1.51)	1.63×10^{-1}
Wang et al., 2014 (106)	Άλλα βαρέα μέταλλα	457/558	4	OR	2.13 (1.33–3.41)	1.60×10^{-3}	0.48–9.52	1.98 (1.37–2.85)	2.43×10^{-4}
Wang et al., 2014 (106)	Μόλυβδος	1,228/1,544	9	OR	1.81 (1.39–2.35)	8.72×10^{-6}	1.14–2.88	1.79 (1.41–2.27)	2.13×10^{-6}
Zhou et al., 2012 (107)	Χαμηλής συχνότητας ηλεκτρο-μαγνητικά πεδία	12,681/9,902,859	17	OR	1.29 (1.03–1.62)	3.00×10^{-2}	0.64–2.59	1.12 (1.00–1.25)	4.80×10^{-2}

*Στις συσχετίσεις αυτές, το μέτρο σχέσης ήταν η σταθμισμένη διαφορά μέσων όρων και μετατράπηκε σε λόγο αναλογιών όπως περιγράφεται στη μεθοδολογία.

Συνοτομογραφίες: HDL=high density lipoprotein (υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη), LDL=low density lipoprotein (χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη), OR=odds ratio (λόγος αναλογιών), RR=risk ratio (σχετικός κίνδυνος), ΔΕ=διάστημα εμπιστοσύνης, ΔΠ=διάστημα πρόβλεψης.

Σημειώσεις: Για τους βιολογικούς δείκτες στον ορό, έγινε σύγκριση μεταξύ υψηλών επιπέδων και χαμηλών επιπέδων στον ορό. Για το β-καροτένιο, η σύγκριση αναφέρεται σε 2,500 μg/ημέρα αύξηση. Για τα ω₃ λιπαρά οξέα, η σύγκριση αναφέρεται σε 1 g/ημέρα αύξηση. Για το κάπνισμα, έγινε σύγκριση μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών. Για τις υπόλοιπες συσχετίσεις, έγινε σύγκριση μεταξύ εκτεθειμένων και μη εκτεθειμένων.

Πίνακας 4. Ετερογένεια μεταξύ των μελετών, στατιστική δοκιμασία του Egger και δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας στις 16 μετα-αναλύσεις σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση.

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		<i>I</i> ²	Δοκιμασία	<i>O</i> / <i>E</i>	Δοκιμασία
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	<i>SE</i>		του Egger		περίσσειας
						<i>P</i>		στατιστικής σημαντικότητας <i>P</i>
Βιολογικοί δείκτες στον ορό								
Abraham et al., 2014 (98)	Ουρικό οξύ	OR*	0.48 (0.33–0.69)	0.187	71.9	0.117	3/2.51	0.45
Huang et al., 2015 (99)	HDL	OR*	0.97 (0.79–1.18)	0.099	87	0.548	3/0.44	8.00 × 10 ⁻⁵
Huang et al., 2015 (99)	LDL	OR*	1.15 (0.94–1.40)	0.100	97.6	0.862	4/1.11	3.18 × 10 ⁻³
Huang et al., 2015 (99)	Ολική χοληστερόλη	OR*	1.12 (0.92–1.36)	0.099	94.8	0.772	4/0.88	4.10 × 10 ⁻⁴
Huang et al., 2015 (99)	Τριγλυκερίδια	OR*	0.91 (0.75–1.11)	0.099	35.1	0.844	0/0.56	-
Διατροφικοί παράγοντες								

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I^2	Δοκιμασία του Egger P	O / E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE				
Fitzgerald et al., 2013 (100)	β-καροτένιο	RR	0.91 (0.86–0.98)	0.033	0	0.917	1/0.60	0.59
Fitzgerald et al., 2014 (101)	ω ₃ λιπαρά οξέα	RR	0.76 (0.50–1.15)	0.215	0	0.056†	1/2.32	-
<i>Ιατρικό ιστορικό</i>								
Chen et al., 2007 (102)	Κρανιο- εγκεφαλική κάκωση	OR	1.60 (1.00–2.40)	0.223	42.6	0.751	2/5.57	-
Zheng et al., 2013 (103)	Στατίνες	RR	0.98 (0.79–1.21)	0.109	74.2	0.767	1/0.16	0.03
<i>Τοξικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες</i>								
Alonso et al., 2010 (104)	Κάπνισμα	RR	1.37 (1.17–1.60)	0.080	57.6	0.734	5/8.84	-
Kang et al., 2014 (105)	Αγροτικές εργασίες	OR	1.20 (1.02–1.41)	0.083	42.1	0.857	5/3.26	0.24

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I^2	Δοκιμασία του Egger P	O / E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE				
Kang et al., 2014 (105)	Φυτοφάρμακα	OR	1.20 (1.02–1.41)	0.083	41.2	0.163	7/4.03	0.08
Kang et al., 2014 (105)	Αγροτική διαβίωση	OR	0.80 (0.60–1.30)	0.262	59.7	0.618	2/0.89	0.19
Wang et al., 2014 (106)	Άλλα βαρέα μέταλλα	OR	1.52 (0.95–2.42)	0.239	26	0.368	1/1.73	-
Wang et al., 2014 (106)	Μόλυβδος	OR	1.90 (1.14–3.17)	0.261	12.7	0.110	3/6.13	-
Zhou et al., 2012 (107)	Χαμηλής συχνότητας ηλεκτρο-μαγνητικά πεδία	OR	1.30 (1.10–1.60)	0.096	58.9	0.034	5/7.14	-

*Στις συσχετίσεις αυτές, το μέτρο σχέσης ήταν η σταθμισμένη διαφορά μέσων όρων και μετατράπηκε σε λόγο αναλογιών όπως περιγράφεται στη μεθοδολογία.

†Στις συσχετίσεις αυτές, υπήρχε ένδειξη για παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης (δηλαδή $P\text{-value} < 0.10$ στη στατιστική δοκιμασία του Egger και πιο συντηρητικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη σε σύγκριση με το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης με το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων)

Συντομογραφίες: O / E=observed / expected (λόγος παρατηρούμενου προς αναμενόμενου αριθμού στατιστικά σημαντικών μελετών), OR=odds ratio (λόγος αναλογιών), RR=risk ratio (σχετικός κίνδυνος), SE=standard error (τυπικό σφάλμα), ΔΕ=διάστημα εμπιστοσύνης, ΔΠ=διάστημα πρόβλεψης.

Σημείωση: Στις συσχετίσεις που έχουν παρατηρούμενο αριθμό στατιστικά σημαντικών μελετών μεγαλύτερο από τον αναμενόμενο αριθμό στατιστικά σημαντικών μελετών, δεν παρουσιάζεται $P\text{-value}$ για τη στατιστική δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας.

Πίνακας 5. Αξιολόγηση της επιδημιολογικής αξιοπιστίας των 16 συσχετίσεων ανάμεσα σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και τον κίνδυνο ανάπτυξης πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης.

Κατηγορία αξιολόγησης	Παράγοντες κινδύνου
Υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία I)	Έκθεση σε μόλυβδο
Μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία II)	Αγροτικές εργασίες, έκθεση σε άλλα βαρέα μέταλλα, β-καροτένιο, κρανιο-εγκεφαλική κάκωση
Χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία III)	ω_3 λιπαρά οξέα, έκθεση σε χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, έκθεση σε φυτοφάρμακα, επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό
Μη στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις	Αγροτική διαβίωση, επίπεδα ολικής χοληστερόλης στον ορό, επίπεδα HDL στον ορό, επίπεδα LDL στον ορό, επίπεδα τριγλυκεριδίων στον ορό, στατίνες, κάπνισμα

Συντομογραφίες: HDL=high density lipoprotein (υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη), LDL=low density lipoprotein (χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη)

3.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην εργασία αυτή, παρουσιάσθηκε μια λεπτομερής χαρτογράφηση και αξιολόγηση του πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Η παρούσα ερευνητική εργασία αποτελεί την πρώτη προσπάθεια να συνοψισθούν τα επιδημιολογικά τεκμήρια σχετικά με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης. Η χρόνια επαγγελματική έκθεση σε μόλυβδο αποτελεί τη μοναδική συσχέτιση που υποστηρίζεται από υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα βάσει των μεθοδολογικών κριτηρίων που εφαρμόστηκαν.

Στη συγκεκριμένη ανασκόπηση πεδίου, παρατηρήθηκε ένας μικρός αριθμός δημοσιευμένων συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων σχετικά με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να δικαιολογηθεί από το μικρό αριθμό διαθέσιμων μελετών παρατήρησης λόγω της δυσχέρειας σχεδιασμού μελετών για μία σπάνια νευρολογική νόσο. Συγκεκριμένα, αξίζει να αναφερθούν ο μεγάλος αριθμός πιθανών περιβαλλοντικών εκθέσεων, το μεγάλο κόστος που απαιτείται για τη συλλογή επαρκούς αριθμού ασθενών με πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση και το μικρό ενδιαφέρον από τους οργανισμούς για χρηματοδότηση μελετών για τα σπάνια νοσήματα. Συνολικά, αξιολογήθηκαν 16 παράγοντες κινδύνου που αφορούν σε βιολογικούς δείκτες, διατροφικούς παράγοντες, τοξικές περιβαλλοντικές εκθέσεις και ιατρικό ιστορικό.

Η συσχέτιση της χρόνιας επαγγελματικής έκθεσης στο μόλυβδο με τον κίνδυνο ανάπτυξης πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης αποτελεί τη βασική θεωρία παθογένεσης της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης και υποστηρίζεται από

βιολογικούς μηχανισμούς (16). Στους ανθρώπους, ο κλασικός τύπος της νευροπάθειας από μόλυβδο χαρακτηρίζεται από συμπτωματολογία που συναντάται και στην πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, όπως είναι η μυϊκή αδυναμία που αρχίζει από τους καρπούς και εκτίνοντες των δακτύλων και στη συνέχεια εξαπλώνεται και στις υπόλοιπες μυϊκές ομάδες (106). Επίσης, επιδημιολογικές μελέτες έχουν περιγράψει υψηλότερα επίπεδα βιολογικών δεικτών σχετιζόμενων με την έκθεση στο μόλυβδο σε ασθενείς με πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση σε σχέση με υγιείς μάρτυρες (108,109). Ωστόσο, οι μελέτες παρατήρησης που περιλαμβάνονται στην αντίστοιχη μετα-ανάλυση αξιολόγησαν την επαγγελματική έκθεση σε μόλυβδο μέσω ερωτηματολογίου (110). Για να αποσαφηνιστεί η συσχέτιση αυτή, απαιτούνται επιδημιολογικές μελέτες που αξιολογούν την έκθεση σε μόλυβδο μέσω αντίστοιχων βιολογικών δεικτών. Η έκθεση σε άλλα βαρέα μέταλλα, όπως ο υδράργυρος και το αλουμίνιο, έχει προταθεί ως παράγοντας κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, αλλά η συσχέτιση αυτή παρουσίασε μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχουν ακόμα επαρκή επιδημιολογικά τεκμήρια.

Η σχέση της κρανιο-εγκεφαλικής κάκωσης με τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση χαρακτηρίζεται από μέτρια επιδημιολογική εγκυρότητα, επειδή η *P-value* στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων ήταν κοντά στο όριο στατιστικής σημαντικότητας ($P\text{-value} = 0.018$). Υπάρχουν βιολογικοί μηχανισμοί που υποστηρίζουν τη σχέση αυτή μέσω της νευρολογικής βλάβης που επάγεται από την κρανιο-εγκεφαλική κάκωση (102,111). Όμως, η σχέση αυτή μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία αντίστροφης αιτιότητας, επειδή η κρανιο-εγκεφαλική κάκωση μπορεί να θεωρηθεί αποτέλεσμα της πρόδρομης συμπτωματολογίας της νόσου, όπως συμβαίνει για τη συσχέτιση μεταξύ της κρανιο-εγκεφαλικής κάκωσης και του κινδύνου για νόσο του Parkinson που θα συζητηθεί στο επόμενο κεφάλαιο (111,112). Για να

αποσαφηνιστεί η συσχέτιση αυτή απαιτούνται επιδημιολογικές μελέτες που να λαμβάνουν υπόψιν το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την κρανιο-εγκεφαλική κάκωση μέχρι την έναρξη των κλινικών εκδηλώσεων ή τη διάγνωση της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης. Αν και η μεγαλύτερη μελέτη της μετα-ανάλυσης παρουσίασε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, οι μελέτες παρατήρησης είχαν ανεπαρκή περιγραφή της αξιολόγησης της έκθεσης, μικρό δείγμα και χαμηλή μεθοδολογική ποιότητα (102,113), ενώ πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες δεν λήφθηκαν υπόψιν κατά τη στατιστική ανάλυση. Η χαμηλή στατιστική ισχύς των μελετών και η παρουσία πιθανών συγχυτικών παραγόντων θέτουν αμφιβολίες για την αξιοπιστία της συσχέτισης αυτής.

Αρκετές μετα-αναλύσεις εξέτασαν τη συσχέτιση βιολογικών δεικτών με τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, αλλά χαρακτηρίζονταν από μεγάλη ή πολύ μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών και σε μερικές περιπτώσεις παρουσία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Η αναγνώριση αξιόπιστων βιολογικών δεικτών για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση είναι απαραίτητη για τη διάγνωση και την πρόγνωση της νόσου, ενώ μπορεί να βελτιώσει το σχεδιασμό κλινικών δοκιμών για τη νόσο (81). Όμως, οι συγκεκριμένες μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σφάλματα, επιβεβαιώνοντας την απουσία αξιόπιστου βιολογικού δείκτη. Προηγούμενες μελέτες επιβεβαιώνουν το γεγονός ότι η έλλειψη επικύρωσης, η μεγάλη αβεβαιότητα στα αποτελέσματα και η παρουσία στατιστικά σφαλμάτων αποτελούν συχνό φαινόμενο στη βιβλιογραφία των βιολογικών δεικτών (56,57).

Αναφορικά με την ανάλυση των στατιστικών σφαλμάτων, το ένα τρίτο των μετα-αναλύσεων χαρακτηρίζονταν από την παρουσία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Σε σύγκριση με μία δημοσιευμένη ανασκόπηση πεδίου για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου της πολλαπλής σκλήρυνσης (13), η οποία

παρουσιάστηκε στην Ενότητα 2.6, το ποσοστό των μετα-αναλύσεων με περίσσεια στατιστική σημαντικότητα ήταν υψηλότερο στην περίπτωση της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης. Επιπλέον, ένα μεγάλο ποσοστό μετα-αναλύσεων ήταν ανεπαρκώς επικυρωμένες, δεδομένου ότι οι μισές μετα-αναλύσεις παρουσίασαν μεγάλη ή πολύ μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών, ενώ μόνο δύο μετα-αναλύσεις παρουσίασαν 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα. Ο βαθμός της επικύρωσης των ευρημάτων ήταν αντίστοιχος με την περίπτωση της πολλαπλής σκλήρυνσης (13). Η ετερογένεια μπορεί να οφείλεται στην παρουσία συστηματικών σφαλμάτων στις μελέτες μιας μετα-ανάλυσης, αλλά μπορεί να οφείλεται και σε μεθοδολογικές διαφορές μεταξύ των μελετών. Πιθανές πηγές ετερογένειας αποτελούν ο συνδυασμός μελετών κοόρτης και μελετών ασθενών – μαρτύρων, όπως επίσης και ο συνδυασμός μελετών που χρησιμοποιούν διαφορετικές μεθόδους για την εκτίμηση των διαφορών εκθέσεων και τον ορισμό της έκβασης.

Όπως αναφέρθηκε αναλυτικά στην Ενότητα 2.6, όπου αναπτύχθηκε το παράδειγμα της ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας για τους παράγοντες κινδύνου της πολλαπλής σκλήρυνσης, τα μεθοδολογικά κριτήρια που εφαρμόστηκαν στην παρούσα ερευνητική εργασία τείνουν να εγκαταλειφθούν και τη θέση τους παίρνουν αυστηρότερα κριτήρια (13,14), τα οποία εφαρμόστηκαν στις ανασκοπήσεις πεδίου που περιγράφονται παρακάτω στο Κεφάλαιο 4 και στο Κεφάλαιο 5. Αν εφαρμοστούν τα αναθεωρημένα κριτήρια για την αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης (**Πίνακας 2**), θα διαπιστωθεί ότι καμία συσχέτιση δεν παρουσιάζει πολύ υψηλή ή υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία, επειδή όλες οι μετα-αναλύσεις έχουν $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων. Η μετα-ανάλυση που αφορά την έκθεση στο μόλυβδο πληροί όλες τις προϋποθέσεις για το επίπεδο της πολύ υψηλής επιδημιολογικής αξιοπιστίας εκτός από τη $P\text{-value}$, η οποία είναι

ελάχιστα υψηλότερα από το αυστηρό επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ($P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$).

Η ανάλυση της παρούσας ερευνητικής εργασίας έχει ορισμένους περιορισμούς οι οποίοι πρέπει να αναφερθούν. Η στατιστική δοκιμασία παλινδρόμησης του Egger και η στατιστική δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας αποτελούν ενδείξεις παρουσίας σφαλμάτων και ενέχουν την πιθανότητα ψευδώς θετικού ή ψευδώς αρνητικού αποτελέσματος. Επίσης, το παρατηρούμενο αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη μπορεί να είναι διογκωμένο λόγω της επίδρασης τυχαίου σφάλματος ή συστηματικών σφαλμάτων. Με βάση αυτή την παρατήρηση, οι εκτιμήσεις για το σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας μπορεί να είναι συντηρητικές, επειδή ο υπολογισμός της στατιστικής ισχύος βασίστηκε στο αποτέλεσμα της μεγαλύτερης μελέτης. Επιπλέον, δεν πραγματοποιήθηκε μεθοδολογική αποτίμηση των μελετών παρατήρησης, επειδή αυτό αποτελεί στόχο των μετα-αναλύσεων και υπερβαίνει το σκοπό των ανασκοπήσεων πεδίου τύπου ομπρέλας. Επιπροσθέτως, στην παρούσα ανασκόπηση πεδίου, αξιολογήθηκαν μόνο παράγοντες κινδύνου που έχουν μελετηθεί σε δημοσιευμένες μετα-αναλύσεις. Είναι πιθανό να υπάρχουν επιπλέον παράγοντες κινδύνου με αρκετές μελέτες παρατήρησης, οι οποίοι δεν έχουν μελετηθεί ακόμη σε μετα-ανάλυσεις. Επίσης, στην παρούσα ανασκόπηση πεδίου, εξετάστηκε η μεγαλύτερη διαθέσιμη μετα-ανάλυση για κάθε μία συσχέτιση. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε απώλεια μελετών παρατήρησης, στην περίπτωση που μία μικρότερη μετα-ανάλυση περιλαμβάνει διαφορετικές μελέτες παρατήρησης σε σύγκριση με τη μεγαλύτερη μετα-ανάλυση.

Λαμβάνοντας υπόψιν τους προαναφερθέντες περιορισμούς, η παρούσα ανασκόπηση πεδίου προσφέρει μία χαρτογράφηση του πεδίου των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Ανάμεσα στους 16

παράγοντες κινδύνου που μελετήθηκαν, μόνο η χρόνια επαγγελματική έκθεση σε μόλυβδο παρουσίασε υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία για συσχέτιση με τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Η προσέγγιση αυτή θα μπορούσε να συμπληρωθεί από την εφαρμογή επιπλέον μεθοδολογικών προσεγγίσεων, όπως είναι το εργαλείο *AMSTAR* (114,115). Από τη μελέτη του πεδίου αυτού, συνάγεται το συμπέρασμα ότι απαιτούνται περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες για τη διερεύνηση παραγόντων κινδύνου για τη νόσο, αλλά και περισσότερες μελέτες για τη διερεύνηση των πιθανών πηγών ετερογένειας μεταξύ των μελετών. Η ποιότητα των επιδημιολογικών μελετών θα μπορούσε να βελτιωθεί με τη χρήση συγκεκριμένων κοινών διαγνωστικών κριτηρίων και κοινών μεθόδων μέτρησης των εκθέσεων και με την εφαρμογή των κατευθυντηρίων οδηγιών σχετικά με τη συγγραφή μελετών παρατήρησης και περιγραφής αποτελεσμάτων, όπως είναι η δήλωση *STROBE* (*Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology*) (116). Επιπλέον, η παρούσα ερευνητική εργασία συστηματικής αξιολόγησης των παραγόντων κινδύνου για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση θα μπορούσε να επεκταθεί περαιτέρω με την εφαρμογή του εργαλείου *AMSTAR* (*A measurement tool to assess systematic reviews*), το οποίο αξιολογεί τη μεθοδολογική ποιότητα των δημοσιευμένων συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων. Η εφαρμογή του εργαλείου αυτού θα μπορούσε να αναδείξει τους μεθοδολογικούς περιορισμούς των υπαρχόντων δημοσιευμένων μετα-αναλύσεων στο πεδίο αυτό, οδηγώντας σε χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με τη βελτίωση του σχεδιασμού των μελλοντικών συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων.

Κεφάλαιο 4

Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson: Μία ανασκόπηση πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων²

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η νόσος του Parkinson αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη νευροεκφυλιστική νόσο μετά τη νόσο του Alzheimer (19). Ο επιπολασμός της νόσου του Parkinson αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας και σε ασθενείς ηλικίας μεγαλύτερης των 80 ετών φθάνει τα 1903 περιστατικά ανά 100,000 άτομα (24). Η νόσος αυτή αναμένεται να έχει αυξανόμενο κοινωνικό και οικονομικό αντίκτυπο στα συστήματα υγείας, καθώς ο πληθυσμός γηράσκει (19). Υπολογίζεται ότι περίπου 630,000 άτομα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής έχουν διαγνωσθεί με νόσο του Parkinson κατά το έτος 2010, ενώ ο επιπολασμός της νόσου αναμένεται να διπλασιαστεί έως το έτος 2040 (117). Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, η οικονομική επιβάρυνση από τη νόσο του Parkinson υπερβαίνει τα 14.4 δισεκατομμύρια δολάρια κατά το έτος 2010 (περίπου 22,800 δολάρια ανά ασθενή) και προβλέπεται να αυξηθεί σημαντικά κατά τις επόμενες δεκαετίες (117).

Ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου του Parkinson διαμορφώνεται από έναν συνδυασμό περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων κινδύνου (118). Σημαντική

² Η παρούσα ερευνητική εργασία βασίζεται στην ακόλουθη επιστημονική δημοσίευση (28):

Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E, Ioannidis JP. Environmental risk factors and Parkinson's disease: An umbrella review of meta-analyses. *Parkinsonism & Related Disorders* 2016;23:1-9

πρόοδος έχει σημειωθεί όσον αφορά την αποσαφήνιση της γενετικής επιδημιολογίας της νόσου του Parkinson (25,119). Ωστόσο, δεν έχει δημοσιευτεί μια συστηματική αξιολόγηση των τεκμηρίων για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη νόσο του Parkinson. Στην παρούσα ερευνητική εργασία, πραγματοποιήθηκε μία ανασκόπηση πεδίου τύπου ομπρέλας των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων σχετικά με τη νόσο του Parkinson. Συγκεκριμένα, ο στόχος ήταν η παρουσίαση μιας σύνοψης και συστηματικής αξιολόγησης της αξιοπιστίας των περιβαλλοντικών παραγόντων ως προς τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου του Parkinson, όπως αυτοί έχουν μελετηθεί σε δημοσιευμένες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις.

4.2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

4.2.1 Συστηματική βιβλιογραφική αναζήτηση

Πραγματοποιήθηκε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας στη βιβλιογραφική βάση *PubMed* έως τις 18 Σεπτεμβρίου 2015 για να εντοπιστούν οι συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης που εξετάζουν περιβαλλοντικούς (μη γενετικούς) παράγοντες κινδύνου και βιολογικούς δείκτες για τη νόσο του Parkinson. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος αλγόριθμος αναζήτησης: *Parkinson** AND (“systematic review” OR *meta-analysis*). Η βιβλιογραφική αναζήτηση πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές.

4.2.2 Κριτήρια επιλογής μελετών

Κατά τη διαδικασία επιλογής των μελετών, αποκλείστηκαν οι μελέτες που διερευνούσαν τη συσχέτιση γενετικών πολυμορφισμών με τον κίνδυνο για τη νόσο του

Parkinson, καθώς οι μετα-αναλύσεις αυτές έχουν συλλεχθεί συστηματικά και αξιολογηθεί στη βάση δεδομένων της *PDGene* (25). Δεν εφαρμόστηκαν περιορισμοί σχετικά με τη γλώσσα των άρθρων. Όταν περισσότερες από μία μετα-αναλύσεις ήταν διαθέσιμες για την ίδια επιδημιολογική συσχέτιση, επιλέχθηκε η μετα-ανάλυση με τον μεγαλύτερο αριθμό μελετών. Η επιλογή των μελετών πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές.

4.2.3 Εξαγωγή δεδομένων

Από κάθε άρθρο, καταγράφηκε η πληροφορία σχετικά με τον πρώτο συγγραφέα, το επιστημονικό περιοδικό και το έτος δημοσίευσης και ο αριθμός των μελετών. Στην περίπτωση που πραγματοποιήθηκε ποσοτική σύνθεση των μελετών, καταγράφηκε επιπλέον το μέτρο σχέσης από την κάθε μία μελέτη (σταθμισμένη διαφορά μέσω όρων, σχετικό κίνδυνος, λόγος αναλογιών, λόγος κινδύνων) με το αντίστοιχο διάστημα εμπιστοσύνης και ο αριθμός των ασθενών και των υγιών από κάθε μελέτη. Επιπλέον, ελέγχθηκε εάν τα άρθρα που επιλέχθηκαν εφάρμοσαν κάποιο εργαλείο μεθοδολογικής αξιολόγησης των μελετών παρατήρησης. Όταν πραγματοποιήθηκε ποιοτική αξιολόγηση, καταγράφηκαν τα αποτελέσματα της αξιολόγησης αυτής. Όταν οι μελέτες παρουσίαζαν συγκρίσεις με διαφορετικές ομάδες μαρτύρων, χρησιμοποιήθηκε η πληροφορία από τη σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Η εξαγωγή των δεδομένων από τα άρθρα που επιλέχθηκαν πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές.

4.2.4 Στατιστική ανάλυση

Σε κάθε μετα-ανάλυση, υπολογίστηκε το συνολικό αποτέλεσμα με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης εφαρμόζοντας το μοντέλο σταθερής επίδρασης και το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (83,84). Επίσης, υπολογίστηκε το 95% διάστημα πρόβλεψης, το οποίο λαμβάνει υπόψιν την ετερογένεια μεταξύ των μελετών για να

αξιολογήσει την αβεβαιότητα στο αποτέλεσμα που μπορεί να παρατηρηθεί σε μία μελλοντική μελέτη που μελετά το ίδιο ερευνητικό ερώτημα (46,85). Για τη μεγαλύτερη μελέτη στην κάθε μία μετα-ανάλυση, υπολογίστηκε το τυπικό σφάλμα του μεγέθους αποτελέσματος και εξετάστηκε αν το τυπικό σφάλμα ήταν μικρότερο από 0.10 στην κλίμακα του λογαρίθμου του λόγου αναλογιών. Σε μία μελέτη με τυπικό σφάλμα μικρότερο από 0.10 η διαφορά μεταξύ του μεγέθους αποτελέσματος και του ανώτερου ή κατώτερου ορίου του 95% διαστήματος εμπιστοσύνης είναι μικρότερο από 0.20.

Στην περίπτωση των μετα-αναλύσεων όπου η έκθεση ήταν συνεχή μεταβλητή, το μέγεθος αποτελέσματος μετατράπηκε από τυποποιημένη διαφορά μέσων όρων (*standardized mean difference*) σε λόγο αναλογιών (*odds ratio*) με την εφαρμογή μιας εξίσωσης (86). Συγκεκριμένα, μία εκτίμηση εκφρασμένη σε σταθμισμένη διαφορά μέσων όρων πολλαπλασιάστηκε με τη σταθερά $\pi / \sqrt{3}$ για να μετατραπεί σε λόγο αναλογιών.

Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ποσοτικοποιήθηκε με το στατιστικό μέτρο I^2 . Το μέτρο αυτό λαμβάνει τιμές από 0% έως 100% (47,87). Τιμές μεγαλύτερες από 50% και 75% θεωρήθηκαν ένδειξη μεγάλης και πολύ μεγάλης ετερογένειας, αντίστοιχα.

Η παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης αξιολογήθηκε με την εφαρμογή της στατιστικής δοκιμασίας παλινδρόμησης του Egger (49,120). Μία τιμή $P\text{-value} < 0.10$ στη δοκιμασία του Egger σε συνδυασμό με πιο συντηρητικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη σε σύγκριση με το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης (ακολουθώντας το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων) θεωρήθηκε ένδειξη παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης.

Η παρουσία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας αξιολογήθηκε με την εφαρμογή της στατιστικής δοκιμασίας περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας, όπου

εξετάζεται εάν ο παρατηρούμενος αριθμός των στατιστικά σημαντικών μελετών είναι μεγαλύτερος από τον αναμενόμενο αριθμό (54). Ο αναμενόμενος αριθμός των στατιστικά σημαντικών μελετών προκύπτει από το άθροισμα της στατιστικής ισχύος των μελετών μιας μετα-ανάλυσης (54). Για τον υπολογισμό της στατιστικής ισχύος θεωρήθηκε ότι η πραγματική τιμή του αποτελέσματος προσεγγίζεται από τη μεγαλύτερη μελέτη της μετα-ανάλυσης (88). Η στατιστική ισχύς υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας μια μη κεντρική t κατανομή (89). Μία τιμή $P\text{-value} < 0.10$ θεωρήθηκε ένδειξη παρουσίας σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας.

Για τις μετα-αναλύσεις που αφορούσαν την έκθεση σε φυτοφάρμακα και την κατανάλωση νερού από πηγάδι, χρησιμοποιήθηκε μία παλαιότερη μετα-ανάλυση (121,122), επειδή η μεγαλύτερη μετα-ανάλυση δεν παρουσίαζε τα δεδομένα που απαιτούνταν για να πραγματοποιηθούν οι αναλύσεις που περιγράφονται παραπάνω (123). Για τη μετα-ανάλυση που αφορούσε τη συσχέτιση του σακχαρώδους διαβήτη με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson, χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα από δύο διαφορετικά άρθρα (124,125). Το πιο πρόσφατο άρθρο περιλάμβανε μόνο μελέτες ασθενών-μαρτύρων (125), ενώ το παλαιότερο άρθρο περιλάμβανε μελέτες ασθενών-μαρτύρων και μελέτες κοόρτης (124). Στην περίπτωση αυτή, συνδυάστηκαν οι μελέτες ασθενών-μαρτύρων του πιο πρόσφατου άρθρου με τις μελέτες κοόρτης του παλαιότερου άρθρου.

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα *STATA*, version 12.0 (*STATA Corp LP, College Station, Texas*).

4.2.5 Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας

Οι παράγοντες κινδύνου με στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson ($P\text{-value} < 0.05$) αξιολογήθηκαν βάσει μιας σειράς μεθοδολογικών κριτηρίων (126,127). Για να θεωρηθεί ότι μία συσχέτιση έχει πολύ υψηλή

επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία I*) πρέπει να έχει μελετηθεί σε περισσότερους από 1000 ασθενείς, να παρουσιάζει $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, $I^2 < 50\%$, 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλαμβάνει το μηδενικό αποτέλεσμα και απουσία ενδείξεων για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης ή σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Οι συσχετίσεις που μελετήθηκαν σε περισσότερους από 1000 ασθενείς, παρουσίασαν $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη της μετα-ανάλυσης θεωρήθηκε ότι έχουν υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία II*). Οι συσχετίσεις που μελετήθηκαν σε περισσότερους από 1000 ασθενείς και παρουσίασαν $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων θεωρήθηκε ότι χαρακτηρίζονται από μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία III*). Οι υπόλοιποι στατιστικά σημαντικοί παράγοντες κινδύνου θεωρήθηκαν χαμηλής επιδημιολογικής αξιοπιστίας (*Κατηγορία IV*). Τα μεθοδολογικά κριτήρια που εφαρμόστηκαν παρουσιάζονται συνοπτικά στον **Πίνακα 6**.

Ακόμα και για τους παράγοντες κινδύνου με πολύ υψηλή και υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα δεν μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι είναι αιτιολογικοί παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson. Για τους παράγοντες αυτούς και ως ένα επιπλέον επίπεδο αξιολόγησης, καταγράφηκε ο σχεδιασμός των επιδημιολογικών μελετών και πραγματοποιήθηκε μία επιπλέον ανάλυση ευαισθησίας εστιασμένη στις προοπτικές μελέτες κοόρτης. Στην Ενότητα 4.4 παρατίθεται αναλυτική συζήτηση των πιθανών εναλλακτικών ερμηνειών για τις συσχετίσεις αυτές, λαμβάνοντας υπόψιν το ενδεχόμενο παρουσίας αντίστροφης αιτιότητας, συγχυτικών παραγόντων, συστηματικού σφάλματος πληροφορίας και συστηματικού σφάλματος επιλογής.

Πίνακας 6. Μεθοδολογικά κριτήρια για την αξιολόγηση των συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων και κινδύνου για τη νόσο του Parkinson

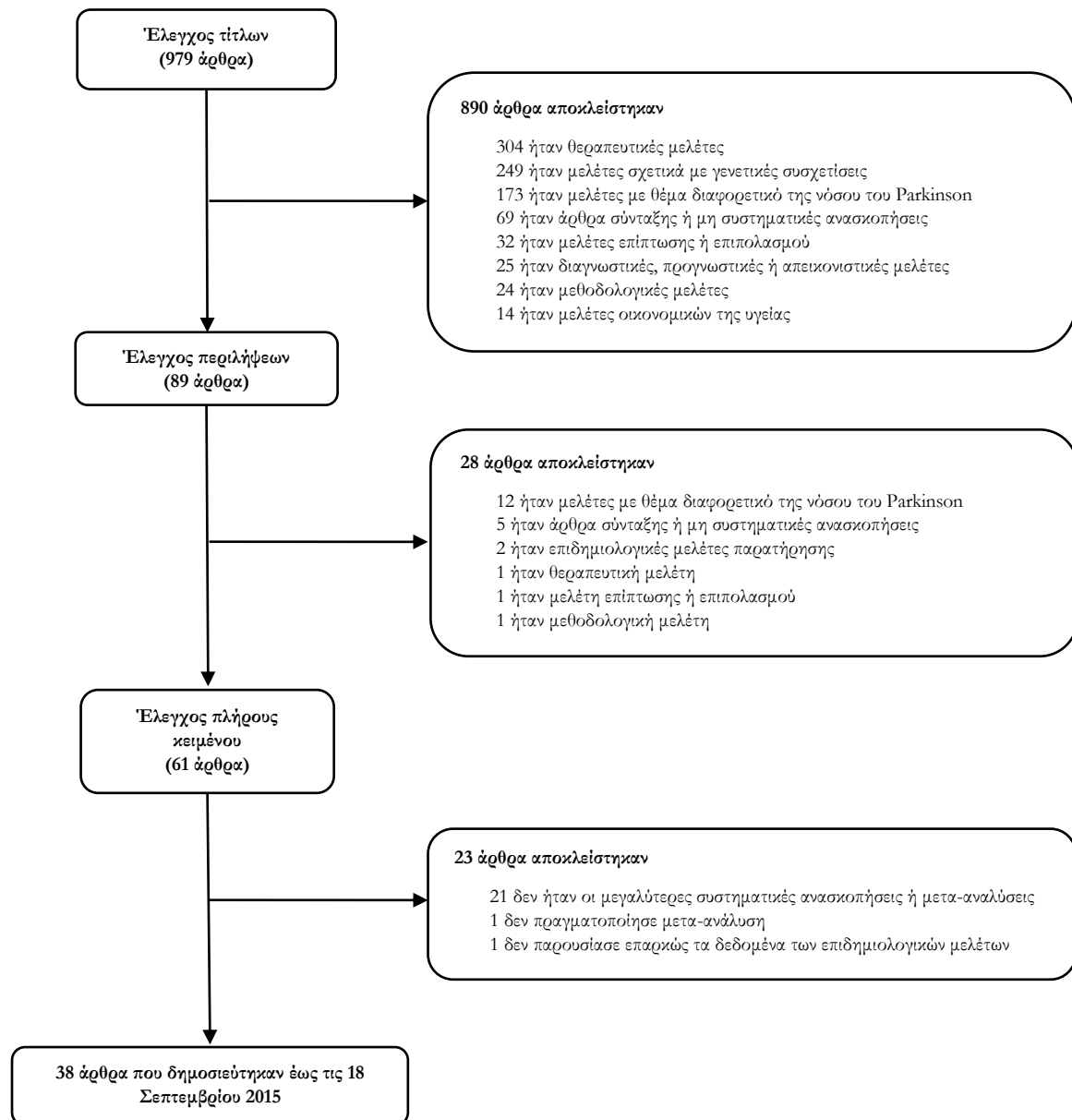
Επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας	Κριτήρια
Πολύ υψηλή αξιοπιστία (Κατηγορία I)	➤ >1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, ➤ $I^2 < 50\%$, ➤ 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλαμβάνει το μηδενικό αποτέλεσμα, ➤ απουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας
Υψηλή αξιοπιστία (Κατηγορία II)	➤ >1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, ➤ στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη της μετα-ανάλυσης
Μέτρια αξιοπιστία (Κατηγορία III)	➤ >1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων
Χαμηλή αξιοπιστία (Κατηγορία IV)	➤ $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων

4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας κατέληξε σε 979 άρθρα, από τα οποία 38 άρθρα πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής της παρούσας ερευνητικής εργασίας. Το διάγραμμα ροής της συστηματικής ανασκόπησης παρουσιάζεται στην **Εικόνα 4**. Τα άρθρα αυτά δημοσιεύτηκαν από το 2005 έως το 2015. Συνολικά, 21 άρθρα αποκλείστηκαν κατά τον έλεγχο του πλήρους δημοσιευμένου κειμένου, επειδή ένα άλλο άρθρο με περισσότερες μελέτες παρατήρησης ήταν διαθέσιμο. Τα 21 αυτά άρθρα εξέτασαν, ως παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson, το κάπνισμα ($n = 9$ άρθρα) (128–136), τα φυτοφάρμακα ($n = 5$ άρθρα) (137–140), τη φυσική δραστηριότητα ($n = 2$ άρθρα) (141,142), τον καφέ ($n = 3$ άρθρα) (134,143,144), την ενασχόληση με αγροτικές εργασίες ($n = 1$ άρθρο) (139), την ασπιρίνη ($n = 1$ άρθρο) (145), την οστική πυκνότητα ($n = 1$ άρθρο) (146), την πρόσληψη λιπαρών ($n = 1$ άρθρο) (147), τη χρήση ιβουπροφαίνης ($n = 1$ άρθρο) (145), το τσάι ($n = 1$ άρθρο) (143) και τη χρήση νερού από πηγάδι ($n = 1$ άρθρο) (139). Ένα άρθρο που αφορούσε το δείκτη μάζας σώματος αποκλείστηκε λόγω ανεπαρκούς περιγραφής των δεδομένων από τις μελέτες παρατήρησης (148).

Τα 38 άρθρα που συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα ερευνητική εργασία περιέγραφαν συνολικά 75 μετα-αναλύσεις. Ο διάμεσος αριθμός μελετών παρατήρησης ανά μετα-ανάλυση ήταν 7 (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, 5 – 10) και ο διάμεσος αριθμός ασθενών ανά μετα-ανάλυση ήταν 1418 (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, 707 – 5263). Οι 75 μετα-αναλύσεις αναφέρονταν σε ένα ευρύ φάσμα παραγόντων κινδύνου, οι οποίοι κατηγοριοποιήθηκαν σε βιολογικούς δείκτες, διατροφικούς παράγοντες, φάρμακα, τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, καθημερινές συνήθειες και ιατρικό ιστορικό ή συν-νοσηρότητες. Ο αριθμός των ασθενών με νόσο του Parkinson υπερέβηκε τα 1000 άτομα σε 47 μετα-αναλύσεις.

Εικόνα 4. Διάγραμμα ροής της βιβλιογραφικής αναζήτησης για συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-ανάλυσεις μελετών παρατήρησης για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου της νόσου του Parkinson



Δεκαπέντε από τα 38 άρθρα εφάρμοσαν την κλίμακα Newcastle-Ottawa για να αξιολογήσουν τις μελέτες παρατήρησης που περιλαμβάνονταν στις αντίστοιχες μετα-αναλύσεις. Λεπτομέρειες από τα αποτελέσματα της αξιολόγησης των άρθρων αυτών παρουσιάζονται στον **Πίνακα 7**. Ένα άρθρο αξιολόγησε τις μελέτες παρατήρησης χρησιμοποιώντας το εργαλείο QUADAS-2 (149). Ένα επιπλέον άρθρο αξιολόγησε ποιοτικά την πιθανή παρουσία συστηματικού σφάλματος επιλογής και συστηματικού σφάλματος πληροφορίας χωρίς τη χρήση προκαθορισμένου εργαλείου αξιολόγησης (124).

Τριάντα πέντε από τις 75 μετα-αναλύσεις (47%) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα με όριο $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων. Είκοσι μία από τις 75 μετα-αναλύσεις (24%) ήταν στατιστικά σημαντικές στο όριο $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και οι μετα-αναλύσεις αυτές αφορούν: φυσική δραστηριότητα, λήψη ιβουπροφαίνης, κρανιο-εγκεφαλική κάκωση, κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων, επαγγελματική ενασχόληση με τη συγκόλληση μετάλλων, αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή, β-αποκλειστές, κατανάλωση καφέ, δυσκοιλιότητα, κάπνισμα, φυτοφάρμακα, όγκος της μέλαινας ουσίας, επίπεδα ουρικό οξύ στο ορό, επίπεδα βιταμίνης B₁₂ στο ορό, εργασία σε εξωτερικό χώρο, πάχος της στιβάδας των νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς, αναστολές διαύλων ασβεστίου, αγροτική διαβίωση, αγροτικές εργασίες, κατανάλωση αλκοόλ και οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης. Σε 9 από αυτές τις 21 μετα-αναλύσεις (δυσκοιλιότητα, κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων, επαγγελματική ενασχόληση με τη συγκόλληση μετάλλων, αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή, κατανάλωση καφέ, κάπνισμα, επίπεδα βιταμίνης B₁₂ στο ορό, φυσική δραστηριότητα, λήψη ιβουπροφαίνης), το 95% διάστημα πρόβλεψης στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα. Στις

υπόλοιπες 12 μετα-αναλύσεις, το 95% διάστημα πρόβλεψης περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα, αποτελώντας ένδειξη ότι, αν και οι παράγοντες αυτοί συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για νόσο του Parkinson, αυτό ίσως να μην ισχύει σε όλες τις συνθήκες. Τα αποτελέσματα των μετα-αναλύσεων και τα 95% διαστήματα πρόβλεψης παρουσιάζονται στον **Πίνακα 8**.

Η μεγαλύτερη μελέτη παρατήρησης παρουσίασε πιο συντηρητικό αποτέλεσμα (δηλαδή μέτρο αποτελέσματος πλησιέστερα στη μονάδα) από το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης υπό το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων στις 37 από τις 75 μετα-αναλύσεις (49%). Ωστόσο, η μεγαλύτερη μελέτη παρατήρησης συνήθως δεν ήταν επαρκώς μεγάλη ως προς το μέγεθος δείγματος, καθώς σε 25 μετα-αναλύσεις το τυπικό σφάλμα της μεγαλύτερης μελέτης ήταν μικρότερο από 0.10 στην κλίμακα του λογαρίθμου του λόγου αναλογιών. Το αποτέλεσμα της μεγαλύτερης μελέτης ανά μετα-ανάλυση παρουσιάζεται στον **Πίνακα 9**.

Πίνακας 7. Αποτελέσματα της μεθοδολογικής αξιολόγησης των μελετών παρατήρησης στα 15 άρθρα που εφάρμοσαν την κλίμακα Newcastle-Ottawa

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Υψηλή ποιότητα (NOS score = 9)	Μέτρια ποιότητα (NOS score = 7 or 8)	Χαμηλή ποιότητα (NOS score < 7)
Adams-Carr, 2015 (150)	Δυσκοιλιότητα	0	8	1
Gagne, 2010 (151)	Ασπιρίνη	0	6	0
	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη	0	7	0
Gudala, 2013 (152)	Επίπεδα χοληστερόλης στον ορό	3	1	4
	Κρανιο-εγκεφαλική κάκωση	6	7	9
Lang, 2015* (153)	Αναστολείς διαύλων ασβεστίου	0	5	0
Lu, 2014 (125)	Σακχαρώδης διαβήτης	0	6	8
Lv, 2014 (154)	Επίπεδα βιταμίνης D στον ορό	2	5	0
Pezzoli, 2013 (123)	Αγροτικές εργασίες	0	16	21
	Οργανικοί διαλύτες	0	7	11
	Αγροτική διαβίωση	0	4	27
Shen, 2013 (155) *	Επίπεδα αλάτων ουρικού οξέος στον ορό	0	6	0

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Υψηλή ποιότητα (NOS score = 9)	Μέτρια ποιότητα (NOS score = 7 or 8)	Χαμηλή ποιότητα (NOS score < 7)
Takeda, 2014 (156)	Πρόσληψη λουτεΐνης	0	3	1
	Πρόσληψη λυκοπενίου	0	2	1
	Πρόσληψη βιταμίνης Α	0	2	1
	Πρόσληψη α- καροτενίου	0	1	2
	Πρόσληψη β- καροτενίου	0	3	3
	Πρόσληψη β- κρυπτοξανθίνης	0	1	2
Undela, 2013 (157)	Στατίνες	1	5	2
Ungprasert, 2015 (158)	Ουρική αρθρίτιδα	1	1	3
Wang, 2015 (159)	Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης	0	6	8
Yu, 2014 (160) *	Πάχος της στιβάδας νευρικών ινών του αμφιβληστροειδούς	0	11	2
Zhang, 2014 (161)	Αλκοόλ	0	12	21

*Τα σημειωμένα άρθρα χρησιμοποίησαν ως όριο για χαμηλή ποιότητα NOS score = 6

Συντομογραφίες: NOS=Newcastle-Ottawa scale

Από τις 75 μετα-αναλύσεις, 17 μετα-αναλύσεις (23%) είχαν μεγάλη ετερογένεια ($I^2 \geq 50\%$ και $I^2 \leq 75\%$) και 16 μετα-αναλύσεις (21%) είχαν πολύ μεγάλη ετερογένεια ($I^2 > 75\%$). Συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης εντοπίστηκε σε 13 μετα-αναλύσεις (17%). Οι μετα-αναλύσεις αυτές αφορούσαν την κατανάλωση αλκοόλ, την κατανάλωση καφέ, την προσλαμβανόμενη ενέργεια, την έκθεση σε υδρογονάνθρακες, τα επίπεδα βιταμίνης D στον ορό, την πρόσληψη λουτεΐνης, τη χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, την έκθεση σε οργανικούς διαλύτες, την έκθεση σε φυτοφάρμακα, την αγροτική διαβίωση, την πρόσληψη βιταμίνης B₆, τη χρήση στατινών και το κάπνισμα. Είκοσι τρεις από τις 75 μετα-αναλύσεις (31%) παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στον παρατηρούμενο και τον αναμενόμενο αριθμό των στατιστικά σημαντικών μελετών, που αποτελεί ένδειξη παρουσίας σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών και τα αποτελέσματα της στατιστικής δοκιμασίας παλινδρόμησης του Egger και της δοκιμασίας περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας παρουσιάζονται στον **Πίνακα 9**.

Πίνακας 8. Χαρακτηριστικά και ποσοτική σύνθεση στις 75 μετα-αναλύσεις για περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου στη νόσο του Parkinson

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση			Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Καθημερινές συνήθειες									
Zhang, 2014(161)	Κατανάλωση αλκοόλ	9994	33	RR	0.75 (0.66-0.85)	5.0×10^{-6}	0.44-1.25	0.79 (0.73-0.86)	4.8×10^{-9}
Noyce, 2012(122)	Κατανάλωση καφέ	5801	19	RR	0.67 (0.58-0.76)	3.4×10^{-9}	0.45-1.00	0.72 (0.65-0.78)	1.5×10^{-13}
Noyce, 2012(122)	Κάπνισμα	19537	67	RR	0.64 (0.60-0.69)	1.3×10^{-37}	0.45-0.92	0.67 (0.65-0.70)	5.0×10^{-77}
Shen, 2015(162)	Εργασία σε εξωτερικό χώρο	4266	2	OR	0.72 (0.64-0.82)	5.3×10^{-7}	NE†	0.72 (0.64-0.82)	5.3×10^{-7}
Li, 2012(163)	Κατανάλωση τσαγιού	1418	8	OR	0.86 (0.68-1.08)	0.197	0.45-1.62	0.85 (0.74-0.98)	0.025
Yang, 2015(164)	Φυσική δραστηριότητα	1348	5	HR	0.66 (0.57-0.78)	3.0×10^{-7}	0.55-0.80	0.66 (0.57-0.78)	3.0×10^{-7}
Τοξικές περιβαλλοντικές εκθέσεις									

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Huss, 2015(165)	Έκθεση σε χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία	43096	11	OR	1.05 (0.98-1.13)	0.135	0.89-1.25	1.04 (1.00-1.08)	0.038
Mortimer, 2012(166)	Έκθεση σε μαγγάνιο	1278	3	RR	0.76 (0.41-1.42)	0.392	0.001-661	0.80 (0.59-1.08)	0.146
Mortimer, 2012(166)	Συγκόλληση μετάλλων	8198	9	RR	0.86 (0.80-0.92)	3.0×10^{-5}	0.79-0.94	0.86 (0.80-0.92)	3.0×10^{-5}
Palin, 2015(167)	Έκθεση σε υδρογονάνθρακες	4483	14	OR	1.36 (1.13-1.63)	0.001	0.88-2.08	1.27 (1.12-1.46)	3.6×10^{-4}
Pezzoli, 2013(123)	Αγροτικές εργασίες	9533	38	OR	1.30 (1.16-1.46)	5.7×10^{-6}	0.86-1.98	1.29 (1.19-1.39)	6.7×10^{-10}
Pezzoli, 2013(123)	Οργανικοί διαλύτες	3811	18	OR	1.22 (1.01-1.47)	0.036	0.72-2.08	1.12 (0.99-1.26)	0.052
van der Mark, 2012(121)	Φυτοφάρμακα	7151	39	OR	1.62 (1.40-1.88)	1.1×10^{-10}	0.81-3.23	1.52 (1.40-1.64)	5.9×10^{-26}

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Pezzoli, 2013(123)	Αγροτική διαβίωση	4306	31	OR	1.32 (1.18-1.48)	1.7×10^{-6}	0.84-2.10	1.01 (0.99-1.02)	0.363
Noyce, 2012(122)	Κατανάλωση νερού από πηγάδι	5037	28	RR	1.21 (1.05-1.40)	0.011	0.66-2.21	0.99 (0.95-1.04)	0.735
<i>Διατροφικοί παράγοντες</i>									
Etminan, 2005(168)	Πρόσληψη βιταμίνης C	1247	7	OR	1.06 (0.86-1.30)	0.602	0.64-1.74	1.00 (0.87-1.16)	0.976
Etminan, 2005(168)	Πρόσληψη βιταμίνης E	936	7	OR	0.81 (0.67-0.98)	0.028	0.63-1.04	0.81 (0.67-0.98)	0.028
Jiang, 2014(169)	Κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων	1083	7	RR	1.40 (1.20-1.63)	2.4×10^{-5}	1.08-1.81	1.39 (1.21-1.61)	5.7×10^{-6}
Shen, 2015(162)	Συμπλήρωμα βιταμίνης D	458	2	OR	0.67 (0.44-1.00)	0.052	NE†	0.67 (0.44-1.00)	0.052

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Shen, 2015(170)	Πρόσληψη φυλλικού οξέος	736	3	OR	1.06 (0.78-1.45)	0.714	0.14-7.97	1.06 (0.78-1.45)	0.714
Shen, 2015(170)	Πρόσληψη βιταμίνης B ₁₂	736	3	OR	1.07 (0.82-1.40)	0.621	0.19-6.19	1.07 (0.82-1.40)	0.621
Shen, 2015(170)	Πρόσληψη βιταμίνης B ₆	736	3	OR	0.65 (0.37-1.16)	0.147	0.001-383	0.79 (0.59-1.06)	0.113
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη λουτεΐνης	804	4	OR	1.49 (0.83-2.68)	0.179	0.12-18.65	1.15 (0.90-1.46)	0.267
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη λυκοπενίου	678	3	OR	1.03 (0.64-1.65)	0.896	0.01-174	1.02 (0.79-1.31)	0.900
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη βιταμίνης A	624	3	OR	1.09 (0.84-1.42)	0.520	0.20-5.96	1.09 (0.84-1.42)	0.520
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη α-καροτενίου	677	3	OR	0.84 (0.59-1.18)	0.313	0.04-16.60	0.84 (0.64-1.11)	0.221
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη β-καροτενίου	1395	6	OR	0.92 (0.70-1.20)	0.521	0.46-1.81	0.92 (0.75-1.13)	0.417
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη β- κρυπτοξανθίνης	677	3	OR	0.96 (0.66-1.40)	0.834	0.02-39.43	0.90 (0.69-1.16)	0.411
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη υδατανθράκων	1482	8	RR	1.24 (1.05-1.48)	0.014	1.00-1.54	1.24 (1.05-1.48)	0.014

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη χοληστερόλης	1293	7	RR	0.97 (0.75-1.26)	0.833	0.46-2.07	0.91 (0.79-1.05)	0.211
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη ενέργειας	1415	8	RR	1.39 (1.01-1.92)	0.042	0.50-3.90	0.99 (0.95-1.03)	0.607
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη πρωτεϊνών	1570	7	RR	1.13 (0.88-1.44)	0.339	0.65-1.97	1.15 (0.95-1.39)	0.151
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη ολικών λιπαρών	2516	13	RR	0.88 (0.74-1.06)	0.182	0.56-1.40	0.86 (0.75-0.98)	0.024
<i>Ιατρικό ιστορικό και συν-νοσηρές παθήσεις</i>									
Adams-Carr, 2015(150)	Δυσκοιλιότητα	11242	9	RR	2.30 (2.02-2.63)	3.5×10^{-35}	1.76-2.96	2.27 (2.09-2.46)	5.0×10^{-90}
Cereda, 2011(124) and Lu, 2014(125)	Σακχαρώδης διαβήτης	10743	6	OR	1.13 (0.73-1.76)	0.591	0.42-3.03	1.24 (0.93-1.65)	0.143
Jafari, 2013(111)	Κρανιοεγκεφαλική κάκωση	35799	22	OR	1.55 (1.33-1.81)	2.2×10^{-8}	0.93-2.58	1.56 (1.45-1.67)	3.5×10^{-35}

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Liu, 2011(172)	Μελάνωμα	10743	6	OR	1.13 (0.73-1.76)	0.591	0.42-3.03	1.24 (0.93-1.65)	0.143
Noyce, 2012(122)	Αγχώδης διαταραχή ή κατάθλιψη	16211	13	RR	1.86 (1.64-2.10)	2.6×10^{-22}	1.30-2.66	1.84 (1.78-1.91)	5.8×10^{-258}
Noyce, 2012(122)	Καρκίνος	9693	7	RR	0.89 (0.72-1.10)	0.265	0.51-1.53	1.01 (0.94-1.09)	0.777
Noyce, 2012(122)	Πεπτικό έλκος	406	3	RR	1.37 (0.36-5.31)	0.646	1.4×10^{-7} – 1.4×10^7	0.81 (0.49-1.34)	0.413
Noyce, 2012(122)	Αρτηριακή υπέρταση	5993	12	RR	0.75 (0.61-0.90)	0.003	0.40-1.40	0.81 (0.75-0.87)	3.2×10^{-8}
Noyce, 2012(122)	Ωοθηκεκτομή	775	5	RR	0.77 (0.52-1.13)	0.180	0.23-2.60	0.76 (0.61-0.94)	0.011
Ungprasert, 2015(158)	Ουρική αρθρίτιδα	235301	5	RR	0.93 (0.79-1.09)	0.364	0.51-1.67	1.05 (1.00-1.09)	0.049
<i>Φάρμακα</i>									
Gagne, 2010(151)	Ασπιρίνη	2781	6	RR	1.08 (0.93-1.27)	0.315	0.71-1.66	1.12 (1.01-1.24)	0.027

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Gagne, 2010(151)	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη	3967	7	RR	0.85 (0.77-0.94)	0.002	0.74-0.97	0.85 (0.77-0.94)	0.002
Gao, 2011(173)	Ακεταμινοφαίνη	2086	4	RR	1.09 (0.96-1.24)	0.192	0.82-1.45	1.09 (0.96-1.24)	0.192
Gao, 2011(173)	Ιβουπροφαίνη	2170	5	RR	0.73 (0.62-0.85)	6.6×10^{-5}	0.57-0.94	0.73 (0.62-0.85)	6.6×10^{-5}
Noyce, 2012(122)	β-αποκλειστές	5774	3	RR	1.28 (1.19-1.39)	5.0×10^{-10}	0.77-2.13	1.28 (1.19-1.39)	5.0×10^{-10}
Lang, 2015(153)	Αποκλειστές διαύλων ασβεστίου	6966	5	RR	0.78 (0.67-0.90)	7.0×10^{-4}	0.55-1.11	0.76 (0.68-0.84)	1.4×10^{-7}
Noyce, 2012(122)	Γενική αναισθησία	1571	6	RR	1.10 (0.77-1.58)	0.601	0.35-3.51	0.93 (0.80-1.09)	0.364
Noyce, 2012(122)	Από του στόματος αντισυλληπτικά	572	3	RR	0.73 (0.43-1.25)	0.250	0.002-346	0.86 (0.68-1.09)	0.215
Undela, 2013(157)	Στατίνες	15102	8	RR	0.77 (0.64-0.92)	0.004	0.47-1.27	0.86 (0.79-0.94)	0.001
Wang, 2014(159)	Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης	4035	14	RR	1.00 (0.84-1.20)	0.967	0.61-1.64	1.10 (1.00-1.22)	0.064

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)	95% ΔΠ		αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Βιολογικοί δείκτες									
Chen, 2014(174)	BMI (BMI≥ 30 vs. BMI< 25)	1668	7	OR	0.96 (0.61-1.50)	0.854	0.20-4.62	1.15 (1.01-1.31)	0.040
Chen, 2014(174)	BMI (BMI≥ 30 vs. 25 ≤BMI< 30)	1618	7	OR	0.83 (0.65-1.07)	0.157	0.37-1.85	0.89 (0.78-1.01)	0.061
Chen, 2014(174)	BMI (25 ≤BMI< 30 vs. BMI<25)	2428	7	OR	1.20 (0.94-1.53)	0.148	0.53-2.69	1.28 (1.18-1.40)	1.3 × 10 ⁻⁸
Gao, 2015(149)	α-συνουκλεΐνη στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό	850	11	OR	0.29 (0.13-0.62)	0.002	0.02-5.19	0.48 (0.38-0.59)	4.9 × 10 ⁻¹²
Gudala, 2013(152)	Ολική χοληστερόλη στον ορό	5488	8	RR	0.91 (0.71-1.15)	0.418	0.44-1.86	1.00 (0.90-1.12)	0.985
Lv, 2014(154)	Βιταμίνη D στον ορό	1008	7	OR	0.16 (0.05-0.50)	0.002	0.003- 10.09	0.40 (0.34-0.47)	9.0 × 10 ⁻²⁹

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		95% ΔΠ	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P		αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Mariani, 2013(175)	Χαλκός στο πλάσμα	202	4	OR	1.41 (0.03-59.27)	0.856	1.7×10^{-8} – 1.2×10^8	3.47 (2.29-5.24)	3.6×10^{-9}
Mariani, 2013(175)	Χαλκός στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό	215	5	OR	2.06 (0.57-7.44)	0.271	0.02-207	1.70 (1.06-2.75)	0.029
Mariani, 2013(175)	Χαλκός στον ορό	425	9	OR	1.46 (0.46-4.63)	0.519	0.02-94.65	1.47 (1.08-1.99)	0.013
Mariani, 2013(175)	Σίδηρος στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό	215	5	OR	0.93 (0.35-2.45)	0.887	0.03-30.86	0.86 (0.56-1.32)	0.494
Mariani, 2013(175)	Σίδηρος στον ορό	520	10	OR	0.45 (0.17-1.17)	0.102	0.01-16.71	0.41 (0.32-0.51)	2.5×10^{-14}
Sako, 2014(176)	Όγκος μέλαινας ουσίας	193	8	OR	0.31 (0.17-0.55)	8.3×10^{-5}	0.06-1.46	0.30 (0.20-0.44)	1.6×10^{-9}
Shen, 2013(155)	Άλατα ουρικού οξέος στον ορό	594	6	RR	0.65 (0.43-0.97)	0.034	0.23-1.82	0.68 (0.50-0.91)	0.009
Shen, 2013(177)	Ουρικό οξύ στον ορό	1217	6	OR	0.39 (0.27-0.57)	6.8×10^{-7}	0.13-1.22	0.33 (0.29-0.38)	1.1×10^{-49}
Shen, 2015(170)	Φυλλικό οξύ στον ορό	735	10	OR	0.81 (0.61-1.08)	0.150	0.36-1.79	0.81 (0.67-0.97)	0.022

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση		P	Εκτίμηση	
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P
Shen, 2015(170)	Βιταμίνη B ₁₂ στον ορό	735	10	OR	0.50 (0.40-0.63)	4.7×10^{-9}	0.31-0.82	0.50 (0.41-0.60)	1.0×10^{-13}
Wang, 2015(178)	BMI (ανά 5 kg/m ² αύξηση)	2706	10	RR	1.00 (0.89-1.12)	0.974	0.71-1.40	1.04 (0.98-1.11)	0.180
Yu, 2014(160)	RNFLT	644	13	OR	0.40 (0.24-0.66)	3.5×10^{-4}	0.06-2.55	0.39 (0.32-0.49)	1.7×10^{-18}
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στον αυχένα του μηριαίου οστού	561	8	OR	0.25 (0.09-0.66)	0.005	0.01-8.76	0.36 (0.30-0.44)	3.4×10^{-24}
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στο ισχίο	401	6	OR	0.55 (0.38-0.80)	0.002	0.18-1.66	0.60 (0.49-0.75)	3.2×10^{-6}
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης	611	9	OR	0.29 (0.16-0.54)	7.8×10^{-5}	0.03-2.60	0.30 (0.25-0.37)	1.4×10^{-32}

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων			Μοντέλο σταθερής επίδρασης	
					Εκτίμηση			Εκτίμηση	
					αποτελέσματος	P	95% ΔΠ	αποτελέσματος	P
					(95% ΔΕ)			(95% ΔΕ)	
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στον τροχαντήρα του μηριαίου οστού	249	4	OR	0.73 (0.48-1.11)	0.146	0.16-3.34	0.75 (0.57-0.99)	0.044

Σημειώσεις: Για τους βιολογικούς δείκτες, η σύγκριση αναφέρεται στα υψηλά επίπεδα σε σχέση με τα χαμηλά επίπεδα. Για τους διατροφικούς παράγοντες, την κατανάλωση αλκοόλ, την κατανάλωση καφέ και την κατανάλωση τσαγιού, η σύγκριση αντιστοιχεί στα υψηλά επίπεδα κατανάλωσης σε σχέση με τα χαμηλά επίπεδα κατανάλωσης. Για το κάπνισμα, η σύγκριση αναφέρεται στους καπνιστές σε σχέση με τους μη καπνιστές. Για τη φυσική δραστηριότητα, η σύγκριση έγινε μεταξύ των υψηλών και χαμηλών επιπέδων. Για όλες τις υπόλοιπες συσχετίσεις, η σύγκριση έγινε ανάμεσα σε εκτεθειμένους και μη εκτεθειμένους.

Συντομογραφίες: BMI=body mass index (δείκτης μάζας σώματος), HR=hazard ratio (λόγος κινδύνων), OR=odds ratio (λόγος αναλογιών), RR=risk ratio (σχετικός κίνδυνος), RNFLT=retinal nerve fiber layer thickness (πάχος της στιβάδας των νευρικών ινών στον αμφιβληστροειδή), ΔΕ=διάστημα εμπιστοσύνης, ΔΠ=διάστημα πρόβλεψης

† Για δύο μετα-αναλύσεις που αφορούν στην υπαίθρια εργασία (162) και το συμπλήρωμα βιταμίνης D (162), δεν ήταν εφικτή η αξιολόγηση του συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και ο υπολογισμός του 95% διαστήματος πρόβλεψης, επειδή μόνο δύο μελέτες παρατήρησης ήταν διαθέσιμες στις μετα-αναλύσεις αυτές.

Πίνακας 9. Ετερογένεια μεταξύ των μελετών, συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας στις 75 μετα-αναλύσεις που αφορούν περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία	O	E	Δοκιμασία
						του Egger			περίσσειας
			Εκτίμηση						στατιστικής
			αποτελέσματος	SE		P			σημαντικότητας
(95% ΔΕ)									
P									
Καθημερινές συνήθειες									
Zhang, 2014(161)	Κατανάλωση αλκοόλ	RR	1.01 (0.83-1.23)	0.100	52.3	0.060	7	1.68	2.4 × 10 ⁻⁵
Noyce, 2012(122)	Κατανάλωση καφέ	RR	0.85 (0.70-1.03)	0.099	42.9	0.002	8	4.39	0.050
Noyce, 2012(122)	Κάπνισμα	RR	0.74 (0.67-0.82)	0.052	49.6	0.018	39	29.70	0.022
Shen, 2015(162)	Εργασία σε εξωτερικό χώρο	OR	0.72 (0.63-0.82)	0.067	0	-†	1	1.82	-
Li, 2012(163)	Κατανάλωση τσαγιού	OR	0.91 (0.73-1.12)	0.110	53.0	0.758	2	0.72	0.113
Yang, 2015(164)	Φυσική δραστηριότητα	HR	0.68 (0.51-0.90)	0.145	0	0.556	4	6.15	-
Τοξικές περιβαλλοντικές εκθέσεις									

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Huss, 2015(165)	Έκθεση σε χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία	OR	1.04 (0.99-1.09)	0.025	46.4	0.699	1	1.94	-
Mortimer, 2012(166)	Έκθεση σε μαγγάνιο	RR	0.92 (0.64-1.32)	0.185	62	0.935	1	0.36	0.255
Mortimer, 2012(166)	Συγκόλληση μετάλλων	RR	0.85 (0.77-0.94)	0.051	0	0.221	2	3.39	-
Palin, 2015(167)	Έκθεση σε υδρογονάνθρακες	OR	1.06 (0.86-1.30)	0.105	28.1	0.020	5	0.96	2.1×10^{-5}
Pezzoli, 2013(123)	Αγροτικές εργασίες	RR	1.32 (1.11-1.57)	0.087	37.3	0.219	10	15.03	-
Pezzoli, 2013(123)	Οργανικοί διαλύτες	RR	1.06 (0.86-1.30)	0.105	43.6	0.024	3	1.2	0.090

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
van der Mark, 2012(121)	Φυτοφάρμακα	RR	1.11 (0.89-1.38)	0.112	63.7	0.057	17	3.7	1.0×10^{-8}
Pezzoli, 2013(123)	Αγροτική διαβίωση	RR	1.00 (0.99-1.01)	0.005	78.6	0.001	9	1.55	1.0×10^{-8}
Noyce, 2012(122)	Κατανάλωση νερού από πηγάδι	RR	1.23 (0.99-1.52)	0.107	70.6	0.005*	10	5.93	0.060
<i>Διατροφικοί παράγοντες</i>									
Etminan, 2005(168)	Πρόσληψη βιταμίνης C	OR	0.78 (0.61-1.01)	0.129	38.1	0.165	0	2.22	-
Etminan, 2005(168)	Πρόσληψη βιταμίνης E	OR	0.69 (0.49-0.98)	0.177	0	0.264	1	3.21	-
Jiang, 2014(169)	Κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων	RR	1.33 (1.07-1.65)	0.110	8.2	0.615	4	3.14	0.516

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Shen, 2015(162)	Συμπλήρωμα βιταμίνης D	OR	0.82 (0.46-1.47)	0.296	0	NE†	1	0.47	0.372
Shen, 2015(170)	Πρόσληψη φυλλικού οξέος	OR	1.20 (0.80-1.70)	0.192	0	0.387	0	0.90	-
Shen, 2015(170)	Πρόσληψη βιταμίνης B ₁₂	OR	1.00 (0.70-1.40)	0.177	0	0.265	0	0.15	9.5 × 10 ⁻⁷
Shen, 2015(170)	Πρόσληψη βιταμίνης B ₆	OR	1.00 (0.70-1.40)	0.177	64.5	0.015	2	0.15	0.691
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη λουτεΐνης	OR	0.78 (0.56-1.09)	0.170	77.8	0.096	2	1.52	0.622
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη λυκοπενίου	OR	0.87 (0.63-1.20)	0.164	62.3	0.983	1	0.54	0.489
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη βιταμίνης A	OR	1.16 (0.85-1.58)	0.158	0	0.444	0	0.55	-
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη α-καροτενίου	OR	0.91 (0.64-1.29)	0.179	22.9	0.847	0	0.33	-

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη β-καροτενίου	OR	0.90 (0.63-1.29)	0.183	37.5	0.862	1	0.69	0.688
Takeda, 2014(156)	Πρόσληψη β-κρυπτοξανθίνης	OR	0.74 (0.53-1.03)	0.169	42.1	0.271	0	1.55	-
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη υδατανθράκων	RR	1.29 (0.98-1.70)	0.141	0	0.613	1	2.98	-
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη χοληστερόλης	RR	0.87 (0.69-1.10)	0.119	62.4	0.273	2	1.04	0.310
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη ενέργειας	RR	0.97 (0.93-1.02)	0.024	83.8	0.084	2	0.44	0.015
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη πρωτεϊνών	RR	1.60 (1.10-2.20)	0.177	30.4	0.676	1	5.86	-
Wang, 2014(171)	Πρόσληψη ολικών λιπαρών	RR	0.69 (0.52-0.91)	0.143	34.4	0.070*	2	8.15	-
<i>Ιατρικό ιστορικό και συν-νοσηρές παθήσεις</i>									
Adams-Carr, 2015(150)	Δυσκοιλιότητα	RR	2.24 (2.04-2.46)	0.048	18.1	0.757	8	8.13	-

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Cereda, 2011(124) and Lu, 2014(125)	Σακχαρώδης διαβήτης	OR	1.41 (1.20-1.66)	0.083	78.1	0.035*	9	12.23	-
Jafari, 2013(111)	Κρανιοεγκεφαλική κάκωση	OR	1.94 (1.69-2.23)	0.071	61	0.569	10	18.04	-
Liu, 2011(172)	Μελάνωμα	OR	1.44 (1.03-2.01)	0.171	24.1	0.718	1	5.18	-
Noyce, 2012(122)	Αγχώδης διαταραχή ή κατάθλιψη	RR	1.79 (1.72-1.86)	0.020	67.7	0.755	10	11.98	-
Noyce, 2012(122)	Καρκίνος	RR	1.04 (0.96-1.12)	0.039	50.4	0.132	1	0.76	0.770
Noyce, 2012(122)	Πεπτικό έλκος	RR	0.47 (0.25-0.84)	0.309	81	0.072*	2	2.73	-
Noyce, 2012(122)	Αρτηριακή υπέρταση	RR	0.96 (0.80-1.15)	0.093	76.4	0.392	5	0.81	1.5×10^{-6}
Noyce, 2012(122)	Ωοθηκεκτομή	RR	0.75 (0.56-0.99)	0.145	58.8	0.931	2	1.78	0.840

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία
									περίσσειας
			Εκτίμηση						στατιστικής
			αποτελέσματος	SE					σημαντικότητας
			(95% ΔΕ)						P
Ungprasert, 2015(158)	Ουρική αρθρίτιδα	RR	1.11 (1.05-1.17)	0.028	87.4	0.108	3	4.24	-
Φάρμακα									
Gagne, 2010(151)	Ασπιρίνη	RR	1.13 (0.96-1.33)	0.083	50.3	0.335	1	1.50	-
Gagne, 2010(151)	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη	RR	0.93 (0.80-1.08)	0.077	0.1	0.034	1	0.88	0.893
Gao, 2011(173)	Ακεταμινοφαίνη	RR	1.16 (1.00-1.35)	0.077	0	0.058*	0	1.58	-
Gao, 2011(173)	Ιβουπροφαίνη	RR	0.77 (0.61-0.98)	0.121	0	0.588	3	3.04	-
Noyce, 2012(122)	β-αποκλειστές	RR	1.28 (1.16-1.41)	0.050	0	0.403	2	2.35	-
Lang, 2015(153)	Αποκλειστές διαύλων ασβεστίου	RR	0.70 (0.61-0.81)	0.074	25.7	0.128	2	3.30	-
Noyce, 2012(122)	Γενική αναισθησία	RR	0.74 (0.61-0.91)	0.102	74.2	0.195	2	2.68	-
Noyce, 2012(122)	Από του στόματος αντισυλληπτικά	RR	1.02 (0.77-1.36)	0.145	71.1	0.390	1	0.16	0.028

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Undela, 2013(157)	Στατίνες	RR	0.94 (0.82-1.09)	0.073	62.9	0.015	2	2.01	-
Wang, 2015(159)	Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης	RR	1.21 (1.00-1.46)	0.097	50.4	0.013*	4	3.92	0.960
<i>Βιολογικοί δείκτες</i>									
Chen, 2014(174)	BMI (BMI ≥ 30 vs. BMI < 25)	OR	2.34 (1.83-2.97)	0.124	90.6	0.189	2	6.84	-
Chen, 2014(174)	BMI (BMI ≥ 30 vs. 25 ≤ BMI < 30)	OR	1.20 (0.96-1.50)	0.114	71.5	0.319	3	2.09	0.450
Chen, 2014(174)	BMI (25 ≤ BMI < 30 vs. BMI < 25)	OR	1.16 (0.99-1.37)	0.083	85.2	0.541	2	2.07	-
Gao, 2015(149)	α-συνουκλεΐνη στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό	OR	1.17 (0.75-1.84)	0.230	91.7	0.120	7	0.81	1.0 × 10 ⁻⁸

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Gudala, 2013(152)	Ολική χοληστερόλη στον ορό	RR	1.06 (0.88-1.26)	0.092	70.3	0.234	2	0.83	0.172
Lv, 2014(154)	Βιταμίνη D στον ορό	OR	0.73 (0.55-0.96)	0.142	97.7	0.063	7	2.23	1.1×10^{-4}
Mariani, 2013(175)	Χαλκός στο πλάσμα	OR	85.10 (44.70- 162.02)	0.329	98.7	0.272	4	4	-
Mariani, 2013(175)	Χαλκός στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό	OR	0.91 (0.40-2.08)	0.421	83.8	0.680	2	0.27	6.4×10^{-4}
Mariani, 2013(175)	Χαλκός στον ορό	OR	0.66 (0.32-1.35)	0.366	92.6	0.913	4	1.45	0.020
Mariani, 2013(175)	Σίδηρος στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό	OR	0.64 (0.28-1.45)	0.421	79.8	0.487	2	0.74	0.110

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Mariani, 2013(175)	Σίδηρος στον ορό	OR	0.16 (0.11-0.24)	0.204	93.6	0.615	7	9.82	-
Sako, 2014(176)	Όγκος μέλαινας ουσίας	OR	0.22 (0.11-0.42)	0.333	47.4	0.917	3	5.17	-
Shen, 2013(155)	Άλατα ουρικού οξέος στον ορό	RR	0.60 (0.30-1.10)	0.331	42.1	0.390	2	5.02	-
Shen, 2013(177)	Ουρικό οξύ στον ορό	OR	0.23 (0.19-0.29)	0.111	75.9	0.286	4	5.50	-
Shen, 2015(170)	Φυλλικό οξύ στον ορό	OR	0.78 (0.58-1.05)	0.153	49.8	0.975	2	1.33	0.535
Shen, 2015(170)	Βιταμίνη B ₁₂ στον ορό	OR	0.49 (0.37-0.66)	0.153	23.8	0.715	5	5.33	-
Wang, 2015(178)	BMI (ανά 5 kg/m ² αύξηση)	OR	1.06 (0.94-1.18)	0.058	64.5	0.050*	2	0.82	0.175
Yu, 2014(160)	RNFLT	OR	0.58 (0.35-0.95)	0.258	81	0.969	8	3.88	0.013
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στον αυχένα του μηριαίου οστού	OR	0.47 (0.31-0.71)	0.213	95.6	0.267	5	5.59	-
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στο ισχίο	OR	0.95 (0.62-1.44)	0.213	61.8	0.192	4	0.33	1.0 × 10 ⁻⁸

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ²	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης	OR	0.90 (0.59-1.37)	0.217	89	0.747	6	0.59	1.0×10^{-8}
Zhao, 2013(179)	Οστική πυκνότητα στον τροχαντήρα του μηριαίου οστού	OR	0.86 (0.57-1.31)	0.213	45.6	0.733	1	0.32	0.216

*Στις σημειωμένες μετα-αναλύσεις, η στατιστική δοκιμασία του Egger και ο υπολογισμός των 95% διαστημάτων πρόβλεψης δεν εφαρμόστηκαν, επειδή λιγότερες από 3 μελέτες ήταν διαθέσιμες.

Συντομογραφίες: BMI=body mass index (δείκτης μάζας σώματος), HR=hazard ratio (λόγος κινδύνων), OR=odds ratio (λόγος αναλογιών), RR=risk ratio (σχετικός κίνδυνος), RNFLT=retinal nerve fiber layer thickness (πάχος στιβάδας νευρικών ινών στον αμφιβληστροειδή)

Σημείωση: Στις συσχετίσεις που έχουν παρατηρούμενο αριθμό στατιστικά σημαντικών μελετών μεγαλύτερο από τον αναμενόμενο αριθμό στατιστικά σημαντικών μελετών, δεν παρουσιάζεται *P-value* για τη στατιστική δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας.

Από τις 75 μετα-αναλύσεις, 11 παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων με $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$. Δύο παράγοντες κινδύνου (δυσκοιλιότητα και φυσική δραστηριότητα), παρουσίασαν πολύ υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία βάσει των κριτηρίων που ορίστηκαν στην Ενότητα 4.2.5 και περιεγράφηκαν στον **Πίνακα 6**. Πέντε παράγοντες κινδύνου (αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή, χρήση β-αποκλειστών, κρανιο-εγκεφαλική κάκωση, επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό και κάπνισμα) χαρακτηρίζονταν από υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία. Όμως, αυτοί οι 5 παράγοντες κινδύνου παρουσίασαν μεγάλη ή πολύ μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($n = 3$), ή 95% διάστημα πρόβλεψης που περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα ($n = 3$), ή ενδείξεις παρουσίας συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης ($n = 1$) ή/και περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας ($n = 3$). Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της επιδημιολογικής εγκυρότητας παρουσιάζονται στον **Πίνακα 10**.

Τρεις από τις 7 συσχετίσεις με πολύ υψηλή ή υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (β-αποκλειστές, κρανιο-εγκεφαλική κάκωση και επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό) δεν μελετήθηκαν σε προοπτικές μελέτες κοόρτης. Οι υπόλοιπες 4 συσχετίσεις (δυσκοιλιότητα, φυσική δραστηριότητα, αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή και κάπνισμα) παρέμειναν στατιστικά σημαντικές στο όριο $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ εφαρμόζοντας το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων. Για τη δυσκοιλιότητα και τη φυσική δραστηριότητα, η ετερογένεια ήταν χαμηλή ($I^2 < 50\%$) και το 95% διάστημα πρόβλεψης δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα. Για το κάπνισμα, η ετερογένεια ήταν μεγάλη ($I^2 > 50\%$) και το 95% διάστημα πρόβλεψης περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα. Για τη συσχέτιση της αγχώδους ή καταθλιπτικής διαταραχής με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson, το 95% διάστημα πρόβλεψης δεν μπορούσε να υπολογιστεί καθώς μόνο δύο προοπτικές μελέτες κοόρτης ήταν διαθέσιμες. Τα

αποτελέσματα της ανάλυσης ευαισθησίας που εστίασε στις προοπτικές μελέτες κοόρτης παρουσιάζεται στον **Πίνακα 11**.

Πίνακας 10. Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας των 75 μετα-αναλύσεων για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου της νόσου του Parkinson

Κατηγορία αξιολόγησης	Παράγοντες κινδύνου
Πολύ υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία I)	Δυσκοιλιότητα, φυσική δραστηριότητα
Υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία II)	Αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή, β-αποκλειστές, κρανιο-εγκεφαλική κάκωση, επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό, κάπνισμα
Μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία III)	Αλκοόλ, αποκλειστές διαύλων ασβεστίου, κατανάλωση καφέ, κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων, αγροτικές εργασίες, χρήση ιβουπροφαίνης, φυτοφάρμακα, αγροτική διαβίωση, επαγγελματική ενασχόληση με τη συγκόλληση μετάλλων
Χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (Κατηγορία IV)	οστική πυκνότητα στον αυχένα του μηριαίου οστού, οστική πυκνότητα στο μηριαίο οστό, οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης, πρόσληψη υδατανθράκων, πρόσληψη ενέργειας, έκθεση σε υδρογονάνθρακες, αρτηριακή υπέρταση, όγκος της μέλαινας ουσίας, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, οργανικοί διαλύτες, πάχος στιβάδας των νευρικών ινών στον αμφιβληστροειδή, επίπεδα αλάτων ουρικού οξέος στον ορό, επίπεδα βιταμίνης B ₁₂ στον ορό, επίπεδα βιταμίνης D στον ορό, στατίνες, πρόσληψη βιταμίνης E, κατανάλωση νερού από πηγάδι, επίπεδα α-συνουκλείνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό

Κατηγορία αξιολόγησης	Παράγοντες κινδύνου
Μη στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις	Ακεταμινοφαίνη, ασπιρίνη, οστική πυκνότητα στον τροχαντήρα του μηριαίου οστού, δείκτης μάζας σώματος (σύγκριση $BMI \geq 30$ vs. $BMI < 25$, $BMI \geq 30$ vs. $25 \leq BMI < 30$, $25 \leq BMI < 30$ vs. $BMI < 25$, ανά 5 kg/m² αύξηση), καρκίνος, πρόσληψη χοληστερόλης, επίπεδα χαλκού στο πλάσμα, επίπεδα χαλκού στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, σακχαρώδης διαβήτης, χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικό πεδίο, πρόσληψη φυλικού, πεπτικό έλκος, έκθεση σε γενική αναισθησία, ουρική αρθρίτιδα, ορμονική θεραπεία υποκατάστασης, επίπεδα σιδήρου στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, πρόσληψη λουτεΐνης, πρόσληψη λυκοπενίου, έκθεση σε μαγγάνιο, μελάνωμα, ωοθηκεκτομή, από του στόματος αντισυλληπτικά, πρόσληψη πρωτεΐνης, επίπεδα χοληστερόλης στον ορό, επίπεδα χαλκού στον ορό, επίπεδα φυλικού στον ορό, επίπεδα σιδήρου στον ορό, κατανάλωση τσαγιού, πρόσληψη λιπαρών, πρόσληψη βιταμίνης Α, πρόσληψη βιταμίνης Β₆, πρόσληψη βιταμίνης Β₁₂, πρόσληψη βιταμίνης C, συμπλήρωμα βιταμίνης D, πρόσληψη α-καροτενίου, πρόσληψη β-καροτενίου, πρόσληψη β-κρυπτοξανθίνης
Μη αξιολογήσιμες συσχετίσεις (δύο διαθέσιμες μελέτες παρατήρησης)	Εργασία σε εξωτερικό χώρο

Πίνακας 11. Αποτελέσματα της ανάλυσης ευαισθησίας εστιασμένη σε προοπτικές μελέτες κοόρτης για τις συσχετίσεις που χαρακτηρίζονται από πολύ υψηλή και υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Ασθενείς	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	<i>P</i>	95% ΔΠ	<i>I</i> ²	Κατηγορία αξιολόγησης
Adams-Carr, 2015 (150)	Δυσκοιλιότητα	2625	4	RR	2.36 (2.00–2.80)	1.4×10^{-23}	1.63–3.42	0	I
Yang, 2015 (164)	Φυσική δραστηριότητα	1348	5	HR	0.66 (0.57–0.78)	3.0×10^{-7}	0.55–0.80	0	I
Noyce, 2012 (122)	Αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή	11,687	2	RR	1.79 (1.72–1.86)	8.2×10^{-188}	—*	0	II
Noyce, 2012 (122)	Κάπνισμα	2623	6	RR	0.64 (0.53–0.76)	3.4×10^{-7}	0.38–1.07	63.8	II

* Το 95% διάστημα πρόβλεψης δεν ήταν εφικτό να υπολογιστεί, επειδή μόνο δύο επιδημιολογικές μελέτες ήταν διαθέσιμες για τη συσχέτιση αυτή.

Συντομογραφίες: OR=odds ratio (λόγος αναλογιών), RR=risk ratio (λόγος κινδύνων), ΔΕ=διάστημα εμπιστοσύνης, ΔΠ=διάστημα πρόβλεψης

4.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, παρουσιάστηκε μία ανασκόπηση πεδίου τύπου ομπρέλας και μία συστηματική αξιολόγηση των περιβαλλοντικών παραγόντων που σχετίζονται με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson. Συνολικά, αξιολογήθηκαν 75 συσχετίσεις που αφορούσαν βιολογικούς δείκτες, διατροφικούς παράγοντες, φάρμακα, έκθεση σε τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, καθημερινές συνήθειες και προηγούμενο ιατρικό ιστορικό. Δύο παράγοντες (δυσκοιλιότητα και φυσική δραστηριότητα) παρουσίασαν τεκμήρια με πολύ υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα. Επίσης, κάποιοι επιπλέον παράγοντες κινδύνου (κρανιο-εγκεφαλική κάκωση, αγγώδης ή καταθλιπτική διαταραχή, β-αποκλειστές, κάπνισμα και επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό) παρουσίασαν τεκμήρια που υποδεικνύουν υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα. Στις ακόλουθες παραγράφους, θα συζητηθεί η πιθανή παρουσία συστηματικών σφάλματων στις συσχετίσεις αυτές.

Η σχέση της φυσικής δραστηριότητας με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης νόσου του Parkinson μελετήθηκε από 5 προοπτικές μελέτες κοόρτης. Η φυσική δραστηριότητα σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος στο πλάσμα (164), τα οποία έχουν επίσης συσχετιστεί με χαμηλότερο κίνδυνο για νόσο του Parkinson. Ωστόσο, το ενδεχόμενο αντίστροφης αιτιότητας (*reverse causation*) δεν μπορεί να αποκλειστεί, επειδή ασθενείς σε πρώιμο στάδιο της νόσου μπορεί να επιδίδονται σε μειωμένη φυσική δραστηριότητα λόγω της υπάρχουσας νευρολογικής διαταραχής (180,181). Η δυσκοιλιότητα παρουσίασε επίσης πολύ υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα ως παράγοντας κινδύνου για τη νόσο του Parkinson και η συσχέτιση αυτή μελετήθηκε σε 4 προοπτικές μελέτες κοόρτης. Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή, όπως και στην περίπτωση της φυσικής δραστηριότητας, θα μπορούσε να ερμηνευτεί από το φαινόμενο της αντίστροφης αιτιότητας, επειδή η δυσκοιλιότητα μπορεί να αποτελεί

πρώιμο χαρακτηριστικό της νόσου. Η ερμηνεία αυτή έχει βιολογική υποστήριξη, καθώς υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν την παρουσία εναποθέσεων ασυνουκλεΐνης στο υποβλεννογόνιο και στο μυεντερικό νευρικό πλέγμα του εντέρου (182,183). Επίσης, η δυσκοιλιότητα ως σύμπτωμα δυσαυτονομίας μπορεί να προηγείται των κινητικών συμπτωμάτων της νόσου του Parkinson για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 10 ετών και πιθανώς για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 20 ετών (184).

Η συσχέτιση του καπνίσματος με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson παρουσίασε υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα με μια ιδιαίτερα χαμηλή τιμή *P-value* στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, αλλά η συσχέτιση αυτή χαρακτηρίζεται από την παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Η παρουσία των σφαλμάτων αυτών υποδηλώνει ότι το πραγματικό μέγεθος αποτελέσματος είναι μικρότερο από το παρατηρούμενο, αλλά η παρουσία ενός προστατικού ρόλου για το κάπνισμα είναι πιθανό να είναι υπαρκτή. Ένας αριθμός σφαλμάτων θα μπορούσε να εξηγήσει την παρατηρούμενη συσχέτιση (112), εκτός από τον προστατικό ρόλο της νικοτίνης (185). Στη μετα-ανάλυση των προοπτικών μελετών κοόρτης, αν και το αποτέλεσμα παρέμεινε στατιστικά σημαντικό, η ετερογένεια μεταξύ των μελετών ήταν μεγάλη και το 95% διάστημα πρόβλεψης εμπεριείχε το μηδενικό αποτέλεσμα. Η παρουσία συστηματικού σφάλματος πληροφορίας (*information bias*) θα μπορούσε να επηρεάσει το παρατηρούμενο αποτέλεσμα, καθώς μπορεί να υπάρχει ανεπαρκής καταγραφή των διαγνώσεων της νόσου του Parkinson στα πιστοποιητικά θανάτου και στο ιατρικό ιστορικό των καπνιστών. Επιπλέον, η παρουσία συστηματικού σφάλματος επιλογής (*selection bias*) λόγω ανταγωνιστικού κινδύνου (*competing risk*) είναι πιθανή, λόγω επιλεκτικού θανάτου των καπνιστών από άλλα αίτια εκτός από τη νόσο του Parkinson. Σε αυτή την περίπτωση, εάν ένας καπνιστής πέθαινε νωρίτερα από

άλλα αίτια που δε σχετίζονται με τη νόσο του Parkinson σε σχέση με τους μη καπνιστές, οι καπνιστές θα υπο-αντιπροσωπεύονταν στα περιστατικά με διαγνωσμένη νόσο του Parkinson. Επιπροσθέτως, η παρουσία αντίστροφης αιτιότητας (*reverse causation*) θα μπορούσε να ερμηνεύσει τη παρατηρούμενη σχέση ανάμεσα στο κάπνισμα και τη νόσο του Parkinson, επειδή οι ασθενείς με νόσο του Parkinson είναι λιγότερο επιρρεπείς να καπνίσουν ή περισσότερο επιρρεπείς να διακόψουν το κάπνισμα (112,186). Επιπλέον, η παρουσία συγχυτικών παραγόντων στη σχέση καπνίσματος και κινδύνου για νόσο του Parkinson θα μπορούσε να επηρεάσει το παρατηρούμενο αποτέλεσμα, μέσω της ύπαρξης κοινών γενετικών πολυμορφισμών που σχετίζονται τόσο με το κάπνισμα όσο και με τη νόσο του Parkinson (112).

Το ιστορικό κρανιο-εγκεφαλικής κάκωσης συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο για νόσο του Parkinson. Προηγούμενες βιολογικές μελέτες υποστηρίζουν ότι οι κρανιο-εγκεφαλικές κακώσεις οδηγούν σε τραυματισμό των νευραξόνων και φλεγμονή του νευρικού ιστού στο κεντρικό νευρικό σύστημα, προκαλώντας παθολογικο-ανατομικές αλλαγές που ομοιάζουν με αυτές που παρατηρούνται στις νευροεκφυλιστικές νόσους (187,188). Άλλοι μηχανισμοί που μπορεί να οδηγήσουν σε εκφυλιστικές αλλοιώσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος και οφείλονται στις κρανιο-εγκεφαλικές κακώσεις αποτελούν η διαταραχή του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού και η συσώρευση της πρωτεΐνης α-συνουκλεΐνης. Παρά την παρουσία βιολογικών τεκμηρίων που υποστηρίζουν την επιδημιολογική συσχέτιση του ιστορικού κρανιο-εγκεφαλικής κακώσης με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson, η πιθανή παρουσία συστηματικών σφαλμάτων μειώνει την αξιοπιστία της συσχέτισης αυτής (21). Η συσχέτιση αυτή μπορεί να επηρεάζεται από την επίδραση του συστηματικού σφάλματος ανάκλησης πληροφορίας (*recall bias*) στις αναδρομικές μελέτες, το συστηματικό σφάλμα εσφαλμένης ταξινόμησης (*ascertainment bias*) που προκαλείται από τις ετερογενείς

μεθόδους διάγνωσης της νόσου του Parkinson και ορισμού της έκθεσης, τη διακύμανση στη διάρκεια της παρακολούθησης (*follow-up*) των συμμετεχόντων και το χρόνο που μεσολαβεί από την έκθεση στην κρανιο-εγκεφαλική κάκωση και την εμφάνιση της νόσου. Επίσης, η παρουσία αντίστροφης αιτιότητας δεν μπορεί να αποκλειστεί καθώς η κρανιο-εγκεφαλική κάκωση μπορεί να αποδοθεί σε έλλειψη ισορροπίας, η οποία με τη σειρά της προκαλείται από την αδιάγνωστη νόσο του Parkinson (189,190).

Επιπλέον, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της παρουσίας αγχώδους ή καταθλιπτικής διαταραχής και του κινδύνου για νόσο του Parkinson. Η συσχέτιση αυτή παρατηρήθηκε και στην υπο-ομάδα των προοπτικών μελετών κοόρτης, αλλά μόνο 2 μελέτες του σχεδιασμού αυτού ήταν διαθέσιμες. Η περαιτέρω αξιοπιστία της συσχέτισης αυτής δεν μπορεί να ελεγχθεί, καθώς δεν είναι εφικτή η εφαρμογή της στατιστικής δοκιμασίας του Egger και ο υπολογισμός των 95% διαστημάτων πρόβλεψης (λόγω της παρουσίας μόνο 2 μελετών). Η καταθλιπτική διαταραχή θα μπορούσε να θεωρηθεί πρόδρομο σύμπτωμα της νόσου του Parkinson παρά παράγοντας κινδύνου, επειδή κατά το πρώιμο στάδιο της νόσου του Parkinson παρατηρείται απώλεια σεροτονινεργικών νευρώνων στο ραχιαίο πυρήνα της ραφής (*dorsal raphe nucleus*) (184,191).

Τα επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson. Όμως, η συσχέτιση αυτή μελετήθηκε μόνο σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων και τα αποτελέσματα των μελετών αυτών ήταν αρκετά ετερογενή. Ο βιολογικός μηχανισμός που θα μπορούσε να ερμηνεύσει αυτή τη συσχέτιση είναι η αντιοξειδωτική δράση του ουρικού οξέος, το οποίο μπορεί να δρα προστατευτικά έναντι των παθολογικών νευρολογικών διεργασιών της νόσου του Parkinson (21,192). Ωστόσο, η παρουσία αντίστροφης αιτιότητας μπορεί να εξηγήσει εν μέρει τη συσχέτιση αυτή, επειδή οι ασθενείς με νόσο του Parkinson μπορεί να τροποποιούν τις διαιτητικές τους

συνήθειες λόγω των πρώιμων μη κινητικών συμπτωμάτων και της δυσκοιλιότητας (21). Επίσης, η μετα-ανάλυση που εξέτασε τη συσχέτιση μεταξύ ουρικής αρθρίτιδας (μία νόσος που χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος) και κινδύνου για νόσο του Parkinson δεν κατέληξε σε στατιστικά σημαντική σχέση (158).

Αν και παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της χρήσης β-αποκλειστών και του κινδύνου για νόσο του Parkinson, αυτή η σχέση μελετήθηκε μόνο σε μελέτες ασθενών μαρτύρων. Η παρουσία συγχυτικών παραγόντων ή συστηματικού σφάλματος ανάκλησης πληροφορίας θα μπορούσε να ερμηνεύσει την παρατηρηθείσα συσχέτιση. Όσον αφορά το βιολογικό μηχανισμό της συσχέτισης αυτής, οι β-αποκλειστές ανταγωνίζονται σε επίπεδο υποδοχέων τη νορεπινεφρίνη στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Διαταραχές στο σύστημα της νορεπινεφρίνης μπορεί να εμπλέκονται στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό της νόσου του Parkinson μέσω της επαγωγής της καταστροφής των ντοπαμινεργικών νευρώνων (193).

Η διάγνωση της νόσου του Parkinson βασίζεται αποκλειστικά σε κλινικά κριτήρια και η συμπτωματολογία της νόσου εκδηλώνεται μετά από τη βλάβη τουλάχιστον του 60% των ντοπαμινεργικών νευρώνων (194). Είναι σαφές ότι η διάγνωση της νόσου τίθεται σε ένα στάδιο εκτεταμένης βλάβης των νευρώνων, γεγονός που δυσχεραίνει την επιβράδυνση των βιολογικών μηχανισμών με τη χρήση νευρο-προστατευτικών παραγόντων (195,196). Για το λόγο αυτό, η αναγνώριση βιολογικών δεικτών για τη νόσο του Parkinson θα βοηθήσει την επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου μέσω της διάγνωσης της νόσου σε προκλινικό στάδιο. Επιπλέον, η ανακάλυψη αξιόπιστων βιολογικών δεικτών για τη νόσο θα μειώσει το συστηματικό σφάλμα από την εσφαλμένη διάγνωση στις μελέτες παρατήρησης, διευκολύνοντας τη διαφορική διάγνωση από άτυπα σύνδρομα παρκινσονισμού. Όμως, οι μετα-αναλύσεις για βιολογικούς δείκτες δεν ανέδειξαν υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία, κυρίως λόγω της

μεγάλη ετερογένειας μεταξύ των μελετών και του μικρού συνολικού μεγέθους δείγματος.

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, εφαρμόστηκε η προσέγγιση της ανασκόπησης πεδίου προκειμένου να συνοψισθεί η πληροφορία από πολλαπλές δημοσιευμένες μετα-αναλύσεις για παράγοντες κινδύνου της νόσου του Parkinson. Η μεθοδολογία της ανασκόπησης πεδίου προσφέρει το πλεονέκτημα της χρήσης των δεδομένων από ήδη δημοσιευμένες μετα-αναλύσεις και υπερτερεί για αυτό το σκοπό από την διεξαγωγή νέων μετα-αναλύσεων από την αρχή. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί της προσέγγισης αυτής που αξίζει να αναφερθούν. Αρχικά, υπάρχουν περιορισμοί σχετικά με την ερμηνεία της στατιστικής δοκιμασίας του Egger και της δοκιμασίας περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Επιπλέον, δεν πραγματοποιήθηκε μεθοδολογική αξιολόγηση των μελετών παρατήρησης, καθώς αυτό αποτελεί έργο των δημοσιευμένων μετα-αναλύσεων. Διαπιστώθηκε ότι αρκετές συστηματικές ανασκοπήσεις περιλάμβαναν αξιολόγηση της ποιότητας των μελετών παρατήρησης εφαρμόζοντας την κλίμακα Newcastle – Ottawa. Με βάση αυτή τη κλίμακα, σχεδόν οι μισές μελέτες παρατήρησης, από αυτές που αξιολογήθηκαν συνολικά, ήταν χαμηλής μεθοδολογικής ποιότητας. Ωστόσο, οι αξιολογήσεις που προέρχονται από την εφαρμογή της κλίμακας αυτής πρέπει να ερμηνευθούν με επιφύλαξη, επειδή έχει διαπιστωθεί μετρίου βαθμού συμφωνία μεταξύ διαφορετικών αξιολογητών και οι πληροφορίες που απαιτούνται για την αξιολόγηση αυτή μπορεί να μην παρατίθενται επαρκώς στις δημοσιευμένες μελέτες. Στο σημείο αυτό, θα ήταν σκόπιμο να σχολιαστεί ότι η αξιοπιστία των ευρημάτων μίας μετα-ανάλυσης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των μελετών παρατήρησης που συμμετέχουν στην ποσοτική σύνθεση. Επιπλέον, στην παρούσα ανασκόπηση πεδίου, αξιολογήθηκαν μόνο επιδημιολογικές συσχετίσεις με διαθέσιμη δημοσιευμένη μετα-ανάλυση. Για το

λόγο αυτό, μπορεί να υπάρχουν επιπλέον παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson που δεν έχουν αξιολογηθεί σε μετα-ανάλυση, όπως η χρόνια νεφρική νόσος (197) και η χρήση ζολπιδέμης (198). Επίσης, στην παρούσα ανασκόπηση πεδίου, εξετάστηκε η μεγαλύτερη διαθέσιμη μετα-ανάλυση για κάθε μία συσχέτιση. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε απώλεια μελετών παρατήρησης, στην περίπτωση που μία μικρότερη μετα-ανάλυση περιλαμβάνει διαφορετικές μελέτες παρατήρησης σε σύγκριση με τη μεγαλύτερη μετα-ανάλυση.

Η παρούσα ερευνητική εργασία αποτελεί μία χαρτογράφηση των παραγόντων που έχουν συσχετισθεί με τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου του Parkinson, όπως αποτυπώνεται από δημοσιευμένες μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης. Μία πιθανή κλινική εφαρμογή της αναγνώρισης αξιόπιστων παραγόντων κινδύνου είναι η εφαρμογή ενός προγράμματος προσυμπτωματικής διαλογής (*screening*) για την αναγνώριση των ασθενών με νόσο του Parkinson σε προκλινικό στάδιο. Εργαλεία προσυμπτωματικής διαλογής για τη νόσο του Parkinson έχουν ήδη αναπτυχθεί και περιλαμβάνουν πρόδρομα μη κινητικά συμπτώματα, όπως η υποσμία, η δυσκοιλιότητα, η κατάθλιψη, οι διαταραχές του ύπνου και η απάθεια. Η δυσκοιλιότητα και η φυσική δραστηριότητα έχουν συσχετισθεί με τη νόσο του Parkinson, αλλά οι παράγοντες αυτοί μπορούν να θεωρηθούν προκλινικές εκδηλώσεις της νόσου και δεν αντιπροσωπεύουν πραγματικούς παράγοντες κινδύνου. Ορισμένοι επιπλέον παράγοντες κινδύνου αναγνωρίστηκαν στην παρούσα ερευνητική εργασία, οι περισσότεροι εκ των οποίων θα μπορούσαν να ερμηνευθούν από την παρουσία συγγενικών παραγόντων ή θα μπορούσαν να θεωρηθούν αποτέλεσμα συστηματικού σφάλματος επιλογής και πληροφορίας ή αντίστροφης αιτιότητας. Δεδομένα από επιπλέον επιδημιολογικές μελέτες, καθώς επίσης και διερεύνηση των πηγών της ετερογένειας στις μετα-αναλύσεις απαιτούνται για να γίνει περισσότερο κατανοητή η

συσχέτιση των διαφόρων παραγόντων κινδύνου με τη νόσο του Parkinson. Νεότεροι ερευνητικοί σχεδιασμοί, όπως η ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης και η ανάλυση αλληλεπίδρασης γονιδίων – περιβάλλοντος μπορούν να αποσαφηνίσουν περαιτέρω το πεδίο αυτό. Η ανίχνευση των πηγών της ετερογένειας στα αποτελέσματα των διαθέσιμων μελετών παρατήρησης είναι εφικτό να επιτευχθεί είτε μέσω αναλύσεων ευαισθησίας και αναλύσεων μετα-παλινδρόμησης (*meta-regression*) είτε στα πλαίσια της μετα-ανάλυσης δεδομένων ατομικού επιπέδου (*individual-participant data*). Επιπροσθέτως, οι μελλοντικές μετα-αναλύσεις στο πεδίο αυτό θα μπορούσαν να συνεισφέρουν περαιτέρω στην κατανόηση των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου για τη νόσο του Parkinson μέσω της συστηματικής αξιολόγησης της μεθοδολογικής ποιότητας των διαθέσιμων επιδημιολογικών τεκμηρίων.

Κεφάλαιο 5

Περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για τις άνοιες: Μία ανασκόπηση πεδίου των συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων³

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Περισσότεροι από 46 εκατομμύρια άνθρωποι ζουν με άνοια κατά το έτος 2016 παγκοσμίως, ενώ ο αριθμός αυτός αναμένεται να υπερβεί τα 130 εκατομμύρια κατά το έτος 2050 (33). Αυτή η ραγδαία αύξηση των ασθενών με άνοια οφείλεται κυρίως στη σημαντική αύξηση του προσδόκιμου ζωής και τη γήρανση του πληθυσμού σε παγκόσμιο επίπεδο. Το ετήσιο κόστος για τη φροντίδα των ασθενών με άνοια υπολογιζόταν σε 818 δισεκατομμύρια δολάρια παγκοσμίως κατά το έτος 2014. Προς το παρόν, δεν υπάρχει διαθέσιμη θεραπευτική παρέμβαση που να επιβραδύνει ή να αναστέλλει την ανάπτυξη ή την εξέλιξη της νόσου και η ανάπτυξη φαρμάκων για την άνοια είναι ιδιαίτερα προβληματική (199). Επιπλέον, υπάρχουν σημαντικά κενά στην κατανόηση της νοσολογίας και του αιτιολογικού χάρτη της άνοιας.

Η εφαρμογή παρεμβάσεων πρωτογενούς πρόληψης της άνοιας έχει προταθεί ως η βέλτιστη λύση για την αντιμετώπιση της παγκόσμιας πρόκληση που ανακύπτει λόγω των αυξανόμενων περιστατικών άνοιας, μέσω της τροποποίησης των παραγόντων

³ Η παρούσα ερευνητική εργασία βασίζεται στην ακόλουθη επιστημονική δημοσίευση (64):

Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Middleton LT, Ioannidis JP, Evangelou E. Systematic evaluation of the associations between environmental risk factors and dementia: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Alzheimer's & Dementia* 2017;13(4):406-418

κινδύνου (200). Δημοσιευμένες μελέτες παρατήρησης υποστηρίζουν ότι τροποποιήσιμοι παράγοντες όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, η αρτηριακή υπέρταση, η παχυσαρκία, η φυσική δραστηριότητα, η κατάθλιψη, το κάπνισμα και το επίπεδο εκπαίδευσης, μπορούν να ερμηνεύσουν το ένα τρίτο των περιστατικών της νόσου του Alzheimer (201,202). Κατά τις τελευταίες δεκαετίες, έχει παρατηρηθεί μία πτώση στην επίπτωση και τον επιπολασμό της νόσου του Alzheimer στις χώρες της Δυτικής Ευρώπης, η οποία έχει αποδοθεί στην τροποποίηση των καρδιαγγειακών και μεταβολικών παραγόντων κινδύνου (201,203–206). Όμως, η επαλήθευση αυτών των παρατηρήσεων σε τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές για την πρωτογενή πρόληψη της νόσου θα απαιτούσε μεγάλο μέγεθος δείγματος και μακροχρόνια παρακολούθηση του πληθυσμού.

Αρκετοί παράγοντες κινδύνου έχουν προταθεί για τις άνοιες και οι παράγοντες αυτοί έχουν μελετηθεί σε επίπεδο συστηματικών ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων. Στην παρούσα ερευνητική εργασία, εφαρμόστηκε η προσέγγιση της ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας για να χαρτογραφηθούν οι συσχετίσεις μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων με τον κίνδυνο για ανάπτυξη άνοιας. Συγκεκριμένα, ο στόχος ήταν η παρουσίαση μιας σύνοψης και συστηματικής αξιολόγησης των συσχετίσεων αυτών, όπως αυτές παρουσιάζονται σε δημοσιευμένες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης.

5.2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

5.2.1 Συστηματική βιβλιογραφική αναζήτηση

Πραγματοποιήθηκε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας μέχρι 16 Ιανουαρίου 2016 στη βιβλιογραφική βάση PubMed για να εντοπιστούν οι

συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης που εξετάζουν περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για τις συχνότερες μορφές άνοιας (νόσος του Alzheimer, αγγειακή άνοια, άνοια με σωμάτια Lewy και μετωποκροταφική άνοια). Εφαρμόστηκε ο ακόλουθος αλγόριθμος αναζήτησης: (*dementia* OR *Alzheimer**) AND (“*systematic review*” OR *meta-analysis*).

5.2.2 Κριτήρια επιλογής μελετών

Αποκλείστηκαν οι μετα-αναλύσεις που εξέταζαν τη συσχέτιση μεταξύ γενετικών πολυμορφισμών και κινδύνου για άνοια καθώς οι συσχετίσεις αυτές έχουν ήδη αξιολογηθεί σε δημοσιευμένες ανασκοπήσεις πεδίων (36,37). Επιπλέον, δεν συμπεριλήφθηκαν συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις που αφορούσαν τη σχέση ανάμεσα σε βιολογικούς δείκτες και στον κίνδυνο για άνοια, καθώς οι συσχετίσεις αυτές αξιολογούνται στη διαδικτυακή πλατφόρμα *AlzForum* (<http://www.alzforum.org/alzbiomarker/>). Επίσης, αποκλείστηκαν μετα-αναλύσεις που εξέταζαν παράγοντες κινδύνου για νοητική έκπτωση (*cognitive decline*, *cognitive impairment*), την πρόγνωση της άνοιας ή τη βαρύτητα των συμπτωμάτων. Επίσης, αποκλείστηκαν οι μετα-αναλύσεις που περιλάμβαναν λιγότερες από 3 επιδημιολογικές μελέτες. Στην περίπτωση που υπήρχαν διαθέσιμες περισσότερες από μία μετα-αναλύσεις για την ίδια συσχέτιση, επιλέχθηκε η μετα-ανάλυση που περιλάμβανε τις περισσότερες μελέτες παρατήρησης και που περιέγραφε ικανοποιητικά το μέγεθος δείγματος και το μέτρο αποτελέσματος για τις μελέτες παρατήρησης. Δεν τέθηκαν γλωσσικοί περιορισμοί κατά την επιλογή των μετα-αναλύσεων. Η επιλογή των μελετών πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές.

5.2.3 Εξαγωγή δεδομένων

Από κάθε άρθρο που επιλέχθηκε καταγράφηκαν οι ακόλουθες πληροφορίες: πρώτος συγγραφέας, επιστημονικό περιοδικό και έτος έκδοσης, υπό εξέταση παράγοντας κινδύνου και αριθμός μελετών παρατήρησης στη μετα-ανάλυση. Επιπλέον, καταγράφηκαν τα σχετικά μέτρα αποτελέσματος (σχετικός κίνδυνος, λόγος αναλογιών, λόγος κινδύνων) σε συνδυασμό με το αντίστοιχο διάστημα εμπιστοσύνης, όπως επίσης και ο αριθμός των ασθενών και των μαρτύρων για κάθε μία μελέτη παρατήρησης. Αν ένας παράγοντας κινδύνου εξετάστηκε σε πολλές συγκρίσεις, χρησιμοποιήθηκε η πληροφορία για τη σύγκριση που περιείχε τις περισσότερες μελέτες παρατήρησης. Επίσης, όταν μια μετα-ανάλυση συνδύαζε μελέτες που εκτιμούσαν το κίνδυνο για άνοια και τον κίνδυνο για έκπτωση της νοητικής λειτουργίας, χρησιμοποιήθηκε μόνο η πληροφορία που αφορούσε τον κίνδυνο για άνοια. Επιπλέον, καταγράφηκε εάν τα άρθρα που επιλέχθηκαν παρουσίαζαν μεθοδολογική αποτίμηση των μελετών παρατήρησης με την εφαρμογή ενός συνόλου μεθοδολογικών κριτηρίων. Η εξαγωγή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές.

5.2.4 Στατιστική ανάλυση

Σε κάθε μετα-ανάλυση υπολογίστηκε το συνολικό αποτέλεσμα με το αντίστοιχο 95% διάστημα εμπιστοσύνης, εφαρμόζοντας το μοντέλο σταθερής επίδρασης και το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (83,84). Επίσης, υπολογίστηκε το 95% διάστημα πρόβλεψης, το οποίο λαμβάνει υπόψιν την ετερογένεια μεταξύ των μελετών για να αξιολογήσει την αβεβαιότητα στο αναμενόμενο αποτέλεσμα μιας μελλοντικής μελέτης που αφορά το ίδιο ερευνητικό ερώτημα (46,85). Επιπλέον, για τη μεγαλύτερη μελέτη της καθεμίας μετα-ανάλυσης, υπολογίστηκε το τυπικό σφάλμα του μεγέθους αποτελέσματος και εξετάστηκε εάν το τυπικό σφάλμα είναι μικρότερο από 0.10 στη λογαριθμική κλίμακα του λόγου αναλογιών.

Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών εκτιμήθηκε με το στατιστικό μέτρο I^2 (47). Το μέτρο αυτό κυμαίνεται από 0% έως 100% και ποσοτικοποιεί τη μεταβλητότητα στα αποτελέσματα των μελετών που οφείλονται στην ετερογένεια και όχι στην τύχη (87). Τιμές μεγαλύτερες από 50% και 75% θεωρήθηκαν ένδειξη μεγάλης ή πολύ μεγάλης ετερογένειας, αντίστοιχα.

Η παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης εκτιμήθηκε με τη στατιστική δοκιμασία παλινδρόμησης του Egger (49,120). Μία τιμή P -value <0.10 σε συνδυασμό με ένα αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη πλησιέστερο στο μηδενικό αποτέλεσμα σε σχέση με το αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης τυχαίων επιδράσεων θεωρήθηκε ένδειξη για παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης.

Επιπλέον, εφαρμόστηκε η στατιστική δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας, η οποία αξιολογεί εάν υπάρχει περίσσεια στατιστικά σημαντικών μελετών στη βιβλιογραφία λόγω οποιασδήποτε αιτίας (π.χ. συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης, επιλεκτική αναφορά αναλύσεων και αποτελεσμάτων). Αυτή η στατιστική δοκιμασία είναι μία χ^2 δοκιμασία, η οποία ελέγχει εάν ο παρατηρούμενος αριθμός στατιστικά σημαντικών μελετών είναι μεγαλύτερος από τον αναμενόμενο αριθμό (54). Το αποτέλεσμα της μεγαλύτερης μελέτης σε κάθε μετα-ανάλυση θεωρήθηκε ότι προσεγγίζει περισσότερο το πραγματικό αποτέλεσμα για να υπολογιστεί η στατιστική ισχύς της κάθε μελέτης χρησιμοποιώντας μία μη κεντρική t κατανομή (88,89). Η παρουσία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας σε κάθε μετα-ανάλυση ορίστηκε με την παρουσία P -value <0.10.

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα *STATA*, version 12.0 (*STATA Corp LP, College Station, Texas*).

5.2.5 Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας

Για να αναγνωριστούν οι συσχετίσεις με τα ισχυρότερα επιδημιολογικά τεκμήρια, εφαρμόστηκε μια σειρά από μεθοδολογικά κριτήρια. Συγκεκριμένα, για να θεωρηθεί μια συσχέτιση ότι υποστηρίζεται από πολύ υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα (*Κατηγορία I*) έπρεπε να έχει περισσότερους από 1000 ασθενείς, να έχει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων με όριο $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$, να μην έχει μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($I^2 < 50\%$), να έχει 95% διάστημα πρόβλεψης που να μην περιλαμβάνει το μηδενικό αποτέλεσμα και να απουσιάζουν ενδείξεις για παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης ή περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Οι συσχετίσεις που μελετήθηκαν σε περισσότερους από 1000 ασθενείς, παρουσίασαν $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη της μετα-ανάλυσης θεωρήθηκε ότι έχουν υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία II*). Οι συσχετίσεις που μελετήθηκαν σε περισσότερους από 1000 ασθενείς και παρουσίασαν $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων θεωρήθηκε ότι χαρακτηρίζονται από μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία III*). Οι υπόλοιποι στατιστικά σημαντικοί παράγοντες κινδύνου θεωρήθηκαν χαμηλής επιδημιολογικής αξιοπιστίας (*Κατηγορία IV*). Τα κριτήρια για την αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας παρουσιάζονται στον **Πίνακα 12**.

Πίνακας 12. Μεθοδολογικά κριτήρια για την αξιολόγηση των συσχετίσεων μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου για τις άνοιες

Επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας	Κριτήρια
Πολύ υψηλή αξιοπιστία (Κατηγορία I)	➤ >1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, ➤ $I^2 < 50\%$, ➤ 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλαμβάνει το μηδενικό αποτέλεσμα, ➤ απουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας
Υψηλή αξιοπιστία (Κατηγορία II)	➤ >1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων, ➤ στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στη μεγαλύτερη μελέτη της μετα-ανάλυσης
Μέτρια αξιοπιστία (Κατηγορία III)	➤ >1000 ασθενείς, ➤ $P\text{-value} < 0.001$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων
Χαμηλή αξιοπιστία (Κατηγορία IV)	➤ $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων

Για τις συσχετίσεις με πολύ υψηλή και υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία, πραγματοποιήθηκε μία ανάλυση ευαισθησίας εστιασμένη στις προοπτικές μελέτες κοόρτης για να αξιολογηθεί η χρονική αλληλουχία μεταξύ της έκθεσης και του αποτελέσματος. Επίσης, στην Ενότητα 5.4, ακολουθεί αναλυτική συζήτηση για την πιθανή παρουσία συστηματικών σφαλμάτων σε αυτές τις συσχετίσεις.

5.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ανάμεσα σε 2543 άρθρα, επιλέχθηκαν συνολικά 43 άρθρα για την παρούσα ερευνητική εργασία. Από τα 120 άρθρα που εξετάστηκαν σε επίπεδο πλήρους κειμένου, 40 άρθρα αποκλείστηκαν επειδή μία μεγαλύτερη μετα-ανάλυση για το ίδιο ερευνητικό ερώτημα ήταν διαθέσιμη (**Πίνακας 13**), 32 άρθρα αποκλείστηκαν επειδή δεν περιείχαν ποσοτική σύνθεση των αποτελεσμάτων και 5 άρθρα αποκλείστηκαν για άλλους λόγους. Αναλυτική περιγραφή του διαγράμματος ροής της συστηματικής ανασκόπησης παρουσιάζεται στην **Εικόνα 5**.

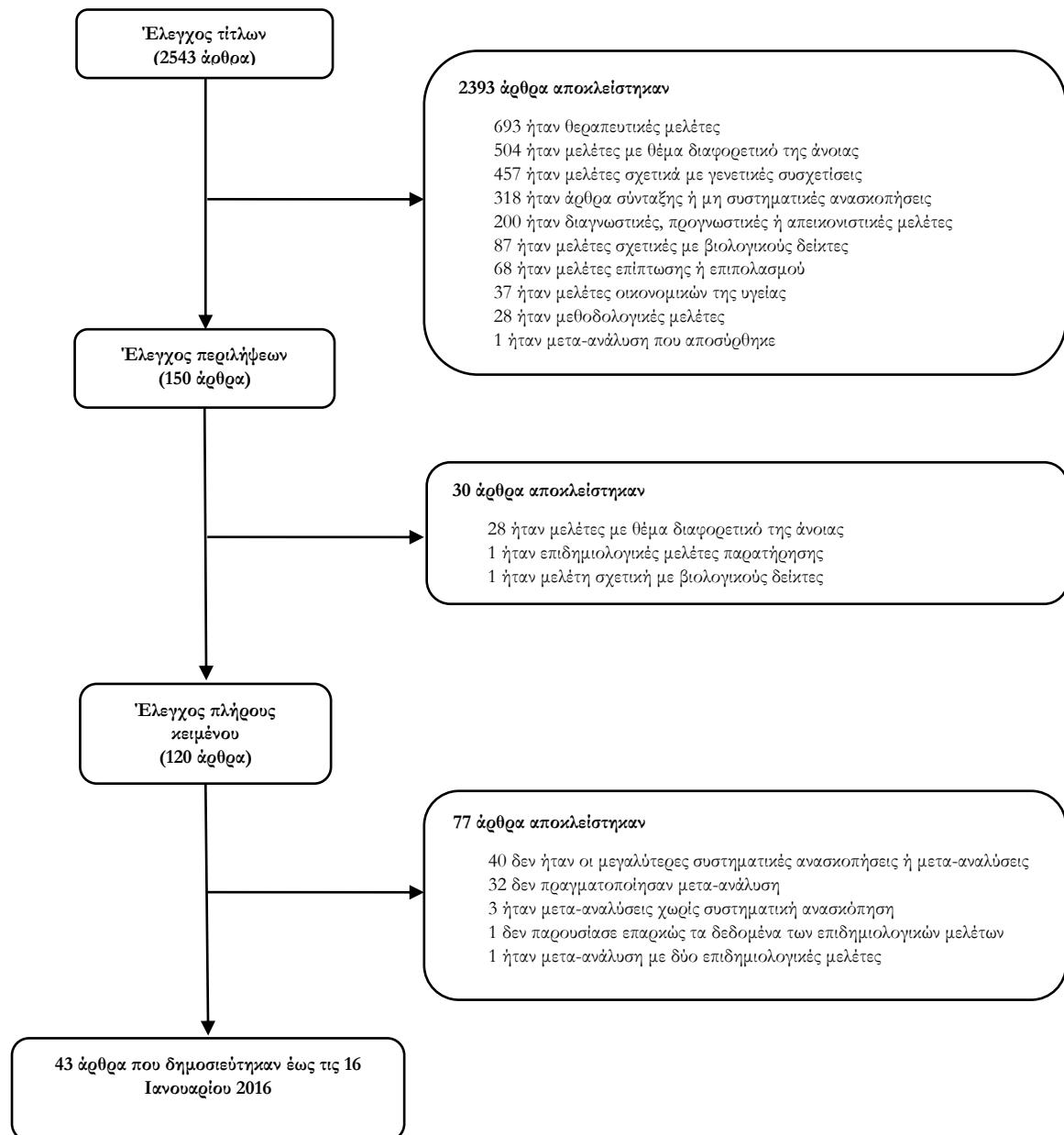
Τα 43 άρθρα που επιλέχθηκαν δημοσιεύτηκαν μεταξύ 2008 και 2016, ενώ περιέγραφαν συνολικά 76 μετα-αναλύσεις, οι οποίες ταξινομήθηκαν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την έκβαση που μελετούσαν. Συγκεκριμένα, από τις μετα-αναλύσεις αυτές, 39 αντιστοιχούσαν σε παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Alzheimer, 27 εξέταζαν παράγοντες κινδύνου για όλους τους τύπους άνοιας και 10 μετα-αναλύσεις εξέταζαν παράγοντες κινδύνου για την αγγειακή άνοια. Συνολικά, στις 76 μετα-αναλύσεις περιεγράφηκαν 53 μοναδικοί παράγοντες κινδύνου, ενώ 14 από αυτούς μελετήθηκαν για περισσότερες από μία εκβάσεις.

Ο διάμεσος αριθμός μελετών ανά μετα-ανάλυση ήταν 7 (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, 5 – 13) και ο διάμεσος αριθμός ασθενών ανά μετα-ανάλυση ήταν 1139

(ενδοτεταρτημοριακό εύρος, 590 – 3537). Ο αριθμός των μετα-αναλύσεων που περιείχαν συνολικά περισσότερους από 1000 ασθενείς ήταν 46.

Δέκα από τα 43 άρθρα εφάρμοσαν την κλίμακα Newcastle-Ottawa για την ποιοτική αξιολόγηση των μελετών παρατήρησης για να αξιολογήσουν συνολικά 259 μελέτες. Από τις 259 μελέτες, 63 ήταν χαμηλής ποιότητας (25%), 124 ήταν μέτριας ποιότητας (48%) και 72 ήταν καλής ποιότητας (28%). Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης με την κλίμακα Newcastle-Ottawa παρουσιάζονται στον **Πίνακα 14**.

Εικόνα 5. Διάγραμμα ροής της βιβλιογραφικής αναζήτησης για συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-ανалύσεις μελετών παρατήρησης για τους περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου των διαφόρων μορφών άνοιας



Πίνακας 13. Λίστα των 40 άρθρων που αποκλείστηκαν επειδή μία μεγαλύτερη μετα-
 ανάλυση για το ίδιο ερευνητικό ερώτημα ήταν διαθέσιμη

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου
Almeida, 2002 (207)	Κάπνισμα
Anstey, 2007 (208)	Κάπνισμα
Barranco Quintana, 2007 (209)	Κατανάλωση καφέ
Beydoun, 2014 (210)	Αλκοόλ, αντιοξειδωτικές ουσίες, καφεΐνη, εκπαίδευση, φυσική δραστηριότητα, κάπνισμα
Caamano-Isorna, 2006 (211)	Εκπαίδευση
Cao, 2015 (212)	Κάπνισμα, βιταμίνη C, βιταμίνη E
Chatterjee, 2016 (213)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
Cheng, 2012 (214)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
Cherbuin, 2015 (215)	Κατάθλιψη
de Craen, 2005 (216)	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
Etminan, 2003 (217)	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
Fleminger, 2003 (218)	Κρανιο-εγκεφαλική κάκωση
Graves, 1991 (219)	Αλκοόλ, κάπνισμα
Guan, 2011 (220)	Αρτηριακή υπέρταση
Hamer, 2009 (141)	Φυσική δραστηριότητα
Kalantarian, 2013 (221)	Κολπική μαρμαρυγή
LeBlanc, 2001 (222)	Ορμονική θεραπεία υποκατάστασης
Low, 2013 (223)	Χαρακτηριστικά προσωπικότητας
Lu, 2009 (224)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
Ma, 2014 (225)	Καρκίνος
Macedo, 2014 (226)	Στατίνες
McGeer, 1996 (227)	Αρθρίτιδα, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
Morgan, 2012 (228)	Φυσική δραστηριότητα
Mortimer, 1991 (229)	Κρανιο-εγκεφαλική κάκωση
Ownby, 2006 (230)	Κατάθλιψη

Peters, 2008 (231)	Κάπνισμα
Peters, 2008 (232)	Αλκοόλ
Profenno, 2010 (233)	Παχυσαρκία, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
Purnell, 2009 (234)	Αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
Santos, 2010 (235)	Κατανάλωση καφέ
Song, 2013 (236)	Στατίνες
Swiger, 2013 (237)	Στατίνες
Szekely, 2004 (238)	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
Vagelatos, 2013 (239)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
Valenzuela, 2006 (240)	Εκπαίδευση
Vergara, 2013 (92)	Χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία
Virk, 2015 (241)	Έκθεση σε αλουμίνιο
Wong, 2013 (242)	Στατίνες
Xu, 2015 (243)	Εκπαίδευση
Zhou, 2007 (244)	Στατίνες

Πίνακας 14. Αποτελέσματα της μεθοδολογικής αξιολόγησης των μελετών παρατήρησης στα 10 άρθρα που εφάρμοσαν την κλίμακα Newcastle-Ottawa

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Έκβαση	Υψηλή ποιότητα (NOS score = 9)	Μέτρια ποιότητα (NOS score = 7 or 8)	Χαμηλή ποιότητα (NOS score < 7)
Diniz, 2013 (245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	AD	9	6	1
	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	Όλοι οι τύποι άνοιας	11	12	2
	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	VaD	3	2	0
Kim, 2015 (246)	Πρόσληψη καφεΐνης	AD	0	4	1
	Πρόσληψη καφεΐνης	Όλοι οι τύποι άνοιας	1	0	4
Richardson, 2013 (247)	Στατίνες	AD	3	10	0
	Στατίνες	Όλοι οι τύποι άνοιας	2	9	1
Seitz, 2011 (248)	Γενική αναισθησία	AD	4	1	10
Wang, 2015 (249)	Ασπιρίνη	AD	0	6	5
	Κορτικοστεροειδή	AD	0	1	2
	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδης (εκτός ασπιρίνης)	AD	0	6	3
	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδης	AD	1	10	5
da Silva, 2013 (250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	Όλοι οι τύποι άνοιας	6	17	10

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Έκβαση	Υψηλή ποιότητα (NOS score = 9)	Μέτρια ποιότητα (NOS score = 7 or 8)	Χαμηλή ποιότητα (NOS score < 7)
	Κατάθλιψη με έναρξη σε νεαρή ηλικία	Όλοι οι τύποι άνοιας	2	7	0
	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	VaD	1	3	0
Gudala, 2013 (251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	Όλοι οι τύποι άνοιας	16	4	0
	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	VaD	11	2	0
Wu, 2015 (252)	Πρόσληψη ψαριών	Όλοι οι τύποι άνοιας	0	3	2
Zhong, 2015 (253)	Χρήση βενζοδιαζεπινών	Όλοι οι τύποι άνοιας	0	4	1
Zhong, 2015 (254)	Κάπνισμα	Όλοι οι τύποι άνοιας	1	12	14
	Κάπνισμα	VaD	1	5	2

Συντομογραφίες: AD=Alzheimer's disease (νόσος του Alzheimer), VaD=vascular dementia (αγγειακή άνοια)

5.3.1 Παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Alzheimer

Συνολικά, 39 από τις 76 μετα-αναλύσεις αφορούσαν παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Alzheimer. 26 από αυτές (67%) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα με όριο $P\text{-value} < 0.05$ στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και μόνο 6 από αυτές (15%) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα με όριο $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$. Αυτές οι συσχετίσεις αφορούσαν τον καρκίνο, την κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, την κατάθλιψη με έναρξη σε όψιμη ηλικία, τον νευρωτισμό, τη φυσική δραστηριότητα και το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Από τις 39 συσχετίσεις, 7 παρουσίασαν 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα και οι συσχετίσεις αυτές αφορούσαν την έκθεση σε αλουμίνιο, τον καρκίνο, την κατάθλιψη με έναρξη σε όψιμη ηλικία, τον νευρωτισμό, τη φυσική δραστηριότητα, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Επίσης, 15 από τις 39 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών (δηλαδή $I^2 \geq 50\%$ και $I^2 \leq 75\%$), ενώ 3 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν πολύ μεγάλη ετερογένεια (δηλαδή $I^2 > 75\%$). Οκτώ μετα-αναλύσεις είχαν ενδείξεις για παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και 12 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του παρατηρούμενου και του αναμενόμενου αριθμού στατιστικά σημαντικών μελετών. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Alzheimer παρουσιάζονται στους **Πίνακες 15 και 16**.

5.3.2 Παράγοντες κινδύνου για όλες τις μορφές άνοιας

Από τις 76 μετα-αναλύσεις, 27 αφορούσαν παράγοντες κινδύνου για όλες τις μορφές άνοιας. Είκοσι από τις 27 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στο όριο $P\text{-value} < 0.05$ σύμφωνα με το μοντέλο τυχαίων επιδράσεων και μόνο 6 από τις 27 μετα-αναλύσεις παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά την

εφαρμογή ενός πιο αυστηρού ορίου στατιστικής σημαντικότητας (δηλαδή $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$). Οι συσχετίσεις αυτές αφορούσαν τη χρήση βενζοδιαζεπινών, την κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, την εκπαίδευση, τη συχνότητα των κοινωνικών επαφών, την κατάθλιψη σε όψιμη ηλικία και το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Σε 6 μετα-αναλύσεις, το 95% διάστημα πρόβλεψης δεν συμπεριλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα και οι μετα-αναλύσεις αυτές αφορούσαν την κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, την κατάθλιψη με έναρξη σε νεαρή ηλικία, το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, τη συχνότητα των κοινωνικών επαφών και τη χρήση βενζοδιαζεπινών. Επίσης, 15 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν μεγάλη ή πολύ μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών (δηλαδή $I^2 \geq 50\%$). Από τις 27 μετα-αναλύσεις, 5 παρουσίασαν ενδείξεις για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης (αντιϋπερτασική αγωγή, κατανάλωση ψαριών, φυσική δραστηριότητα, συμμετοχή σε κοινωνικές εκδηλώσεις, στατίνες). Επιπλέον, 7 μετα-αναλύσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ του παρατηρούμενου και του αναμενόμενου αριθμού στατιστικά σημαντικών μελετών (κατανάλωση αλκοόλ, εκπαίδευση, φυσική δραστηριότητα, κάπνισμα, συμμετοχή σε κοινωνικές εκδηλώσεις, απώλεια οδόντων). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για όλες τις μορφές άνοιας παρουσιάζονται στους **Πίνακες 15 και 16**.

Πίνακας 15. Αποτελέσματα των 76 μετα-αναλύσεων για τη συσχέτιση των περιβαλλοντικών παραγόντων με τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου του Alzheimer, οποιασδήποτε μορφής άνοιας και αγγειακής άνοιας.

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
<i>Νόσος του Alzheimer</i>									
Anstey, 2009(255)	Κατανάλωση αλκοόλ	Χαμηλό ή μέτριο επίπεδο vs. Όχι	709/11784	6	RR	0.72 (0.61-0.86)	2.0×10^{-4}	0.44-1.18	56.4
Anstey, 2011(256)	BMI στη μέση ηλικία	Λιποβαρής vs. Φυσιολογικό βάρος	1041/7218	3	RR	1.78 (0.84-3.75)	0.133	10^{-4} - 10^4	71.2
Beckett, 2015(257)	Φυσική δραστηριότητα	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	1358/18968	9	HR	0.62 (0.52-0.72)	5.0×10^{-9}	0.51-0.75	0
Cataldo, 2010(258)	Κάπνισμα	Ναι vs. Όχι	6927/325054	43	RR	1.05 (0.91-1.20)	0.526	0.52-2.10	64.8
Chang-Quan, 2011(259)	Αντι-υπερτασικά φάρμακα	Ναι vs. Όχι	906/20838	7	RR	0.90 (0.79-1.03)	0.133	0.76-1.08	0
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	Ναι vs. Όχι	5101/41055	25	RR	1.77 (1.48-2.13)	6.0×10^{-10}	0.86-3.66	69.6

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	Ναι vs. Όχι	3358/30111	16	RR	1.65 (1.42-1.92)	4.8×10^{-11}	1.36-1.99	2.2
Garcia, 2008(260)	Χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία	Ναι vs. Όχι	3238/10446519	25	RR	1.74 (1.37-2.21)	5.9×10^{-6}	0.77-3.91	55.2
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	Ναι vs. Όχι	3537/529160	21	RR	1.54 (1.39-1.72)	3.1×10^{-15}	1.37-1.73	0
Kim, 2015(246)	Πρόσληψη καφεΐνης	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	590/6280	5	RR	0.78 (0.50-1.22)	0.275	0.17-3.53	71
Li, 2012(261)	Πρόσληψη βιταμίνης C	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	1043/13468	6	RR	0.85 (0.74-0.96)	0.011	0.71-1.01	0
Li, 2012(261)	Πρόσληψη βιταμίνης E	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	1205/14509	7	RR	0.80 (0.67-0.95)	0.011	0.52-1.24	46.7
Li, 2012(261)	Πρόσληψη β- καροτενίου	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	801/9445	5	RR	0.92 (0.76-1.13)	0.435	0.59-1.45	18.4

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Maheshwari, 2014(262)	Λοίμωξη από Chlamydia pneumoniae	Ναι vs. Όχι	282/226	11	OR	6.00 (1.93-18.66)	2.0×10^{-3}	0.19-193.81	73
Maheshwari, 2014(262)	Λοίμωξη από σπειροχαίτη	Ναι vs. Όχι	300/255	13	OR	10.65 (3.40-33.42)	5.0×10^{-5}	0.41-279.54	51.6
Meng, 2012(263)	Επίπεδο εκπαίδευσης	Χαμηλό vs. Υψηλό επίπεδο	2769/51532	16	RR	1.82 (1.36-2.43)	5.5×10^{-5}	0.55-6.05	90.1
Meng, 2014(264)	BMI στη μέση ηλικία	Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος	1003/16709	5	RR	1.81 (1.22-2.69)	3.0×10^{-3}	0.52-6.29	63.7
O'Brien, 2014(265)	Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης	Ναι vs. Όχι	1156/13210	9	HR	0.88 (0.66-1.16)	0.361	0.41-1.87	47.7
Perry, 2015(266)	Ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση	Ναι vs. Όχι	7158/21603	19	OR	1.40 (1.03-1.90)	0.034	0.39-4.98	85.2
Peters, 2014(267)	Αποκλειστές διαύλων ασβεστίου	Ναι vs. Όχι	548/8886	4	RR	0.80 (0.54-1.17)	0.242	0.17-3.75	61.1

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Power, 2011(268)	Αρτηριακή υπέρταση	Ναι vs. Όχι	1255/25297	13	RR	0.97 (0.81-1.17)	0.745	0.57-1.64	45.7
Richardson, 2013(247)	Στατίνες	Ναι vs. Όχι	3785/762841	13	RR	0.72 (0.59-0.89)	1.9×10^{-3}	0.39-1.35	54.7
Seitz, 2011(248)	Γενική αναισθησία	Ναι vs. Όχι	2122/5716	15	OR	1.05 (0.93-1.19)	0.448	0.91-1.21	0
Steel, 2015(269)	Λοίμωξη από ερπητοϊούς	Ναι vs. Όχι	1330/1565	33	OR	1.38 (1.14-1.65)	7.3×10^{-4}	0.86-2.21	20.3
Terracciano, 2014(270)	Τερπνότητα	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	382/2960	3	HR	0.88 (0.79-0.98)	0.019	0.43-1.78	0
Terracciano, 2014(270)	Ευσυνειδησία	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	382/2960	3	HR	0.77 (0.69-0.86)	1.5×10^{-6}	0.38-1.54	0
Terracciano, 2014(270)	Εξωστρέφεια	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	382/2960	3	HR	0.95 (0.82-1.11)	0.530	0.23-3.91	39.8
Terracciano, 2014(270)	Νευρωτισμός	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	607/4447	5	HR	1.33 (1.21-1.45)	1.9×10^{-9}	1.14-1.54	0
Terracciano, 2014(270)	Ανοικτότητα	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	382/2960	3	HR	0.86 (0.77-0.96)	8.3×10^{-3}	0.41-1.79	0
Virk, 2015(271)	Αντιόξινα φάρμακα	Ναι vs. Όχι	939/5371	9	OR	0.96 (0.77-1.21)	0.747	0.73-1.26	0

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Wang, 2015(249)	Ασπιρίνη	Ναι vs. Όχι	2263/16393	11	RR	0.77 (0.63-0.95)	0.014	0.42-1.42	55.5
Wang, 2015(249)	Κορτικοστεροειδή	Ναι vs. Όχι	351/4023	3	RR	0.62 (0.26-1.46)	0.277	10 ⁻⁴ -10 ³	38.3
Wang, 2015(249)	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (εκτός ασπιρίνης)	Ναι vs. Όχι	2108/15940	9	RR	0.65 (0.49-0.86)	2.3 × 10 ⁻³	0.29-1.45	59.1
Wang, 2015(249)	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα	Ναι vs. Όχι	53372/228119	16	RR	0.74 (0.64-0.86)	6.9 × 10 ⁻⁵	0.45-1.22	70
Wang, 2016(272)	Αλουμίνιο	Ναι vs. Όχι	1383/9184	8	OR	1.72 (1.33-2.21)	3.1 × 10 ⁻⁵	1.16-2.54	6.2
Zhang, 2015(273)	Καρκίνος	Ναι vs. Όχι	4635/40251	7	HR	0.62 (0.53-0.74)	4.6 × 10 ⁻⁸	0.50-0.78	0
Zhang, 2015(274)	Πρόσληψη DHA	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	535/6104	3	RR	0.55 (0.24-1.23)	0.145	10 ⁻⁵ -10 ⁴	90.5
Zhang, 2015(274)	Κατανάλωση ψαριού	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	915/21026	5	RR	0.88 (0.79-0.98)	0.022	0.63-1.22	63.4

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Zhou, 2015(275)	Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο	Ναι vs. Όχι	952/13778	6	HR	1.59 (1.25-2.02)	1.7×10^{-4}	1.13-2.23	0
<i>Οποιαδήποτε μορφή άνοιας</i>									
Anstey, 2009(255)	Κατανάλωση αλκοόλ	Χαμηλό ή μέτριο επίπεδο vs. Όχι	1016/16389	7	RR	0.74 (0.61-0.91)	3.9×10^{-3}	0.43-1.28	52.6
Blondell, 2014(276)	Φυσική δραστηριότητα	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	3845/35974	21	RR	0.76 (0.66-0.86)	1.9×10^{-5}	0.49-1.15	68.9
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	Ναι vs. Όχι	25106/416385	33	RR	1.99 (1.84-2.16)	8.0×10^{-62}	1.65-2.40	27.8
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε νεαρή ηλικία	Ναι vs. Όχι	3538/24845	9	RR	1.63 (1.27-2.11)	1.5×10^{-4}	1.01-2.64	16.2
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	Ναι vs. Όχι	4957/46396	25	RR	1.85 (1.67-2.05)	3.1×10^{-32}	1.66-2.06	0
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	Ναι vs. Όχι	15707/1125450	22	RR	1.60 (1.43-1.79)	5.4×10^{-17}	1.05-2.44	72.3

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Kim, 2015(246)	Πρόσληψη καφεΐνης	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	905/7535	5	RR	0.72 (0.34-1.51)	0.385	0.05-9.50	75.7
Kuiper, 2015(277)	Συχνότητα κοινωνικών επαφών	Χαμηλό vs. Υψηλό επίπεδο	1122/14640	8	RR	1.57 (1.32-1.85)	1.9×10^{-7}	1.27-1.93	0
Kuiper, 2015(277)	Μοναξιά	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	280/2972	3	RR	1.58 (1.19-2.09)	1.5×10^{-3}	0.25-9.78	0
Kuiper, 2015(277)	Ικανοποίηση με το κοινωνικό δίκτυο	Χαμηλό vs. Υψηλό επίπεδο	985/5222	4	RR	1.25 (0.96-1.62)	0.103	0.46-3.36	50.3
Kuiper, 2015(277)	Μέγεθος κοινωνικού δικτύου	Χαμηλό vs. Υψηλό επίπεδο	1059/6691	5	RR	1.17 (0.92-1.48)	0.197	0.56-2.44	64
Kuiper, 2015(277)	Συμμετοχή σε κοινωνικές δραστηριότητες	Χαμηλό vs. Υψηλό επίπεδο	589/7125	6	RR	1.41 (1.13-1.75)	2.0×10^{-3}	0.85-2.34	31.2
Levi Marpillat, 2013(278)	Αντι-υπερτασικά φάρμακα	Ναι vs. Όχι	86422/1436995	11	HR	0.84 (0.75-0.94)	1.7×10^{-3}	0.60-1.16	73.4

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Loef, 2013(279)	BMI στη μέση ηλικία	Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος	1914/28405	5	RR	1.91 (1.40-2.62)	5.1×10^{-5}	0.74-4.93	53.5
Meng, 2012(263)	Επίπεδο εκπαίδευσης	Χαμηλό vs. Υψηλό επίπεδο	8739/78504	23	RR	1.88 (1.51-2.33)	1.2×10^{-8}	0.69-5.14	89.6
Peditizi, 2016(280)	BMI σε προχωρημένη ηλικία	Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος	1053/7400	4	RR	0.83 (0.74-0.94)	3.0×10^{-3}	0.64-1.09	0
Peditizi, 2016(280)	BMI σε προχωρημένη ηλικία	Υπέρβαρος vs. Φυσιολογικό βάρος	1885/12394	5	RR	0.88 (0.76-1.02)	0.094	0.56-1.38	54.3
Peditizi, 2016(280)	BMI στη μέση ηλικία	Υπέρβαρος vs. Φυσιολογικό βάρος	1252/12792	4	RR	1.10 (0.99-1.22)	0.076	0.87-1.38	0
Perry, 2015(266)	Ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση	Ναι vs. Όχι	7798/22564	23	OR	1.35 (1.01-1.78)	0.040	0.38-4.75	85
Richardson, 2013(247)	Στατίνες	Ναι vs. Όχι	37798/4325018	12	RR	0.83 (0.76-0.91)	1.3×10^{-4}	0.66-1.04	63.2
Russ, 2012(281)	Αγροτική διαβίωση	Ναι vs. Όχι	832/10504	4	RR	1.12 (0.75-1.69)	0.583	0.18-7.03	83.7
Santangeli, 2012(282)	Κολπική μαρμαρυγή	Ναι vs. Όχι	5301/68586	9	HR	1.36 (1.12-1.65)	2.0×10^{-3}	0.82-2.26	52.5

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Shen, 2015(283)	Απώλεια οδόντων	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	2378/17439	10	RR	1.56 (1.25-1.96)	1.1×10^{-4}	0.89-2.75	44.8
Ungprasert, 2016(284)	Ρευματοειδής αρθρίτιδα	Ναι vs. Όχι	19088/3044201	4	RR	1.58 (1.04-2.40)	0.031	0.25-10.14	93.4
Wu, 2015(252)	Κατανάλωση ψαριού	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	1013/20574	5	RR	0.79 (0.62-1.01)	0.060	0.42-1.48	29.1
Zhong, 2015(253)	Χρήση βενζοδιαζεπινών	Ναι vs. Όχι	11741/29981	5	RR	1.49 (1.30-1.72)	2.7×10^{-8}	1.03-2.17	35.1
Zhong, 2015(254)	Κάπνισμα	Ναι vs. Όχι	14944/930070	27	RR	1.13 (1.05-1.22)	1.2×10^{-3}	0.87-1.47	47.1
<i>Αγγειακή άνοια</i>									
Aarsland, 2010(285)	Φυσική δραστηριότητα	Υψηλό vs. Χαμηλό επίπεδο	374/10108	5	RR	0.62 (0.42-0.92)	0.017	0.19-2.07	55.7
Anstey, 2009(255)	Κατανάλωση αλκοόλ	Χαμηλό ή μέτριο επίπεδο vs. Όχι	151/8969	4	RR	0.75 (0.57-0.98)	0.037	0.38-1.45	5.2
Beydoun, 2008(286)	BMI στη μέση ηλικία	Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος	222/14017	3	RR	1.71 (0.47-6.26)	0.419	10^{-7} - 10^7	89.1

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Επίπεδο σύγκρισης	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μελέτες	Μέτρο σχέσης	Εκτιμητής αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P	95% ΔΠ	I ²
Chang-Quan, 2011(259)	Αντι-υπερτασικά φάρμακα	Ναι vs. Όχι	254/18558	4	RR	0.64 (0.42-0.98)	0.040	0.14-2.96	46.8
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	Ναι vs. Όχι	227/12929	4	RR	2.92 (1.87-4.56)	2.5×10^{-6}	1.10-7.78	0
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	Ναι vs. Όχι	316/16250	5	OR	2.52 (1.77-3.59)	2.8×10^{-7}	1.40-4.54	1.1
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	Ναι vs. Όχι	1396/875524	14	RR	2.28 (1.94-2.66)	1.1×10^{-24}	1.91-2.71	0
Meng, 2012(263)	Επίπεδο εκπαίδευσης	Χαμηλό vs. Υψηλό επίπεδο	379/7334	3	RR	2.75 (2.19-3.45)	2.1×10^{-18}	0.63-11.96	0
Sharp, 2011(287)	Αρτηριακή υπέρταση	Ναι vs. Όχι	425/7698	6	HR	1.59 (1.20-2.11)	1.4×10^{-3}	0.78-3.21	36.3
Zhong, 2015(254)	Κάπνισμα	Ναι vs. Όχι	1406/885388	8	RR	1.26 (1.05-1.50)	0.013	0.79-2.00	43.9

Συντομογραφίες: BMI=body mass index (δείκτης μάζας σώματος), DHA=Docosahexaenoic acid (δεκαεξανοϊκό οξύ), HR=hazard ratio (λόγος κινδύνων), OR=odds ratio (λόγος αναλογιών), RR=risk ratio (σχετικός κίνδυνος), ΔΕ=διάστημα εμπιστοσύνης, ΔΠ=διάστημα πρόβλεψης

5.3.3 Παράγοντες κινδύνου για την αγγειακή άνοια

Μόνο 10 από τις 76 μετα-αναλύσεις αφορούσαν παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη αγγειακής άνοιας. Δύο από τις 10 συσχετίσεις περιελάμβαναν περισσότερους από 1000 ασθενείς με αγγειακή άνοια (κάπνισμα, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2). Εννέα συσχετίσεις παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στο μοντέλο τυχαίων επιδράσεων με όριο $P\text{-value} < 0.05$, αλλά μόνο 3 από αυτές τις συσχετίσεις (εκπαίδευση, κατάθλιψη σε όψιμη ηλικία και σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2) παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά την εφαρμογή ενός αυστηρότερου ορίου $P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$. Τρεις συσχετίσεις παρουσίασαν 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιελάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα (κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, κατάθλιψη σε όψιμη ηλικία, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2). Μία από τις 10 μετα-αναλύσεις χαρακτηριζόταν από μεγάλη ετερογένεια (φυσική δραστηριότητα) και μία επιπλέον μετα-ανάλυση είχε πολύ μεγάλη ετερογένεια (παχυσαρκία κατά την ενήλικη ζωή). Σε μία συσχέτιση υπήρχαν ενδείξεις περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας, ενώ δεν υπήρχαν μετα-αναλύσεις με στοιχεία για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου για την αγγειακή άνοια παρουσιάζονται στον στους **Πίνακες 15 και 16**.

Πίνακας 16. Ετερογένεια μεταξύ των μελετών, συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας στις 76 μετα-αναλύσεις που αφορούν περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου για τις άνοιες

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ² (%)	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση						
			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Νόσος του Alzheimer									
Anstey, 2009(255)	Κατανάλωση αλκοόλ	RR	0.63 (0.55-0.72)	0.069	56.4	0.363	2	3.98	-
Anstey, 2011(256)	BMI στη μέση ηλικία (Λιποβαρής vs. Φυσιολογικό βάρος)	RR	3.43 (1.90-6.20)	0.302	71.2	0.121	1	2.97	-
Beckett, 2015(257)	Φυσική δραστηριότητα	HR	0.69 (0.50-0.96)	0.168	0	0.016	6	5.43	0.697
Cataldo, 2010(258)	Κάπνισμα	RR	0.88 (0.73-1.10)	0.105	64.8	0.702	13	4.56	-
Chang-Quan, 2011(259)	Αντι-υπερτασικά φάρμακα	RR	0.88 (0.68-1.13)	0.130	0	0.161	0	0.86	-
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	RR	1.19 (1.07-1.32)	0.054	69.6	0.009	16	4.6	1.0 × 10 ⁻⁸
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	RR	1.43 (1.05-1.96)	0.159	2.2	0.804	7	6.91	0.964
Garcia, 2008(260)	Χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία	RR	1.20 (1.00-1.40)	0.086	55.2	0.001	11	3.25	3.87 × 10 ⁻⁶

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ² (%)	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση						
			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	RR	1.60 (1.29-1.98)	0.109	0	0.629	9	15.04	-
Kim, 2015(246)	Πρόσληψη καφεΐνης	RR	0.69 (0.50-0.96)	0.166	71	0.406	2	2.13	-
Li, 2012(261)	Πρόσληψη βιταμίνης C	RR	0.83 (0.68-1.01)	0.101	0	0.875	1	1.45	-
Li, 2012(261)	Πρόσληψη βιταμίνης E	RR	0.74 (0.62-0.88)	0.089	46.7	0.869	3	3.42	-
Li, 2012(261)	Πρόσληψη β-καροτενίου	RR	0.81 (0.63-1.03)	0.125	18.4	0.901	0	1.34	-
Maheshwari, 2014(262)	Λοίμωξη από Chlamydia pneumoniae	OR	1.10 (0.51-2.38)	0.393	73	0.264	4	0.59	4.62 × 10 ⁻⁶
Maheshwari, 2014(262)	Λοίμωξη από σπειροχαίτη	OR	4.47 (1.92-10.40)	0.431	51.6	0.235	6	6.4	-
Meng, 2012(263)	Επίπεδο εκπαίδευσης	RR	3.83 (3.16-4.63)	0.097	90.1	0.442	11	16	-
	BMI στη μέση ηλικία								-
Meng, 2014(264)	(Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος)	RR	1.68 (1.21-2.33)	0.167	63.7	0.473	2	3.97	
O’Brien, 2014(265)	Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης	HR	0.80 (0.58-1.09)	0.161	47.7	0.978	1	1.95	-
Perry, 2015(266)	Ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση	OR	4.03 (3.27-4.96)	0.106	85.2	0.028	8	18.88	-

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ² (%)	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση						
			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Peters, 2014(267)	Αποκλειστές διαύλων ασβεστίου	RR	1.08 (0.81-1.45)	0.149	61.1	0.163	1	0.30	0.189
Power, 2011(268)	Αρτηριακή υπέρταση	RR	1.05 (0.76-1.47)	0.168	45.7	0.784	3	0.74	0.007
Richardson, 2013(247)	Στατίνες	RR	1.14 (0.85-1.53)	0.150	54.7	0.085	8	2.79	4.40 × 10 ⁻⁴
Seitz, 2011(248)	Γενική αναισθησία	OR	1.18 (0.98-1.42)	0.095	0	0.159	0	1.98	-
Steel, 2015(269)	Λοίμωξη από ερπητοϊούς	OR	1.22 (1.01-1.48)	0.097	20.3	0.830	6	2.51	0.022
Terracciano, 2014(270)	Τερπνότητα	HR	0.90 (0.77-1.06)	0.083	0	0.358	0	0.28	-
Terracciano, 2014(270)	Ευσυνειδησία	HR	0.81 (0.69-0.95)	0.080	0	0.072	3	0.68	1.39 × 10 ⁻³
Terracciano, 2014(270)	Εξωστρέφεια	HR	1.09 (0.91-1.31)	0.093	39.8	0.478	0	0.24	-
Terracciano, 2014(270)	Νευρωτισμός	HR	1.19 (1.01-1.41)	0.085	0	0.156	5	0.82	4.60 × 10 ⁻⁷

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ² (%)	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση						
			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Anstey, 2009(255)	Κατανάλωση αλκοόλ	RR	0.80 (0.65-0.99)	0.107	52.6	0.634	5	1.86	0.007
Blondell, 2014(276)	Φυσική δραστηριότητα	RR	1.04 (0.98-1.10)	0.029	68.9	2.92 × 10 ⁻⁵	8	1.23	1.00 × 10 ⁻⁸
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	RR	2.18 (2.08-2.28)	0.023	27.8	0.387	19	27.99	-
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε νεαρή ηλικία	RR	1.58 (1.06-2.37)	0.205	16.2	0.484	4	6.26	-
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	RR	1.72 (1.38-2.13)	0.111	0	0.736	14	16.37	-
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	RR	1.62 (1.49-1.77)	0.044	72.3	0.081	14	20.23	-
Kim, 2015(246)	Πρόσληψη καφεΐνης	RR	1.12 (0.66-1.91)	0.271	75.7	0.600	1	0.61	0.590
Kuiper, 2015(277)	Συχνότητα κοινωνικών επαφών	RR	1.67 (1.25-2.23)	0.148	0	0.961	4	6.33	-
Kuiper, 2015(277)	Μοναξιά	RR	1.54 (1.08-2.19)	0.180	0	0.120	1	1.75	-
Kuiper, 2015(277)	Ικανοποίηση με το κοινωνικό δίκτυο	RR	1.30 (1.06-1.59)	0.103	50.3	0.932	1	2.03	-
Kuiper, 2015(277)	Μέγεθος κοινωνικού δικτύου	RR	0.99 (0.95-1.03)	0.021	64	0.144	1	0.25	0.128
Kuiper, 2015(277)	Συμμετοχή σε κοινωνικές δραστηριότητες	RR	1.18 (1.07-1.31)	0.052	31.2	0.080	3	0.83	0.010
Levi Marpillat, 2013(278)	Αντι-υπερτασικά φάρμακα	HR	0.94 (0.91-0.97)	0.016	73.4	0.099	4	2.61	0.326

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ² (%)	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Loef, 2013(279)	BMI στη μέση ηλικία (Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος)	RR	1.74 (1.34-2.26)	0.133	53.5	0.415	3	4.88	-
Meng, 2012(263)	Επίπεδο εκπαίδευσης	RR	1.29 (1.17-1.43)	0.051	89.6	0.296	16	8.63	0.001
Peditizi, 2016(280)	BMI σε προχωρημένη ηλικία (Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος)	RR	0.81 (0.69-0.94)	0.079	0	0.127	1	1.48	-
Peditizi, 2016(280)	BMI σε προχωρημένη ηλικία (Υπέρβαρος vs. Φυσιολογικό βάρος)	RR	0.81 (0.72-0.91)	0.060	54.3	0.873	1	2.18	-
Peditizi, 2016(280)	BMI στη μέση ηλικία (Υπέρβαρος vs. Φυσιολογικό βάρος)	RR	1.17 (0.99-1.38)	0.085	0	0.794	0	1.19	-
Perry, 2015(266)	Ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση	OR	4.03 (3.27-4.96)	0.106	85	0.012	9	22.86	-
Richardson, 2013(247)	Στατίνες	RR	0.88 (0.85-0.91)	0.017	63.2	0.051	8	5.65	0.174
Russ, 2012(281)	Αγροτική διαβίωση	RR	0.94 (0.79-1.13)	0.091	83.7	0.412	2	0.29	1.06 × 10 ⁻³

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ² (%)	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση						
			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Santangeli, 2012(282)	Κολπική μαρμαρυγή	HR	1.36 (1.13-1.63)	0.093	52.5	0.832	5	5.69	-
Shen, 2015	Απώλεια οδόντων	RR	1.10 (0.89-1.36)	0.108	44.8	0.110	5	1.15	1.3 × 10 ⁻⁴
Ungprasert, 2016	Ρευματοειδής αρθρίτιδα	RR	2.02 (1.83-2.23)	0.050	93.4	0.810	2	2.79	-
Wu, 2015(252)	Κατανάλωση ψαριού	RR	0.95 (0.76-1.19)	0.114	29.1	0.051	1	0.33	0.234
Zhong, 2015(253)	Χρήση βενζοδιαζεπινών	RR	1.60 (1.37-1.87)	0.079	35.1	0.516	5	4.65	0.541
Zhong, 2015(254)	Κάπνισμα	RR	1.07 (0.96-1.19)	0.055	47.1	0.641	8	3.39	7.40 × 10 ⁻³
Αγγειακή άνοια									
Aarsland, 2010(285)	Φυσική δραστηριότητα	RR	0.85 (0.65-1.13)	0.141	55.7	0.115	1	0.59	0.570
Anstey, 2009(255)	Κατανάλωση αλκοόλ	RR	0.79 (0.50-1.25)	0.234	5.2	0.616	1	0.46	0.399
BMI στη μέση ηλικία									
Bedoun, 2008(286)	(Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος)	RR	4.95 (2.98-8.43)	0.265	89.1	0.475	1	3.00	-

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μέτρο σχέσης	Μεγαλύτερη μελέτη		I ² (%)	Δοκιμασία του Egger P	O	E	Δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας P
			Εκτίμηση						
			αποτελέσματος (95% ΔΕ)	SE					
Chang-Quan, 2011(259)	Αντι-υπερτασικά φάρμακα	RR	0.66 (0.45-0.97)	0.196	46.8	0.363	2	1.69	0.720
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	RR	2.41 (1.22-4.52)	0.334	0	0.665	2	3.01	-
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	OR	1.79 (0.99-3.22)	0.301	1.1	0.586	2	3.12	-
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	RR	2.00 (1.50-2.66)	0.146	0	0.592	10	11.07	-
Meng, 2012(263)	Επίπεδο εκπαίδευσης	RR	2.95 (2.14-4.07)	0.164	0	0.570	3	2.99	0.968
Sharp, 2011(287)	Αρτηριακή υπέρταση	OR	1.53 (1.10-2.13)	0.169	36.3	0.730	3	2.62	0.754
Zhong, 2015(254)	Κάπνισμα	RR	1.02 (0.84-1.25)	0.101	43.9	0.326	2	0.42	0.012

Συντομογραφίες: BMI=body mass index (δείκτης μάζας σώματος), DHA=Docosahexaenoic acid (δεκαεξανοϊκό οξύ), HR=hazard ratio (λόγος κινδύνων), OR=odds ratio (λόγος αναλογιών), RR=risk ratio (σχετικός κίνδυνος), SE=standard error (τυπικό σφάλμα), ΔΕ=διάστημα εμπιστοσύνης

Σημείωση: Στις συσχετίσεις που έχουν παρατηρούμενο αριθμό στατιστικά σημαντικών μελετών μεγαλύτερο από τον αναμενόμενο αριθμό στατιστικά σημαντικών μελετών, δεν παρουσιάζεται *P-value* για τη στατιστική δοκιμασία περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας.

5.3.4 Αξιολόγηση της επιδημιολογικής εγκυρότητας

Εφαρμόζοντας συγκεκριμένα μεθοδολογικά κριτήρια που παρουσιάστηκαν στον **Πίνακα 12**, 4 παράγοντες κινδύνου για όλες τις μορφές άνοιας (χρήση βενζοδιαζεπινών, κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, κατάθλιψη σε όψιμη ηλικία, συχνότητα κοινωνικών επαφών), 2 παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Alzheimer (κατάθλιψη σε όψιμη ηλικία, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2) και 1 παράγοντας κινδύνου για την αγγειακή άνοια συγκέντρωσαν επιδημιολογικά τεκμήρια με πολύ υψηλή αξιοπιστία (*Κατηγορία I*), καθώς οι αντίστοιχες μετα-αναλύσεις χαρακτηρίζονταν από >1000 ασθενείς, χαμηλή ετερογένεια μεταξύ των μελετών ($I^2 < 50\%$), 95% διάστημα πρόβλεψης που δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα και απουσία ενδείξεων για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης και περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Επιπλέον, η συσχέτιση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 με τον κίνδυνο για οποιαδήποτε μορφής άνοια και η συσχέτιση του καρκίνου, της κατάθλιψης σε οποιαδήποτε ηλικία και της φυσικής δραστηριότητας με τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer χαρακτηρίζονταν από υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία II*). Πέντε παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Alzheimer (έκθεση σε αλουμίνιο, λοίμωξη από ερπητοϊούς, έκθεση σε χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία, εκπαίδευση, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα) και πέντε παράγοντες κινδύνου για οποιαδήποτε μορφή άνοιας (κατάθλιψη με έναρξη σε νεαρή ηλικία, εκπαίδευση, παχυσαρκία κατά την ενήλικη ζωή, φυσική δραστηριότητα, στατίνες) παρουσίασαν μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία (*Κατηγορία III*). 34 συσχετίσεις παρουσίασαν χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία, ενώ οι υπόλοιπες 21 συσχετίσεις δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ($P\text{-value} > 0.05$). Μία συνοπτική περιγραφή της αξιολόγησης των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων παρουσιάζεται στον **Πίνακα 17**.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανάλυση ευαισθησίας εστιασμένη μόνο σε προοπτικές μελέτες κοόρτης για τις επιδημιολογικές συσχετίσεις με πολύ υψηλή και υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία. Στην ανάλυση αυτή, φάνηκε ότι τα μεγέθη αποτελέσματος και οι τιμές της *P-value* παρέμειναν παρόμοιες για όλους παράγοντες κινδύνους. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων ευαισθησίας παρουσιάζονται στον

Πίνακα 18.

Πίνακας 17. Σύνοψη της αξιολόγησης της επιδημιολογικής εγκυρότητας των περιβαλλοντικών παραγόντων που παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer, οποιαδήποτε μορφή άνοιας και αγγειακή άνοια

Επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας	Νόσος του Alzheimer	Οποιαδήποτε μορφή άνοιας	Αγγειακή άνοια
Πολύ υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	Χρήση βενζοδιαζεπινών, κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, συχνότητα κοινωνικών επαφών, κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2
Υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία	Καρκίνος, κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, φυσική δραστηριότητα	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	Καμία
Μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία	Αλουμίνιο, επίπεδο εκπαίδευσης, λοίμωξη από ερπητοϊούς, χαμηλής συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά πεδία, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα	Κατάθλιψη σε νεαρή ηλικία, επίπεδο εκπαίδευσης, φυσική δραστηριότητα, BMI στη μέση ηλικία (Παχυσαρκία vs. Φυσιολογικό βάρος), στατίνες	Καμία

Επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας	Νόσος του Alzheimer	Οποιαδήποτε μορφή άνοιας	Αγγειακή άνοια
Χαμηλή επιδημιολογική αξιοπιστία	Κατανάλωση αλκοόλ, πρόσληψη βιταμίνης C, πρόσληψη βιταμίνης E, λοίμωξη από Chlamydia pneumoniae, λοίμωξη από σπειροχάιτη, BMI στη μέση ηλικία (Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος), ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση, στατίνες, τερπνότητα, ευσυνειδησία, νευρωτισμός, ανοικτότητα, ασπιρίνη, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη (εκτός ασπιρίνης), κατανάλωση ψαριού, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο	Κατανάλωση αλκοόλ, αντι-υπερτασικά φάρμακα, κολπική μαρμαρυγή, μοναξιά, συμμετοχή σε κοινωνικές δραστηριότητες, BMI σε προχωρημένη ηλικία (Παχύσαρκος vs. Φυσιολογικό βάρος), ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση, απώλεια οδόντων, ρευματοειδής αρθρίτιδα, κάπνισμα	Κατανάλωση αλκοόλ, αντι-υπερτασικά φάρμακα, κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, αρτηριακή υπέρταση, κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία, επίπεδο εκπαίδευσης, φυσική δραστηριότητα, κάπνισμα

Συντομογραφίες: BMI=body mass index (δείκτης μάζας σώματος)

Πίνακας 18. Ανάλυση ευαισθησίας των προοπτικών μελετών κοόρτης για τις συσχετίσεις που παρουσίασαν πολύ υψηλή (*Κατηγορία I*) και υψηλή (*Κατηγορία II*) επιδημιολογική εγκυρότητα

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μελέτες	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων		95% ΔΠ	I ²	Small-study effects/Excess statistical significance	Επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας
					Εκτίμηση					
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P				
Νόσος του Alzheimer										
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε προχωρημένη ηλικία	15	3348/29951	RR	1.64 (1.40-1.92)	1.4×10^{-9}	1.27-2.12	7.5	Όχι/Όχι	I
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	21	3537/529160	RR	1.54 (1.39-1.72)	3.1×10^{-15}	1.37-1.73	0	Όχι/Όχι	I
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	15	1461/24937	RR	1.72 (1.39-2.13)	4.9×10^{-7}	0.90-3.31	57.5	Ναι/Ναι	II
Zhang, 2015(273)	Καρκίνος	6	1354/27127	HR	0.63 (0.53-0.75)	1.0×10^{-7}	0.49-0.80	0	Ναι/Όχι	II

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μελέτες	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων		95% ΔΠ	I ²	Small-study effects/Excess statistical significance	Επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας
					Εκτίμηση					
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P				
Beckett, 2015(257)	Φυσική δραστηριότητα	9	1358/18968	HR	0.62 (0.52-0.72)	5.0×10^{-9}	0.51-0.75	0	Ναι/Όχι	II
Οποιαδήποτε μορφή άνοιας										
Zhong, 2015(253)	Χρήση βενζοδιαζεπινών	5	11741/29981	RR	1.49 (1.30-1.72)	2.7×10^{-8}	1.03-2.17	35.1	Όχι/Όχι	I
da Silva, 2013(250)	Κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία	23	2781/29578	RR	1.86 (1.61-2.14)	2.6×10^{-17}	1.27-2.71	26	Όχι/Όχι	I
Kuiper, 2015(277)	Συχνότητα κοινωνικών επαφών	8	1122/14640	RR	1.57 (1.32-1.85)	1.9×10^{-7}	1.27-1.93	0	Όχι/Όχι	I
Diniz, 2013(245)	Κατάθλιψη σε καθυστερημένη ηλικία	22	4782/45306	RR	1.83 (1.65-2.03)	3.3×10^{-29}	1.63-2.05	0	Όχι/Όχι	I

Αναφορά	Παράγοντας κινδύνου	Μελέτες	Αριθμός ασθενών και υγιών	Μέτρο σχέσης	Μοντέλο τυχαίων επιδράσεων		95% ΔΠ	I ²	Small-study effects/Excess statistical significance	Επίπεδο επιδημιολογικής αξιοπιστίας
					Εκτίμηση					
					αποτελέσματος (95% ΔΕ)	P				
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	22	15707/1125450	RR	1.60 (1.43-1.79)	5.4×10^{-17}	1.05-2.44	72.3	Όχι/Όχι	II
Αγγειακή άνοια										
Gudala, 2013(251)	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	14	1396/875524	RR	2.28 (1.94-2.66)	1.1×10^{-24}	1.91-2.71	0	Όχι/Όχι	I

Συντομογραφίες: HR=hazard ratio (λόγος κινδύνων), RR=risk ratio (σχετικός κίνδυνος), ΔΕ=διάστημα εμπιστοσύνης, ΔΠ=διάστημα πρόβλεψης

5.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, παρουσιάστηκε μία συστηματική αξιολόγηση των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου για τους διάφορους τύπους άνοιας, όπως αυτοί μελετήθηκαν σε δημοσιευμένες μετα-αναλύσεις μελετών παρατήρησης. Από τις συσχετίσεις που μελετήθηκαν, η κατάθλιψη με έναρξη σε οποιαδήποτε ηλικία, η κατάθλιψη με καθυστερημένη έναρξη, η χρήση βενζοδιαζεπινών και η συχνότητα κοινωνικών επαφών παρουσίασαν επαρκή επιδημιολογικά τεκμήρια για συσχέτιση με τον κίνδυνο για εμφάνιση οποιασδήποτε μορφής άνοιας. Η κατάθλιψη με καθυστερημένη έναρξη και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 αποτέλεσαν τους πλέον αξιόπιστους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της νόσου του Alzheimer, ενώ ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 ήταν ο μοναδικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση αγγειακής άνοιας με επαρκή επιδημιολογικά τεκμήρια. Επιπλέον, το ιστορικό διαγνωσμένου καρκίνου, η κατάθλιψη με έναρξη σε οποιαδήποτε ηλικία και η φυσική δραστηριότητα συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο για τη νόσο του Alzheimer. Οι αναλύσεις ευαισθησίας σε προοπτικές μελέτες κοόρτης κατέληξαν σε παρόμοια συμπεράσματα για αυτούς τους παράγοντες κινδύνου.

Ένα βασικό χαρακτηριστικό των μετα-αναλύσεων που εξετάστηκαν ήταν η παρουσία μεγάλης ή πολύ μεγάλης ετερογένειας μεταξύ των μελετών, ενώ στο ένα τρίτο των μετα-αναλύσεων υπήρχαν ενδείξεις για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης ή/και περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Η παρατηρούμενη ετερογένεια σε αυτές τις μετα-αναλύσεις θα μπορούσε να αποδοθεί είτε στην παρουσία συστηματικών σφαλμάτων που επηρεάζουν τα αποτελέσματα των μελετών παρατήρησης είτε σε μεθοδολογικές διαφορές μεταξύ των επιδημιολογικών μελετών. Πιθανές πηγές ετερογένειας στις μετα-αναλύσεις στο πεδίο αυτό αποτελούν ο συνδυασμός διαφορετικών ερευνητικών σχεδιασμών, όπως προοπτικές και αναδρομικές μελέτες

κοόρτης και μελέτες ασθενών-μαρτύρων στην ίδια μετα-ανάλυση, διαφορές στη μέτρηση των εκθέσεων και διαφορές στον ορισμό της έκβασης. Οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που προέρχονται από μετα-αναλύσεις με μεγάλη ετερογένεια ή/και με ενδείξεις για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης θα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή.

Επιπλέον, τα διαγνωστικά κριτήρια και ο ορισμός της νόσου του Alzheimer όπως επίσης και της άνοιας σε προχωρημένη ηλικία παραμένουν ένα αμφιλεγόμενο ζήτημα, επειδή δεν υπάρχει συμφωνία στα διαγνωστικά κριτήρια για τη διάγνωση της άνοιας. Η χρήση διαφορετικών κριτηρίων από τις επιδημιολογικές μελέτες για τον ορισμό της άνοιας μπορεί να οδηγήσει σε συστηματικό σφάλμα πληροφορίας, γεγονός που παρεμποδίζει την αναγνώριση αξιόπιστων παραγόντων κινδύνου. Συγκεκριμένα, τα διαγνωστικά κριτήρια για τη νόσο του Alzheimer σύμφωνα με το *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* και το *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* διακρίνουν σε κλινικά πιθανή (*clinically probable*) και κλινικά δυνατή (*clinically possible*) νόσο του Alzheimer, με την προϋπόθεση ότι η οριστική διάγνωση της νόσου απαιτεί μεταθανάτια επιβεβαίωση των παθολογικοανατομικών αλλοιώσεων (288). Τα αναθεωρημένα κριτήρια από την ομάδα εργασίας του *National Institute of Aging and Alzheimer's Association* διαχωρίζουν την άνοια από τη νόσο του Alzheimer με την παρουσία (ως κριτήριο αποκλεισμού) οποιασδήποτε κλινικής ή άλλης ένδειξης συνυπάρχουσας αγγειακής εγκεφαλικής παθολογίας, την παρουσία άλλης γνωστής μορφής άνοιας ή τη συνύπαρξη παθολογικής κατάστασης ή τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής που μπορεί να επηρεάσει τη νοητική λειτουργία (289). Αν και το 70% των περιστατικών άνοιας εκδηλώνονται σε ανθρώπους ηλικίας άνω των 75 ετών (290), η πλειοψηφία των ασθενών με νόσο του Alzheimer έχουν συνυπάρχοντα παθολογικά ευρήματα στη βιοψία εγκεφάλου (291).

Η κατάθλιψη με έναρξη σε οποιαδήποτε ηλικία, όπως επίσης και η κατάθλιψη με έναρξη σε καθυστερημένη ηλικία, παρουσίασαν πολύ υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία στη συσχέτισή τους με τον κίνδυνο για τους διάφορους τύπους άνοιας. Όμως, υπάρχει αρκετή συζήτηση στη βιβλιογραφία σχετικά με το αν η κατάθλιψη αποτελεί πραγματικό παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη άνοιας ή αν αποτελεί πρόδρομο σύμπτωμα της άνοιας (292). Για να αποσαφηνιστεί η υπόθεση αυτή, απαιτούνται μελέτες που θα λαμβάνουν υπόψιν την ηλικία διάγνωσης της κατάθλιψης και την ηλικία διάγνωσης της άνοιας. Από τις υπάρχουσες επιδημιολογικές μελέτες, προκύπτει ότι η κατάθλιψη με έναρξη σε καθυστερημένη ηλικία σχετίζεται πολύ ισχυρά τόσο με τον κίνδυνο για οποιαδήποτε μορφή άνοιας όσο και με τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer (245). Επίσης, η κατάθλιψη με έναρξη σε νεαρή ηλικία παρουσίασε μόνο μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία για συσχέτιση με τον κίνδυνο για οποιαδήποτε μορφή άνοιας, ενώ μόνο μία προοπτική μελέτη κοόρτης χωρίς στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα ήταν διαθέσιμη στην αντίστοιχη μετα-ανάλυση (292). Έχει αναπτυχθεί μία θεωρία που υποστηρίζει ότι η κατάθλιψη αποτελεί μία πρόιμη αντίδραση του ατόμου στην έναρξη της έκπτωσης της νοητικής λειτουργίας. Η ανάλυση της παρούσας ερευνητικής εργασίας δείχνει ότι η κατάθλιψη με έναρξη σε όψιμη ηλικία σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο για αγγειακή άνοια, αλλά τα επιδημιολογικά τεκμήρια για τη συσχέτιση αυτή ήταν σποραδικά, κυρίως λόγω του μικρού αριθμού επιδημιολογικών μελετών. Επιπλέον, στο σημείο αυτό, αξίζει να αναφερθεί η υπόθεση της αγγειακής κατάθλιψης (*vascular depression hypothesis*), σύμφωνα με την οποία η αγγειακή νόσος οδηγεί σε μια μακροχρόνια διαδικασία υποκλινικών αγγειακών μεταβολών στον εγκέφαλο, που θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν τη συσχέτιση μεταξύ κατάθλιψης και άνοιας (293).

Η παρούσα ανασκόπηση πεδίου έδειξε ότι υπάρχει μία ισχυρή συσχέτιση του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 με τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer και για αγγειακή άνοια. Η αγγειακή άνοια ταξινομείται με βάση το πρότυπο των αγγειακών εγκεφαλικών βλαβών σε άνοια οφειλόμενη σε πολλαπλά ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια (*multi-infarct dementia*), άνοια οφειλόμενη σε ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια εντοπιζόμενα σε περιοχές που σχετίζονται με τις ανώτερες νοητικές λειτουργίες (*strategic infarct dementia*) και υποφλοιώδη αγγειακή εγκεφαλοπάθεια (*subcortical vascular encephalopathy*) ή νόσο του Binswanger (32,294). Τα πρότυπα αυτά υποδηλώνουν ότι η αγγειακή άνοια και οι αγγειακές εγκεφαλικές βλάβες μοιράζονται κοινούς παράγοντες κινδύνου, συμπεριλαμβανομένου του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (295).

Η σχέση του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 με τον κίνδυνο για οποιαδήποτε μορφή άνοιας παρουσίασε μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Το στοιχείο αυτό συνηγορεί υπέρ του γεγονότος ότι ο σακχαρώδης διαβήτης σχετίζεται σε διαφορετικό βαθμό κινδύνου με τις διάφορες μορφές άνοιας, δηλαδή σχετίζεται με μεγαλύτερο από διπλάσιο κίνδυνο για αγγειακή άνοια, αλλά έχει αρκετά μικρότερη επίδραση στον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer (251). Με βάση τα υπάρχοντα επιδημιολογικά ευρήματα, δεν είναι σαφές εάν η σχέση ανάμεσα στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και τον κίνδυνο για άνοια είναι μία αιτιώδης σχέση, καθώς οι δύο νοσολογικές οντότητες μπορεί να μοιράζονται κοινούς γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου. Αν ληφθούν υπόψιν τα ευρήματα από μία πρόσφατα δημοσιευμένη ανασκόπηση πεδίου για τους παράγοντες κινδύνου του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (296), θα διαπιστωθεί ότι η φυσική δραστηριότητα, το επίπεδο εκπαίδευση και η παχυσαρκία αποτελούν παράγοντες που συσχετίζονται τόσο με τον σακχαρώδη διαβήτη όσο και με την άνοια.

Τα υψηλά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας συνδέθηκαν με χαμηλότερο κίνδυνο για νόσο του Alzheimer σε προοπτικές μελέτες κοόρτης. Δεν παρατηρήθηκε ετερογένεια μεταξύ των μελετών και το 95% διάστημα πρόβλεψης δεν περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα. Όμως, το παρατηρούμενο αποτέλεσμα της συσχέτισης αυτής μπορεί να έχει επηρεαστεί από την παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης. Δεδομένα από δύο τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι παρεμβάσεις που αυξάνουν το επίπεδο της φυσικής δραστηριότητας δύνανται να μειώσουν την έκπτωση της νοητικής λειτουργίας σε ηλικιωμένα άτομα (297,298).

Επιπροσθέτως, η σχέση του ιστορικού καρκίνου με τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer υποστηρίζεται από υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα. Αν και το αποτέλεσμα παρέμεινε παρόμοιο στην ανάλυση ευαισθησίας των προοπτικών μελετών κοόρτης, ενδείξεις για συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης ήταν παρούσες. Στην ερμηνεία αυτής της συσχέτισης, πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι οι ασθενείς με καρκίνο έχουν μικρότερο προσδόκιμο ζωής σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό, οπότε η παρατηρούμενη σχέση θα μπορούσε να αποδοθεί στην παρουσία ανταγωνιστικού κινδύνου μεταξύ του θανάτου και της νόσου του Alzheimer (273). Επίσης, οι επιδημιολογικές μελέτες που εξέτασαν αυτή τη σχέση συμπεριέλαβαν μόνο την ηλικία και το φύλο στα μοντέλα παλινδρόμησης, χωρίς να λαμβάνονται υπόψιν επιπλέον πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες όπως η κατάθλιψη και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2. Τα σφάλματα αυτά θέτουν σημαντικούς περιορισμούς στην ερμηνεία της συσχέτισης αυτής, η οποία πιθανώς δεν είναι αιτιώδης.

Επιπλέον, η χαμηλή συχνότητα κοινωνικών επαφών αποτελεί παράγοντα κινδύνου με σημαντική επίδραση στον κίνδυνο ανάπτυξης οποιασδήποτε άνοιας. Το επίπεδο της κοινωνικής δικτύωσης θεωρείται ένας τροποποιήσιμος παράγοντας κινδύνου, σε συνδυασμό με το επίπεδο εκπαίδευσης. Η ερμηνεία της σχέσης των κοινωνικών

επαφών και του επιπέδου εκπαίδευσης με τον κίνδυνο για άνοια μπορεί να γίνει καλύτερα κατανοητός υπό το πρίσμα της υπόθεσης του εγκεφαλικού αποθέματος (*brain reserve hypothesis*). Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η παρουσία αυξημένου εγκεφαλικού αποθέματος συνδέεται με αυξημένη ικανότητα να γίνονται ανεκτές βιολογικές μεταβολές στον εγκέφαλο λόγω γήρανσης ή νόσου χωρίς να εκδηλώνονται κλινικά σημεία ή συμπτώματα (299). Το επίπεδο εκπαίδευσης αποτελεί μία έκθεση που σχετίζεται με την υπόθεση του εγκεφαλικού αποθέματος και παρουσίασε συσχέτιση τόσο με τον κίνδυνο για οποιαδήποτε άνοια (μέτρια επιδημιολογική εγκυρότητα) όσο και με τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer (χαμηλή επιδημιολογική εγκυρότητα). Και οι δύο συσχετίσεις χαρακτηρίζονταν από πολύ μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών και από ένα αρκετά ευρύ 95% διάστημα πρόβλεψης που περιλάμβανε το μηδενικό αποτέλεσμα. Η ετερογένεια αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί στα διαφορετικά μεθοδολογικά χαρακτηριστικά των μελετών λόγω της εφαρμογής διαφορετικών διαγνωστικών κριτηρίων και τη χρήση διαφορετικών μέτρων για ποσοτικοποίηση του επιπέδου εκπαίδευσης. Επίσης, το επίπεδο εκπαίδευσης συσχετίστηκε με τον κίνδυνο για αγγειακή άνοια, αλλά ο συνολικός αριθμός των ασθενών στη μετα-ανάλυση αυτή ήταν μικρός.

Επιπλέον, η χρήση βενζοδιαζεπινών συσχετίστηκε με υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης άνοιας. Η σχέση αυτή θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα του μειωμένου νοητικού αποθέματος (*cognitive reserve capacity*), το οποίο επάγεται από τη μακροχρόνια χρήση βενζοδιαζεπινών, επειδή η χρήση των βενζοδιαζεπινών μειώνει την ικανότητα των ατόμων να αντιμετωπίσουν τις μεταβολές στον εγκέφαλο μέσω της ευόδωσης επικουρικών νευρωνικών δικτύων (300). Οι μελέτες κοόρτης που μελέτησαν τη σχέση αυτή είχαν προοπτικό σχεδιασμό, γεγονός που ελαχιστοποιεί την πιθανότητα ερμηνείας της σχέσης αυτής μέσω αντίστροφης αιτιότητας. Όμως, η χρήση

βενζοδιαζεπινών θα μπορούσε να αποδοθεί στην παρουσία συμπτωμάτων, όπως διαταραχές του ύπνου και χρόνια αγχώδης διαταραχή με ή χωρίς κατάθλιψη, που αντιστοιχούν σε ψυχοπαθολογικά χαρακτηριστικά που προηγούνται της διάγνωσης της άνοιας κατά πολλά έτη (301). Επιπλέον, μια σχετικά πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη κοόρτης δεν έδειξε στατιστικά σημαντική δοσο-εξαρτώμενη σχέση ανάμεσα στη χρήση βενζοδιαζεπινών και στον κίνδυνο για άνοια (302). Η παρατήρηση αυτή δεν υποστηρίζει την παρουσία αιτιώδους σχέσης.

Η παρούσα ερευνητική εργασία έχει ορισμένους περιορισμούς οι οποίοι στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθούν. Τα διαγνωστικά κριτήρια για τις διάφορες μορφές άνοιας μπορεί να επηρεάσουν το αποτέλεσμα μιας μελέτης και να αυξήσουν την παρατηρούμενη ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Όμως, δεν ήταν εφικτό να διερευνηθεί η επίδραση των διαγνωστικών κριτηρίων στην ετερογένεια, επειδή η πληροφορία αυτή συχνά δεν αναφερόταν στις δημοσιευμένες μετα-ανάλυσεις. Επίσης, η ανάμιξη μελετών χαμηλής και υψηλής μεθοδολογικής ποιότητας επηρεάζει το παρατηρούμενο αποτέλεσμα σε μία μετα-ανάλυση. Για το λόγο αυτό, σε κάθε μετα-ανάλυση θα πρέπει να περιλαμβάνεται μεθοδολογική αξιολόγηση των μελετών. Στην παρούσα ερευνητική εργασία, δεν πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση των μελετών παρατήρησης, καθώς η διαδικασία αυτή είναι ένας από τους στόχους των μετα-ανάλυσεων και δεν αποτελεί αντικείμενο της ανασκόπησης πεδίου τύπου ομπρέλας. Μόνο το ένα τέταρτο των επιλεγμένων άρθρων αξιολόγησαν και ανέφεραν την ποιότητα των μελετών παρατήρησης με την εφαρμογή της κλίμακας Newcastle-Ottawa, η οποία είναι ένα εργαλείο αξιολόγησης μη τυχαιοποιημένων μελετών. Βάσει της αξιολόγησης αυτής, μόνο το ένα τέταρτο των μελετών παρατήρησης θεωρήθηκαν υψηλής μεθοδολογικής ποιότητας και χαμηλού κινδύνου για παρουσία συστηματικών σφαλμάτων. Επίσης, στην παρούσα ερευνητική εργασία, μελετήθηκαν μόνο

παράγοντες κινδύνου για τους οποίους ήταν διαθέσιμη δημοσιευμένη μετα-ανάλυση. Με βάση αυτή την παρατήρηση, μπορεί να υπάρχουν επιπλέον παράγοντες κινδύνου με επαρκή επιδημιολογικά τεκμήρια για τους οποίους δεν έχει δημοσιευτεί κάποια μετα-ανάλυση. Επίσης, στην παρούσα ανασκόπηση πεδίου, εξετάστηκε η μεγαλύτερη διαθέσιμη μετα-ανάλυση για κάθε μία συσχέτιση. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε απώλεια μελετών παρατήρησης, στην περίπτωση που μία μικρότερη μετα-ανάλυση περιλαμβάνει διαφορετικές μελέτες παρατήρησης σε σύγκριση με τη μεγαλύτερη μετα-ανάλυση.

Λαμβάνοντας υπόψιν τους περιορισμούς αυτούς, η ανάλυση που παρουσιάστηκε αναγνώρισε πέντε παράγοντες κινδύνου με υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα, οι οποίοι αντιστοιχούν στη χρήση βενζοδιαζεπινών, την κατάθλιψη σε οποιαδήποτε ηλικία, τη χαμηλή συχνότητα κοινωνικών επαφών, το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και την κατάθλιψη με έναρξη σε καθυστερημένη ηλικία. Το αποτέλεσμα της τροποποίησης των παραγόντων αυτών στον κίνδυνο ανάπτυξης άνοιας πρέπει να εξεταστεί σε τυχαιοποιημένες μελέτες, ώστε να αξιολογηθεί η αξία των παραγόντων αυτών για την πρόληψη της άνοιας σε επίπεδο δημόσιας υγείας. Η παρουσία ισχυρών επιδημιολογικών τεκμηρίων για τους τροποποιήσιμους παράγοντες δεν εγγυάται ότι η εφαρμογή προληπτικών παρεμβάσεων μπορεί να μεταφραστεί σε όφελος για την πρόληψη των περιστατικών άνοιας (303). Στην παρούσα φάση, υπάρχουν διαθέσιμες φαρμακευτικές παρεμβάσεις για ικανοποιητικό γλυκαιμικό έλεγχο στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και παρεμβάσεις σχετικά με την τροποποίηση του τρόπου ζωής σε ασθενείς με προ-διαβήτη, αλλά η επίπτωση και ο επιπολασμός του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 αυξάνεται στις αναπτυσσόμενες και τις αναπτυσσόμενες χώρες. Επίσης, παρεμβάσεις σε επίπεδο δημόσιας υγείας θα μπορούσαν να εφαρμοστούν για τον περιορισμό της συνταγογράφησης βενζοδιαζεπινών και τη συνταγογράφηση τους υπό

αυστηρές ενδείξεις. Όμως, οι διαθέσιμες παρεμβάσεις για την τροποποίηση του κινδύνου για κατάθλιψη και για την τροποποίηση των κοινωνικών δικτύων είναι περιορισμένες. Από τα παραπάνω ευρήματα, καθίσταται σαφές ότι υπάρχει ανάγκη για εντοπισμό επιπλέον παραγόντων κινδύνου και σχεδιασμό αποτελεσματικών προληπτικών παρεμβάσεων για την μείωση του κινδύνου εμφάνισης άνοιας στο γενικό πληθυσμό.

Κεφάλαιο 6

Παράγοντες κινδύνου για την πολλαπλή σκλήρυνση κατά τη νεαρή ηλικία: Μία συνδυασμένη μελέτη κοόρτης και Μενδελιανής τυχαιοποίησης⁴

6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πολλαπλή σκλήρυνση είναι μία απομυελινωτική νόσος με σύνθετο παθογενετικό μηχανισμό (304). Η έναρξη της νόσου τοποθετείται στην τρίτη ή τέταρτη δεκαετία της ζωής (304). Εικάζεται ότι οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη πολλαπλής σκλήρυνσης δρουν σε τρεις διακριτές φάσεις της ζωής: την περιγεννητική περίοδο, την παιδική και εφηβική ηλικία και τη νεαρή ενήλικη ζωή (305). Όπως προκύπτει από την σύνοψη πεδίου που παρουσιάστηκε στην Ενότητα 2.7, η υπάρχουσα επιδημιολογική έρευνα έχει εστιάσει κυρίως σε παράγοντες κινδύνου που δρουν κατά την εφηβεία και την ενήλικη ζωή, ενώ η περιγεννητική περίοδος και η παιδική ηλικία δεν έχει διερευνηθεί ενδελεχώς (13,14). Όπως προκύπτει από την ίδια σύνοψη πεδίου, πολλοί παράγοντες κινδύνου έχουν διερευνηθεί ως προς τη συσχέτισή τους με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση. Το κάπνισμα, η παρουσία αντισωμάτων τύπου IgG έναντι του πυρηνικού αντιγόνου του ιού Epstein-Barr, το ιστορικό λοιμώδους

⁴ Το παρόν κεφάλαιο βασίζεται στην ακόλουθη επιστημονική εργασία, η οποία έχει γίνει δεκτή προς δημοσίευση στο επιστημονικό περιοδικό *Neuroepidemiology*:

Belbasis L, Bellou V, Tzoulaki I, Evangelou E. Early-life factors and risk of multiple sclerosis: An MR-EWAS.

μονοπυρήνωσης και η παιδική παχυσαρκία αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την πολλαπλή σκλήρυνση με επαρκή επιδημιολογική αξιοπιστία (13,14).

Η ερευνητική εργασία που παρουσιάζεται στο παρόν κεφάλαιο στοχεύει στη μελέτη των περιβαλλοντικών παραγόντων στα πρώτα στάδια της ζωής ως παράγοντες κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση. Για την επίτευξη του στόχου αυτού, αξιοποιήθηκαν δεδομένα από την πληθυσμιακή μελέτη της *UK Biobank*, όπου εφαρμόστηκε μία υβριδική προσέγγιση που αποτελεί συνδυασμό μελέτης ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης (*environment-wide association study*) και μελέτης Μενδελιανής τυχαιοποίησης (*Mendelian randomization*). Ως πρώτο βήμα, επιλέχθηκαν με αγνωστική προσέγγιση οι παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι αναφέρονται στην περιγεννητική περίοδο έως και την εφηβεία και έχουν καταγραφεί στη *UK Biobank*, για την υλοποίηση μιας μελέτης ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης. Ως δεύτερο βήμα, οι παράγοντες κινδύνου με στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση μελετήθηκαν σε μία μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

6.2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην περιγραφή της μεθοδολογίας και των αποτελεσμάτων της παρούσας ερευνητικής εργασίας ακολουθήθηκαν οι συστάσεις από το *STROBE statement* (*Strengthening The Reporting of Observational Studies in Epidemiology*) (116). Η πρόσβαση στα δεδομένα της *UK Biobank* κατέστη δυνατή μέσω της αίτησης με κωδικό 22102.

6.2.1 Περιγραφή της υβριδικής μελέτης

Ο σχεδιασμός της υβριδικής μελέτης βασίστηκε σε δύο βήματα. Κατά το πρώτο βήμα, σχεδιάστηκε μία μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης στον πληθυσμό της *UK Biobank*, όπου εξετάστηκε η συσχέτιση των παραγόντων που δρουν στα πρώτα στάδια της ζωής με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση. Κατά το δεύτερο βήμα, οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις από το προηγούμενο βήμα εξετάστηκαν σε μία μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Στο εξής, με το ακρωνύμιο *MR-EWAS* θα δηλώνεται ο υβριδικός σχεδιασμός που περιεγράφηκε στην παράγραφο αυτή.

6.2.2 Η μελέτη *UK Biobank*

Η παρούσα ερευνητική εργασία βασίστηκε στον πληθυσμό της *UK Biobank*, η οποία είναι μία πληθυσμιακή μελέτη περισσότερων από 500,000 συμμετεχόντων με στόχο τη μελέτη των γενετικών και μη γενετικών παραγόντων κινδύνου των χρόνιων νόσων (306). Η εγγραφή των συμμετεχόντων πραγματοποιήθηκε από το 2006 έως το 2010 σε 21 συνολικά κέντρα στο Ηνωμένο Βασίλειο. Η συλλογή των δεδομένων και η καταγραφή των μεταβλητών πραγματοποιήθηκε κατά την περίοδο της εγγραφής. Η παρακολούθηση των συμμετεχόντων βασίστηκε στη σύνδεση του πληθυσμού της *UK Biobank* με τη βάση δεδομένων *Health Episode Statistics* για την καταγραφή διαγνώσεων ασθενειών (307) και τη βάση δεδομένων *Office for National Statistics* για την καταγραφή της αιτίας θανάτου των συμμετεχόντων. Η βάση δεδομένων *Health Episode Statistics* αποτελεί το αρχείο των εισιτηρίων και εξιτηρίων των ασθενών από τα νοσοκομεία του Βρετανικού Εθνικού Συστήματος Υγείας, όπου η αιτία εισόδου και τα συνοδά νοσήματα των ασθενών καταγράφονται σύμφωνα με την κωδικοποίηση κατά ICD9 και κατά ICD10. Η βάση δεδομένων *Office for National Statistics* αντιστοιχεί στο αρχείο των πράξεων θανάτου για τον πληθυσμό του Ηνωμένου Βασιλείου, όπου η αιτία θανάτου και τα υπόλοιπα συνοδά νοσήματα των ασθενών καταγράφονται σύμφωνα με την κωδικοποίηση κατά ICD9 και κατά ICD10. Για την

παρούσα ερευνητική εργασία, η παρακολούθηση των συμμετεχόντων ολοκληρώθηκε στις 31 Μαρτίου 2015.

6.2.3 Ο πληθυσμός της μελέτης

Επιλέχθηκαν όλοι οι συμμετέχοντες στην UK Biobank που δήλωσαν ευρωπαϊκή καταγωγή. Για τους συμμετέχοντες με 1^{ου} ή 2^{ου} βαθμού συγγένεια, επιλέχθηκε τυχαία ένας μόνο συμμετέχοντας. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης *Kinship coefficient* για να οριστεί η συγγένεια μεταξύ των συμμετεχόντων της UK Biobank (308). Ο δείκτης *Kinship coefficient* ήταν διαθέσιμος από τα δεδομένα της UK Biobank και ένας συντελεστής ίσος με τουλάχιστον 0.08838835 χρησιμοποιήθηκε για να οριστούν οι συμμετέχοντες με 1^{ου} ή 2^{ου} βαθμού συγγένεια (308).

Συνδυάστηκαν πολλές πηγές για να εντοπιστούν οι ασθενείς που ανέπτυξαν πολλαπλή σκλήρυνση: α) το αρχείο καταγραφής *Health Episode Statistics*, β) το αρχείο καταγραφής *Office for National Statistics*, και γ) οι αυτό-αναφερόμενες διαγνώσεις από τους ασθενείς κατά την προφορική συνέντευξη. Στα αρχεία καταγραφής *Health Episode Statistics* και *Office for National Statistics*, οι διαγνώσεις καταγράφονται βάσει της κωδικοποίησης ICD9 και ICD10. Επιπλέον, κατά την προφορική συνέντευξη, οι συμμετέχοντες ρωτήθηκαν σχετικά με την παρουσία χρόνιων ασθενειών («*In the touch screen you selected that you have been told by a doctor that you have other serious illnesses or disabilities, could you tell me what they are?*») και η καθεμία αυτό-αναφερόμενη πάθηση κωδικοποιήθηκε με έναν ανεξάρτητο κωδικό.

Ως ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση ορίστηκαν οι συμμετέχοντες με διάγνωση G35 κατά ICD10, οι συμμετέχοντες με διάγνωση 340 κατά ICD9 και οι συμμετέχοντες που ανέφεραν ότι πάσχουν από πολλαπλή σκλήρυνση κατά την προφορική εξέταση. Ο ορισμός της νόσου με βάση τους κωδικούς κατά ICD βασίστηκε σε μία συστηματική

ανασκόπηση για τη βέλτιστη αναγνώριση ασθενών με πολλαπλή σκλήρυνση χρησιμοποιώντας δεδομένα από διοικητικά αρχεία καταγραφής, με βάση την οποία η αναγνώριση ασθενών με τη χρήση ICD κωδικών παρουσιάζει ευαισθησία μεγαλύτερη από 90% (309). Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της αυτοματοποιημένης συνέντευξης των συμμετεχόντων με τη χρήση οθόνης αφής, οι συμμετέχοντες ρωτήθηκαν σχετικά με τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής για χρόνια νοσήματα και κάθε φαρμακευτική αγωγή κωδικοποιήθηκε με ένα μοναδικό κωδικό. Προκειμένου να αναγνωριστούν επιπλέον άτομα με διάγνωση πολλαπλής σκλήρυνσης, αναζητήθηκαν άτομα που ελάμβαναν φαρμακευτική αγωγή με έγκριση μόνο για την πολλαπλή σκλήρυνση κατά την χρονική εκείνη περίοδο (*Glatiramer, Daclizumab, Teriflunomide, Fingolimod, Dimethyl fumarate, Ocrelizumab*). Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η έκθεση στους υπό μελέτη παράγοντες κινδύνου λαμβάνει χώρα κατά την περιγεννητική περίοδο, ή την παιδική και εφηβική ηλικία και ότι ένα ποσοστό μεγαλύτερο από το 90% των διαγνώσεων πολλαπλής σκλήρυνσης πραγματοποιείται κατά την τρίτη ή τέταρτη δεκαετία της ζωής (304), θεωρήθηκε ότι όλες οι διαγνώσεις πολλαπλής σκλήρυνσης έλαβαν χώρα μετά την έκθεση στους υπό μελέτη παράγοντες κινδύνου.

6.2.4 Επιλογή των μεταβλητών

Η επιλογή των υπό μελέτη εκθέσεων πραγματοποιήθηκε με αγνωστική προσέγγιση, ώστε να επιλεγούν όλες οι διαθέσιμες εκθέσεις και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που λαμβάνουν χώρα από τη γέννηση μέχρι την εφηβική ηλικία. Συνολικά, αναγνωρίστηκαν 13 παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι κατηγοριοποιήθηκαν σε περιγεννητικούς παράγοντες (θηλασμός, κάπνισμα μητέρας την περίοδο του τοκετού, πολύδυμος κύηση, βάρος γέννησης), ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά κατά την παιδική ηλικία (συγκριτικό μέγεθος σώματος κατά την ηλικία των 10 ετών, συγκριτικό ύψος κατά την ηλικία των 10 ετών), ανδρικά και γυναικεία αναπαραγωγικά

χαρακτηριστικά (σχετική ηλικία έναρξης της τριχοφυΐας στο πρόσωπο, σχετική ηλικία αλλαγής της φωνής, ηλικία εμμηναρχής) και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του δέρματος και μαλλιών (εγκαύματα κατά την παιδική ηλικία, χρώμα δέρματος, χρώμα μαλλιών, ευκολία μαυρίσματος του δέρματος).

6.2.5 Στατιστική ανάλυση για τη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης

Το μοντέλο της λογιστικής παλινδρόμησης εφαρμόστηκε για να υπολογιστούν οι λόγοι αναλογιών (*odds ratios*) για τους 13 παράγοντες κινδύνου που μελετήθηκαν και να υπολογιστούν τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης. Σε όλα τα μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης, συμπεριλήφθηκε το φύλο και η ηλικία, με εξαίρεση τα μοντέλα που αφορούσαν τις εκθέσεις που σχετίζονταν με το φύλο (σχετική ηλικία έναρξης της τριχοφυΐας στο πρόσωπο, σχετική ηλικία αλλαγής της φωνής, ηλικία εμμηναρχής) όπου συμπεριλήφθηκε μόνο η ηλικία. Το βάρος γέννησης και η ηλικία εμμηναρχής αναλύθηκαν ως συνεχείς μεταβλητές. Οι υπόλοιπες εκθέσεις αναλύθηκαν είτε ως διχότομες ή ως κατηγορικές μεταβλητές. Σε όλες τις αναλύσεις, οι συμμετέχοντες με ελλείπουσες τιμές αποκλείστηκαν από την ανάλυση. Κατά την εξαγωγή της στατιστικής συμπερασματολογίας για τις διατάξιμες κατηγορικές μεταβλητές, υπολογίστηκε ο κίνδυνος ανάπτυξης πολλαπλής σκλήρυνσης στην ομάδα με την υψηλότερη έκθεση σε σύγκριση με την ομάδα με τη χαμηλότερη έκθεση. Επίσης, για τις εκθέσεις που παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση, εφαρμόστηκε ένα μοντέλο πολυμεταβλητής λογιστικής παλινδρόμησης για να εξεταστεί εάν οι εκθέσεις αυτές αποτελούν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη πολλαπλής σκλήρυνσης.

Για να υπολογιστεί το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας, εφαρμόστηκε η διόρθωση κατά *Bonferroni*. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν 13 στατιστικές συγκρίσεις,

οπότε το όριο για την *P-value* τέθηκε στο $P\text{-value} < 3.85 \times 10^{-3}$. Για τη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης (*environment-wide association study*), οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος *STATA*, *version 14.0* (*STAT Corp LP, College Station, Texas*).

6.2.6 Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης

Για κάθε μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση σύμφωνα με το διορθωμένο κατά *Bonferroni* όριο της *P-value*, εφαρμόστηκε η προσέγγιση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Στην προσέγγιση αυτή, γενετικοί πολυμορφισμοί χρησιμοποιούνται ως βοηθητικές μεταβλητές (*instrumental variables*) για την υπό μελέτη έκθεση. Στην παρούσα ερευνητική εργασία, εφαρμόστηκε η μέθοδος της Μενδελιανής τυχαιοποίησης με δύο δείγματα (*two-sample Mendelian randomization*), δηλαδή η χρήση συνοπτικού επιπέδου δεδομένων (*summary level data*) για τη συσχέτιση γενετικών πολυμορφισμών με την έκθεση και την έκβαση από δείγματα με ανεξάρτητους πληθυσμούς (73). Κατά το σχεδιασμό και την εκτέλεση της μελέτης Μενδελιανής τυχαιοποίησης με δύο δείγματα ακολουθήθηκαν οι αντίστοιχες δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες για την εναρμόνιση των δειγμάτων (73).

Για τους παράγοντες κινδύνου, αναζητήθηκαν μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης (*genome-wide association studies*) σε πληθυσμό ευρωπαϊκής καταγωγής στη βάση δεδομένων *GWAS Catalog* (310). Από κάθε μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης, επιλέχθηκαν όλοι οι ανεξάρτητοι γενετικοί πολυμορφισμοί (*single nucleotide polymorphisms*) που σχετίζονταν με τις υπό μελέτη εκθέσεις στο επίπεδο της ευρείας γονιδιωματικής στατιστικής σημαντικότητας $P\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$. Για τους πολυμορφισμούς αυτούς, καταγράφηκαν ο αριθμός *rs*, οι συχνότητες των αλληλίων, το μέγεθος αποτελέσματος και το αντίστοιχο τυπικό σφάλμα ή 95% διάστημα

εμπιστοσύνης. Σε κάθε μία γενετική βοηθητική μεταβλητή, επιλέχθηκαν ανεξάρτητοι γενετικοί πολυμορφισμοί, δηλαδή γενετικοί πολυμορφισμοί που δεν βρίσκονταν σε ανισορροπία σύνδεσης (*linkage disequilibrium*). Χρησιμοποιήθηκε το διαδικτυακό εργαλείο *SNiPA* για να εξεταστεί εάν οι γενετικοί πολυμορφισμοί βρίσκονταν σε ανισορροπία σύνδεσης, εφαρμόζοντας το όριο $r^2 < 0.10$ στην πλατφόρμα *1000Genomes, Phase 3 v5* (311). Στη γενετική βοηθητική μεταβλητή, ενσωματώθηκαν μόνο αυτοσωμικοί γενετικοί πολυμορφισμοί, ενώ αποκλείστηκαν γενετικοί πολυμορφισμοί που εδράζονται στην περιοχή του γονιδίου *Human Leukocyte Antigen*.

Επίσης, αξιοποιήθηκαν συνοπτικού επιπέδου δεδομένα από την πιο πρόσφατη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης για την πολλαπλή σκλήρυνση σε συμμετέχοντες ευρωπαϊκής καταγωγής (312). Η πρόσβαση στα δεδομένα αυτά κατέστη δυνατή κατόπιν επικοινωνίας με το *International Multiple Sclerosis Genetic Consortium*. Η μελέτη αυτή περιλάμβανε 14,802 ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση και 26,703 μάρτυρες ευρωπαϊκής καταγωγής.

Στην ανάλυση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, εφαρμόστηκε η μέθοδος της αντίστροφης διακύμανσης. Μία βασική υπόθεση της μεθόδου αυτής αποτελεί η επίδραση του καθενός γενετικού πολυμορφισμού στην έκβαση μόνο διαμέσου της έκθεσης που μελετάται, επειδή η ενσωμάτωση γενετικών πολυμορφισμών με πλειοτροπική δράση ως βοηθητικές μεταβλητές οδηγεί σε εσφαλμένη εκτίμηση του αποτελέσματος. Αναλύσεις ευαισθησίας για τη διερεύνηση πιθανών πλειοτροπικών δράσεων της βοηθητικής μεταβλητής πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο της σταθμισμένης διαμέσου (76), τη μέθοδο *MR-Egger* (75), και τη μέθοδο *MR-PRESSO* (78). Στις αναλύσεις της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, για την αναγνώριση στατιστικά σημαντικών ευρημάτων επιλέχθηκε το όριο $P\text{-value} < 0.05$.

Η καταλληλότητα των γενετικών βοηθητικών μεταβλητών αξιολογήθηκε με το στατιστικό μέτρο *Bowden I²*, το οποίο αποτελεί ένα μέτρο της ισχύος της βοηθητικής μεταβλητής στη μέθοδο *MR-Egger* (313). Μία τιμή του *Bowden I²* πλησίον του 100% ερμηνεύεται ως ένδειξη ότι ο εκτιμητής του αποτελέσματος με βάση τη μέθοδο *MR-Egger* δεν επηρεάζεται από το συστηματικό σφάλμα ασθενούς βοηθητικής μεταβλητής (*weak instrument bias*) (72). Επίσης, η σταθερά (*intercept*) από τη μέθοδο *MR-Egger* αξιοποιήθηκε ως ένας επιπλέον έλεγχος παρουσίας πλειοτροπίας. Η μέθοδος *MR-PRESSO* αποτελεί μία επιπλέον προσέγγιση για τον έλεγχο της παρουσίας πλειοτροπίας και αποτελείται από τρία βήματα: α) μία σφαιρική δοκιμασία για την ανίχνευση οριζόντιας πλειοτροπίας, β) μία στατιστική δοκιμασία για τον εντοπισμό και τον αποκλεισμό πολυμορφισμών με πλειοτροπική δράση, και γ) μία στατιστική δοκιμασία για τον έλεγχο παρουσίας διαφοράς μεταξύ της εκτίμησης με και χωρίς τη διόρθωση για την παρουσία πλειοτροπικών δράσεων (78).

Για τους παράγοντες κινδύνου που παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στην ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης, εφαρμόστηκε η πολυμεταβλητή ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης για να εξεταστεί εάν οι παρατηρούμενες συσχετίσεις μπορούν να αποδοθούν στην παρουσία συγγενικών παραγόντων ή στην παρουσία διαμεσολαβητών (79). Επιπλέον, η προσέγγιση της πολυμεταβλητής ανάλυσης Μενδελιανής τυχαιοποίησης αποτελεί μία μέθοδο για τον έλεγχο της πλειοτροπικής δράσης των γενετικών πολυμορφισμών. Στην ανάλυση αυτή, χρησιμοποιήθηκε το διαδικτυακό εργαλείο *SNiPA* για να αναζητηθούν υποκατάστατοι γενετικοί πολυμορφισμοί με $r^2 > 0.60$ στην πλατφόρμα *1000Genomes*, *Phase 3 v5*. Στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι συσχετίσεις με *P-value* < 0.05.

Για τη μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης, οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο στατιστικό πρόγραμμα *R*, version 3.5.2, με τη χρήση των πακέτων *MendelianRandomization* (314) και *MRPRESSO* (78).

6.2.7 Υπολογισμός στατιστικής ισχύος για την υβριδική προσέγγιση

Πραγματοποιήθηκε υπολογισμός της στατιστικής ισχύος για τον υβριδικό σχεδιασμό της μελέτης *MR-EWAS*, προκειμένου να εξετασθεί εάν ο σχεδιασμός αυτός είναι μια αποτελεσματική προσέγγιση για την ιεράρχηση συσχετίσεων για ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης και εάν η στατιστική ισχύς του υβριδικού αυτού σχεδιασμού υπερτερεί της διενέργειας πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης ακολουθώντας μια αγνωστική προσέγγιση.

Για τη διενέργεια του υπολογισμού της στατιστικής ισχύος, υποθέσαμε ότι η λογιστική παλινδρόμηση στη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης έχει ικανοποιητική στατιστική ισχύ ($Power_{EWAS}$) ίση με 0.90. Για τη μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης, αρχικά υποθέσαμε ένα δείγμα 14,802 ασθενών και 26,703 υγείων συμμετεχόντων, το οποίο αντιστοιχεί στον πληθυσμό της πιο πρόσφατα δημοσιευμένης μελέτης ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης για την πολλαπλή σκλήρυνση. Η στατιστική ισχύς της μελέτης Μενδελιανής τυχαιοποίησης ($Power_{MR}$) εξαρτάται από το ποσοστό της ερμηνευμένης μεταβλητότητας για την έκθεση, την πραγματική τιμή του λόγου αναλογιών, το μέγεθος του δείγματος και το λόγο των ασθενών προς τους υγιείς στη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης για την έκβαση και το όριο στατιστικής σημαντικότητας. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε υπολογισμός της στατιστικής ισχύος ($Power_{MR-EWAS}$) για τον υβριδικό σχεδιασμό *MR-EWAS*, ο οποίος αποτελείται από δύο βήματα, ως εξής:

$$Power_{MR-EWAS} = Power_{EWAS} \times Power_{MR}$$

Εφαρμόστηκαν τέσσερα διαφορετικά σενάρια για την πραγματική τιμή του λόγου αναλογιών (δηλαδή 1.05, 1.10, 1.15 και 1.20). Για το ερμηνευόμενο ποσοστό της μεταβλητότητας για την έκθεση, χρησιμοποιήθηκαν πολλαπλά διαφορετικά σενάρια με εύρος τιμών από 0.005 έως 0.200, ακολουθώντας δύο προηγούμενες μελέτες προσομοίωσης σχετικά με τον υπολογισμό της στατιστικής ισχύος σε μελέτες Μενδελιανής τυχαιοποίησης (315,316). Για τον υβριδικό σχεδιασμό το όριο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε στο $\alpha = 0.05$, ενώ εφαρμόστηκαν δύο επιπλέον όρια διορθωμένα κατά Bonferroni για 50 συσχετίσεις ($\alpha = 0.001$) και για 100 συσχετίσεις ($\alpha = 0.0005$). Στη συνέχεια, έγινε σύγκριση της στατιστικής ισχύος του υβριδικού σχεδιασμού με τη στατιστική ισχύ πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης με αγνωστική προσέγγιση για 50 και 100 συσχετίσεις. Ως ανάλυση ευαισθησίας, επαναλήφθηκαν οι υπολογισμοί της στατιστικής ισχύος σε ένα δείγμα 7401 ασθενών και 13,351 υγιών (δηλαδή ίσο με το ήμισυ του αρχικού δείγματος) και σε ένα δείγμα 4934 ασθενών και 8901 υγιών (δηλαδή ίσο με το ένα τρίτο του αρχικού δείγματος). Για κάθε ένα από τα σενάρια που περιγράφηκαν παραπάνω, σχεδιάστηκαν οι καμπύλες της στατιστικής ισχύος σε σχέση με τη τιμή του ποσοστού της ερμηνευόμενης μεταβλητότητας.

Ο υπολογισμός της στατιστικής ισχύος για τις μελέτες Μενδελιανής τυχαιοποίησης πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα *R*, version 3.5.2 με βάση έναν κώδικα διαθέσιμο από τη βιβλιογραφία (317).

6.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η *UK Biobank* περιλαμβάνει συνολικά 502,637 συμμετέχοντες (54% γυναίκες). Από αυτόν τον πληθυσμό, εξαιρέθηκαν 36,182 συμμετέχοντες λόγω συγγένειας και

28,522 συμμετέχοντες λόγω μη ευρωπαϊκής καταγωγής. Το τελικό δείγμα της παρούσας μελέτης αποτελούνταν από 437,903 συμμετέχοντες, εκ των οποίων 1944 ήταν ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση. Στην **Εικόνα 6**, περιγράφεται το διάγραμμα ροής για την επιλογή του πληθυσμού της παρούσας ερευνητικής εργασίας.

6.3.1 Μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης στην UK Biobank

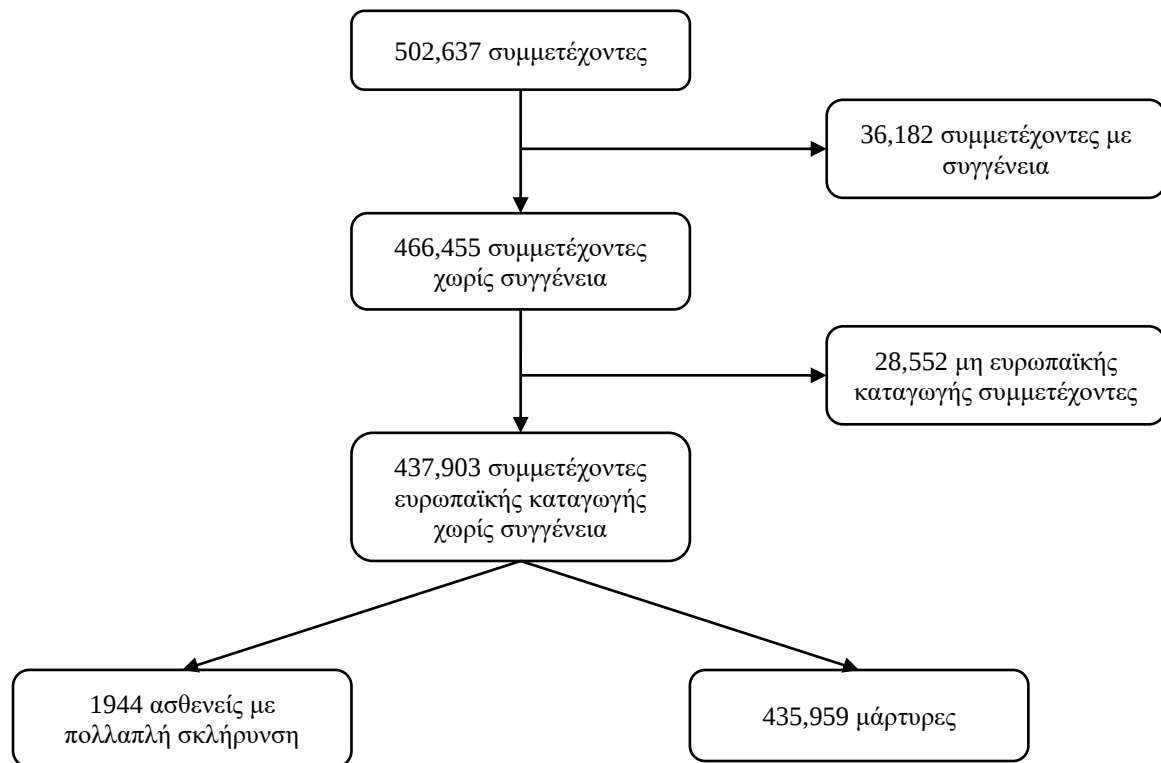
Από τις 13 συσχετίσεις που εξετάστηκαν, 6 συσχετίσεις ήταν στατιστικά σημαντικές στο όριο $P\text{-value} < 0.05$, αλλά μόνο 3 συσχετίσεις παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά την εφαρμογή ενός αυστηρότερου ορίου ($P\text{-value} < 3.85 \times 10^{-3}$) με την εφαρμογή της διόρθωσης κατά *Bonferroni*. Η αύξηση της ηλικίας της εμμηναρχής κατά ένα έτος ήταν προστατευτική για τον κίνδυνο ανάπτυξης πολλαπλής σκλήρυνσης και σχετίστηκε με ένα λόγο αναλογιών ίσο με 0.93 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 0.90 – 0.96) και με $P\text{-value} = 2.3 \times 10^{-5}$. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του σχετικού μεγέθους σώματος στην ηλικία των 10 ετών. Ένα σχετικά μεγάλο μέγεθος σώματος (*plumber than average body size*) σε σύγκριση με το σχετικά αδύνατο μέγεθος σώματος (*thinner than average body size*) στην ηλικία των 10 ετών σχετίστηκε με ένα λόγο αναλογιών ίσο με 1.38 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 1.21 – 1.58) και με $P\text{-value} = 1.4 \times 10^{-6}$. Επίσης, συμμετέχοντες με πολύ μεγάλη ευκολία μαυρίσματος εμφάνισαν μειωμένο κίνδυνο για ανάπτυξη πολλαπλής σκλήρυνσης με ένα λόγο αναλογιών ίσο με 0.87 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 0.79 – 0.95) και με $P\text{-value} = 0.002$ σε σύγκριση με τους συμμετέχοντες που δε μαυρίζουν ποτέ.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, 3 επιπλέον παράγοντες κινδύνου εμφάνισαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με το κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση με $P\text{-value} < 0.05$ αλλά δεν παρέμειναν στατιστικά σημαντικοί μετά την εφαρμογή της διόρθωσης κατά *Bonferroni*. Οι παράγοντες αυτοί ήταν το σχετικό ύψος στην ηλικία των 10 ετών,

η σχετική ηλικία έναρξης τριχοφυΐας προσώπου και η σχετική ηλικία αλλαγής της φωνής. Τα αποτελέσματα των μοντέλων λογιστικής παλινδρόμησης για τις 13 συσχετίσεις παρατίθενται στον **Πίνακα 19**.

Η ευκολία μαυρίσματος έχασε τη στατιστική της σημαντικότητα όταν συνδυάστηκε στο ίδιο μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης με το συγκριτικό μέγεθος σώματος. Στα υπόλοιπα μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης και οι τρεις εκθέσεις παρέμειναν στατιστικά σημαντικές. Στον **Πίνακα 20**, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πολυμεταβλητής λογιστικής παλινδρόμησης για τους 3 παράγοντες κινδύνου με στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση.

Εικόνα 6. Διάγραμμα ροής της διαδικασίας επιλογής των συμμετεχόντων για τη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης από τον πληθυσμό της *UK Biobank*



Πίνακας 19. Αποτελέσματα των μοντέλων λογιστικής παλινδρόμησης για τη συσχέτιση 13 παραγόντων κινδύνου με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση στη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης

Risk factors	Level of comparison	N of cases / N of controls	OR (95% CI)	P-value
Age at menarche	Per 1-year increase	1381/229,200	0.93 (0.90 to 0.96)	2.3×10^{-5}
Birth weight	Per 1-kg increase	1166/246,716	0.98 (0.89 to 1.07)	0.613
Breastfeeding	No	488/95,615	1.00 (Reference)	0.928
	Yes	1091/235,179	1.01 (0.90 to 1.12)	
Childhood burning occasions	No	732/168,908	1.00 (Reference)	0.185
	Yes	726/158,968	1.07 (0.97 to 1.19)	
Comparative body size at age 10	Thinner than average	533/140,722	1.00 (Reference)	2.9×10^{-3}
	About average	989/218,937	1.17 (1.06 to 1.30)	
	Plumper than average	390/68,869	1.38 (1.21 to 1.58)	
Comparative height size at age 10	Shorter than average	362/87,175	1.00 (Reference)	0.162
	About average	1021/231,764	1.09 (0.97 to 1.23)	
	Taller than average	524/109,964	1.16 (1.02 to 1.33)	

Risk factors	Level of comparison	N of cases / N of controls	OR (95% CI)	P-value
Ease of tanning	Never tan, only burn or get mildly or occasionally tanned	846/164,764	1.00 (Reference)	0.002
	Get very tanned or moderately tanned	1032/259,232	0.87 (0.79 to 0.95)	
Hair colour	Blonde	221/48,819	1.00 (Reference)	0.684
	Black or Brown	1598/361,170	1.03 (0.89 to 1.19)	
	Red or other	118/25,125	1.07 (0.86 to 1.34)	
Maternal smoking around birth	No	1177/259,438	1.00 (Reference)	0.447
	Yes	499/114,953	0.96 (0.86 to 1.07)	
Part of multiple birth	No	1864/419,582	1.00 (Reference)	0.902
	Yes	42/9547	0.98 (0.72 to 1.33)	
Relative age of first facial hair	Younger than average	46/12,889	1.00 (Reference)	0.108
	About average	407/154,237	0.78 (0.57 to 1.06)	
	Older than average	52/24,800	0.59 (0.40 to 0.88)	
Relative age voice broke	Younger than average	32/7954	1.00 (Reference)	0.031
	About average	425/164,721	0.67 (0.47 to 0.97)	

Risk factors	Level of comparison	N of cases / N of controls	OR (95% CI)	P-value
	Older than average	29/10,842	0.67 (0.40 to 1.10)	0.113
Skin colour	Fair or very fair	1547/341,290	1.00 (Reference)	
	Brown or olive	369/89,196	0.90 (0.80 to 1.01)	0.069

Abbreviations: CI: confidence interval; OR: odds ratio

Πίνακας 20. Αποτελεσμάτα της πολυμεταβλητής ανάλυσης για τις 3 συσχετίσεις με στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης

Risk factor	Level of comparison	OR	95% CI	P-value
<i>Model 1</i>				
Comparative body size at age 10	Plumber than average vs. Thinner than average	1.31	1.12 – 1.54	7.79×10^{-4}
Age at menarche	Per 1-year increase	0.94	0.91 – 0.97	5.01×10^{-4}
<i>Model 2</i>				
Ease of tanning	Get very tanned or moderately tanned vs. Never tan, only burn or get mildly or occasionally tanned	0.84	0.76 – 0.94	1.58×10^{-3}
Age at menarche	Per 1-year increase	0.93	0.90 to 0.96	8.99×10^{-6}
<i>Model 3</i>				
Comparative body size at age 10	Plumber than average vs. Thinner than average	1.37	1.20 to 1.56	4.03×10^{-6}
Ease of tanning	Get very tanned or moderately tanned vs. Never tan, only burn or get mildly or occasionally tanned	0.88	0.80 to 0.96	4.80×10^{-3}

6.3.2 Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης για την ηλικία εμμηναρχής

Με βάση τα ευρήματα από τις στατιστικές αναλύσεις στον πληθυσμό της UK Biobank, η ηλικία εμμηναρχής, η παιδική παχυσαρκία και η ευκολία μαυρίσματος επιλέχθηκαν για να εξεταστούν με την προσέγγιση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Για την ηλικία εμμηναρχής, κατασκευάστηκε μία γενετική βοηθητική μεταβλητή βάσει της τελευταίας δημοσιευμένης μετα-ανάλυσης μελετών ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης, όπου περιγράφονται 389 στατιστικά σημαντικοί γενετικοί πολυμορφισμοί στο όριο της ευρείας γονιδιωματικής στατιστικής σημαντικότητας σε 329,345 γυναίκες ευρωπαϊκής καταγωγής (318). Εφαρμόζοντας τα κριτήρια αποκλεισμού για τους γενετικούς πολυμορφισμούς, η γενετική βοηθητική μεταβλητή για την ηλικία εμμηναρχής αποτελούνταν από 344 γενετικούς πολυμορφισμούς. Εφαρμόζοντας τη μέθοδο της σταθερής επίδρασης, η αύξηση της ηλικίας εμμηναρχής κατά 1 έτος συσχετίστηκε με μείωση του κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση με λόγο αναλογιών ίσο με 0.91 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 0.85 – 0.99) και $P\text{-value} = 0.024$. Όμως, ο εκτιμητής του κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση με τη μέθοδο της σταθμισμένης διαμέσου και τη μέθοδο του Egger δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Από την εφαρμογή της μεθόδου του Egger δεν προέκυψε ένδειξη για παρουσία πλειοτροπίας ($P\text{-value} = 0.618$). Το στατιστικό *Bowden I^2* ήταν ίσο με 97.8%, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η γενετική βοηθητική μεταβλητή που χρησιμοποιήθηκε ήταν ισχυρή. Από την εφαρμογή της σφαιρικής στατιστικής δοκιμασίας της μεθόδου MR-PRESSO προκύπτει παρουσία οριζόντιας πλειοτροπίας ($P\text{-value} < 1 \times 10^{-4}$), η οποία αποδόθηκε σε 4 γενετικούς πολυμορφισμούς. Ο λόγος αναλογιών με τη διόρθωση για την παρουσία οριζόντιας πλειοτροπίας ήταν 0.90 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 0.84 – 0.96) με $P\text{-value} = 0.002$, αλλά δεν ανιχνεύθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο εκτιμήσεων ($P\text{-value} = 0.645$). Στον

Πίνακα 21, παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από την εφαρμογή των διαφόρων μεθόδων Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

6.3.3 Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης για την παιδική παχυσαρκία

Για την παιδική παχυσαρκία, χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα συνοπτικού επιπέδου από την τελευταία δημοσιευμένη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης για τον δείκτη μάζας σώματος στην παιδική ηλικία σε συνολικό πληθυσμό 47,541 παιδιών ευρωπαϊκής καταγωγής (319). Στη μελέτη αυτή, περιγράφονται 15 ανεξάρτητοι γενετικοί πολυμορφισμοί που σχετίζονται με το δείκτη μάζας σώματος στην παιδική ηλικία, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της γενετικής βοηθητικής μεταβλητής. Εφαρμόζοντας τη μέθοδο σταθερής επίδρασης, μία αύξηση στο δείκτη μάζας σώματος στην παιδική ηλικία κατά 1 τυπική απόκλιση σχετίζεται με ένα λόγο αναλογιών ίσο με 1.22 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 1.05 – 1.41) για τον κίνδυνο εμφάνισης πολλαπλής σκλήρυνσης και $P\text{-value} = 0.009$. Η σταθερά από τη μέθοδο Egger δεν παρουσίασε ενδείξεις για πλειοτροπία των γενετικών πολυμορφισμών ($P\text{-value} = 0.657$), εύρημα με το οποίο συμφωνεί και η ανάλυση με τη μέθοδο MR-PRESSO. Το στατιστικό μέτρο Bowden I^2 ήταν ίσο με 84.1%. Στον **Πίνακα 21**, παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από την εφαρμογή των διαφόρων μεθόδων Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

6.3.4 Μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης για την ευκολία μαυρίσματος

Για την ευκολία μαυρίσματος, χρησιμοποιήθηκε η τελευταία δημοσιευμένη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης σε ευρωπαϊκό πληθυσμό 176,678 ατόμων, όπου περιγράφονται 20 στατιστικά σημαντικοί γενετικοί πολυμορφισμοί (320). Στα συνοπτικού επιπέδου δεδομένα για την πολλαπλή σκλήρυνση, 19 από τους 20 γενετικούς πολυμορφισμούς ήταν διαθέσιμοι για την κατασκευή της βοηθητικής

μεταβλητής. Με την εφαρμογή της μεθόδου σταθερής επίδρασης, η ευκολία μαυρίσματος δε συσχετίστηκε με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση και ο λόγος αναλογιών για τη συσχέτιση αυτή ήταν 0.96 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 0.90 – 1.01) και $P\text{-value} = 0.130$. Η μέθοδος του Egger δεν έδειξε παρουσία πλειοτροπίας, παρατήρηση που συμφωνεί με τα ευρήματα από τη μέθοδο MR-PRESSO. Το στατιστικό μέτρο *Bowden* I^2 ήταν ίσο με 99%. Στον **Πίνακα 21**, παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από την εφαρμογή των διαφόρων μεθόδων Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

Πίνακας 21. Αποτελέσματα των αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης για τη συσχέτιση της ηλικίας εμμηναρχής, του δείκτη μάζας σώματος στην παιδική ηλικία και της ευκολίας μαυρίσματος με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση

	Age at menarche (344 SNPs)	Childhood BMI (15 SNPs)	Ease of tanning (19 SNPs)
IVW OR (95% CI)	0.91 (0.85 to 0.99)	1.22 (1.05 to 1.41)	0.96 (0.90 to 1.01)
P-value for IVW	0.024	0.009	0.130
MR-Egger OR (95% CI)	0.96 (0.78 to 1.19)	1.07 (0.60 to 1.89)	0.94 (0.86 to 1.01)
P-value for MR-Egger estimate	0.728	0.810	0.105
P-value for MR-Egger intercept	0.618	0.657	0.431
Bowden I² (%)	97.8	84.1	99.0
Weighted-median OR (95% CI)	0.93 (0.84 to 1.02)	1.23 (1.00 to 1.51)	0.92 (0.85 to 1.00)
P-value for weighted median	0.137	0.045	0.043
N of outlier SNPs	6	0	0
MR-PRESSO outlier- corrected OR (95% CI)	0.90 (0.84 to 0.96)	NA	NA
MR-PRESSO outlier- corrected P-value	0.002	NA	NA
MR-PRESSO distortion test	0.645	NA	NA

6.3.5 Υπολογισμός στατιστικής ισχύος για τη υβριδική μέθοδο

Στον **Πίνακα 22**, παρουσιάζεται ο υπολογισμός της στατιστικής ισχύος για την υβριδική προσέγγιση *MR-EWAS* με $\alpha = 0.05$ και ο υπολογισμός της στατιστικής ισχύος για την εκτέλεση πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης σε $\alpha = 0.05$, $\alpha = 0.001$ (δηλαδή $0.05 / 50$ συσχετίσεις) και $\alpha = 0.0005$ (δηλαδή $0.05 / 100$ συσχετίσεις) εφαρμόζοντας τέσσερα διαφορετικά σενάρια για τον πραγματικό λόγο αναλογιών. Στην **Εικόνα 7**, απεικονίζεται η σύγκριση της καμπύλης της στατιστικής ισχύος για τους τρεις ερευνητικούς σχεδιασμούς με βάση τρία διαφορετικά μεγέθη δείγματος (δηλαδή 41,505 συμμετέχοντες, 20,752 συμμετέχοντες και 13,835 συμμετέχοντες) και τέσσερα διαφορετικά σενάρια πραγματικού λόγου αναλογιών (κυμαινόμενοι από 1.05 έως 1.20 με αύξηση κατά 0.05).

Για τιμές της ερμηνευμένης μεταβλητότητας (R^2) από 0.005 έως 0.200, ο υβριδικός σχεδιασμός *MR-EWAS* παρουσιάζει μεγαλύτερη στατιστική ισχύ από την αγνωστική προσέγγιση των 50 αναλύσεων ($\alpha = 0.001$) και 100 αναλύσεων ($\alpha = 0.0005$) Μενδελιανής τυχαιοποίησης, σε τιμές πραγματικού λόγου αναλογιών από 1.05 έως 1.10. Για ένα λόγο αναλογιών ίσο με 1.15, η προσέγγιση *MR-EWAS* παρουσίασε μεγαλύτερη στατιστική ισχύ από τις άλλες δύο προσεγγίσεις για τιμές $R^2 < 0.111$, ενώ για ένα λόγο αναλογιών ίσο με 1.20, η προσέγγιση *MR-EWAS* είχε μεγαλύτερη στατιστική ισχύ από τις άλλες δύο προσεγγίσεις για τιμές $R^2 < 0.066$.

Όσον αφορά τους υπολογισμούς στο δείγμα των 13,835 συμμετεχόντων, ο υβριδικός σχεδιασμός *MR-EWAS* παρουσιάζει μεγαλύτερη στατιστική ισχύ από τις άλλες δύο προσεγγίσεις σε όλα τα σενάρια που εξετάστηκαν. Για τους υπολογισμούς που αφορούν το δείγμα των 20,752 συμμετεχόντων, ο υβριδικός σχεδιασμός *MR-EWAS* είχε μεγαλύτερη στατιστική ισχύ για τους λόγους αναλογιών 1.05, 1.10 και 1.15.

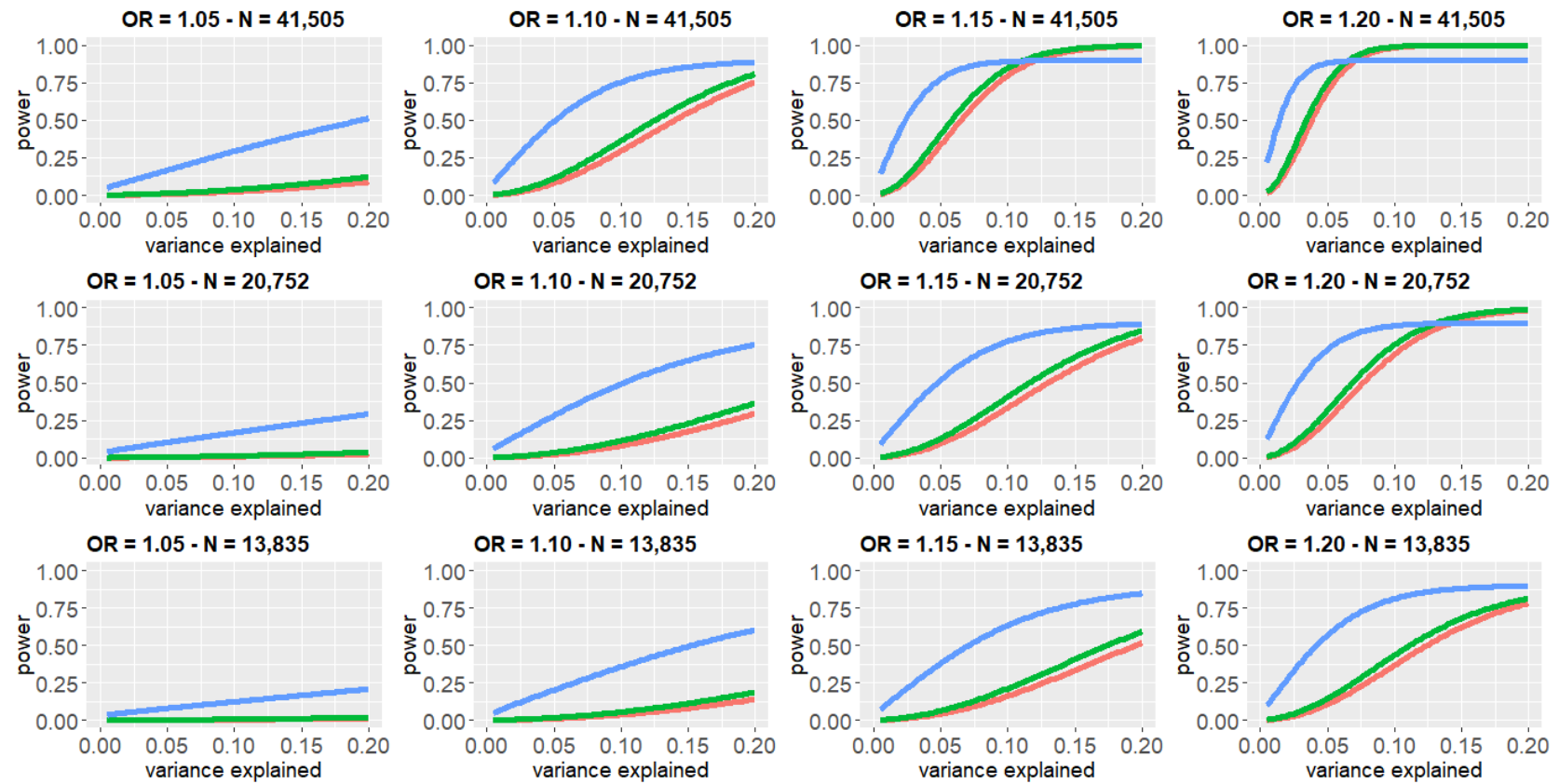
Όμως, για έναν λόγο αναλογιών ίσο με 1.20, η μέθοδος *MR-EWAS* είχε μικρότερη στατιστική ισχύ για τιμή $R^2 > 0.131$.

Πίνακας 22. Υπολογισμοί στατιστικής ισχύος για τον υβριδικό σχεδιασμό *MR-EWAS* και για τη διενέργεια πολλαπλών αναλύσεων

Μενδελιανής τυχαιοποίησης λαμβάνοντας υπόψιν τη διόρθωση κατά *Bonferroni* λόγω πολλαπλών στατιστικών δοκιμασιών ($\alpha = 0.001$ για 50 συσχετίσεις και $\alpha = 0.0005$ για 100 συσχετίσεις)

	OR = 1.05					OR = 1.10					OR = 1.15					OR = 1.20				
R²	0.005	0.01	0.05	0.10	0.15	0.005	0.01	0.05	0.10	0.15	0.005	0.01	0.05	0.10	0.15	0.005	0.01	0.05	0.10	0.15
Power_{MR} ($\alpha = 0.05$)	0.06	0.08	0.19	0.33	0.46	0.10	0.16	0.56	0.85	0.95	0.17	0.29	0.88	0.99	1.00	0.25	0.45	0.98	1.00	1.00
Power_{EWAS-MR}	0.05	0.07	0.17	0.30	0.41	0.09	0.14	0.50	0.77	0.86	0.15	0.26	0.79	0.89	0.90	0.23	0.41	0.88	0.90	0.90
Power_{MR} ($\alpha = 0.001$)	0.00	0.00	0.01	0.04	0.08	0.00	0.01	0.12	0.38	0.64	0.01	0.03	0.43	0.87	0.98	0.02	0.07	0.79	0.99	1.00
Power_{MR} ($\alpha = 0.0005$)	0.00	0.00	0.01	0.03	0.05	0.00	0.01	0.09	0.31	0.57	0.01	0.02	0.36	0.82	0.97	0.01	0.05	0.73	0.99	1.00

Εικόνα 7. Καμπύλες της στατιστικής ισχύος σε συνάρτηση με το ποσοστό της ερμηνευόμενης μεταβλητότητας για τον παράγοντα κινδύνου για τον υβριδικό σχεδιασμό MR-EWAS και για τη διενέργεια πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης λαμβάνοντας υπόψιν τη διόρθωση



Σημείωση: Η γραμμή χρώματος μπλε παριστάνει την στατιστική ισχύ του υβριδικού σχεδιασμού *MR-EWAS*, η γραμμή χρώματος πράσινου αναπαριστά τη στατιστική ισχύ της διενέργειας 50 αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης ακολουθώντας την αγνωστική προσέγγιση και η γραμμή χρώματος πορτοκαλί αντιπροσωπεύει τη στατιστική ισχύ της διενέργειας 100 αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

6.3.6 Πολυμεταβλητή ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης

Η ηλικία εμμηναρχής και η παιδική παχυσαρκία αποτελούν δύο αλληλοσχετιζόμενα χαρακτηριστικά και τα χαρακτηριστικά αυτά είναι παράγοντες κινδύνου για την πολλαπλή σκλήρυνση με βάση τις αναλύσεις Μενδελιανής τυχαιοποίησης που περιγράφηκαν στις παραπάνω παραγράφους. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιήθηκε η προσέγγιση της πολυμεταβλητής Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Στην ανάλυση αυτή χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 323 ανεξάρτητοι γενετικοί πολυμορφισμοί, από τους οποίους οι 156 πολυμορφισμοί αναγνωρίστηκαν άμεσα από τα διαθέσιμα συνοπτικά δεδομένα και οι υπόλοιποι 167 πολυμορφισμοί αναγνωρίστηκαν μέσω υποκατάστατων πολυμορφισμών (*proxy single nucleotide polymorphisms*). Ο διάμεσος του μέτρου ανισορροπίας σύνδεσης r^2 ήταν 0.99 (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, 0.93 – 1.00). Στην ανάλυση αυτή, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας εμμηναρχής και του κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση, ο λόγος αναλογιών ανά 1 έτος αύξησης της ηλικίας εμμηναρχής ήταν 0.96 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 0.88 – 1.04) με $P\text{-value} = 0.292$. Η σχέση του δείκτη μάζας σώματος στην παιδική ηλικία παρέμεινε στατιστική σημαντική με το κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση με λόγο αναλογιών ανά 1 τυπική απόκλιση αύξησης του δείκτη μάζας σώματος ίσο με 1.21 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, 1.04 – 1.40) και $P\text{-value} = 0.013$.

6.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, εφαρμόστηκε ένας νέος υβριδικός επιδημιολογικός σχεδιασμός, ο οποίος συνδυάζει τη μελέτη κοόρτης και τη μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης, για να μελετηθεί η πιθανή συσχέτιση εκθέσεων που

συμβαίνουν στα πρώιμα στάδια της ζωής με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση. Η μελέτη κοόρτης που σχεδιάστηκε χρησιμοποιώντας τον πληθυσμό της *UK Biobank* έδειξε ότι η ηλικία εμμηναρχής, το συγκριτικό μέγεθος σώματος στην ηλικία των 10 ετών και η ευκολία μαυρίσματος σχετίζονται με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση. Στη μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης, η ηλικία εμμηναρχής και ο δείκτης μάζας σώματος φάνηκε ότι είναι πιθανοί αιτιολογικοί παράγοντες για την ανάπτυξη της πολλαπλής σκλήρυνσης.

Πραγματοποιήθηκαν υπολογισμοί της στατιστικής ισχύος για την υβριδική προσέγγιση της *MR-EWAS* θεωρώντας ένα μέγεθος δείγματος ίσο με την τελευταία μελέτη ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης για την πολλαπλή σκλήρυνση. Επιπλέον, η στατιστική ισχύς της υβριδικής προσέγγισης συγκρίθηκε με την στατιστική ισχύ ενός σχεδιασμού Μενδελιανής τυχαιοποίησης αγνωστικής προσέγγισης, όπου πραγματοποιούνται πολλαπλές στατιστικές συγκρίσεις. Στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων οφείλουμε να λάβουμε υπόψιν το γεγονός ότι η μεταβλητότητα που εξηγείται από γενετικούς πολυμορφισμούς μετρούμενη με το μέτρο R^2 σπάνια υπερβαίνει το 0.10 και συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 0.01 και 0.10 (315). Οι συγκρίσεις της στατιστικής ισχύος των δύο ερευνητικών προσεγγίσεων καταδεικνύουν ότι η ιεράρχηση των παραγόντων κινδύνου σε μία μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης και η εν συνεχεία αξιολόγηση των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων σε μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης αποτελεί μία αποτελεσματική προσέγγιση για παράγοντες κινδύνου με γενετικούς πολυμορφισμούς που ερμηνεύουν ποσοστό μικρότερο από το 10% της μεταβλητότητας και όταν η διαθέσιμη μελέτη ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης για την έκβαση έχει δείγμα περίπου 20,000 συμμετεχόντων με αναλογία 1 ασθενής : 2 μάρτυρες. Επιπλέον, η στατιστική ισχύς της Μενδελιανής τυχαιοποίησης εξαρτάται από μέγεθος δείγματος της μελέτης ευρείας γονιδιωματικής

σάρωσης για την έκβαση. Η παρατήρηση αυτή σημαίνει ότι για εκβάσεις με μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης μικρότερου δείγματος, η υβριδική προσέγγιση που προτείνεται στην παρούσα ερευνητική εργασία έχει επαρκή στατιστική ισχύ να ανιχνεύσει συσχετίσεις με ακόμα μεγαλύτερη ερμηνευμένη μεταβλητότητα.

Σε συμφωνία με την παρούσα μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής συσχέτισης, άλλες επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν επίσης τη συσχέτιση της ηλικίας εμμηναρχής με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση (321,322). Μία μελέτη ασθενών – μαρτύρων που σχεδιάστηκε με βάση τη μελέτη *Canadian Collaboration Project on Genetic Susceptibility to Multiple Sclerosis* έδειξε μειωμένο κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση στις γυναίκες με καθυστερημένη ηλικία εμμηναρχής (321), ενώ μία προοπτική μελέτη κοόρτης σχεδιασμένη με βάση τη μελέτη *Danish National Birth Cohort* έδειξε ότι υπάρχει ένα ανάλογο προστατευτικό αποτέλεσμα στον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση με την καθυστερημένη ηλικία εμμηναρχής (322). Μελέτες ευρείας γονιδιωματικής συσχέτισης έχουν δείξει ότι η ηλικία εμμηναρχής αποτελεί ένα χαρακτηριστικό που ελέγχεται από γονίδια σχετιζόμενα με τη λειτουργία του άξονα υποθαλάμου – υπόφυσης – ωοθηκών και μερικοί από τους γνωστούς γενετικούς πολυμορφισμούς που σχετίζονται με την ηλικία εμμηναρχής, σχετίζονται επίσης με χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με το ανοσοποιητικό σύστημα και τους μηχανισμούς της φλεγμονής (318). Η συσχέτιση της ηλικίας εμμηναρχής με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση επιβεβαιώθηκε και στην ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης με δεδομένα συνοπτικού επιπέδου.

Η ηλικία εμμηναρχής σηματοδοτεί την έναρξη της εφηβείας στις γυναίκες. Ένα αντίστοιχο χαρακτηριστικό στους άνδρες αποτελεί η ηλικία που αλλάζει η φωνή και η ηλικία έναρξης της τριχοφυΐας. Ωστόσο, δεν ανιχνεύθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών χαρακτηριστικών και του κινδύνου εμφάνισης

πολλαπλής σκλήρυνσης. Σε συμφωνία με αυτό το εύρημα, μία μελέτη ασθενών – μαρτύρων που σχεδιάστηκε με βάση τη μελέτη *Canadian Collaboration Project on Genetic Susceptibility to Multiple Sclerosis* δεν εντόπισε επίσης κάποια συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας έναρξης της τριχοφυΐας και της ηλικίας αλλαγής της φωνής με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση (321).

Επιπλέον, τα αποτελέσματά της παρούσας εργασίας δείχνουν ότι ένα αυξημένο συγκριτικό μέγεθος σώματος στην ηλικία των 10 ετών σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης πολλαπλής σκλήρυνσης. Άλλες προοπτικές μελέτες κοόρτης επιβεβαιώνουν τη συσχέτιση αυτή (323,324). Επιπλέον, μια δημοσιευμένη μετα-ανάλυση μελετών παρατήρησης έδειξε αυξημένο κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση σε παχύσαρκα παιδιά (14,325). Μελέτες Μενδελιανής τυχαιοποίησης έχουν αξιολογήσει τη συσχέτιση ανάμεσα στο δείκτη μάζας σώματος και τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση στην ενήλικη ζωή ή στην παιδική ηλικία (326–328). Ωστόσο, στις μελέτες αυτές, η βοηθητική μεταβλητή βασίστηκε σε γενετικούς πολυμορφισμούς που σχετίζονται με το δείκτη μάζας σώματος κατά την ενήλικη ζωή. Το στοιχείο αυτό αποτελεί μία βασική κριτική αυτών των μελετών Μενδελιανής τυχαιοποίησης, επειδή η πολλαπλή σκλήρυνση αποτελεί ένα νόσημα που εκδηλώνεται συνήθως κατά την εφηβεία ή τη νεαρή ενήλικη ζωή, οπότε ο δείκτης μάζας σώματος κατά την ενήλικη ζωή δεν συμμετέχει στον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (329). Σε αντιδιαστολή με τις προηγούμενες μελέτες Μενδελιανής τυχαιοποίησης, στην παρούσα ερευνητική εργασία, χρησιμοποιήθηκαν γενετικοί πολυμορφισμοί που σχετίζονται με το δείκτη μάζας σώματος κατά την παιδική ηλικία. Από την ανάλυση αυτή, παρατηρήθηκε ότι ο γενετικά προκαθορισμένος δείκτης μάζας σώματος σχετίζεται με τον κίνδυνο ανάπτυξης πολλαπλής σκλήρυνσης.

Η ηλικία της εμμηναρχής και η παχυσαρκία κατά την παιδική ηλικία είναι αλληλοσχετιζόμενα χαρακτηριστικά (330). Κοπέλες με καθυστερημένη εμμηναρχή έχει φανεί ότι είναι λιγότερο πιθανό να είναι υπέρβαρες κατά την εφηβεία (330). Επίσης, μια προηγούμενη μελέτη έχει δείξει ότι η ηλικία εμμηναρχής και η παχυσαρκία μοιράζονται κοινούς γενετικούς πολυμορφισμούς (331). Για να εξεταστεί περαιτέρω εάν οι δύο αυτοί παράγοντες αποτελούν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση πολλαπλής σκλήρυνσης, εφαρμόστηκε η προσέγγιση της πολυμεταβλητής Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Τα αποτελέσματα αυτής της ανάλυσης έδειξαν ότι η σχέση της ηλικίας εμμηναρχής δεν είναι ανεξάρτητη του δείκτη μάζας σώματος κατά την παιδική ηλικία.

Στο σημείο αυτό, αξίζει να αναλυθεί η παρατηρούμενη συσχέτιση μεταξύ της ευκολίας μαυρίσματος και του κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση, όπως προέκυψε από την ανάλυση των δεδομένων της *UK Biobank*. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι συμμετέχοντες που μαυρίζουν εύκολα βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο σε σύγκριση με τους συμμετέχοντες που δεν μαυρίζουν. Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή δεν επιβεβαιώθηκε στην ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης, όπου φάνηκε ότι η γενετικά προκαθορισμένη ευκολία μαυρίσματος δε σχετίζεται με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση. Επίσης, στο μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης που περιελάμβανε το συγκριτικό μέγεθος σώματος και την ευκολία μαυρίσματος, η τελευταία μεταβλητή δεν παρέμεινε στατιστικά σημαντική. Η παρατήρηση αυτή θα μπορούσε να ερμηνευτεί λαμβάνοντας υπόψιν άλλες μελέτες από τη βιβλιογραφία. Συγκεκριμένα, 49 γενετικοί πολυμορφισμοί που εδράζονται στο γονίδιο *FTO*, ένα γονίδιο σχετιζόμενο με την παχυσαρκία, σχετίζονται επίσης με την ευκολία μαυρίσματος, εύρημα που αποτελεί ένδειξη ότι τα δύο αυτά χαρακτηριστικά μοιράζονται όμοιους γενετικούς πολυμορφισμούς (332). Επίσης, μία βασική υπόθεση

για την παθογένεση της πολλαπλής σκλήρυνσης εμπλέκει τα επίπεδα της βιταμίνης D στον ορό του αίματος, τα οποία σχετίζονται με την ευκολία μαυρίσματος. Μία αμφίδρομη μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης έδειξε ότι υψηλότερες τιμές δείκτη μάζας σώματος σχετίζονται με χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D στον ορό, ενώ μια αλλαγή στα επίπεδα της βιταμίνης D του ορού έχει αρκετά μικρότερη επίδραση στο δείκτη μάζας σώματος (333).

Η παρούσα ερευνητική εργασία έχει δύο κύρια πλεονεκτήματα. Πρώτον, αξιοποιήθηκαν δεδομένα από μία μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη περισσότερων από 400,000 συμμετεχόντων, ενώ οι ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση ορίστηκαν με βάση πολλαπλές πηγές πληροφοριών. Δεύτερον, στην παρούσα εργασία, περιγράφεται και εφαρμόζεται μία υβριδική μεθοδολογία η οποία συνδυάζει την προσέγγιση της ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης με την προσέγγιση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Σύμφωνα με την προσέγγιση αυτή, ένα σύνολο παραγόντων κινδύνου επιλέγονται αξιολογούνται με αγνωστικό τρόπο ως προς τη συσχέτισή τους με μία έκβαση, εφαρμόζοντας παράλληλα μία διόρθωση του ορίου στατιστικής σημαντικότητας, λόγω πολλαπλών στατιστικών συγκρίσεων που εφαρμόζονται. Στη συνέχεια, τα ευρήματα από αυτή τη μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης ιεραρχούνται και εξετάζεται η πιθανή αιτιώδης συσχέτισή τους με την υπό μελέτη έκβαση αξιοποιώντας την προσέγγιση της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Η προσέγγιση αυτή μπορεί να εφαρμοστεί για πολυάριθμες άλλες εκβάσεις πέρα από την πολλαπλή σκλήρυνση για τις οποίες υπάρχουν διαθέσιμες μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης.

Στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων της παρούσας ερευνητικής εργασίας, θα πρέπει να ληφθούν υπόψιν ορισμένοι περιορισμοί. Συγκεκριμένα, ο πληθυσμός της μελέτης UK Biobank δεν είναι αντιπροσωπευτικός του γενικού πληθυσμού του Ηνωμένου Βασιλείου, που σημαίνει ότι υπάρχει κίνδυνος για παρουσία συστηματικού

σφάλματος του υγειούς εθελοντή (334). Ωστόσο, τα ευρήματα από τον πληθυσμό αυτόν θα μπορούσαν να είναι έγκυρα επιστημονικά τεκμήρια και θα μπορούσαν να γενικευθούν και σε άλλους πληθυσμούς λόγω του μεγάλου μεγέθους του δείγματος και της ποικιλομορφίας των εκθέσεων που έχουν αξιολογηθεί (334). Επίσης, οι εκθέσεις που μελετήθηκαν έχουν συλλεγεί αναδρομικά και είναι αυτό-αναφερόμενες από τους συμμετέχοντες, οπότε τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής είναι επιρρεπή σε συστηματικό σφάλμα ανάκλησης πληροφορίας και συστηματικό σφάλμα εσφαλμένης μέτρησης (*measurement bias*). Επιπλέον, το συγκριτικό μέγεθος σώματος και ύψους στην ηλικία των 10 ετών, η σχετική ηλικία έναρξης τριχοφυΐας στο πρόσωπο και η σχετική ηλικία που άλλαξε η φωνή συνιστούν υποκειμενικές μετρήσεις και οι συσχετίσεις που αφορούν τις μετρήσεις αυτές είναι επιρρεπείς σε συστηματικό σφάλμα εσφαλμένης ταξινόμησης της έκθεσης (*exposure misclassification*). Στο σημείο αυτό, είναι σκόπιμο να αναφερθούν ορισμένες παρατηρήσεις σχετικά με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Η παρουσία πιθανών πλειοτροπικών δράσεων των γενετικών πολυμορφισμών μπορεί να εκτιμηθεί μόνο έμμεσα με τις μεθόδους *MR-Egger* και *MR-PRESSO*. Επιπλέον, αν και η ηλικία εμμηναρχής αποτελεί ένα φυλετικό χαρακτηριστικό που αφορά μόνο τις γυναίκες, χρησιμοποιήθηκαν γενετικά δεδομένα συνοπτικού επιπέδου και από τα δύο φύλα, κάνοντας την παραδοχή ότι η ηλικία έναρξης της εφηβείας ελέγχεται από τους γενετικούς πολυμορφισμούς στους άνδρες και στις γυναίκες. Ευρήματα από παλινδρόμηση του σκορ ανισορροπίας σύνδεσης (*linkage disequilibrium score regression*), με στόχο τον υπολογισμό της ευρείας γονιδιωματικής γενετικής συσχέτισης μεταξύ της ηλικίας αλλαγής της φωνής στους άνδρες και της ηλικίας εμμηναρχής στις γυναίκες, συνηγορούν ότι υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο χαρακτηριστικών και ότι η έναρξη της εφηβείας στα δύο φύλα ελέγχεται από τους ίδιους γενετικούς πολυμορφισμούς (335).

Αν και η ανάλυση εφαρμόζοντας τη μέθοδο *MR-Egger* και τη μέθοδο της σταθμισμένης διαμέσου δεν απέδωσε αποτελέσματα συμβατά με παρουσία πλειοτροπικής δράσης των βοηθητικών μεταβλητών, η παρουσία υπολείπουσας πλειοτροπίας (*residual pleiotropy*) δεν μπορεί να αποκλειστεί.

Συμπερασματικά, στην παρούσα αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου που δρουν κατά τη νεαρή ηλικία σε σχέση με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση, αξιοποιήθηκε μία υβριδική προσέγγιση για την αναγνώριση πιθανών αιτιωδών συσχετίσεων. Οι αναλύσεις έδειξαν ότι η πρώιμη ηλικία εμμηναρχής και ο αυξημένος δείκτης μάζας σώματος στην παιδική ηλικία συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης πολλαπλής σκλήρυνσης, αλλά οι συσχετίσεις αυτές δεν είναι ανεξάρτητες. Επίσης, η ανάλυση των δεδομένων της *UK Biobank* έδειξε μία συσχέτιση της ευκολίας μαυρίσματος με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση, η οποία δεν επιβεβαιώθηκε στην ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης και απαιτεί περεταίρω διερεύνηση.

Κεφάλαιο 7

Γενική συζήτηση

7.1 ΣΥΝΟΨΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Το αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη της συνεισφοράς των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου στη διαμόρφωση του κινδύνου για χρόνια νευρολογικά νοσήματα. Η διδακτορική διατριβή αποτελείται συνολικά από 4 ερευνητικές μελέτες, στις οποίες εφαρμόστηκαν δύο διαφορετικές ερευνητικές προσεγγίσεις. Η μέθοδος της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας ήταν η πρώτη προσέγγιση, η οποία εφαρμόστηκε στις 3 πρώτες ερευνητικές μελέτες. Στην τέταρτη μελέτη, αξιοποιήθηκαν συνδυαστικά δύο διαφορετικές ερευνητικές προσεγγίσεις, η ευρεία περιβαλλοντική σάρωση και η ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης, για να προκύψει ο υβριδικός σχεδιασμός *MR-EWAS*.

Στην πρώτη ερευνητική εργασία (*Κεφάλαιο 3*), εφαρμόστηκε η προσέγγιση της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας για να αξιολογηθούν οι παράγοντες κινδύνου της πλάγιας αμυοτροφικής σκλήρυνσης. Συνολικά, εντοπίστηκαν μόνο 16 παράγοντες κινδύνου, οι οποίοι μελετήθηκαν σε δημοσιευμένες μετα-αναλύσεις. Από τη στατιστική ανάλυση και την μεθοδολογική αξιολόγηση των ευρημάτων, προέκυψε ότι η χρόνια επαγγελματική έκθεση σε μόλυβδο είναι ο μοναδικός παράγοντας κινδύνου για τη νόσο με υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία. Ένα επιπλέον εύρημα της εργασίας αυτής αποτελεί ο περιορισμένος αριθμός παραγόντων κινδύνου που έχουν μελετηθεί στη βιβλιογραφία για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση.

Στη δεύτερη ερευνητική εργασία (*Κεφάλαιο 4*), μελετήθηκαν οι παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson, χρησιμοποιώντας την προσέγγιση της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας. Αξιολογήθηκαν συνολικά 75 περιβαλλοντικές συσχετίσεις σχετικά με τον κίνδυνο για νόσο του Parkinson, οι οποίες ταξινομήθηκαν σε βιολογικούς δείκτες, διατροφικούς παράγοντες, φάρμακα, τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, καθημερινές συνήθειες και ιατρικό ιστορικό ή συν-νοσηρότητες. Από αυτές τις συσχετίσεις, δύο παράγοντες κινδύνου (δυσκοιλιότητα και φυσική δραστηριότητα) συγκέντρωσαν πολύ υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα. Πέντε επιπλέον παράγοντες κινδύνου (αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή, β-αποκλειστές, επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό, κρανιο-εγκεφαλική κάκωση και κάπνισμα) παρουσίασαν υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα. Όμως, όπως συζητήθηκε εκτενώς στην Ενότητα 4.4, οι συσχετίσεις αυτές θα μπορούσαν εν μέρει τουλάχιστον να ερμηνευθούν στο πλαίσιο συστηματικών σφαλμάτων.

Στην τρίτη ερευνητική εργασία (*Κεφάλαιο 5*), αξιολογήθηκαν οι περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για την άνοια με την προσέγγιση της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας. Συνολικά αξιολογήθηκαν 76 συσχετίσεις για παράγοντες κινδύνου της νόσου του Alzheimer, της αγγειακής άνοιας και του συνόλου των τύπων άνοιας. Από τις συσχετίσεις που μελετήθηκαν, η κατάθλιψη με έναρξη σε οποιαδήποτε ηλικία, η κατάθλιψη με καθυστερημένη έναρξη, η χρήση βενζοδιαζεπινών και η χαμηλή συχνότητα κοινωνικών επαφών παρουσίασαν πολύ υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία για συσχέτιση με τον κίνδυνο για εμφάνιση οποιασδήποτε μορφής άνοιας. Η κατάθλιψη με καθυστερημένη έναρξη και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 αποτέλεσαν τους πλέον αξιόπιστους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη της νόσου του Alzheimer, ενώ ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 ήταν ο μοναδικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση αγγειακής άνοιας με επαρκή επιδημιολογικά τεκμήρια.

Επιπλέον, το ιστορικό διαγνωσμένου καρκίνου, η κατάθλιψη με έναρξη σε οποιαδήποτε ηλικία και η φυσική δραστηριότητα συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο για τη νόσο του Alzheimer, παρουσιάζοντας υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία.

Στις ανασκοπήσεις πεδίου που περιεγράφηκαν, αξιολογήθηκαν συνολικά 167 συσχετίσεις. Στο σημείο αυτό, αξίζει να αναφερθούν ορισμένα μεθοδολογικά ζητήματα που ανέκυψαν από τη μελέτη των συσχετίσεων αυτών. Ενενήντα εννέα συσχετίσεις, δηλαδή το 59% των συσχετίσεων που αξιολογήθηκαν, παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στο όριο $P\text{-value} < 0.05$. Όμως, μόνο 26 συσχετίσεις παρέμειναν στατιστικά σημαντικές με εφαρμογή ενός αυστηρότερου ορίου ($P\text{-value} < 1 \times 10^{-6}$). Υπάρχει ήδη συζήτηση στη βιβλιογραφία σχετικά με την υιοθέτηση ενός πιο αυστηρού ορίου στατιστικής σημαντικότητας, ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι ψευδώς θετικές συσχετίσεις (127,336). Επίσης, 76 συσχετίσεις (46%) παρουσίασαν μεγάλη ή πολύ μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών, το οποίο μπορεί να οφείλεται είτε στην παρουσία συστηματικών σφαλμάτων είτε στην παρουσία πραγματικής ετερογένειας μεταξύ των μελετών. Επιπλέον, συστηματικό σφάλμα δημοσίευσης εντοπίστηκε σε 27 συσχετίσεις (16%) και σφάλμα περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας σε 48 συσχετίσεις (29%).

Στην τέταρτη ερευνητική εργασία (Κεφάλαιο 6), σχεδιάστηκε μία μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης στον πληθυσμό της *UK Biobank*, προκειμένου να μελετηθεί ο ρόλος των παραγόντων κινδύνου, που δρουν από την περιγεννητική περίοδο και τα πρώτα χρόνια της ζωής έως την εφηβεία, στη διαμόρφωση του κινδύνου για πολλαπλή σκλήρυνση. Εξετάσθηκαν συνολικά 13 παράγοντες κινδύνου και τρεις από αυτούς (ηλικία εμμηναρχής, σχετικό μέγεθος σώματος στην ηλικία των 10 ετών και ευκολία μαυρίσματος) παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση με βάση το διορθωμένο κατά *Bonferroni* επίπεδο στατιστικής

σημαντικότητας. Για τους τρεις αυτούς παράγοντες κινδύνου σχεδιάστηκε μία μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης, από την οποία προέκυψε ότι η ηλικία εμμηναρχής και ο δείκτης μάζας σώματος στην παιδική ηλικία σχετίζονται με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση με πιθανώς αιτιώδη σχέση. Ωστόσο, τέτοια συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε στην ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης για την ευκολία μαυρίσματος.

7.2 ΣΗΜΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Η συνεισφορά της παρούσας διδακτορικής διατριβής στο επίπεδο της Δημόσιας Υγείας μπορεί να αναλυθεί σε δύο άξονες, την αξία των μεθοδολογικών προσεγγίσεων που εφαρμόστηκαν και τη μετάφραση των συσχετίσεων με υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα σε παρεμβάσεις στη Δημόσια Υγεία. Από μεθοδολογικής πλευράς, αναδείχθηκε η αξία των συνόψεων πεδίου τύπου ομπρέλας στη χαρτογράφηση των παραγόντων κινδύνου για χρόνιες νόσους. Η μεθοδολογία αυτή επιτρέπει να εντοπιστούν χαρακτηριστικά που επηρεάζουν την αξιοπιστία των επιδημιολογικών συσχετίσεων σε ένα πεδίο, όπως η ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Συγκεκριμένα, η μεθοδολογία αυτή περιγράφει τις συσχετίσεις που έχουν μελετηθεί για μία έκβαση, ενώ παράλληλα προσφέρει μία σφαιρική εικόνα για την ετερογένεια μεταξύ των μελετών και την παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας σε ένα ερευνητικό πεδίο. Η μεθοδολογική αυτή προσέγγιση εφαρμόστηκε για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, τη νόσο του Parkinson και τις άνοιες, αλλά μπορεί να επεκταθεί και στην αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου για άλλα χρόνια νοσήματα. Για παράδειγμα, έχει ήδη εφαρμοστεί στο πεδίο του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, των χρόνιων

ρευματολογικών νοσημάτων, της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας και της σχιζοφρένειας (65,296,337,338).

Στο *Κεφάλαιο 6*, αναπτύχθηκε μία επιπλέον ερευνητική προσέγγιση, η μελέτη *MR-EWAS*, η οποία αξιοποιεί τα ευρήματα από μία μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης για να ιεραρχήσει τις συσχετίσεις που θα εξεταστούν σε μία μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Γενικότερα, η ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης μπορεί να αποτελέσει ένα επιπλέον βήμα στον έλεγχο της αξιοπιστίας των επιδημιολογικών συσχετίσεων που προκύπτουν από μελέτες παρατήρησης. Η διαδικασία αυτή μπορεί να ενταχθεί στα πλαίσια του τριγωνισμού (*triangulation*) των επιδημιολογικών τεκμηρίων (339), δηλαδή της αξιοποίησης διαφορετικών μεθοδολογικών και στατιστικών προσεγγίσεων για να εξεταστεί μία επιδημιολογική συσχέτιση. Επιπλέον, υπό συγκριμένες προϋποθέσεις, η μεθοδολογική προσέγγιση *MR-EWAS* έχει υψηλότερη στατιστική ισχύ από τη διενέργεια πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης ακολουθώντας μία αγνωστική προσέγγιση. Η μελέτη *MR-EWAS* μπορεί να εφαρμοστεί για τη διερεύνηση πιθανώς αιτιωδών συσχετίσεων για άλλες νοσολογικές οντότητες. Με βάση τους υπολογισμούς της στατιστικής ισχύος, η προσέγγιση αυτή αποκτά ιδιαίτερο νόημα για παράγοντες κινδύνου με σχετικά χαμηλή ερμηνευμένη μεταβλητότητα από γενετικούς παράγοντες.

Όσον αφορά το δεύτερο άξονα της συνεισφοράς της παρούσας διδακτορικής διατριβής, ένας από τους στόχους της επιδημιολογικής έρευνας αποτελεί η αναγνώριση των πραγματικών παραγόντων κινδύνου των ασθενειών, με απώτερο στόχο την εφαρμογή μεθόδων πρόληψης είτε μέσω προσυμπτωματικού ελέγχου είτε μέσω προληπτικών παρεμβάσεων. Δεδομένης της φύσης των δεδομένων που αναλύθηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή, ισχυρές συστάσεις για παρεμβάσεις σε επίπεδο Δημόσια Υγείας δεν μπορούν να προκύψουν. Ωστόσο, μπορούν να αναφερθούν

ορισμένες προεκτάσεις που προκύπτουν από τα αποτελέσματα των ανασκοπήσεων πεδίου τύπου ομπρέλας.

Ο κίνδυνος για πλάγια αμυατροφική σκλήρυνση πιθανώς αυξάνεται με την έκθεση σε επαγγελματικούς παράγοντες. Το συμπέρασμα αυτό βασίζεται στις αντίστοιχες μετα-αναλύσεις, οι οποίες έδειξαν υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία για την έκθεση σε μόλυβδο, ενώ οι μετα-αναλύσεις για την έκθεση σε άλλα βαρέα μέταλλα, την ενασχόληση με αγροτικές εργασίες και το ιστορικό κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης παρουσίασαν μέτρια επιδημιολογική αξιοπιστία. Από τα ευρήματα αυτά προκύπτει ότι η λήψη μέτρων προστασίας έναντι της έκθεσης σε βαρέα μέταλλα στο χώρο εργασίας θα μπορούσε δυνητικά να μειώσει τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση. Σχετικά με τον κίνδυνο για άνοια, από τις αναλύσεις που περιγράφηκαν προκύπτει ότι η πιο άμεση προσέγγιση για τη μείωση του κινδύνου αποτελούν οι προληπτικές παρεμβάσεις για την εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2, όπως επίσης παρεμβάσεις που αυξάνουν τη φυσική δραστηριότητα. Για τη νόσο του Parkinson, τα ευρήματα από την ανασκόπηση πεδίου τύπου ομπρέλας είναι ασαφή, καθώς οι συσχετίσεις που παρουσίασαν πολύ υψηλή ή υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα θα μπορούσαν να ερμηνευτούν υπό το πρίσμα της παρουσίας συστηματικών σφαλμάτων, αναλύθηκε στην Ενότητα 4.4. Επίσης, οι συστάσεις σχετικά με την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση και την άνοια πρέπει να αξιολογηθούν σε τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές ή/και μελέτες Μενδελιανής τυχαιοποίησης πριν τη μετάφραση των ευρημάτων αυτών σε παρεμβάσεις πληθυσμιακού επιπέδου.

7.3 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ ΓΙΑ ΕΡΕΥΝΑ

Οι προεκτάσεις που προσφέρονται από την παρούσα διδακτορική διατριβή για μελλοντική έρευνα είναι πολυάριθμες. Αρχικά, η μεθοδολογία της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας είναι μια σχετικά νέα προσέγγιση. Στη μέθοδο αυτή, εφαρμόζεται μία σειρά μεθοδολογικών κριτηρίων για την αξιολόγηση των συσχετίσεων από δημοσιευμένες μετα-αναλύσεις. Τα κριτήρια αυτά σχετίζονται με το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας, το βαθμό της ετερογένειας μεταξύ των μελετών, το 95% διάστημα πρόβλεψης και την παρουσία συστηματικού σφάλματος δημοσίευσης και σφάλματος περίσσειας στατιστικής σημαντικότητας. Αν και τα κριτήρια αυτά έχουν μία λογική συνάφεια με το βαθμό της αξιοπιστίας μιας επιδημιολογικής συσχέτισης, όπως περιεγράφηκε στις Ενότητες 2.6 και 2.7, δεν υπάρχουν επαρκείς μελέτες προσομοίωσης και εμπειρικές μελέτες που να δείχνουν ότι αυτός ο συνδυασμός κριτηρίων είναι ο βέλτιστος δυνατός. Επομένως, ένα από τα αντικείμενα της μελλοντικής έρευνας θα μπορούσε να είναι η βελτιστοποίηση του αλγορίθμου αναγνώρισης αξιόπιστων επιδημιολογικών συσχετίσεων είτε μέσω τροποποίησης των υπάρχοντων κριτηρίων είτε μέσω προσθήκης νέων μεθοδολογικών κριτηρίων. Επιπλέον, θα μπορούσε να εξεταστεί ο βαθμός κατά τον οποίο οι επιδημιολογικές συσχετίσεις με πολύ υψηλή και επιδημιολογική αξιοπιστία επιβεβαιώνονται σε μελέτες Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

Επίσης, στην παρούσα διδακτορική διατριβή, προτείνονται συγκεκριμένες συσχετίσεις μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων με τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, νόσο του Parkinson και άνοιες. Ωστόσο, όπως συζητήθηκε στις Ενότητες 3.4, 4.4 και 5.5, πολλές από αυτές τις συσχετίσεις θα μπορούσαν να ερμηνευθούν μέσω της παρουσίας συστηματικών σφαλμάτων στις αντίστοιχες επιδημιολογικές μελέτες. Ένα επόμενο βήμα στο πεδίο των παραγόντων κινδύνου για

χρόνιες νευρολογικές νόσους θα μπορούσε να αποτελέσει η εκτεταμένη εφαρμογή της ανάλυσης Μενδελιανής τυχαιοποίησης, λαμβάνοντας υπόψιν και τους πιθανούς περιορισμούς αυτής της μεθόδου. Η Μενδελιανή τυχαιοποίηση μπορεί να συνεισφέρει στο πεδίο αυτό τόσο με δύο τρόπους. Πρώτο, μπορεί να διευκολύνει τη διάκριση των περιβαλλοντικών εκθέσεων ανάμεσα σε πραγματικούς παράγοντες κινδύνου, συγχυτικούς παράγοντες και διαμεσολαβητές. Δεύτερον, μπορεί να διευρύνει τον αιτιολογικό χάρτη των νευρολογικών νόσων μέσω της μελέτης περιβαλλοντικών εκθέσεων που μετρούνται με ανακριβείς μεθόδους, όπως συμβαίνει με τους διάφορους διατροφικούς παράγοντες.

Επιπροσθέτως, μία ενδιαφέρουσα παρατήρηση, που προέκυψε από τη μελέτη των μετα-αναλύσεων στο πεδίο της Νευρο-επιδημιολογίας, αποτελεί η μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Η εφαρμογή μεθόδων, όπως οι αναλύσεις υποομάδας (*subgroup analyses*), οι αναλύσεις ευαισθησίας (*sensitivity analyses*), η μετα-παλινδρόμηση (*meta-regression*) και η μετα-ανάλυση ατομικών δεδομένων (*individual-level data meta-analysis*), μπορούν να συνεισφέρουν στην αποσαφήνιση της παρατηρούμενης ετερογένειας και στη διερεύνηση των πηγών της.

Συμπεράσματα

Από την παρούσα διδακτορική διατριβή προκύπτουν ορισμένα συμπεράσματα. Πρώτον, η ανασκόπηση πεδίου τύπου ομπρέλας αποτελεί μία χρήσιμη ερευνητική προσέγγιση για να αποκτηθεί μία γενικότερη εικόνα για τις επιδημιολογικές συσχετίσεις σε ένα ερευνητικό πεδίο, όπως επίσης και για τα σφάλματα και την ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Δεύτερον, η γνώση σχετικά με τη συνεισφορά του περιβάλλοντος στον κίνδυνο για την πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση παραμένει ιδιαίτερα περιορισμένη. Τρίτον, υπάρχουν αρκετοί παράγοντες κινδύνου με πολύ υψηλή ή υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα για τη νόσο του Parkinson και την άνοια, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι μερικές από αυτές τις συσχετίσεις θα μπορούσαν να ερμηνευτούν από την παρουσία συστηματικών σφαλμάτων. Τέταρτον, η ηλικία εμμηναρχής και ο δείκτης μάζας σώματος κατά την παιδική ηλικία πιθανώς να αποτελούν αιτιώδεις παράγοντες κινδύνου για την πολλαπλή σκλήρυνση. Πέμπτον, η μέθοδος *MR-EWAS* προσφέρει μεγαλύτερη στατιστική ισχύ για την εξέταση της αιτιώδους σχέσης σε σύγκριση με την αγνωστική προσέγγιση των πολλαπλών αναλύσεων Μενδελιανής τυχαιοποίησης, επειδή ιεραρχεί τις συσχετίσεις που θα εξεταστούν με τη μέθοδο της Μενδελιανής τυχαιοποίησης και μειώνει με αυτόν τον τρόπο τον αριθμό των στατιστικών συγκρίσεων που πραγματοποιούνται.

Περίληψη στην Ελληνική γλώσσα

Ο κεντρικός στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτελεί η συστηματική αξιολόγηση και ο προσδιορισμός της επιδημιολογικής αξιοπιστίας των συσχετίσεων ανάμεσα στους περιβαλλοντικούς (μη γενετικούς) παράγοντες κινδύνου για τις χρόνιες νευρολογικές νόσους. Ο στόχος αυτός πραγματοποιήθηκε μέσω της εφαρμογής τριών διακριτών μεθοδολογικών προσεγγίσεων: της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας, της μελέτης ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης και της μελέτης Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

Στην πρώτη ερευνητική εργασία, πραγματοποιήθηκε μία σύνοψη πεδίου τύπου ομπρέλας προκειμένου να αξιολογηθούν οι επιδημιολογικές συσχετίσεις ανάμεσα σε περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου και τον κίνδυνο για πλάγια αμυοτροφική σκλήρυνση, όπως αυτές αποτυπώνονται σε δημοσιευμένες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις. Εξετάστηκαν συνολικά 16 συσχετίσεις, από τις οποίες μόνο η συσχέτιση της χρόνιας επαγγελματικής έκθεσης σε μόλυβδο παρουσίασε υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα.

Στη δεύτερη ερευνητική εργασία, η προσέγγιση της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας αξιοποιήθηκε για να μελετηθούν οι περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου για τη νόσο του Parkinson. Συνολικά, αξιολογήθηκαν 75 μετα-αναλύσεις που αντιστοιχούν σε ένα ευρύ φάσμα παραγόντων κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων βιολογικών δεικτών, διατροφικών παραγόντων, φαρμάκων, τοξικών περιβαλλοντικών παραγόντων, καθημερινών συνηθειών και ιατρικού ιστορικού ή συννοσηροτήτων. Μετά την εφαρμογή προκαθορισμένων μεθοδολογικών κριτηρίων σχετικά με το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας, την ετερογένεια μεταξύ των μελετών και την παρουσία συστηματικών σφαλμάτων, επτά παράγοντες κινδύνου συγκέντρωσαν πολύ

υψηλή ή υψηλή επιδημιολογική αξιοπιστία. Οι παράγοντες αυτοί ήταν η δυσκοιλιότητα, η φυσική δραστηριότητα, η αγχώδης ή καταθλιπτική διαταραχή, η χρήση β-αποκλειστών, η κρανιο-εγκεφαλική κάκωση, τα επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό και το κάπνισμα.

Στην τρίτη ερευνητική εργασία, πραγματοποιήθηκε συστηματική αξιολόγηση των περιβαλλοντικών παραγόντων κινδύνου για τον κίνδυνο άνοιας μέσω της εφαρμογής της προσέγγισης της σύνοψης πεδίου τύπου ομπρέλας. Συνολικά, αξιολογήθηκαν 76 μετα-αναλύσεις που αφορούσαν παράγοντες κινδύνου για τρεις εκβάσεις, τον κίνδυνο για νόσο του Alzheimer, τον κίνδυνο για οποιαδήποτε μορφή άνοιας και τον κίνδυνο για αγγειακή άνοια. Για τη νόσο του Alzheimer, μελετήθηκαν συνολικά 39 συσχετίσεις, από τις οποίες πέντε παρουσίασαν υψηλή ή πολύ υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα. Οι μετα-αναλύσεις αυτές αφορούσαν την κατάθλιψη με έναρξη σε όψιμη ηλικία, το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, τον καρκίνο, την κατάθλιψη με έναρξη σε οποιαδήποτε ηλικία και τη φυσική δραστηριότητα. Όσον αφορά τον κίνδυνο για οποιαδήποτε μορφή άνοιας, μελετήθηκαν συνολικά 27 συσχετίσεις, από τις οποίες πέντε παρουσίασαν υψηλή ή πολύ υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα. Οι συσχετίσεις αυτές αφορούσαν τη χρήση βενζοδιαζεπινών, την κατάθλιψη με έναρξη σε όψιμη ηλικία, τη συχνότητα των κοινωνικών επαφών, την κατάθλιψη με έναρξη σε οποιαδήποτε ηλικία και το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Αναφορικά με τον κίνδυνο για αγγειακή άνοια, αξιολογήθηκαν 10 συσχετίσεις, από τις οποίες μόνο η συσχέτιση που αφορούσε το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 παρουσίασε πολύ υψηλή επιδημιολογική εγκυρότητα.

Στην τελευταία ερευνητική εργασία, σχεδιάστηκε μία υβριδικού τύπου μελέτη, στην οποία συνδυάστηκε η προσέγγιση της ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης με τη μεθοδολογία της Μενδελιανής τυχαιοποίησης, για να μελετηθούν οι παράγοντες

κινδύνου της πολλαπλής σκλήρυνσης κατά τα πρώτα στάδια της ζωής. Στο πρώτο βήμα, υλοποιήθηκε μία μελέτη ευρείας περιβαλλοντικής σάρωσης στον πληθυσμό της UK Biobank και ελέγχθηκε η συσχέτιση 13 παραγόντων με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση. Εφαρμόζοντας τη διόρθωση κατά *Bonferroni*, η ηλικία εμμηναρχής, το σχετικό μέγεθος σώματος κατά την ηλικία των 10 ετών και η ευκολία μαυρίσματος παρουσίασαν στατιστικά σημαντική σχέση με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση. Στο δεύτερο βήμα, εφαρμόστηκε η μεθοδολογία της Μενδελιανής τυχαιοποίησης για τις τρεις αυτές συσχετίσεις χρησιμοποιώντας συνοπτικού επιπέδου δεδομένα από μελέτες ευρείας γονιδιωματικής σάρωσης. Η ηλικία εμμηναρχής και ο δείκτης μάζας σώματος κατά την παιδική ηλικία παρουσίασε αιτιώδη συσχέτιση με τον κίνδυνο για πολλαπλή σκλήρυνση, ενώ η ευκολία μαυρίσματος δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα στην αντίστοιχη ανάλυση Μενδελιανής τυχαιοποίησης.

Περίληψη στην Αγγλική γλώσσα

The main aim of this thesis is the systematic appraisal and the credibility assessment of the environmental risk factors for chronic neurological diseases. In total, three research approaches were used: the umbrella review, the environment-wide association study and the Mendelian randomization study.

In the first research paper, an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses was performed for the environmental risk factors of amyotrophic lateral sclerosis. Overall, 16 associations were examined, and only the association between chronic occupational exposure to lead presented high epidemiological credibility for risk of amyotrophic lateral sclerosis.

In the second research paper, the approach of the umbrella review was used to systematically assess the epidemiological credibility of environmental risk factors for Parkinson's disease. Overall, 75 associations were considered that corresponded to a wide range of exposures, including biomarkers, nutritional factors, medications, toxic environmental exposures, habits and medical history or comorbid disorders. After the application of standardized methodological criteria related to the level of statistical significance, the between-study heterogeneity and the presence of biases, 7 associations presented convincing or highly suggestive evidence. These associations pertained to constipation, physical activity, anxiety or depression, β -blockers, head injury, serum uric acid, and smoking.

In the third research paper, a systematic appraisal of environmental risk factors for dementia was performed by the application of the umbrella review approach. Overall, 76 associations were considered for three outcomes; Alzheimer's disease, any form of dementia, and vascular dementia. For Alzheimer's disease, a total of 39 associations

were assessed, and five of them presented convincing or highly suggestive evidence. These meta-analyses pertained to late-onset depression, type 2 diabetes mellitus, depression at any age, cancer and physical activity. For any type of dementia, a total of 27 associations were considered, and five of them presented convincing or highly suggestive evidence. These associations pertained to benzodiazepines use, late-onset depression, frequency of social contacts, depression at any age, and type 2 diabetes mellitus. For vascular dementia, a total of 10 associations were examined, and only the association between type 2 diabetes mellitus and risk of vascular dementia presented convincing evidence.

In the last research paper, a hybrid study design was used by combining the approach of environment-wide association scan with the approach of Mendelian randomization, to study the early-life risk factors of multiple sclerosis. In the first step, an environment-wide association study was designed using the population of UK Biobank, and the association of 13 risk factors with risk of multiple sclerosis was assessed. By applying a Bonferroni correction for the significance threshold, age at menarche, comparative body size at age 10 and ease of tanning presented a statistically significant association with risk of multiple sclerosis. In the second step, the approach of Mendelian randomization study was implemented to examine the potentially causal association of these three risk factors with risk of multiple sclerosis by using summary level data from genome-wide association studies. Age at menarche and body mass index at childhood presented a causal association with risk of multiple sclerosis, but ease of tanning did not present a significant effect.

Βιβλιογραφία

1. Feigin VL, Vos T, Nichols E, Owolabi MO, Carroll WM, Dichgans M, et al. The global burden of neurological disorders: translating evidence into policy. *Lancet Neurol.* 2019 Dec;
2. Feigin VL, Nichols E, Alam T, Bannick MS, Beghi E, Blake N, et al. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019 May;18(5):459–80.
3. Dugger BN, Dickson DW. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017 Jul 5;9(7):a028035.
4. Armstrong RA, Lantos PL, Cairns NJ. Overlap between neurodegenerative disorders. *Neuropathology.* 2005 Jun;25(2):111–24.
5. Ramagopalan S V, Dobson R, Meier UC, Giovannoni G. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *Lancet Neurol.* 2010 Jul;9(7):727–39.
6. Ascherio A, Munger KL, Lünemann JD. The initiation and prevention of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2012 Nov 9;8(11):602–12.
7. Multiple Sclerosis International Federation. Atlas of MS 2013: mapping multiple sclerosis around the world. London; 2013.
8. Koch-Henriksen N, Sørensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol.* 2010 May;9(5):520–32.
9. Patsopoulos NA. Genetics of Multiple Sclerosis: An Overview and New

- Directions. Cold Spring Harb Perspect Med. 2018 Jul 2;8(7).
10. Gale CR, Martyn CN. Migrant studies in multiple sclerosis. *Prog Neurobiol.* 1995 Nov;47(4–5):425–48.
 11. Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: The role of infection. *Ann Neurol.* 2007 Apr;61(4):288–99.
 12. Ebers GC. Environmental factors and multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2008 Mar;7(3):268–77.
 13. Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, Ioannidis JPA, Tzoulaki I. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Neurol.* 2015 Mar;14(3):263–73.
 14. Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, Tzoulaki I. Environmental factors and risk of multiple sclerosis: Findings from meta-analyses and Mendelian randomization studies. *Mult Scler J.* 2019 Sep 6;135245851987266.
 15. Al-Chalabi A, Hardiman O. The epidemiology of ALS: a conspiracy of genes, environment and time. *Nat Rev Neurol.* 2013;9(11):617–28.
 16. Paez-Colasante X, Figueroa-Romero C, Sakowski S, Goutman S, Feldman EL. Amyotrophic lateral sclerosis: mechanisms and therapeutics in the epigenomic era. *Nat Rev Neurol.* 2015;1–14.
 17. Lill CM, Abel O, Bertram L, Al-Chalabi A. Keeping up with genetic discoveries in amyotrophic lateral sclerosis: the ALSoD and ALSGene databases. *Amyotroph Lateral Scler.* 2011;12(4):238–49.
 18. van Rheenen W, Shatunov A, Dekker AM, McLaughlin RL, Diekstra FP, Pulit SL, et al. Genome-wide association analyses identify new risk variants and the

- genetic architecture of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet.* 2016;48(9):1043–8.
19. de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2006 Jun;5(6):525–35.
 20. Lewis PA. James Parkinson: the man behind the shaking palsy. *J Parkinsons Dis.* 2012;2(3):181–7.
 21. Elbaz A, Carcaillon L, Kab S, Moisan F. Epidemiology of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris).* 2016 Jan;172(1):14–26.
 22. de Rijk MC, Rocca WA, Anderson DW, Melcon MO, Breteler MM, Maraganore DM. A population perspective on diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Neurology.* 1997 May;48(5):1277–81.
 23. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkmann J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Prim.* 2017 Mar;3:17013.
 24. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TDL. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2014 Nov;29(13):1583–90.
 25. Lill CM, Roehr JT, McQueen MB, Kavvoura FK, Bagade S, Schjeide B-MMM, et al. Comprehensive research synopsis and systematic meta-analyses in Parkinson's disease genetics: The PDGene database. *PLoS Genet.* 2012;8(3):e1002548.
 26. Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet.* 2005 Feb;6(2):95–108.
 27. Kiebertz K, Wunderle KB. Parkinson's disease: evidence for environmental risk

- factors. *Mov Disord*. 2013 Jan;28(1):8–13.
28. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E, Ioannidis JPA. Environmental risk factors and Parkinson's disease: An umbrella review of meta-analyses. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016 Feb;23:1–9.
 29. Robinson L, Tang E, Taylor J-P. Dementia: timely diagnosis and early intervention. *BMJ*. 2015 Jun 16;350(jun15 14):h3029–h3029.
 30. Burns A, Iliffe S. Dementia. *BMJ*. 2009 Feb 5;338(feb05 1):b75.
 31. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2011 Mar;377(9770):1019–31.
 32. O'Brien JT, Thomas A. Vascular dementia. *Lancet*. 2015 Oct;386(10004):1698–706.
 33. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer's report 2015: The global impact of dementia. London; 2015.
 34. The Lancet. Dementia burden coming into focus. *Lancet*. 2017 Dec;390(10113):2606.
 35. Belbasis L, Panagiotou OA, Dosis V, Evangelou E. A systematic appraisal of field synopses in genetic epidemiology: a HuGE review. *Am J Epidemiol*. 2015 Jan 1;181(1):1–16.
 36. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet*. 2007;39(1):17–23.
 37. Dwyer R, Skrobot OA, Dwyer J, Munafo M, Kehoe PG. Using Alzgene-like

- approaches to investigate susceptibility genes for vascular cognitive impairment. *J Alzheimer's Dis.* 2013;34(1):145–54.
38. Ioannidis JPA, Boffetta P, Little J, O'Brien TR, Uitterlinden AG, Vineis P, et al. Assessment of cumulative evidence on genetic associations: Interim guidelines. *Int J Epidemiol.* 2008 Feb;37(1):120–32.
 39. Egger M, Smith GD, Sterne JAC. Uses and abuses of meta-analysis. *Clin Med (Northfield Il).* 2001 Nov 1;1(6):478–84.
 40. Dickersin K, Berlin JA. Meta-analysis: state-of-the-science. *Epidemiol Rev.* 1992;14:154–76.
 41. Egger M, Ebrahim S, Smith GD. Where now for meta-analysis? *Int J Epidemiol.* 2002 Feb;31(1):1–5.
 42. Mullen PD, Ramírez G. THE PROMISE AND PITFALLS OF SYSTEMATIC REVIEWS. *Annu Rev Public Health.* 2006 Apr;27(1):81–102.
 43. Normand SL. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Stat Med.* 1999 Feb 15;18(3):321–59.
 44. Borenstein M, Hedges L V, Higgins JPT, Rothstein HR. A basic introduction to fixed-effect and random-effects models for meta-analysis. *Res Synth Methods.* 2010 Apr;1(2):97–111.
 45. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ.* 2003 Sep 6;327(7414):557–60.
 46. Higgins JPT, Thompson SG, Spiegelhalter DJ. A re-evaluation of random-effects meta-analysis. *J R Stat Soc Ser A Stat Soc.* 2009 Jan;172(1):137–59.

47. Cochran WG. The Combination of Estimates from Different Experiments. *Biometrics*. 1954 Mar;10(1):101.
48. Jin Z-C, Zhou X-H, He J. Statistical methods for dealing with publication bias in meta-analysis. *Stat Med*. 2015 Jan 30;34(2):343–60.
49. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ*. 1997 Sep;315(7109):629–34.
50. Sterne JA, Egger M. Funnel plots for detecting bias in meta-analysis: guidelines on choice of axis. *J Clin Epidemiol*. 2001 Oct;54(10):1046–55.
51. Sterne JA, Egger M, Smith GD. Systematic reviews in health care: Investigating and dealing with publication and other biases in meta-analysis. *BMJ*. 2001 Jul 14;323(7304):101–5.
52. Lau J, Ioannidis JPA, Terrin N, Schmid CH, Olkin I. The case of the misleading funnel plot. *BMJ Br Med J*. 2006;333(7568):597–600.
53. Terrin N, Schmid CH, Lau J. In an empirical evaluation of the funnel plot, researchers could not visually identify publication bias. *J Clin Epidemiol*. 2005 Sep;58(9):894–901.
54. Ioannidis JPA, Trikalinos TA. An exploratory test for an excess of significant findings. *Clin Trials*. 2007 Jan;4(3):245–53.
55. Kavvoura FK, McQueen MB, Khoury MJ, Tanzi RE, Bertram L, Ioannidis JPA. Evaluation of the Potential Excess of Statistically Significant Findings in Published Genetic Association Studies: Application to Alzheimer's Disease. *Am J Epidemiol*. 2008 Oct 15;168(8):855–65.
56. Tsilidis KK, Papatheodorou SI, Evangelou E, Ioannidis JPA. Evaluation of

- excess statistical significance in meta-analyses of 98 biomarker associations with cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(24):1867–78.
57. Tzoulaki I, Siontis KC, Evangelou E, Ioannidis JP a. Bias in associations of emerging biomarkers with cardiovascular disease. *JAMA Intern Med.* 2013;173(8):664–71.
 58. Ioannidis JPA. Integration of evidence from multiple meta-analyses: a primer on umbrella reviews, treatment networks and multiple treatments meta-analyses. *CMAJ.* 2009 Oct;181(8):488–93.
 59. Khoury MJ, Bertram L, Boffetta P, Butterworth AS, Chanock SJ, Dolan SM, et al. Genome-wide association studies, field synopses, and the development of the knowledge base on genetic variation and human diseases. *Am J Epidemiol.* 2009 Aug 1;170(3):269–79.
 60. Serghiou S, Patel CJ, Tan YY, Koay P, Ioannidis JPA. Field-wide meta-analyses of observational associations can map selective availability of risk factors and the impact of model specifications. *J Clin Epidemiol.* 2016 Mar;71:58–67.
 61. Boffetta P, Winn DM, Ioannidis JP, Thomas DC, Little J, Smith GD, et al. Recommendations and proposed guidelines for assessing the cumulative evidence on joint effects of genes and environments on cancer occurrence in humans. *Int J Epidemiol.* 2012 Jun;41(3):686–704.
 62. Hill AB. The environment and disease: Association or causation? *Proc R Soc Med.* 1965 May;58:295–300.
 63. Ioannidis JPA. Exposure-wide epidemiology: revisiting Bradford Hill. *Stat Med.* 2016 May 20;35(11):1749–62.

64. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Middleton LT, Ioannidis JPA, Evangelou E. Systematic evaluation of the associations between environmental risk factors and dementia: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Alzheimers Dement*. 2017 Apr 4;13(4):406–18.
65. Belbasis L, Dosis V, Evangelou E. Elucidating the environmental risk factors for rheumatic diseases: An umbrella review of meta-analyses. *Int J Rheum Dis*. 2018 Aug;21(8):1514–24.
66. Belbasis L, Stefanaki I, Stratigos AJ, Evangelou E. Non-genetic risk factors for cutaneous melanoma and keratinocyte skin cancers: An umbrella review of meta-analyses. *J Dermatol Sci*. 2016 Dec 13;84(3):330–9.
67. Smith GD, Ebrahim S. Mendelian randomization: prospects, potentials, and limitations. *Int J Epidemiol*. 2004 Feb 1;33(1):30–42.
68. Ebrahim S, Davey Smith G. Mendelian randomization: can genetic epidemiology help redress the failures of observational epidemiology? *Hum Genet*. 2008 Feb 23;123(1):15–33.
69. Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JAC, Timpson N, Davey Smith G. Mendelian randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med*. 2008 Apr 15;27(8):1133–63.
70. Davey Smith G, Ebrahim S. ‘Mendelian randomization’: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease?*. *Int J Epidemiol*. 2003 Feb;32(1):1–22.
71. Evans DM, Davey Smith G. Mendelian Randomization: New Applications in the Coming Age of Hypothesis-Free Causality. *Annu Rev Genomics Hum Genet*.

- 2015 Aug 24;16(1):327–50.
72. Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method. *Eur J Epidemiol.* 2017;32(5):377–89.
 73. Hartwig FP, Davies NM, Hemani G, Davey Smith G. Two-sample Mendelian randomization: avoiding the downsides of a powerful, widely applicable but potentially fallible technique. *Int J Epidemiol.* 2016;45(6):1717–26.
 74. Burgess S, Butterworth A, Thompson SG. Mendelian Randomization Analysis With Multiple Genetic Variants Using Summarized Data. *Genet Epidemiol.* 2013 Nov;37(7):658–65.
 75. Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol.* 2015 Apr;44(2):512–25.
 76. Bowden J, Davey Smith G, Haycock PC, Burgess S. Consistent Estimation in Mendelian Randomization with Some Invalid Instruments Using a Weighted Median Estimator. *Genet Epidemiol.* 2016 May;40(4):304–14.
 77. Solovieff N, Cotsapas C, Lee PH, Purcell SM, Smoller JW. Pleiotropy in complex traits: challenges and strategies. *Nat Rev Genet.* 2013 Jul;14(7):483–95.
 78. Verbanck M, Chen C-Y, Neale B, Do R. Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases. *Nat Genet.* 2018 May 23;50(5):693–8.
 79. Burgess S, Thompson SG. Multivariable Mendelian randomization: the use of pleiotropic genetic variants to estimate causal effects. *Am J Epidemiol.* 2015 Feb

- 15;181(4):251–60.
80. Renton AE, Chiò A, Traynor BJ. State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Nat Neurosci*. 2014;17(1):17–23.
 81. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. In: *The Lancet*. 2011. p. 942–55.
 82. Chiò A, Logroscino G, Traynor BJ, Collins J, Simeone JC, Goldstein LA, et al. Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review of the published literature. *Neuroepidemiology*. 2013;41(2):118–30.
 83. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*. 1986 Sep;7(3):177–88.
 84. Lau J, Ioannidis JP, Schmid CH. Quantitative synthesis in systematic reviews. *Ann Intern Med*. 1997 Nov;127(9):820–6.
 85. Higgins JPT. Commentary: Heterogeneity in meta-analysis should be expected and appropriately quantified. *Int J Epidemiol*. 2008 Oct;37(5):1158–60.
 86. Chinn S. A simple method for converting an odds ratio to effect size for use in meta-analysis. *Stat Med*. 2000 Nov;19(22):3127–31.
 87. Higgins JPT, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med*. 2002 Jun;21(11):1539–58.
 88. Ioannidis JPA. Clarifications on the application and interpretation of the test for excess significance and its extensions. *J Math Psychol*. 2013 Oct;57(5):184–7.
 89. Lubin JH, Gail MH. On power and sample size for studying features of the relative odds of disease. *Am J Epidemiol*. 1990 Mar;131(3):552–66.

90. Lekoubou A, Matsha TE, Sobngwi E, Kengne AP. Effects of diabetes mellitus on amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. *BMC Res Notes*. 2014;7(1):171.
91. Hamidou B, Couratier P, Besançon C, Nicol M, Preux PM, Marin B. Epidemiological evidence that physical activity is not a risk factor for ALS. *Eur J Epidemiol*. 2014;29(7):459–75.
92. Vergara X, Kheifets L, Greenland S, Oksuzyan S, Cho Y-S, Mezei G. Occupational exposure to extremely low-frequency magnetic fields and neurodegenerative disease: a meta-analysis. *J Occup Environ Med*. 2013 Feb;55(2):135–46.
93. Wang H, O'Reilly ÉJ, Weisskopf MG, Logroscino G, McCullough ML, Thun MJ, et al. Smoking and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a pooled analysis of 5 prospective cohorts. *Arch Neurol*. 2011;68(2):207–13.
94. Malek AM, Barchowsky A, Bowser R, Youk A, Talbott EO. Pesticide exposure as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis: A meta-analysis of epidemiological studies. Pesticide exposure as a risk factor for ALS. *Environ Res*. 2012;117:112–9.
95. Capozzella A, Sacco C, Chighine A, Loreti B, Scala B, Casale T, et al. Work related etiology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a meta-analysis. *Ann Ig*. 2014;26(5):456–72.
96. Kamel F, Umbach DM, Bedlack RS, Richards M, Watson M, Alavanja MCR, et al. Pesticide exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotoxicology*. 2012;33(3):457–62.

97. Sutedja NA, Veldink JH, Fischer K, Kromhout H, Heederik D, Huisman MHB, et al. Exposure to chemicals and metals and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. *Amyotroph Lateral Scler*. 2009;10(5–6):302–9.
98. Abraham A, Drory VE. Influence of serum uric acid levels on prognosis and survival in amyotrophic lateral sclerosis: A meta-analysis. *J Neurol*. 2014;261(6):1133–8.
99. Huang R, Guo X, Chen X, Zheng Z, Wei Q, Cao B, et al. The serum lipid profiles of amyotrophic lateral sclerosis patients: A study from south-west China and a meta-analysis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2015;1–7.
100. Fitzgerald KC, O'Reilly EJ, Fondell E, Falcone GJ, McCullough ML, Park Y, et al. Intakes of vitamin C and carotenoids and risk of amyotrophic lateral sclerosis: Pooled results from 5 cohort studies. *Ann Neurol*. 2013;73(2):236–45.
101. Fitzgerald KC, O'Reilly EJ, Falcone GJ, McCullough ML, Park Y, Kolonel LN, et al. Dietary ω -3 Polyunsaturated Fatty Acid Intake and Risk for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *JAMA Neurol*. 2014;1–9.
102. Chen H, Richard M, Sandler DP, Umbach DM, Kamel F. Head injury and amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Epidemiol*. 2007;166(7):810–6.
103. Zheng Z, Sheng L, Shang H. Statins and amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener*. 2012;1–5.
104. Alonso A, Logroscino G, Hernán MA. Smoking and the risk of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81(11):1249–52.

105. Kang H, Cha ES, Choi GJ, Lee WJ. Amyotrophic lateral sclerosis and agricultural environments: a systematic review. *J Korean Med Sci.* 2014;29(12):1610–7.
106. Wang M-D, Gomes J, Cashman NR, Little J, Krewski D. A meta-analysis of observational studies of the association between chronic occupational exposure to lead and amyotrophic lateral sclerosis. *J Occup Environ Med.* 2014;56(12):1235–42.
107. Zhou H, Chen G, Chen C, Yu Y, Xu Z. Association between Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields Occupations and Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Meta-Analysis. *PLoS One.* 2012;7(11).
108. Fang F, Kwee LC, Allen KD, Umbach DM, Ye W, Watson M, et al. Association Between Blood Lead and the Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Am J Epidemiol.* 2010 May 15;171(10):1126–33.
109. Kamel F, Umbach DM, Munsat TL, Shefner JM, Hu H, Sandler DP. Lead exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *Epidemiology.* 2002 May;13(3):311–9.
110. Callaghan B, Feldman D, Gruis K, Feldman E. The Association of Exposure to Lead, Mercury, and Selenium and the Development of Amyotrophic Lateral Sclerosis and the Epigenetic Implications. *Neurodegener Dis.* 2011;8(1–2):1–8.
111. Jafari S, Etminan M, Aminzadeh F, Samii A. Head injury and risk of Parkinson disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2013 Aug;28(9):1222–9.
112. Wirdefeldt K, Adami H-O, Cole P, Trichopoulos D, Mandel J. *Epidemiology*

- and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *Eur J Epidemiol*. 2011 Jun;26(Suppl 1):S1-58.
113. Armon C, Nelson LM. Is head trauma a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis? An evidence based review. *Amyotroph Lateral Scler*. 2012;13(4):351–6.
 114. Shea BJ, Hamel C, Wells GA, Bouter LM, Kristjansson E, Grimshaw J, et al. AMSTAR is a reliable and valid measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. *J Clin Epidemiol*. 2009 Oct;62(10):1013–20.
 115. Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. *BMC Med Res Methodol*. 2007;7(1):10.
 116. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol*. 2008 Apr;61(4):344–9.
 117. Kowal SL, Dall TM, Chakrabarti R, Storm M V, Jain A. The current and projected economic burden of Parkinson's disease in the United States. *Mov Disord*. 2013 Mar;28(3):311–8.
 118. Nalls MA, McLean CY, Rick J, Eberly S, Hutten SJ, Gwinn K, et al. Diagnosis of Parkinson's disease on the basis of clinical and genetic classification: a population-based modelling study. *Lancet Neurol*. 2015 Oct;14(10):1002–9.
 119. Nalls MA, Pankratz N, Lill CM, Do CB, Hernandez DG, Saad M, et al. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci

- for Parkinson's disease. *Nat Genet.* 2014 Sep;46(9):989–93.
120. Sterne JAC, Sutton AJ, Ioannidis JPA, Terrin N, Jones DR, Lau J, et al. Recommendations for examining and interpreting funnel plot asymmetry in meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ.* 2011 Jan;343:d4002.
 121. van der Mark M, Brouwer M, Kromhout H, Nijssen P, Huss A, Vermeulen R. Is pesticide use related to Parkinson disease? Some clues to heterogeneity in study results. *Environ Health Perspect.* 2012 Mar;120(3):340–7.
 122. Noyce AJ, Bestwick JP, Silveira-Moriyama L, Hawkes CH, Giovannoni G, Lees AJ, et al. Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Ann Neurol.* 2012 Dec;72(6):893–901.
 123. Pezzoli G, Cereda E. Exposure to pesticides or solvents and risk of Parkinson disease. *Neurology.* 2013 May;80(22):2035–41.
 124. Cereda E, Barichella M, Pedrolli C, Klersy C, Cassani E, Caccialanza R, et al. Diabetes and risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2011 Dec;34(12):2614–23.
 125. Lu L, Fu D-L, Li H-Q, Liu A-J, Li J-H, Zheng G-Q. Diabetes and risk of Parkinson's disease: an updated meta-analysis of case-control studies. *PLoS One.* 2014 Jan;9(1):e85781.
 126. Ioannidis JPA, Tarone R, McLaughlin JK. The false-positive to false-negative ratio in epidemiologic studies. *Epidemiology.* 2011 Jul;22(4):450–6.
 127. Johnson VE. Revised standards for statistical evidence. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Nov;110(48):19313–7.
 128. Allam MF, del Castillo AS, Navajas RF-C. [Parkinson's disease, tobacco and

- age: meta analysis]. *Rev Neurol*. 2003;36(6):510–3.
129. Allam MF, Campbell MJ, Del Castillo AS, Fernández-Crehuet Navajas R. Parkinson's disease protects against smoking? *Behav Neurol*. 2004 Jan;15(3–4):65–71.
 130. Allam MF, Campbell MJ, Hofman A, Del Castillo AS, Fernández-Crehuet Navajas R. Smoking and Parkinson's disease: systematic review of prospective studies. *Mov Disord*. 2004 Jun;19(6):614–21.
 131. Allam MF, Del Castillo AS, Navajas RF-C. Parkinson's disease, smoking and family history: meta-analysis. *Eur J Neurol*. 2003 Jan;10(1):59–62.
 132. Allam MF, Serrano del Castillo A, Fernández-Crehuet Navajas R. Smoking and Parkinson's disease: explanatory hypothesis. *Int J Neurosci*. 2002 Jul;112(7):851–4.
 133. Ritz B, Ascherio A, Checkoway H, Marder KS, Nelson LM, Rocca WA, et al. Pooled analysis of tobacco use and risk of Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2007 Jul;64(7):990–7.
 134. Hernán MA, Takkouche B, Caamaño-Isorna F, Gestal-Otero JJ. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2002 Sep;52(3):276–84.
 135. Kiyohara C, Kusuvara S. Cigarette smoking and Parkinson's disease: a meta-analysis. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 2011 Aug;102(8):254–65.
 136. Sugita M, Izuno T, Tatemichi M, Otahara Y. Meta-analysis for epidemiologic studies on the relationship between smoking and Parkinson's disease. *J Epidemiol*. 2001 Mar;11(2):87–94.

137. Allen MT, Levy LS. Parkinson's disease and pesticide exposure--a new assessment. *Crit Rev Toxicol*. 2013 Jul;43(6):515–34.
138. Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, Shrivastava S. A meta-analysis of Parkinson's disease and exposure to pesticides. *Neurotoxicology*. 2000 Aug;21(4):435–40.
139. Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, Priyadarshi SS. Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environ Res*. 2001 Jun;86(2):122–7.
140. Van Maele-Fabry G, Hoet P, Vilain F, Lison D. Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Environ Int*. 2012 Oct;46:30–43.
141. Hamer M, Chida Y. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychol Med*. 2009 Jan;39(1):3–11.
142. Xu Q, Park Y, Huang X, Hollenbeck A, Blair A, Schatzkin A, et al. Physical activities and future risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2010 Jul;75(4):341–8.
143. Costa J, Lunet N, Santos C, Santos J, Vaz-Carneiro A. Caffeine exposure and the risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Alzheimers Dis*. 2010 Jan;20(Suppl 1):S221-38.
144. Liu R, Guo X, Park Y, Huang X, Sinha R, Freedman ND, et al. Caffeine intake, smoking, and risk of Parkinson disease in men and women. *Am J Epidemiol*. 2012 Jun;175(11):1200–7.
145. Samii A, Etminan M, Wiens MO, Jafari S. NSAID use and the risk of

- Parkinson's disease: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Drugs Aging*. 2009 Jan;26(9):769–79.
146. Torsney KM, Noyce AJ, Doherty KM, Bestwick JP, Dobson R, Lees AJ. Bone health in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014 Oct;85(10):1159–66.
 147. Kamel F, Goldman SM, Umbach DM, Chen H, Richardson G, Barber MR, et al. Dietary fat intake, pesticide use, and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Jan;20(1):82–7.
 148. van der Marck MA, Dicke HC, Uc EY, Kentin ZHA, Borm GF, Bloem BR, et al. Body mass index in Parkinson's disease: a meta-analysis. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012 Mar;18(3):263–7.
 149. Gao L, Tang H, Nie K, Wang L, Zhao J, Gan R, et al. Cerebrospinal fluid alpha-synuclein as a biomarker for Parkinson's disease diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Neurosci*. 2015 Sep 2;125(9):645–54.
 150. Adams-Carr KL, Bestwick JP, Shribman S, Lees A, Schrag A, Noyce AJ. Constipation preceding Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 Sep 7;jnnp-2015-311680.
 151. Gagne JJ, Power MC. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: a meta-analysis. *Neurology*. 2010 Mar;74(12):995–1002.
 152. Gudala K, Bansal D, Muthyala H. Role of serum cholesterol in Parkinson's disease: a meta-analysis of evidence. *J Parkinsons Dis*. 2013 Jan;3(3):363–70.
 153. Lang Y, Gong D, Fan Y. Calcium channel blocker use and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Pharmacoepidemiol drug Saf*. 2015;24(6):559–66.

154. Lv Z, Qi H, Wang L, Fan X, Han F, Wang H, et al. Vitamin D status and Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurol Sci.* 2014 Nov;35(11):1723–30.
155. Shen C, Guo Y, Luo W, Lin C, Ding M. Serum urate and the risk of Parkinson's disease: results from a meta-analysis. *Can J Neurol Sci.* 2013 Jan;40(1):73–9.
156. Takeda A, Nyssen OP, Syed A, Jansen E, Bueno-de-Mesquita B, Gallo V. Vitamin A and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology.* 2014 Jan;42(1):25–38.
157. Undela K, Gudala K, Malla S, Bansal D. Statin use and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis of observational studies. *J Neurol.* 2013 Jan;260(1):158–65.
158. Ungprasert P, Srivali N, Thongprayoon C. Gout is not associated with a lower risk of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Parkinsonism Relat Disord.* 2015 Oct;21(10):1238–42.
159. Wang P, Li J, Qiu S, Wen H, Du J. Hormone replacement therapy and Parkinson's disease risk in women: a meta-analysis of 14 observational studies. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2015 Jan;11:59–66.
160. Yu J-G, Feng Y-F, Xiang Y, Huang J-H, Savini G, Parisi V, et al. Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: a meta-analysis. *PLoS One.* 2014 Jan;9(1):e85718.
161. Zhang D, Jiang H, Xie J. Alcohol intake and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis of observational studies. *Mov Disord.* 2014 May;29(6):819–22.
162. Shen L, Ji H-F. Associations between Vitamin D Status, Supplementation,

- Outdoor Work and Risk of Parkinson's Disease: A Meta-Analysis Assessment. *Nutrients*. 2015;7(6):4817–27.
163. Li F-J, Ji H-F, Shen L. A Meta-Analysis of Tea Drinking and Risk of Parkinson's Disease. *Sci World J*. 2012 Jan;2012:1–6.
 164. Yang F, Trolle Lagerros Y, Bellocco R, Adami H-O, Fang F, Pedersen NL, et al. Physical activity and risk of Parkinson's disease in the Swedish National March Cohort. *Brain*. 2015 Feb;138(Pt 2):269–75.
 165. Huss A, Koeman T, Kromhout H, Vermeulen R. Extremely Low Frequency Magnetic Field Exposure and Parkinson's Disease--A Systematic Review and Meta-Analysis of the Data. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(7):7348–56.
 166. Mortimer JA, Borenstein AR, Nelson LM. Associations of welding and manganese exposure with Parkinson disease: review and meta-analysis. *Neurology*. 2012 Sep;79(11):1174–80.
 167. Palin O, Herd C, Morrison KE, Jagielski AC, Wheatley K, Thomas GN, et al. Systematic review and meta-analysis of hydrocarbon exposure and the risk of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Mar;21(3):243–8.
 168. Etminan M, Gill SS, Samii A. Intake of vitamin E, vitamin C, and carotenoids and the risk of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2005 Jun;4(6):362–5.
 169. Jiang W, Ju C, Jiang H, Zhang D. Dairy foods intake and risk of Parkinson's disease: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Epidemiol*. 2014 Sep;29(9):613–9.

170. Shen L. Associations between B Vitamins and Parkinson's Disease. *Nutrients*. 2015;7(9):7197–208.
171. Wang A, Lin Y, Wu Y, Zhang D. Macronutrients intake and risk of Parkinson's disease: A meta-analysis. *Geriatr Gerontol Int*. 2015 May;15(5):606–16.
172. Liu R, Gao X, Lu Y, Chen H. Meta-analysis of the relationship between Parkinson disease and melanoma. *Neurology*. 2011 Jun 7;76(23):2002–9.
173. Gao X, Chen H, Schwarzschild MA, Ascherio A. Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2011 Mar;76(10):863–9.
174. Chen J, Guan Z, Wang L, Song G, Ma B, Wang Y. Meta-Analysis: Overweight, Obesity, and Parkinson's Disease. *Int J Endocrinol*. 2014 Jan;2014:1–7.
175. Mariani S, Ventriglia M, Simonelli I, Donno S, Bucossi S, Vernieri F, et al. Fe and Cu do not differ in Parkinson's disease: a replication study plus meta-analysis. *Neurobiol Aging*. 2013 Feb;34(2):632–3.
176. Sako W, Murakami N, Izumi Y, Kaji R. MRI can detect nigral volume loss in patients with Parkinson's disease: evidence from a meta-analysis. *J Parkinsons Dis*. 2014 Jan;4(3):405–11.
177. Shen L, Ji H-F. Low uric acid levels in patients with Parkinson's disease: evidence from meta-analysis. *BMJ Open*. 2013 Jan;3(11):e003620.
178. Wang Y-L, Wang Y-T, Li J-F, Zhang Y-Z, Yin H-L, Han B. Body Mass Index and Risk of Parkinson's Disease: A Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *PLoS One*. 2015;10(6):e0131778.
179. Zhao Y, Shen L, Ji H-F. Osteoporosis risk and bone mineral density levels in patients with Parkinson's disease: a meta-analysis. *Bone*. 2013 Jan;52(1):498–

- 505.
180. Tanner CM, Comella CL. When brawn benefits brain: physical activity and Parkinson's disease risk. *Brain*. 2015;138(2):238–9.
 181. Palma J-A, Kaufmann H. Autonomic disorders predicting Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Jan;20(Suppl 1):S94–8.
 182. Braak H, De Vos RAI, Bohl J, Del Tredici K. Gastric α -synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett*. 2006;396(1):67–72.
 183. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue LF, White CL, et al. Multi-organ distribution of phosphorylated α -synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. *Acta Neuropathol*. 2010;119(6):689–702.
 184. Savica R, Rocca WA, Ahlskog JE. When does Parkinson disease start? *Arch Neurol*. 2010;67(7):798–801.
 185. van der Mark M, Nijssen PCG, Vlaanderen J, Huss A, Mulleners WM, Sas AMG, et al. A case-control study of the protective effect of alcohol, coffee, and cigarette consumption on Parkinson disease risk: time-since-cessation modifies the effect of tobacco smoking. *PLoS One*. 2014 Jan;9(4):e95297.
 186. Ritz B, Lee P-C, Lassen CF, Arah OA. Parkinson disease and smoking revisited: ease of quitting is an early sign of the disease. *Neurology*. 2014 Oct;83(16):1396–402.
 187. Smith C, Gentleman SM, Leclercq PD, Murray LS, Griffin WST, Graham DI, et al. The neuroinflammatory response in humans after traumatic brain injury.

- Neuropathol Appl Neurobiol. 2013 Oct;39(6):654–66.
188. Uryu K, Chen X-H, Martinez D, Browne KD, Johnson VE, Graham DI, et al. Multiple proteins implicated in neurodegenerative diseases accumulate in axons after brain trauma in humans. *Exp Neurol*. 2007 Dec;208(2):185–92.
 189. Gao X, Chen H, Schwarzschild MA, Logroscino G, Ascherio A. Perceived imbalance and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2008 Mar;23(4):613–6.
 190. Rugbjerg K, Ritz B, Korbo L, Martinussen N, Olsen JH. Risk of Parkinson's disease after hospital contact for head injury: population based case-control study. *BMJ*. 2008 Jan;337:a2494.
 191. Aarsland D, Pålhlagen S, Ballard CG, Ehrt U, Svenningsson P. Depression in Parkinson disease—epidemiology, mechanisms and management. *Nat Rev Neurol*. 2012 Jan;8(1):35–47.
 192. Ascherio A, Schwarzschild MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *Lancet Neurol*. 2016 Nov;15(12):1257–72.
 193. Ton TGN, Heckbert SR, Longstreth WT, Rossing MA, Kukull WA, Franklin GM, et al. Calcium channel blockers and beta-blockers in relation to Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2007 Apr;13(3):165–9.
 194. Cheng H-C, Ulane CM, Burke RE. Clinical progression in Parkinson disease and the neurobiology of axons. *Ann Neurol*. 2010 Jun;67(6):715–25.
 195. Lang AE. In pursuit of prodromal Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2015 Jan;14(1):27–8.
 196. Schrag A, Horsfall L, Walters K, Noyce A, Petersen I. Prediagnostic presentations of Parkinson's disease in primary care: a case-control study. *Lancet*

- Neurol. 2015 Jan;14(1):57–64.
197. Wang I-K, Lin C-L, Wu Y-Y, Chou C-Y, Lin S-Y, Liu J-H, et al. Increased risk of Parkinson's disease in patients with end-stage renal disease: a retrospective cohort study. *Neuroepidemiology*. 2014 Jan;42(4):204–10.
 198. Huang H-C, Tsai C-H, Muo C-H, Lin K-H, Lu M-K, Sung F-C, et al. Risk of Parkinson's disease following zolpidem use: a retrospective, population-based cohort study. *J Clin Psychiatry*. 2015 Jan;76(1):e104-10.
 199. Gauthier S, Albert M, Fox N, Goedert M, Kivipelto M, Mestre-Ferrandiz J, et al. Why has therapy development for dementia failed in the last two decades? *Alzheimer's Dement*. 2016 Jan 19;12(1):60–4.
 200. G8 Health and Science Ministers. G8 Dementia Summit Declaration. London; 2013.
 201. Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: An analysis of population-based data. *Lancet Neurol*. 2014;13(8):788–94.
 202. Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol*. 2011 Sep;10(9):819–28.
 203. Qiu C, von Strauss E, Bäckman L, Winblad B, Fratiglioni L. Twenty-year changes in dementia occurrence suggest decreasing incidence in central Stockholm, Sweden. *Neurology*. 2013 May 14;80(20):1888–94.
 204. Schrijvers EMC, Verhaaren BFJ, Koudstaal PJ, Hofman A, Ikram MA, Breteler MMB. Is dementia incidence declining?: Trends in dementia incidence since 1990 in the Rotterdam Study. *Neurology*. 2012 May 8;78(19):1456–63.

205. Matthews FE, Arthur A, Barnes LE, Bond J, Jagger C, Robinson L, et al. A two-decade comparison of prevalence of dementia in individuals aged 65 years and older from three geographical areas of England: results of the Cognitive Function and Ageing Study I and II. *Lancet* (London, England). 2013 Oct 26;382(9902):1405–12.
206. Satizabal CL, Beiser AS, Chouraki V, Chêne G, Dufouil C, Seshadri S. Incidence of Dementia over Three Decades in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med*. 2016 Feb 11;374(6):523–32.
207. Almeida OP, Hulse GK, Lawrence D, Flicker L. Smoking as a risk factor for Alzheimer's disease: contrasting evidence from a systematic review of case-control and cohort studies. *Addiction*. 2002 Jan;97(1):15–28.
208. Anstey KJ, von Sanden C, Salim A, O'Kearney R. Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Epidemiol*. 2007 Aug 15;166(4):367–78.
209. Barranco Quintana JL, Allam MF, Serrano Del Castillo A, Fernández-Crehuet Navajas R. Alzheimer's disease and coffee: a quantitative review. *Neurol Res*. 2007 Jan;29(1):91–5.
210. Beydoun MA, Beydoun HA, Gamaldo AA, Teel A, Zonderman AB, Wang Y. Epidemiologic studies of modifiable factors associated with cognition and dementia: systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2014;14(1):643.
211. Caamaño-Isorna F, Corral M, Montes-Martínez A, Takkouche B. Education and dementia: a meta-analytic study. *Neuroepidemiology*. 2006;26(4):226–32.

212. Cao L, Tan L, Wang H-F, Jiang T, Zhu X-C, Lu H, et al. Dietary Patterns and Risk of Dementia: a Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Mol Neurobiol*. 2015 Nov 9;
213. Chatterjee S, Peters SAE, Woodward M, Mejia Arango S, Batty GD, Beckett N, et al. Type 2 Diabetes as a Risk Factor for Dementia in Women Compared With Men: A Pooled Analysis of 2.3 Million People Comprising More Than 100,000 Cases of Dementia. *Diabetes Care*. 2016 Feb;39(2):300–7.
214. Cheng G, Huang C, Deng H, Wang H. Diabetes as a risk factor for dementia and mild cognitive impairment: a meta-analysis of longitudinal studies. *Intern Med J*. 2012 May;42(5):484–91.
215. Cherbuin N, Kim S, Anstey KJ. Dementia risk estimates associated with measures of depression: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2015;5(12):e008853.
216. de Craen AJM, Gussekloo J, Vrijisen B, Westendorp RGJ. Meta-analysis of nonsteroidal antiinflammatory drug use and risk of dementia. *Am J Epidemiol*. 2005 Jan 15;161(2):114–20.
217. Etminan M. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on risk of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2003 Jul 17;327(7407):128–0.
218. Fleminger S, Oliver DL, Lovestone S, Rabe-Hesketh S, Giora A. Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease: the evidence 10 years on; a partial replication. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003 Jul;74(7):857–62.
219. Graves AB, van Duijn CM, Chandra V, Fratiglioni L, Heyman A, Jorm AF, et

- al. Alcohol and tobacco consumption as risk factors for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol*. 1991;20 Suppl 2:S48-57.
220. Guan J-W, Huang C-Q, Li Y-H, Wan C-M, You C, Wang Z-R, et al. No association between hypertension and risk for Alzheimer's disease: a meta-analysis of longitudinal studies. *J Alzheimers Dis*. 2011;27(4):799–807.
 221. Kalantarian S, Stern TA, Mansour M, Ruskin JN. Cognitive impairment associated with atrial fibrillation: a meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2013 Mar 5;158(5 Pt 1):338–46.
 222. LeBlanc ES, Janowsky J, Chan BK, Nelson HD. Hormone replacement therapy and cognition: systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2001 Mar 21;285(11):1489–99.
 223. Low L-F, Harrison F, Lackersteen SM. Does personality affect risk for dementia? A systematic review and meta-analysis. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2013 Aug;21(8):713–28.
 224. Lu F-P, Lin K-P, Kuo H-K. Diabetes and the risk of multi-system aging phenotypes: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2009;4(1):e4144.
 225. Ma L-L, Yu J-T, Wang H-F, Meng X-F, Tan C-C, Wang C, et al. Association between cancer and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*. 2014;42(2):565–73.
 226. Macedo A, Taylor F, Casas JP, Adler A, Prieto-Merino D, Ebrahim S. Unintended effects of statins from observational studies in the general

- population: systematic review and meta-analysis. *BMC Med.* 2014;12(1):51.
227. McGeer PL, Schulzer M, McGeer EG. Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies. *Neurology.* 1996 Aug;47(2):425–32.
228. Morgan GS, Gallacher J, Bayer A, Fish M, Ebrahim S, Ben-Shlomo Y. Physical activity in middle-age and dementia in later life: findings from a prospective cohort of men in Caerphilly, South Wales and a meta-analysis. *J Alzheimers Dis.* 2012;31(3):569–80.
229. Mortimer JA, van Duijn CM, Chandra V, Fratiglioni L, Graves AB, Heyman A, et al. Head trauma as a risk factor for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol.* 1991;20 Suppl 2:S28-35.
230. Ownby RL, Crocco E, Acevedo A, John V, Loewenstein D. Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis. *Arch Gen Psychiatry.* 2006 May;63(5):530–8.
231. Peters R, Poulter R, Warner J, Beckett N, Burch L, Bulpitt C. Smoking, dementia and cognitive decline in the elderly, a systematic review. *BMC Geriatr.* 2008;8(1):36.
232. Peters R, Peters J, Warner J, Beckett N, Bulpitt C. Alcohol, dementia and cognitive decline in the elderly: a systematic review. *Age Ageing.* 2008 Sep;37(5):505–12.
233. Profenno LA, Porsteinsson AP, Faraone S V. Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders. *Biol Psychiatry.* 2010

- Mar 15;67(6):505–12.
234. Purnell C, Gao S, Callahan CM, Hendrie HC. Cardiovascular Risk Factors and Incident Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2009 Jan;23(1):1–10.
 235. Santos C, Costa J, Santos J, Vaz-Carneiro A, Lunet N. Caffeine intake and dementia: systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*. 2010;20 Suppl 1:S187-204.
 236. Song Y, Nie H, Xu Y, Zhang L, Wu Y. Association of statin use with risk of dementia: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Geriatr Gerontol Int*. 2013 Oct;13(4):817–24.
 237. Swiger KJ, Manalac RJ, Blumenthal RS, Blaha MJ, Martin SS. Statins and cognition: a systematic review and meta-analysis of short- and long-term cognitive effects. *Mayo Clin Proc*. 2013 Nov;88(11):1213–21.
 238. Szekely CA, Thorne JE, Zandi PP, Ek M, Messias E, Breitner JCS, et al. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for the Prevention of Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Neuroepidemiology*. 2004 Jul 2;23(4):159–69.
 239. Vagelatos NT, Eslick GD. Type 2 Diabetes as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: The Confounders, Interactions, and Neuropathology Associated With This Relationship. *Epidemiol Rev*. 2013 Jan 1;35(1):152–60.
 240. Valenzuela MJ, Sachdev P. Brain reserve and dementia: a systematic review. *Psychol Med*. 2006 Apr;36(4):441–54.
 241. Virk SA, Eslick GD. Occupational Exposure to Aluminum and Alzheimer Disease: A Meta-Analysis. *J Occup Environ Med*. 2015 Aug;57(8):893–6.
 242. Wong WB, Lin VW, Boudreau D, Devine EB. Statins in the prevention of

- dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis of observational studies and an assessment of confounding. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2013 Apr;22(4):345–58.
243. Xu W, Tan L, Wang H-F, Tan M-S, Tan L, Li J-Q, et al. Education and Risk of Dementia: Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Mol Neurobiol.* 2015 May 17;
 244. Zhou B, Teramukai S, Fukushima M. Prevention and treatment of dementia or Alzheimer's disease by statins: a meta-analysis. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2007;23(3):194–201.
 245. Diniz BS, Butters M a, Albert SM, Dew MA, Reynolds CF. Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *Br J Psychiatry.* 2013;202(5):329–35.
 246. Kim Y-S, Kwak SM, Myung S-K. Caffeine intake from coffee or tea and cognitive disorders: a meta-analysis of observational studies. *Neuroepidemiology.* 2015;44(1):51–63.
 247. Richardson K, Schoen M, French B, Umscheid CA, Mitchell MD, Arnold SE, et al. Statins and cognitive function: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2013;159(10):688–97.
 248. Seitz DP, Shah PS, Herrmann N, Beyene J, Siddiqui N. Exposure to general anesthesia and risk of alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatr.* 2011;11(1):83.
 249. Wang J, Tan L, Wang H-F, Tan C-C, Meng X-F, Wang C, et al. Anti-

- inflammatory drugs and risk of Alzheimer's disease: an updated systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis.* 2015;44(2):385–96.
250. da Silva J, Goncalves-Pereira M, Xavier M, Mukaetova-Ladinska EB. Affective disorders and risk of developing dementia: systematic review. *Br J Psychiatry.* 2013 Mar 1;202(3):177–86.
 251. Gudala K, Bansal D, Schifano F, Bhansali A. Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies. *J Diabetes Investig.* 2013 Nov 27;4(6):640–50.
 252. Wu S, Ding Y, Wu F, Li R, Hou J, Mao P. Omega-3 fatty acids intake and risks of dementia and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015 Jan;48:1–9.
 253. Zhong G, Wang Y, Zhang Y, Zhao Y. Association between Benzodiazepine Use and Dementia: A Meta-Analysis. Aleman A, editor. *PLoS One.* 2015 May 27;10(5):e0127836.
 254. Zhong G, Wang Y, Zhang Y, Guo JJ, Zhao Y. Smoking Is Associated with an Increased Risk of Dementia: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies with Investigation of Potential Effect Modifiers. Laws K, editor. *PLoS One.* 2015 Mar 12;10(3):e0118333.
 255. Anstey KJ, Mack HA, Cherbuin N. Alcohol consumption as a risk factor for dementia and cognitive decline: meta-analysis of prospective studies. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2009 Jul;17(7):542–55.
 256. Anstey KJ, Cherbuin N, Budge M, Young J. Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies.

- Obes Rev. 2011 May;12(5):e426-37.
257. Beckett MW, Ardern CI, Rotondi MA. A meta-analysis of prospective studies on the role of physical activity and the prevention of Alzheimer's disease in older adults. *BMC Geriatr.* 2015;15(1):9.
 258. Cataldo JK, Prochaska JJ, Glantz SA. Cigarette smoking is a risk factor for Alzheimer's Disease: an analysis controlling for tobacco industry affiliation. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(2):465–80.
 259. Chang-Quan H, Hui W, Chao-Min W, Zheng-Rong W, Jun-Wen G, Yong-Hong L, et al. The association of antihypertensive medication use with risk of cognitive decline and dementia: a meta-analysis of longitudinal studies. *Int J Clin Pract.* 2011 Dec;65(12):1295–305.
 260. García AM, Sisternas A, Hoyos SP. Occupational exposure to extremely low frequency electric and magnetic fields and Alzheimer disease: A meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2008;37(2):329–40.
 261. Li F-J, Shen L, Ji H-F. Dietary intakes of vitamin E, vitamin C, and β -carotene and risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis. *J Alzheimers Dis.* 2012;31(2):253–8.
 262. Maheshwari P, Eslick GD. Bacterial infection and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *J Alzheimers Dis.* 2015;43(3):957–66.
 263. Meng X, D'Arcy C. Education and Dementia in the Context of the Cognitive Reserve Hypothesis: A Systematic Review with Meta-Analyses and Qualitative Analyses. Laks J, editor. *PLoS One.* 2012 Jun 4;7(6):e38268.
 264. Meng X-F, Yu J-T, Wang H-F, Tan M-S, Wang C, Tan C-C, et al. Midlife

- vascular risk factors and the risk of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis.* 2014;42(4):1295–310.
265. O'Brien J, Jackson JW, Grodstein F, Blacker D, Weuve J. Postmenopausal Hormone Therapy Is Not Associated With Risk of All-Cause Dementia and Alzheimer's Disease. *Epidemiol Rev.* 2014 Jan 1;36(1):83–103.
 266. Perry DC, Sturm VE, Peterson MJ, Pieper CF, Bullock T, Boeve BF, et al. Association of traumatic brain injury with subsequent neurological and psychiatric disease: a meta-analysis. *J Neurosurg.* 2015 Aug 28;1–16.
 267. Peters R, Booth A, Peters J. A systematic review of calcium channel blocker use and cognitive decline/dementia in the elderly. *J Hypertens.* 2014 Oct;32(10):1945–57; discussion 1957-8.
 268. Power MC, Weuve J, Gagne JJ, McQueen MB, Viswanathan A, Blacker D. The association between blood pressure and incident Alzheimer disease: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiology.* 2011 Sep;22(5):646–59.
 269. Steel AJ, Eslick GD. Herpes Viruses Increase the Risk of Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis.* 2015;47(2):351–64.
 270. Terracciano A, Sutin AR, An Y, O'Brien RJ, Ferrucci L, Zonderman AB, et al. Personality and risk of Alzheimer's disease: New data and meta-analysis. *Alzheimer's Dement.* 2014 Mar;10(2):179–86.
 271. Virk SA, Eslick GD. Brief Report: Meta-analysis of Antacid Use and Alzheimer's Disease: Implications for the Aluminum Hypothesis. *Epidemiology.* 2015 Sep;26(5):769–73.
 272. Wang Z, Wei X, Yang J, Suo J, Chen J, Liu X, et al. Chronic exposure to

- aluminum and risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Neurosci Lett*. 2016 Jan 1;610:200–6.
273. Zhang Q, Guo S, Zhang X, Tang S, Shao W, Han X, et al. Inverse relationship between cancer and Alzheimer's disease: a systemic review meta-analysis. *Neurol Sci*. 2015 Nov;36(11):1987–94.
 274. Zhang Y, Chen J, Qiu J, Li Y, Wang J, Jiao J. Intakes of fish and PUFAs and mild-to-severe cognitive impairment risks: a dose-response meta-analysis of 21 cohort studies. *Am J Clin Nutr*. 2015 Dec 30;
 275. Zhou J, Yu J-T, Wang H-F, Meng X-F, Tan C-C, Wang J, et al. Association between stroke and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*. 2015;43(2):479–89.
 276. Blondell SJ, Hammersley-Mather R, Veerman J. Does physical activity prevent cognitive decline and dementia?: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *BMC Public Health*. 2014;14(1):510.
 277. Kuiper JS, Zuidersma M, Oude Voshaar RC, Zuidema SU, van den Heuvel ER, Stolk RP, et al. Social relationships and risk of dementia: A systematic review and meta-analysis of longitudinal cohort studies. *Ageing Res Rev*. 2015 Jul;22:39–57.
 278. Levi Marpillat N, Macquin-Mavier I, Tropeano A-I, Bachoud-Levi A-C, Maison P. Antihypertensive classes, cognitive decline and incidence of dementia: a network meta-analysis. *J Hypertens*. 2013 Jun;31(6):1073–82.
 279. Loefer M, Walach H. Midlife obesity and dementia: meta-analysis and adjusted forecast of dementia prevalence in the United States and China. *Obesity (Silver*

- Spring). 2013 Jan;21(1):E51-5.
280. Pedditizi E, Peters R, Beckett N. The risk of overweight/obesity in mid-life and late life for the development of dementia: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Age Ageing*. 2016 Jan;45(1):14–21.
 281. Russ TC, Batty GD, Hearnshaw GF, Fenton C, Starr JM. Geographical variation in dementia: Systematic review with meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 2012;41(4):1012–32.
 282. Santangeli P, Di Biase L, Bai R, Mohanty S, Pump A, Cereceda Brantes M, et al. Atrial fibrillation and the risk of incident dementia: A meta-analysis. *Hear Rhythm*. 2012 Nov;9(11):1761-1768.e2.
 283. Shen T, Lv J, Wang L, Wang W, Zhang D. Association between tooth loss and dementia among older people: a meta-analysis. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2015 Dec 7;
 284. Ungprasert P, Wijarnpreecha K, Thongprayoon C. Rheumatoid arthritis and the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis. *Neurol India*. 2016;64(1):56–61.
 285. Aarsland D, Sardahaee FS, Anderssen S, Ballard C. Is physical activity a potential preventive factor for vascular dementia? A systematic review. *Aging Ment Health*. 2010;14(4):386–95.
 286. Beydoun MA, Beydoun HA, Wang Y. Obesity and central obesity as risk factors for incident dementia and its subtypes: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2008 May;9(3):204–18.
 287. Sharp SI, Aarsland D, Day S, Sønnesyn H, Alzheimer's Society Vascular

- Dementia Systematic Review Group, Ballard C. Hypertension is a potential risk factor for vascular dementia: systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2011 Jul;26(7):661–9.
288. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984 Jul;34(7):939–44.
 289. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May;7(3):263–9.
 290. Fratiglioni L, Launer LJ, Andersen K, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, et al. Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology*. 2000;54(11 Suppl 5):S10-5.
 291. Schneider JA, Arvanitakis Z, Bang W, Bennett DA. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology*. 2007 Dec 11;69(24):2197–204.
 292. Byers AL, Yaffe K. Depression and risk of developing dementia. *Nat Rev Neurol*. 2011;7(6):323–31.
 293. Barnes DE, Yaffe K, Byers AL, McCormick M, Schaefer C, Whitmer RA. Midlife vs Late-Life Depressive Symptoms and Risk of Dementia: Differential Effects for Alzheimer Disease and Vascular Dementia. *Arch Gen Psychiatry*.

- 2012;69(5):493–8.
294. Jellinger KA. Morphologic diagnosis of “vascular dementia” - a critical update. *J Neurol Sci.* 2008 Jul 15;270(1–2):1–12.
 295. Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, DeCarli C, Greenberg SM, Iadecola C, et al. Vascular Contributions to Cognitive Impairment and Dementia: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 2011 Sep 1;42(9):2672–713.
 296. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E. Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PLoS One.* 2018;13(3):e0194127.
 297. Ngandu T, Lehtisalo J, Solomon A, Levälähti E, Ahtiluoto S, Antikainen R, et al. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial. *Lancet (London, England).* 2015 Jun 6;385(9984):2255–63.
 298. Lautenschlager NT, Cox KL, Flicker L, Foster JK, Bockxmeer FM Van, van Bockxmeer FM, et al. Effect of physical activity on cognitive function in older adults at risk for Alzheimer disease: a randomized trial. *JAMA.* 2008 Sep 3;300(9):1027–37.
 299. Fratiglioni L, Wang H-X. Brain reserve hypothesis in dementia. *J Alzheimers Dis.* 2007;12(1):11–22.
 300. Billioti de Gage S, Moride Y, Ducruet T, Kurth T, Verdoux H, Tournier M, et al. Benzodiazepine use and risk of Alzheimer’s disease: case-control study. *BMJ.*

2014 Sep 9;349:g5205.

301. Barbui C, Gastaldon C, Cipriani A. Benzodiazepines and risk of dementia: true association or reverse causation? *Epidemiol Psychiatr Sci.* 2013;22(4):307–8.
302. Gray SL, Dublin S, Yu O, Walker R, Anderson M, Hubbard RA, et al. Benzodiazepine use and risk of incident dementia or cognitive decline: prospective population based study. *BMJ.* 2016;352:i90.
303. Prasad V, Jorgenson J, Ioannidis JPA, Cifu A. Observational studies often make clinical practice recommendations: an empirical evaluation of authors' attitudes. *J Clin Epidemiol.* 2013 Apr;66(4):361-366.e4.
304. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Vol. 372, *The Lancet.* 2008. p. 1502–17.
305. Handel AE, Giovannoni G, Ebers GC, Ramagopalan S V. Environmental factors and their timing in adult-onset multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2010 Mar;6(3):156–66.
306. Sudlow C, Gallacher J, Allen N, Beral V, Burton P, Danesh J, et al. UK biobank: an open access resource for identifying the causes of a wide range of complex diseases of middle and old age. *PLoS Med.* 2015;12(3):e1001779.
307. Herbert A, Wijlaars L, Zylbersztejn A, Cromwell D, Hardelid P. Data Resource Profile: Hospital Episode Statistics Admitted Patient Care (HES APC). *Int J Epidemiol.* 2017 Mar 15;
308. Bycroft C, Freeman C, Petkova D, Band G, Elliott LT, Sharp K, et al. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. *Nature.* 2018 Oct;562(7726):203–9.

309. St Germaine-Smith C, Metcalfe A, Pringsheim T, Roberts JI, Beck CA, Hemmelgarn BR, et al. Recommendations for optimal ICD codes to study neurologic conditions: a systematic review. *Neurology*. 2012 Sep 4;79(10):1049–55.
310. Welter D, MacArthur J, Morales J, Burdett T, Hall P, Junkins H, et al. The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. *Nucleic Acids Res*. 2014 Jan;42(Database issue):D1001-6.
311. Arnold M, Raffler J, Pfeufer A, Suhre K, Kastenmüller G. SNIIPA: an interactive, genetic variant-centered annotation browser. *Bioinformatics*. 2015 Apr 15;31(8):1334–6.
312. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC). The Multiple Sclerosis Genomic Map: Role of peripheral immune cells and resident microglia in susceptibility. *bioRxiv*. 2017;
313. Bowden J, Del Greco M F, Minelli C, Davey Smith G, Sheehan NA, Thompson JR. Assessing the suitability of summary data for two-sample Mendelian randomization analyses using MR-Egger regression: the role of the I² statistic. *Int J Epidemiol*. 2016;45(6):1961–74.
314. Yavorska OO, Burgess S. MendelianRandomization: an R package for performing Mendelian randomization analyses using summarized data. *Int J Epidemiol*. 2017;46(6):1734–9.
315. Pierce BL, Ahsan H, Vanderweele TJ. Power and instrument strength requirements for Mendelian randomization studies using multiple genetic variants. *Int J Epidemiol*. 2011 Jun;40(3):740–52.

316. Brion M-JA, Shakhbazov K, Visscher PM. Calculating statistical power in Mendelian randomization studies. *Int J Epidemiol*. 2013 Oct;42(5):1497–501.
317. Burgess S. Sample size and power calculations in Mendelian randomization with a single instrumental variable and a binary outcome. *Int J Epidemiol*. 2014 Jun;43(3):922–9.
318. Day FR, Thompson DJ, Helgason H, Chasman DI, Finucane H, Sulem P, et al. Genomic analyses identify hundreds of variants associated with age at menarche and support a role for puberty timing in cancer risk. *Nat Genet*. 2017 Jun;49(6):834–41.
319. Felix JF, Bradfield JP, Monnereau C, van der Valk RJP, Stergiakouli E, Chesi A, et al. Genome-wide association analysis identifies three new susceptibility loci for childhood body mass index. *Hum Mol Genet*. 2016 Jan 15;25(2):389–403.
320. Visconti A, Duffy DL, Liu F, Zhu G, Wu W, Chen Y, et al. Genome-wide association study in 176,678 Europeans reveals genetic loci for tanning response to sun exposure. *Nat Commun*. 2018 May 8;9(1):1684.
321. Ramagopalan S V., Valdar W, Criscuoli M, DeLuca GC, Dymment DA, Orton S-MM, et al. Age of puberty and the risk of multiple sclerosis: a population based study. *Eur J Neurol*. 2009 Mar;16(3):342–7.
322. Nielsen NM, Harpsøe M, Simonsen J, Stenager E, Magyari M, Koch-Henriksen N, et al. Age at Menarche and Risk of Multiple Sclerosis: A Prospective Cohort Study Based on the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol*. 2017;185(8):712–9.

323. Munger KL, Bentzen J, Laursen B, Stenager E, Koch-Henriksen N, Sørensen TI, et al. Childhood body mass index and multiple sclerosis risk: a long-term cohort study. *Mult Scler J*. 2013 Sep 2;19(10):1323–9.
324. Munger KL, Chitnis T, Ascherio A. Body size and risk of MS in two cohorts of US women. *Neurology*. 2009 Nov 10;73(19):1543–50.
325. Liu Z, Zhang T-T, Yu J, Liu Y-L, Qi S-F, Zhao J-J, et al. Excess Body Weight during Childhood and Adolescence Is Associated with the Risk of Multiple Sclerosis: A Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*. 2016;47(2):103–8.
326. Mokry LE, Ross S, Timpson NJ, Sawcer S, Davey Smith G, Richards JB. Obesity and Multiple Sclerosis: A Mendelian Randomization Study. *PLoS Med*. 2016 Jun;13(6):e1002053.
327. Gianfrancesco MA, Glymour MM, Walter S, Rhead B, Shao X, Shen L, et al. Causal Effect of Genetic Variants Associated With Body Mass Index on Multiple Sclerosis Susceptibility. *Am J Epidemiol*. 2017 Jan 9;
328. Gianfrancesco MA, Stridh P, Rhead B, Shao X, Xu E, Graves JS, et al. Evidence for a causal relationship between low vitamin D, high BMI, and pediatric-onset MS. *Neurology*. 2017 Apr 25;88(17):1623–9.
329. Ascherio A, Munger KL. Weighing Evidence from Mendelian Randomization- Early-Life Obesity as a Causal Factor in Multiple Sclerosis? *PLoS Med*. 2016 Jun;13(6):e1002054.
330. Araujo J, Barros H, Severo M, Lopes C, Ramos E. Longitudinal changes in adiposity during adolescence: a population-based cohort. *BMJ Open*. 2014 Jun 10;4(6):e004380–e004380.

331. Fernández-Rhodes L, Demerath EW, Cousminer DL, Tao R, Dreyfus JG, Esko T, et al. Association of adiposity genetic variants with menarche timing in 92,105 women of European descent. *Am J Epidemiol*. 2013 Aug 1;178(3):451–60.
332. Li X, Liang L, Zhang M, Song F, Nan H, Wang L-E, et al. Obesity-related genetic variants, human pigmentation, and risk of melanoma. *Hum Genet*. 2013 Jul 29;132(7):793–801.
333. Vimalaewaran KS, Berry DJ, Lu C, Tikkanen E, Pilz S, Hiraki LT, et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med*. 2013;10(2):e1001383.
334. Fry A, Littlejohns TJ, Sudlow C, Doherty N, Adamska L, Sprosen T, et al. Comparison of Sociodemographic and Health-Related Characteristics of UK Biobank Participants With Those of the General Population. *Am J Epidemiol*. 2017 Aug 29;1–9.
335. Day FR, Bulik-Sullivan B, Hinds DA, Finucane HK, Murabito JM, Tung JY, et al. Shared genetic aetiology of puberty timing between sexes and with health-related outcomes. *Nat Commun*. 2015 Nov 9;6:8842.
336. Benjamin DJ, Berger JO, Johannesson M, Nosek BA, Wagenmakers E-J, Berk R, et al. Redefine statistical significance. *Nat Hum Behav*. 2018 Jan 1;2(1):6–10.
337. Bellou V, Belbasis L, Konstantinidis AK, Evangelou E. Elucidating the risk factors for chronic obstructive pulmonary disease: an umbrella review of meta-analyses. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2019 Jan 1;23(1):58–66.
338. Belbasis L, Köhler CAA, Stefanis N, Stubbs B, van Os J, Vieta E, et al. Risk

- factors and peripheral biomarkers for schizophrenia spectrum disorders: an umbrella review of meta-analyses. *Acta Psychiatr Scand*. 2018 Feb;137(2):88–97.
339. Lawlor DA, Tilling K, Davey Smith G. Triangulation in aetiological epidemiology. *Int J Epidemiol*. 2017 Jan 20;dyw314.
340. Belbasis L, Bellou V, Evangelou E. Environmental Risk Factors and Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Umbrella Review and Critical Assessment of Current Evidence from Systematic Reviews and Meta-Analyses of Observational Studies. *Neuroepidemiology*. 2016 Jan 6;46(2):96–105.