

ΜΠΣ ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΜΗΜΑ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ-ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΣΗΜΑΚΟΠΟΥΛΟΣ

Μελέτη Μεντελιανής Τυχαιοποίησης για τη συσχέτιση διατροφικών χαρακτηριστικών με τον καρκίνο παχέος εντέρου




ΑΘΗΝΑ, 2020

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

ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

που απονέμει η Ιατρική Σχολή και το Τμήμα Μαθηματικών του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Εγκρίθηκε την.....27/4/2020.....από την εξεταστική επιτροπή:

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ	ΥΠΟΓΡΑΦΗ
Κ. ΤΣΙΛΙΔΗΣ (Επιβλέπων)	ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ	
Ι. ΤΖΟΥΛΑΚΗ	ΕΠ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ	
Ε. ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ	ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ	

Η παρούσα διπλωματική εργασία αφιερώνεται στους γονείς μου που ήταν, είναι και θα είναι πάντα δίπλα μου σε κάθε μου βήμα. Σας ευχαριστώ για όλα!

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσοι συνέβαλλαν στην εκπόνησή της.

Αρχικά, ευχαριστώ θερμότατα τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Κωνσταντίνο Τσιλίδη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο θέμα, την επιστημονική του καθοδήγηση, τις υποδείξεις του, την επιμονή του, τη συνέπειά του, τη συνεχή του υποστήριξη, το αμείωτο ενδιαφέρον που έδειξε από την αρχή μέχρι το τέλος και για την ευκαιρία που μου έδωσε να δουλέψω την παρούσα διπλωματική για ένα διάστημα στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων σαν πραγματικός ερευνητής μέσα σε ένα άρτιο ερευνητικό χώρο που δεν έχει τίποτα να ζηλέψει από τους αντίστοιχους του εξωτερικού. Θερμές ευχαριστίες επιπροσθέτως στην Ιωάννα Τζουλάκη και στον Ευάγγελο Ευαγγέλου.

Θα ήθελα στη συνέχεια να ευχαριστήσω τον πολύ καλό μου φίλο και πιθανοθεωρητικό ερευνητή Λεωνίδα Κορδαλή για τις αμέτρητες ώρες που περάσαμε στο να βελτιώνουμε ο καθένας τη διπλωματική του άλλου. Θερμές ευχαριστίες και στη Μαρία Παλαμίδα για τις τεχνικές-δομικές της διορθώσεις καθώς και για τη συνολική της υποστήριξη.

Πολλές ξεχωριστές θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να δώσω στους υποψήφιους διδάκτορες Γιώργο Μαρκοζαννέ και Χρήστο Τάγκα που όποτε χρειάστηκα τη βοήθειά τους την έδωσαν πρόθυμα αφήνοντας στην άκρη τις δικές τους υποχρεώσεις και χωρίς αυτούς δε θα είχε προχωρήσει τόσο αποτελεσματικά η πραγματοποίηση αυτής της διπλωματικής.

Το μεγαλύτερο ευχαριστώ όμως το οφείλω στη συνάδελφο, ερευνήτρια μα πάνω από όλα δικό μου άνθρωπο Ολυμπία Δημοπούλου για τα όσα περάσαμε μαζί καθ'όλη τη διάρκεια αυτού του όμορφου ταξιδιού. Για τις συμβουλές της, τις γνώσεις της, τις απαντήσεις της στις ατελείωτες ερωτήσεις μου και για τις δύσκολες στιγμές που έτυχαν αλλά έχουμε να τις θυμόμαστε και να γελάμε. Την ευχαριστώ εκ βάθους καρδιάς για όλα.

Περιεχόμενα

1.Εισαγωγή.....	10
1.1 Επιδημιολογία.....	10
1.2 Παθοφυσιολογία.....	11
1.3 Πρωτογενής και δευτερογενής πρόληψη.....	11
1.4 Διατροφή.....	11
1.5 Μεντελιανή τυχαιοποίηση.....	12
1.6 Σκοπός.....	14
2. Μέθοδος.....	15
2.1 Γενετικά χαρακτηριστικά για τους διατροφικούς παράγοντες.....	15
2.2 Γενετικά χαρακτηριστικά για τον καρκίνο παχέος εντέρου.....	15
2.3 Εναρμόνιση δεδομένων.....	16
2.4 Μεντελιανή τυχαιοποίηση.....	18
2.5 Αναλύσεις ευαισθησίας.....	19
3.Αποτελέσματα.....	25
3.1 Δημητριακά.....	25
3.2 Φρέσκα φρούτα.....	38
3.3 Επεξεργασμένο κρέας.....	46
3.4 Πουλερικά.....	53
3.5 Λιπαρά ψάρια.....	60
3.6 Μη Λιπαρά Ψάρια.....	73
3.7 Τυρί.....	87
3.8 Τσάι.....	95
3.9 Πράσινο Τσάι.....	102
4.Συζήτηση.....	110
4.1 Γενικό συμπέρασμα.....	110
4.2 Συμπεράσματα ανά παράγοντα και σύγκριση με βιβλιογραφία.....	110
4.2.1 Δημητριακά.....	110
4.2.2 Φρέσκα φρούτα.....	111
4.2.3 Επεξεργασμένο κρέας.....	111
4.2.4 Πουλερικά.....	112
4.2.5 Λιπαρά ψάρια.....	112

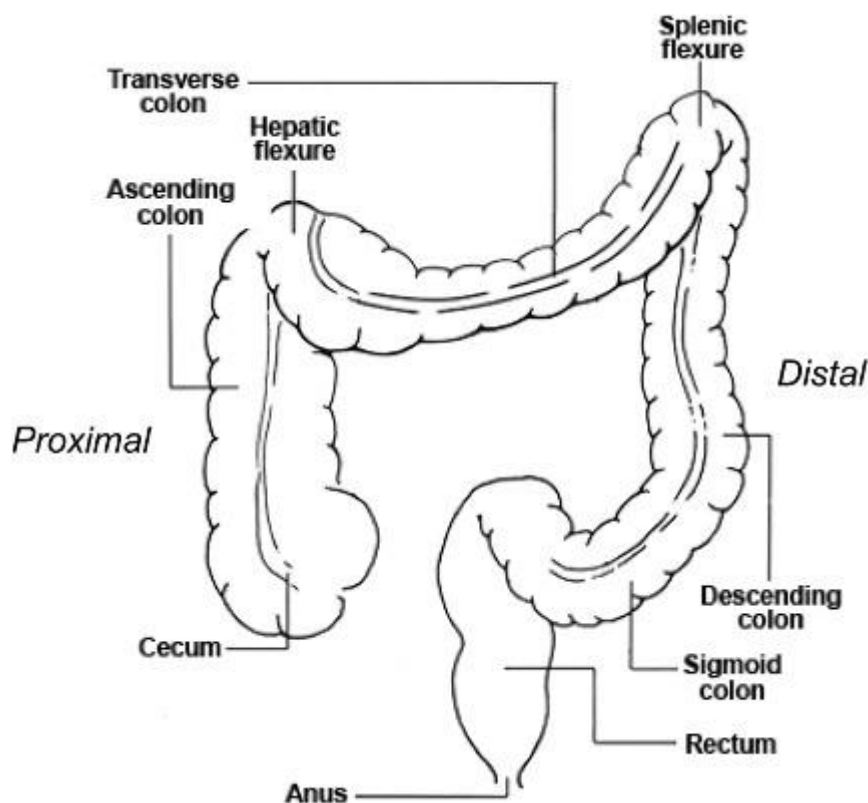
4.2.6 Μη λιπαρά ψάρια	113
4.2.7 Τυρί.....	113
4.2.8 Τσάι.....	114
4.2.9 Πράσινο τσάι	114
4.3 Πλεονεκτήματα μελέτης	114
4.4 Περιορισμοί μελέτης.....	115
4.5 Τελικό συμπέρασμα	115
Περίληψη.....	117
Abstract	119
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	121

1.Εισαγωγή

1.1 Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι ο τρίτος πιο διαδεδομένος καρκίνος παγκοσμίως απαριθμώντας πάνω από 1.2 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και 600.000 θανάτους ανά έτος (Screening, 2006). Η επίπτωση είναι χαμηλή σε άτομα κάτω των 50 ετών αλλά αυξάνεται έντονα με την ηλικία. Η μέση ηλικία διάγνωσης είναι περίπου τα 70 έτη στις αναπτυγμένες χώρες (Siegel *et al.*, 2012). Η υψηλότερη επίπτωση αναφέρεται σε χώρες της Ευρώπης, βόρειας Αμερικής και Ωκεανίας, ενώ είναι χαμηλή σε κάποιες χώρες της νότιας και κεντρικής Ασίας και Αφρικής (Jemal, Smith and Ward, 2009).

Οι καρκίνοι του παχέος εντέρου συνήθως διακρίνονται σε αυτούς του δεξιού κόλου, όταν προέρχονται από τμήματα του εντέρου που είναι δεξιά της σπληνικής καμπής (τυφλό, ανιόν και εγκάρσιο κόλον) και στους όγκους του αριστερού κόλου (κατιόν και σιγμοειδές κόλον). Επίσης, υπάρχουν οι καρκίνοι του ορθού (rectal) οι οποίοι αναπτύσσονται σε απόσταση 15 εκατοστών από τον πρωκτικό σφιγκτήρα. Οι καρκίνοι του ορθού έχουν μεγαλύτερα ποσοστά για τοπική υποτροπή και μετάσταση στους πνεύμονες, ενώ οι καρκίνοι στο κόλον έχουν τάση για μετάδοση στο ήπαρ και συνήθως έχουν μια μετρίως καλύτερη πρόγνωση (Testa, Pelosi and Castelli, 2018).



Σχήμα 1. Απεικόνιση του παχέος εντέρου ως σύνολο καθώς και τμηματικά στο δεξί ή εγγύτατο κόλον (proximal), στο αριστερό ή απομακρυσμένο (distal) και στο ορθό (rectum).

1.2 Παθοφυσιολογία

Οι περισσότεροι καρκίνοι ξεκινούν από έναν πολύποδα. Η όλη διαδικασία ξεκινά με μια μη ομαλή κρύπτη η οποία εξελίσσεται σε νεοπλασματική πρόδρομη αλλοίωση, τον πολύποδα, για να μετατραπεί στον καρκίνο του παχέος εντέρου μέσα σε ένα διάστημα περίπου 10-15 χρόνια. Το κύτταρο προέλευσης για τους περισσότερους καρκίνους του παχέος εντέρου θεωρείται ότι είναι το βλαστοκύτταρο. Αυτά τα καρκινικά βλαστοκύτταρα είναι αποτέλεσμα συσσώρευσης γενετικών και επιγενετικών αλλοιώσεων που απενεργοποιούν ογκοκατασταλτικά γονίδια και ενεργοποιούν ογκογονίδια. Τα εν λόγω βλαστοκύτταρα βρίσκονται στη βάση των κρυπτών και είναι υπεύθυνα για την έναρξη και διατήρηση ενός όγκου. Υπάρχουν δύο πιθανά παθοφυσιολογικά μονοπάτια ογκογένεσης: αυτό της αλληλουχίας αδενώματος-καρκινώματος [adenoma–carcinoma pathway](Wheeler *et al.*, 2002) που οδηγεί στο 70-90% των καρκίνων του παχέος εντέρου και αυτό της οδοντωτής νεοπλασίας [serrated neoplasia pathway] (Renaud *et al.*, 2016) που ευθύνεται για το 10-20% των καρκίνων του παχέος εντέρου (Dekker *et al.*, 2019).

1.3 Πρωτογενής και δευτερογενής πρόληψη

Η πρωτογενής πρόληψη για τον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι πολύ σημαντική. Σε πρώτο στάδιο πρόληψης η διακοπή του καπνίσματος, η τακτική άσκηση όπως καθημερινή σωματική δραστηριότητα τουλάχιστον 30 λεπτών και η υγιεινή διατροφή όπως οι τροφές ολικής άλεσης είναι παράγοντες που μπορούν να αποτρέψουν την ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου. Η καλύτερη μέθοδος δευτερογενούς πρόληψης είναι η κολonosκόπηση που έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα που μπορεί να φανεί αποτελεσματική σε πρώιμα καρκινικά στάδια. Άτομα υψηλού βαθμού κινδύνου όπως εκείνοι με κληρονομικό κίνδυνο, άτομα με μακροχρόνια ελκώδη κολίτιδα ή άτομα με προηγούμενα αδενώματα συνιστάται να υποβάλλονται σε τακτική παρακολούθηση με κολonosκόπηση (Dekker *et al.*, 2019).

1.4 Διατροφή

Ορισμένα χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με τη διατροφή είναι καθιερωμένοι παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα, η παχυσαρκία, ο επιπολασμός της οποίας αυξάνεται δραματικά στα περισσότερα μέρη του κόσμου (Ma *et al.*, 2013) και η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, που η πλειοψηφία των μελετών έχουν δείξει ότι άτομα που ασκούνται λιγότερο έχουν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο κίνδυνο για καρκίνο του παχέος εντέρου σε σχέση με αυτούς που ασκούνται περισσότερο (Boyle *et al.*, 2012). Σύμφωνα με το World Cancer Research Fund (WCRF), υπάρχουν πειστικές ενδείξεις για την επιβαρυντική δράση του κόκκινου κρέατος, του επεξεργασμένου κρέατος και των αλκοολούχων ποτών (στους άντρες) και για την προστατευτική δράση των φαγητών πλούσιων σε διαιτητικές ίνες στον καρκίνο παχέος εντέρου. Παρόλα αυτά, για την πλειοψηφία των διατροφικών παραγόντων, οι ενδείξεις μπορούν να χαρακτηριστούν είτε ως πιθανές (όπως η προστατευτική δράση του σκόρδου), είτε

ως περιορισμένες (προστατευτική δράση φρούτων)(World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research, 2011).

1.5 Μεντελιανή τυχαιοποίηση

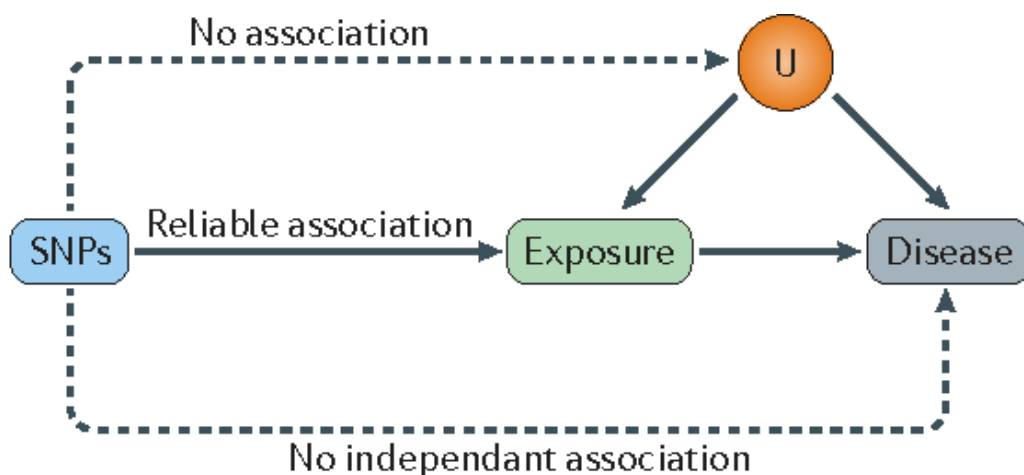
Τα περισσότερα στοιχεία σχετικά με τη διατροφή και τον κίνδυνο για καρκίνο προκύπτουν από μελέτες παρατήρησης οι οποίες βασίζονται συχνά σε ερωτηματολόγια συχνότητας τροφίμων για να μετρήσουν την κατανάλωση τροφών. Ωστόσο, αυτή η προσέγγιση δεν είναι τόσο ασφαλής ώστε να αποφευχθούν τα σφάλματα μέτρησης, καθώς βασίζονται στην αυτοαναφορά των συμμετεχόντων η οποία ενδεχομένως να μην είναι ακριβής (σφάλμα ανάκλησης είναι ένας βασικός λόγος) οδηγώντας έτσι σε υπερεκτιμημένα ή υποεκτιμημένα αποτελέσματα (Schatzkin and Kirpnis, 2004). Συγκεκριμένα, σε πείραμα που διερευνήθηκε η ακρίβεια με την οποία τα άτομα αναφέρουν την πρόσληψη τροφής για συγκεκριμένες περιόδους, όπου σε ομάδα 11 συμμετεχόντων που κρατούσαν ημερολόγιο της διατροφής τους για 2 εβδομάδες, έπειτα 4 εβδομάδες διακοπή και στη συνέχεια κρατούσαν για άλλες 2 εβδομάδες ημερολόγιο και σε ομάδα 8 συμμετεχόντων που κρατούσαν ημερολόγιο για 4 εβδομάδες, έπειτα 2 εβδομάδες διακοπή και στη συνέχεια κρατούσαν για άλλες 4 εβδομάδες ημερολόγιο όταν τους ζητήθηκε να θυμηθούν την πολύ πρόσφατη διατροφή τους η μνήμη τους ήταν αρκετά ακριβής. Όμως, δε συνέβαινε το ίδιο όταν καλούνταν να θυμηθούν τη διατροφή τους μετά από λίγες μόνο ημέρες και κατέγραφαν με βάση γενικές γνώσεις πάνω στα τρόφιμα, πιο πιθανά βασισμένες στις πεποιθήσεις τους σχετικά με συνηθισμένη δίαιτα (Kristal, Peters and Potter, 2005). Επιπρόσθετα, η εξουδετέρωση συγχυτικών παραγόντων δεν είναι ποτέ πλήρης στις επιδημιολογικές μελέτες και το πρόβλημα αυτό είναι ίσως μεγαλύτερο στη διατροφική επιδημιολογία, όπου το μέγεθος των σχέσεων είναι σχετικά αδύναμο (Schatzkin *et al.*, 2009). Ο στόχος της μελέτης θα πρέπει να καθορίζεται εκ των προτέρων και η παρουσίαση των ευρημάτων να μην υποκινείται από εκ των υστέρων ερευνητικές υποθέσεις που προκύπτουν κατά τη διεξαγωγή της ανάλυσης. Στις επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης συχνά παρατηρείται το φαινόμενο της μεροληπτικής παρουσίασης στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων προερχόμενων από δευτερογενείς αναλύσεις που όμως δεν περιλαμβάνονταν στον αρχικό σχεδιασμό της μελέτης (Boffetta *et al.*, 2008).

Μια προσέγγιση για να εκτιμήσουμε μια ενδεχόμενη αιτιότητα μεταξύ ενός παράγοντα κινδύνου και μιας ασθένειας είναι μέσω Μεντελιανής τυχαιοποίησης (MT). Η MT είναι μια τεχνική η οποία χρησιμοποιεί γενετικές παραλλαγές για να εκτιμήσει αν η επίδραση ενός παράγοντα κινδύνου πάνω σε ένα νόσημα έχει αιτιολογική σχέση και δεν είναι απλώς μια συσχέτιση. Οι προϋποθέσεις για να εφαρμοστεί η MT είναι οι εξής (Σχήμα 2):

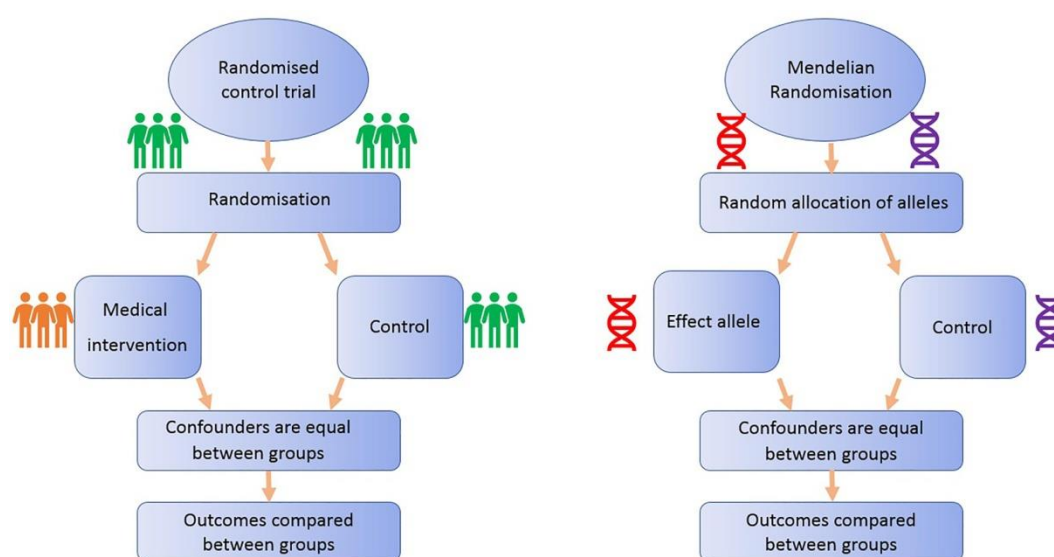
- Οι γενετικές παραλλαγές να είναι συσχετισμένες με την έκθεση
- Οι γενετικές παραλλαγές να μην είναι συσχετισμένες με κανέναν συγχυτικό παράγοντα της σχέσης έκθεσης-έκβασης
- Οι γενετικές παραλλαγές δε συσχετίζονται με την έκβαση με κανέναν άλλον τρόπο παρά μόνο μέσα από την έκθεση (Burgess *et al.*, 2015).

Όταν μια γενετική παραλλαγή πληροί αυτές τις 3 προϋποθέσεις τότε ονομάζεται Instrumental Variable (IV). Στη δική μας περίπτωση, το ρόλο αυτό θα τον παίξουν σημειακοί πολυμορφισμοί (single nucleotide polymorphism, SNP). Ένα SNP είναι μια μετάλλαξη όπου μια μονή νουκλεοτιδική βάση σε ένα συγκεκριμένο γενετικό τόπο έχει αντικατασταθεί από μια άλλη. Τα διαφορετικά πιθανά νουκλεοτίδια που μπορεί να εμφανιστούν σε κάθε τόπο είναι γνωστά κι ως αλληλόμορφο. Το πιο συνηθισμένο αλληλόμορφο είναι γνωστό ως «κύριο αλληλόμορφο» και το λιγότερο συνηθισμένο ως «έλασσον αλληλόμορφο» (Simon, 2015).

Η MT προσπαθεί να προσομοιώσει τις τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές (TKΔ) στα πλαίσια του περιβάλλοντος παρατήρησης (Σχήμα 3). Η Instrumental Variable χωρίζει τον πληθυσμό μελέτης σε δύο υποομάδες ανάλογα με τα σχήματα θεραπείας σε μια TKΔ. Αυτές οι υποομάδες διαφέρουν συστηματικά όσον αφορά την έκθεση αλλά όχι σε σχέση με τους συγχυτικούς παράγοντες. Έτσι, μια σχέση μεταξύ IV και έκβασης συνεπάγεται ότι η έκθεση έχει αιτιολογικού χαρακτήρα επίδραση στην έκβαση (Burgess *et al.*, 2015). Μια διαφορά της MT με τις TKΔ είναι ότι ο στόχος της MT δεν είναι για να εκτιμήσει το μέγεθος μιας επίδρασης αλλά την αιτιατή σχέση μιας έκθεσης πάνω σε μια έκβαση (Simon, 2015). Τέλος, η ανεξάρτητη κατανομή των αλληλομόρφων από την προηγούμενη γενιά στην επόμενη σημαίνει ότι μια μελέτη MT δε θα υποφέρει από σύγχυση. Επιπρόσθετα, οι διεργασίες μιας νόσου δεν μπορούν να μεταβάλλουν τη φύση του γονότυπου και ως εκ τούτου, η σχέση μεταξύ γονότυπου και ασθένειας δεν υπόκειται σε αντίστροφη αιτιότητα. Επίσης, γενετικές παραλλαγές που σχετίζονται με μια έκθεση θα σχετίζονται με αυτή καθ'όλη τη διάρκεια της ζωής ενός ατόμου και επομένως η χρήση τους στην αιτιακή συμπερασματολογία μπορούν να εξαλείψουν τα συστηματικά σφάλματα μέτρησης της έκθεσης (Demidenko, 2007).



Σχήμα 2. Απεικόνιση των 3 προϋποθέσεων για εφαρμογή της Μενδελιανής Τυχαιοποίησης: i) συσχέτιση SNPs με την έκθεση, ii) μη συσχέτιση των SNPs με οποιοδήποτε συγχυτικό παράγοντα της σχέσης έκθεσης-έκβασης και iii) τα SNPs σχετίζονται με το νόσημα μόνο μέσω της έκθεσης και από κανένα άλλο μονοπάτι.



Σχήμα 3. Απεικόνιση της σύγκρισης των Τυχαιοποιημένων Κλινικών Δοκιμών με τη Μενδελιανή Τυχαιοποίηση. Στην πρώτη περίπτωση έγινε τυχαιοποίηση των θεραπειών από το γιατρό/ερευνητή και στη δεύτερη περίπτωση έγινε τυχαιοποίηση των αλληλομόρφων από τη φύση.

1.6 Σκοπός

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να ξεπεραστούν οι περιορισμοί των μελετών παρατήρησης στη διατροφική επιδημιολογία με τη χρήση της μεθόδου της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Θα εκτιμήσουμε συσχετίσεις μεταξύ γενετικά προσδιορισμένων προσλήψεων διατροφικών παραγόντων και κινδύνου για καρκίνο του παχέος εντέρου. Θα διεξάγουμε αναλύσεις για τους ακόλουθους διατροφικούς παράγοντες: δημητριακά, φρέσκα φρούτα, επεξεργασμένο κρέας, πουλερικά, λιπαρά, μη λιπαρά ψάρια, τυρί, τσάι και πράσινο τσάι.

2. Μέθοδος

2.1 Γενετικά χαρακτηριστικά για τους διατροφικούς παράγοντες

Το World Cancer Research Fund International (WCRF) είναι ένας μη κερδοσκοπικός οργανισμός που οδηγεί και ενοποιεί ένα δίκτυο φιλανθρωπικών οργανώσεων για τον καρκίνο με παγκόσμια εμβέλεια, αφιερωμένο στην πρόληψη του καρκίνου μέσω της διατροφής, του βάρους και της φυσικής δραστηριότητας.

Το Continuous Update Project (CUP) είναι το τρέχον πρόγραμμα του WCRF με σκοπό την πρόληψη του καρκίνου και της έρευνας επιβίωσης σχετικά με τους προαναφερθέντες παράγοντες με βάση κυρίως τις επιδημιολογικές μελέτες παρατήρησης. Επιλέξαμε όλους τους πιθανούς παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του παχέος εντέρου που προσδιορίστηκαν από το WCRF CUP. Αναζητήσαμε για κάθε έναν από αυτούς τους παράγοντες μελέτες GWAS από τη UK Biobank μέσω της πλατφόρμας της MR-Base. Αυτό έγινε με σκοπό να προσδιοριστούν όσες μελέτες ανέφεραν συσχετισμούς μεταξύ των SNPs και των παραγόντων κινδύνου που μας ενδιαφέρουν.

Genome Wide Association Studies (GWAS) είναι οι μελέτες εκείνες οι οποίες στοχεύουν στην ανίχνευση γενετικών παραλλαγών (στην προκειμένη περίπτωση SNPs) σε ένα γενετικό τόπο που σχετίζονται με κάποια χαρακτηριστικά στον πληθυσμό (Visscher *et al.*, 2012).

Η UK Biobank είναι μια σημαντική εθνική και διεθνής πηγή για την υγεία με σκοπό τη βελτίωση της πρόληψης, διάγνωσης και θεραπείας ενός ευρέος φάσματος σοβαρών και απειλητικών για τη ζωή ασθενειών όπως του καρκίνου, των καρδιακών παθήσεων, διαβήτη, αρθρίτιδας, οστεοπόρωσης, οφθαλμικών διαταραχών, κατάθλιψης και μορφών άνοιας. Η UK Biobank περιλαμβάνει 500.000 άτομα ηλικίας μεταξύ 40-69 ετών από όλο το Ηνωμένο Βασίλειο που μπήκαν στη μελέτη την περίοδο 2006-2010. Έχουν γίνει σε αυτούς μετρήσεις από αίμα, ούρα και σάλιο για μελλοντική ανάλυση, καταγραφή πληροφοριών για τον εαυτό τους και συγκατάθεση να ακολουθείται η πορεία της υγείας τους (<https://www.ukbiobank.ac.uk/>).

Για την εύρεση των παραπάνω GWAS ανατρέξαμε στην πλατφόρμα της MR-Base η οποία είναι μια βάση δεδομένων που περιέχει δημοσιευμένες και μη GWAS (www.mrbase.org).

2.2 Γενετικά χαρακτηριστικά για τον καρκίνο παχέος εντέρου

Τα αποτελέσματα των GWAS για τον καρκίνο του παχέος εντέρου αποκτήθηκαν από μετα-ανάλυση βασισμένη σε 58,221 ασθενείς και 67,694 μάρτυρες από την GECCO. Παράλληλα με την κύρια ανάλυση θα γίνει και μια υποανάλυση για τη συσχέτιση των διατροφικών παραγόντων με τις ανατομικές υποδιαιρέσεις του παχέος εντέρου, δηλαδή στα τμήματα των κόλον, δεξιό κόλον, αριστερό κόλον και ορθό .

Genetics and Epidemiology of Colorectal Cancer Consortium ή αλλιώς GECCO, από την οποία πήραμε τα δεδομένα για τη σχέση των SNPs με τον καρκίνο του παχέος εντέρου, είναι μια διεθνής συνεργασία που μελετά την αναγνώριση και το χαρακτηρισμό των γενετικών παραγόντων κινδύνου και τις αλληλεπιδράσεις γονιδίου-περιβάλλοντος για τον καρκίνο του παχέος εντέρου.

2.3 Εναρμόνιση δεδομένων

Μια αρκετά σημαντική διαδικασία πριν την ανάλυσή μας είναι η εναρμόνιση των δεδομένων. Η συγκεκριμένη διαδικασία είναι αρκετά σημαντική όταν έχουμε δεδομένα από 2 πηγές όπως στην περίπτωση μας καθώς θέλουμε για κάθε SNP το κύριο αλληλόμορφο και το έλασσον αλληλόμορφο να είναι τα ίδια και σε κάθε σετ δεδομένων, δηλαδή και για τη σχέση SNPs-διατροφικών παραγόντων και για τη σχέση SNPs-καρκίνος.

Σύντομη περιγραφή εναρμόνισης δεδομένων:

Αρχικά, από το σετ δεδομένων SNPs-διατροφικοί παράγοντες, θέλουμε οι εκτιμήσεις όλων των SNPs να είναι στην ίδια κατεύθυνση. Επιλέγουμε τη θετική κατεύθυνση. Ως θετική κατεύθυνση εννοούμε την κατεύθυνση 5'-3' της διπλής έλικας του DNA (Σχήμα 4).

Παράλληλα, αφού μετατρέψαμε τις αρνητικές εκτιμήσεις σε θετικές, θα πρέπει να μετατρέψουμε το κύριο αλληλόμορφο σε έλασσον και το αντίστροφο.

Στη συνέχεια, και αφού έχει καθοριστεί το σετ δεδομένων SNPs-διατροφικοί παράγοντες, προχωράμε στο σετ δεδομένων SNPs-καρκίνος του παχέος εντέρου. Σε αυτό το σημείο ελέγχουμε για όλα τα SNPs αν τα κύρια και τα ελάσσονα αλληλόμορφα είναι ίδια και στα δύο σετ δεδομένων. Εάν δεν είναι, τότε αλλάζουμε τη φορά των αλληλόμορφων στο σετ δεδομένων SNPs-καρκίνος του παχέος εντέρου (δηλαδή από κύριο αλληλόμορφο σε έλασσον και αντιστρόφως) και αλλάζουμε την κατεύθυνση της εκτίμησης του αντίστοιχου SNP.

Πλέον, τα δεδομένα μας έχουν εναρμονιστεί και μπορούμε να προχωρήσουμε στην ανάλυση (Πίνακας 1) (Hartwig *et al.*, 2017).

Στάδια εναρμόνισης	SNP	SNPs-Διατροφικοί Παράγοντες			SNPs-Καρκίνος		
		KA	EA	Εκτίμηση (TA)	KA	EA	Εκτίμηση (TA)
Παίρνοντας τα δεδομένα	rs1	A	C	-0.2 (0.04)	A	C	-0.1 (0.04)
	rs2	G	T	-0.1 (0.03)	T	G	0.3 (0.03)
	rs3	T	A	0.1 (0.02)	A	T	-0.2 (0.02)
Κάνοντας θετική την κατεύθυνση του «SNPs-Διατροφικοί Παράγοντες»	rs1	C	A	0.2 (0.04)	A	C	-0.1 (0.04)
	rs2	T	G	0.1 (0.03)	T	G	0.3 (0.03)
	rs3	T	A	0.1 (0.02)	A	T	-0.2 (0.02)
Ταίριασμα αλληλομόρφων των «SNPs-Καρκίνος» με αυτά του «SNPs-Διατροφικοί Παράγοντες»	rs1	C	A	0.2 (0.04)	C	A	0.1 (0.04)
	rs2	T	G	0.1 (0.03)	T	G	0.3 (0.03)
	rs3	T	A	0.1 (0.02)	T	A	0.2 (0.02)

Πίνακας 1. Παράδειγμα με τα στάδια εναρμόνισης των δεδομένων και στα δύο σετ. Με έντονο χρώμα οι αλλαγές που έγιναν και στα αλληλόμορφα και στις εκτιμήσεις. KA: Κύριο Αλληλόμορφο, EA: Έλασσον Αλληλόμορφο, TA: Τυπική Απόκλιση



Σχήμα 4: Η διπλή έλικα του DNA με την Αδενίνη (A), Γουανίνη (G), Κυτοσίνη (C) και Θυμίνη (T). Η θετική κατεύθυνση ανάγνωσης είναι η 5'-3' με την 3'-5' να αποτελεί την αρνητική.

2.4 Μεντελιανή τυχαιοποίηση

Κατά την ανάλυσή μας εφαρμόσαμε Μεντελιανή τυχαιοποίηση δύο δειγμάτων (Two-Sample Mendelian Randomization) χρησιμοποιώντας περιληπτικά δεδομένα (summary data). Έγινε χρήση αυτού του είδους των δεδομένων καθώς ατομικά δεδομένα (individual-level data) των συμμετεχόντων σε μελέτες δεν είναι πάντα διαθέσιμα προς χρήση και κατοχή για ανάλυση καθώς προκύπτουν ζητήματα εμπιστευτικότητας που κάνουν την ανταλλαγή δεδομένων δύσκολη έως αδύνατη σε μεγάλη κλίμακα. Όσον αφορά τη MT από δύο δείγματα, αυτό γίνεται καθώς δεν υπάρχουν απαραίτητα μετρήσεις για τη σχέση του γενετικού παράγοντα με τον παράγοντα κινδύνου και την έκβαση στο ίδιο δείγμα. Εκτιμήσεις αυτών των σχέσεων μπορούν να αποκτηθούν από διαφορετικές πηγές. Μια βασική υπόθεση είναι ότι η σχέση της γενετικής παραλλαγής με τον παράγοντα κινδύνου και την έκβαση είναι του ίδιου μεγέθους και στις δύο πηγές άντλησης των δεδομένων (Burgess, Butterworth and Thompson, 2013).

Κατά την ανάλυση χρησιμοποιήσαμε τις ακόλουθες μεθόδους:

Inverse Variance Weighted (IVW):

Χρησιμοποιούμε τη μέθοδο inverse-variance-weighted (IVW) ως την κύρια προσέγγιση Μεντελιανής τυχαιοποίησης. Η εν λόγω μέθοδος εκτιμά την επίδραση του παράγοντα κινδύνου στην έκβαση από την κλίση της σχέσης μεταξύ $\hat{\beta}_{GX_j}$ και $\hat{\beta}_{GY_j}$.

Έστω $\hat{\beta}_{GX_j}$ η εκτίμηση του j -οστού SNP σε έναν παράγοντα κινδύνου και $\hat{\beta}_{GY_j}$ η εκτίμηση του ίδιου SNP στην έκβαση. Τότε η αιτιακή εκτίμηση του παράγοντα

κινδύνου στην έκβαση ορίζεται ως $\hat{\beta}_{IV_j} = \frac{\hat{\beta}_{GY_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}}$. Όσον αφορά τη διακύμανση,

αυτή υπολογίζεται από τη μέθοδο δέλτα και προκύπτει ότι

$$\text{var}\left(\hat{\beta}_{IV_j}\right) = \frac{\sigma^2_{GY_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}^2} + \frac{\hat{\beta}_{GY_j}^2 \sigma^2_{GX_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}^4} - \frac{2\theta \hat{\beta}_{GY_j} \sigma_{GY_j} \sigma_{GX_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}^3}, \text{ όπου } \theta \text{ είναι η}$$

συσχέτιση μεταξύ $\hat{\beta}_{GY_j}$ και $\hat{\beta}_{GX_j}$. Επειδή όμως στην περίπτωσή μας έχουμε ανάλυση από δείγματα (two-sample), τότε $\theta=0$.

Συνεπώς, $\text{var}\left(\hat{\beta}_{IV_j}\right) = \frac{\sigma^2_{GY_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}^2} + \frac{\hat{\beta}_{GY_j}^2 \sigma^2_{GX_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}^4}$ αν έχουμε μοντέλο τυχαίων επιδράσεων (random effect) και $\text{var}\left(\hat{\beta}_{IV_j}\right) = \frac{\sigma^2_{GY_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}^2}$ αν έχουμε μοντέλο σταθερών επιδράσεων (fixed effect).

Η εκτίμηση της Inverse Variance Weighted είναι ένας σταθμισμένος μέσος των αιτιακών εκτιμήσεων από κάθε SNP ξεχωριστά και προκύπτει ότι:

$$\hat{\beta}_{IVW} = \frac{\sum_j \hat{\beta}_{IV_j} \text{var}\left(\hat{\beta}_{IV_j}\right)^{-1}}{\sum_j \text{var}\left(\hat{\beta}_{IV_j}\right)^{-1}}$$

Κάτω από το μοντέλο σταθερών επιδράσεων έχουμε ότι

$$\hat{\beta}_{IVW} = \frac{\sum_j \hat{\beta}_{GY_j} \hat{\beta}_{GX_j} \sigma_{GY_j}^{-2}}{\sum_j \hat{\beta}_{GX_j}^2 \sigma_{GY_j}^{-2}}$$

με τυπική απόκλιση

$$se\left(\hat{\beta}_{IVW}\right) = \sqrt{\frac{1}{\sum_j \hat{\beta}_{GX_j}^2 \sigma_{GY_j}^{-2}}} \text{ (Burgess and Bowden, 2015).}$$

Η εκτίμηση της IVW και σε σταθερές και σε τυχαίες επιδράσεις είναι ίδια. Η διαφορά τους έγκειται στη διακύμανση. Η fixed effect IVW θεωρεί ότι οι εκτιμήσεις όλων των SNPs είναι ίδιες. Το παραπάνω ισχύει αν όλα τα SNPs είναι έγκυρα, δηλαδή κανένα δεν είναι πλειοτροπικό. Η random effect IVW λαμβάνει υπόψη την ετερογένεια που προέρχεται από τις εκτιμήσεις του κάθε SNP και «χαλαρώνει» την υπόθεση της πλειοτροπίας (Hemani *et al.*, 2018).

2.5 Αναλύσεις ευαισθησίας

MR-Egger: Ένας τρόπος για να ερευνήσουμε την εφαρμογή της τρίτης προϋπόθεσης της MT, ότι δηλαδή οι γενετικές παραλλαγές δε συσχετίζονται με την έκβαση με κανέναν άλλον τρόπο παρά μόνο μέσα από την έκθεση, είναι μέσω της MR-Egger. Η μέθοδος αυτή είναι μια παλινδρόμηση η οποία όμως επιτρέπει την ύπαρξη intercept, εν αντιθέσει με την IVW που δεν υπάρχει και η κλίση της ευθείας της εκτίμησης ξεκινά από την αρχή των αξόνων.

Η μορφή της παλινδρόμησης της MR-Egger είναι η εξής:

$$\hat{\beta}_{GY_j} = \theta_0 + \theta_1 \hat{\beta}_{GX_j}$$

$\hat{\theta}_1$: Η κλίση της παλινδρόμησης ερμηνεύεται ως η εκτίμηση της πραγματικής αιτιακής σχέσης παράγοντα κινδύνου με έκβαση παίρνοντας υπόψη την πιθανή ύπαρξη πλειοτροπίας.

$\hat{\theta}_0$: Ερμηνεύεται ως η εκτίμηση της μέσης πλειοτροπικής επίδρασης σε όλες τις γενετικές παραλλαγές. Όταν αυτός ο όρος είναι στατιστικά σημαντικά διαφορετικός από το 0 τότε υπάρχει ένδειξη για πλειοτροπία (Bowden, Smith and Burgess, 2015).

Η MR-Egger λειτουργεί ακόμα κι αν όλα τα SNPs είναι πλειοτροπικά. Είναι μια ευαίσθητη μέθοδος, οπότε χρειάζονται αρκετά SNPs τον αριθμό ώστε να έχει μεγάλη ισχύ (μπορούμε να το κρίνουμε από το standard error).

Ένα πολύ σημαντικό εργαλείο για τον έλεγχο της ετερογένειας των SNPs που μπορούμε να πάρουμε από το MR-Egger είναι το I_{GX}^2 . Αυτό ορίζεται ως εξής:

$$I_{GX}^2 = \frac{Q_{GX} - (L-1)}{Q_{GX}},$$

όπου L είναι ο αριθμός των SNPs και Q_{GX} είναι το Cochran's Q statistic test για ύπαρξη ετερογένειας (άρα και πλειοτροπίας) στη σχέση SNPs-έκθεση και ορίζεται ως εξής:

$$Q_{GX} = \frac{\sum_{j=1}^L \left(\hat{\beta}_{GX_j} - \bar{\beta}_{GX} \right)^2}{\sigma_{GX_j}^2},$$

όπου $\bar{\beta}_{GX}$ είναι ο μέσος των εκτιμήσεων της σχέσης SNP-έκθεση.

Η ερμηνεία του I_{GX}^2 είναι η εξής:

- ✓ Όταν οι σχέσεις μεταξύ SNP-παραγόντων κινδύνου είναι αρκετά ετερογενείς και η αβεβαιότητα στις εκτιμήσεις τους είναι μικρή σε σύγκριση με τη μεταβλητότητα, τότε το I_{GX}^2 θα είναι κοντά στο 1.

- ✓ Αν οι αντίστοιχες σχέσεις είναι γενικά παρόμοιες σε μέγεθος ή εάν οι εκτιμήσεις τους είναι σχετικά ασαφείς ή και τα δύο, τότε το I_{GX}^2 είναι πολύ μικρότερο από το 1.

Ένα I_{GX}^2 της τάξης του 0.9 παρέχει τη σιγουριά ότι η πιθανή μεροληψία του θ_1 λόγω σφάλματος μέτρησης είναι περίπου 10% της πραγματικής τιμής του αιτιολογικού β

(Bowden, Fabiola Del Greco, *et al.*, 2016).

Median-based: Εδώ έχουμε δύο τρόπους προσέγγισης ως προς τη διάμεσο. Την προσέγγιση της simple median και της weighted median. Αμφότερες οι προσεγγίσεις δίνουν συνεπές αποτέλεσμα για την αιτιολογική εκτίμηση παράγοντα κινδύνου και έκβασης ακόμα κι αν πάνω από το 50% των γενετικών παραλλαγών είναι πλειοτροπικά. Όσον αφορά την πρώτη προσέγγιση, αυτό που κάνει είναι να

διατάσσει όλες τις εκτιμήσεις $\hat{\beta}_j = \frac{\hat{\beta}_{GY_j}}{\hat{\beta}_{GX_j}}$ των SNPs σε αύξουσα σειρά και

γίνεται επιλογή της ενδιάμεσης. Αν ο συνολικός αριθμός των SNPs είναι περιττός ($J = 2k + 1$), τότε ο simple median εκτιμητής είναι $\hat{\beta}_{k+1}$. Αν ο συνολικός αριθμός

των SNPs είναι άρτιος ($J = 2k$), τότε ο simple median εκτιμητής είναι $\frac{(\hat{\beta}_k + \hat{\beta}_{k+1})}{2}$.

Όσον αφορά τη δεύτερη προσέγγιση, της weighted median, πολλές φορές τη χρησιμοποιούμε καθώς η simple median δεν είναι πάντα αποτελεσματική καθώς η ακρίβεια των εκτιμήσεων διαφέρουν δραματικά η μία από την άλλη. Για να λάβουμε υπόψη λοιπόν αυτή τη διαφοροποίηση χρησιμοποιούμε την προσέγγιση της weighted median δίνοντας βάρη σε κάθε μια εκτίμηση. Έστω w_j το βάρος που

δίνεται στο j -οστό διατεταγμένο $\hat{\beta}_j$ και έστω $s_j = \sum_{k=1}^j w_k$ το άθροισμα των βαρών συμπεριλαμβανομένου και το βάρος του j -οστού $\hat{\beta}_j$.

Ο εκτιμητής της weighted median είναι ο ενδιάμεσος μια κατανομής με τις εκτιμήσεις $\hat{\beta}_j$ και τα αντίστοιχα εκατοστημόρια των βαρών $p_j = 100 \left(s_j - \frac{w_j}{2} \right)$

(Bowden, Davey Smith, *et al.*, 2016).

- ✓ Ο εκτιμητής της simple median μπορεί να θεωρηθεί ως εκτιμητής της weighted median με ίσα βάρη.
- ✓ Simple και weighted median δε λειτουργούν έχοντας 1 ή 2 SNPs.

Mode-Based: Έστω $\beta_{IV_j} = \beta + b_j$ με β_{IV_j} η εκτίμηση της σχέσης έκθεσης-έκβασης, β η πραγματική αιτιακή σχέση έκθεσης-έκβασης και b_j ένας όρος μεροληψίας. Αν $b_j = 0$ τότε το j-οστό SNP είναι έγκυρο ενώ αν $b_j \neq 0$ τότε το SNP είναι έγκυρο. Η mode-based μέθοδος βασίζεται στη ZERo Modal Pleiotropy Assumption (ZEMPA) που λέει ότι ανάμεσα σε όλα τα SNPs, η πιο συχνή τιμή (πχ η επικρατούσα) των b_j είναι 0.

Αναλύοντας τα παραπάνω, έστω $k \in \{1, 2, \dots, L\}$ ο αριθμός των μοναδικών τιμών του b_j ανάμεσα σε όλα τα SNPs (αν όλα τα b_j είναι πανομοιότυπα τότε $k=1$, ενώ αν όλα είναι μοναδικά τότε $k=L$). Επίσης, έστω n_1, n_2, \dots, n_k ο αριθμός των SNPs που έχουν την ίδια μη μηδενική τιμή στα b_j με n_1 αυτούς με τη μικρότερη μη μηδενική τιμή πανομοιότυπη τιμή των b_j και n_k αυτούς με τη μεγαλύτερη μη μηδενική τιμή πανομοιότυπη τιμή των b_j . Επίσης, n_0 ο αριθμός των SNPs με $b_j = 0$. Έχουμε ότι $n_0 + n_1 + \dots + n_k = L$. Η συνθήκη της ZEMPA λέει ότι το n_0 είναι μεγαλύτερο από κάθε άλλο n_l για l στο $1, 2, \dots, k$, δηλαδή για παράδειγμα $n_0 > \max(n_1, n_2, \dots, n_k)$. Στην εκδοχή της weighted mode που χρησιμοποιήσαμε στην ανάλυση, δίνουμε βάρος σε κάθε β_{IV_j} και η ZEMPA λέει ότι τα βάρη που σχετίζονται έγκυρα SNPs είναι τα μεγαλύτερα ανάμεσα σε όλα τα k υποσύνολα των SNPs, δηλαδή για παράδειγμα $w_0 > \max(w_1, w_2, \dots, w_k)$.

Τα βάρη αυτά μπορούν να υπολογιστούν ως εξής:

$$w_j = \frac{\sigma_{IV}^{-2}}{\sum_{j=1}^L \sigma_{IV}^{-2}}$$

Η αιτιακή εκτίμηση που παίρνουμε μέσω της μεθόδου weighted mode based είναι η τιμή που μεγιστοποιεί την ακόλουθη συνάρτηση:

$$f(x) = \frac{1}{h\sqrt{2\pi}} \sum_{j=1}^L w_j \exp \left[-\frac{1}{2} \left(\frac{x - \hat{\beta}_{IV}}{h} \right)^2 \right]$$

Η παράμετρος h ρυθμίζει μεροληψία και διακύμανση της mode-based καθώς αυξάνοντας το h αυξάνεται η ακρίβεια αλλά παράλληλα οδηγούμαστε και σε υψηλότερη μεροληψία (Hartwig, Smith and Bowden, 2017).

MR-PRESSO: Ένα σημαντικό κομμάτι της ανάλυσης ευαισθησίας που πραγματοποιήσαμε ήταν η προσέγγιση Mendelian Randomization Pleiotropy RESidual Sum and Outlier (MR-PRESSO). Η συγκεκριμένη μέθοδος κάνει τα εξής 3 βήματα:

- Ελέγχει αν υπάρχει οριζόντια πλειοτροπία (μέσω του MR-PRESSO Global test).
- Διορθώνει για οριζόντια πλειοτροπία αφαιρώντας τα outlier SNPs (μέσω MR-PRESSO outlier test).
- Ελέγχει για στατιστικά σημαντική διαφορά των αιτιακών εκτιμήσεων πριν και μετά τη διόρθωση για τα outliers (μέσω του MR-PRESSO distortion test).

Οι αιτιακές εκτιμήσεις που υπολογίζει η MR-PRESSO (πριν και μετά τη διόρθωση για outlier) είναι η Inverse Variance Weighted (IVW) random (Verbanck *et al.*, 2018).

Να τονιστεί ότι:

- Το outlier test απαιτεί τουλάχιστον το 50% των SNPs να είναι έγκυρα.
- Η MR-PRESSO δε λειτουργεί με 1 ή 2 SNPs.

Στη συνέχεια αξιολογήσαμε αν αυτά τα SNPs, που βρέθηκαν ως outliers μέσω της MR-PRESSO, σχετίστηκαν με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά μέσω της πλατφόρμας του Phenoscanner (<http://www.phenosscanner.medschl.cam.ac.uk/>).

Επίσης, για έλεγχο ετερογένειας των SNPs έγιναν scatter, funnel και forest plots. Στα funnel plots, για να υπάρχει ομοιογένεια, θα πρέπει τα SNPs να είναι συμμετρικά

κατανεμημένα γύρω από την αιτιακή εκτίμηση. Όσο πιο ψηλά στον άξονα των y βρίσκεται το ομοιογενές κατανεμημένο σύννεφο των SNPs τόσο μεγαλύτερη ακρίβεια έχουμε. Στα forest plots, τα SNPs θα πρέπει να βρίσκονται πάνω στην αιτιακή εκτίμηση ώστε να μην υπάρχει ετερογένεια.

Τέλος, όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο λογισμικό της R-3.6.1 χρησιμοποιώντας τα πακέτα MendelianRandomization και TwoSampleMR.

3.Αποτελέσματα

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση Μενδελιανής Τυχαιοποίησης (MT) σε 9 διατροφικούς παράγοντες (δημητριακά, φρέσκα φρούτα, επεξεργασμένο κρέας, πουλερικά, λιπαρά ψάρια, μη λιπαρά ψάρια, τυρί, τσάι και πράσινο τσάι) και 5 εκβάσεις (καρκίνος του παχέος εντέρου, του κόλου, του δεξιού κόλου, του αριστερού κόλου και το ορθού). Η παράθεση των αποτελεσμάτων γίνεται ανά διατροφικό παράγοντα ως προς τις 5 εκβάσεις. Οι κύριες μεθόδους της ανάλυσης είναι οι IVW fixed-effects και IVW random-effects. Για να ελεγχθούν οι προϋποθέσεις της MT πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις ευαισθησίας όπως οι MR-Egger, simple median, weighted median, weighted mode και MR-PRESSO. Επιπρόσθετα, έγιναν έλεγχοι ετερογένειας και παρατίθενται το I^2 statistic και το p-value του Cochran's Q test. Τα αποτελέσματα των ανωτέρω παρουσιάζονται σε πίνακες στο τέλος κάθε διατροφικού παράγοντα. Τέλος, έγιναν διαγνωστικά γραφήματα, όπως scatter, forest και funnel plots για κάθε σχέση.

3.1 Δημητριακά

Για τη μεταβλητή έχουν χρησιμοποιηθεί 56 SNPs και έχει χωριστεί σε 3 επίπεδα. Σε αυτούς που τρώνε 0-3 μπολ δημητριακών ανά εβδομάδα (επίπεδο 0), αυτούς που τρώνε 4-6 μπολ δημητριακών ανά εβδομάδα (επίπεδο 1) και σε αυτούς που τρώνε από 7 και άνω μπολ δημητριακών ανά εβδομάδα (επίπεδο 2). Δηλαδή, εξετάζουμε τον κίνδυνο για καρκίνο αυτών είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (όμοια για αυτούς που είναι στο επίπεδο 2 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 1). Όσον αφορά το **συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου** οι εκτιμήσεις δείχνουν προστατευτική δράση των δημητριακών. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα των IVW fixed και random effects δίνουν ένα OR=0.75 με 95% ΔΕ (0.61-0.91) και (0.55-1.01) αντίστοιχα. Δηλαδή, αυτοί είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (και αυτοί που είναι στο επίπεδο 2 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 1) έχουν μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου περίπου κατά 25%. Με αυτές τις εκτιμήσεις συμφωνούν οι προσεγγίσεις των median καθώς η simple median δίνει ένα OR=0.71 με 95% ΔΕ=(0.51-0.99) και η weighted median μια οριακά μη στατιστικά σημαντική εκτίμηση (OR=0.74, 95% ΔΕ=(0.53-1.03)). Οι υπόλοιπες εκτιμήσεις των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 2). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Ως εκ τούτου, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=34.6\%<90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 3). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι

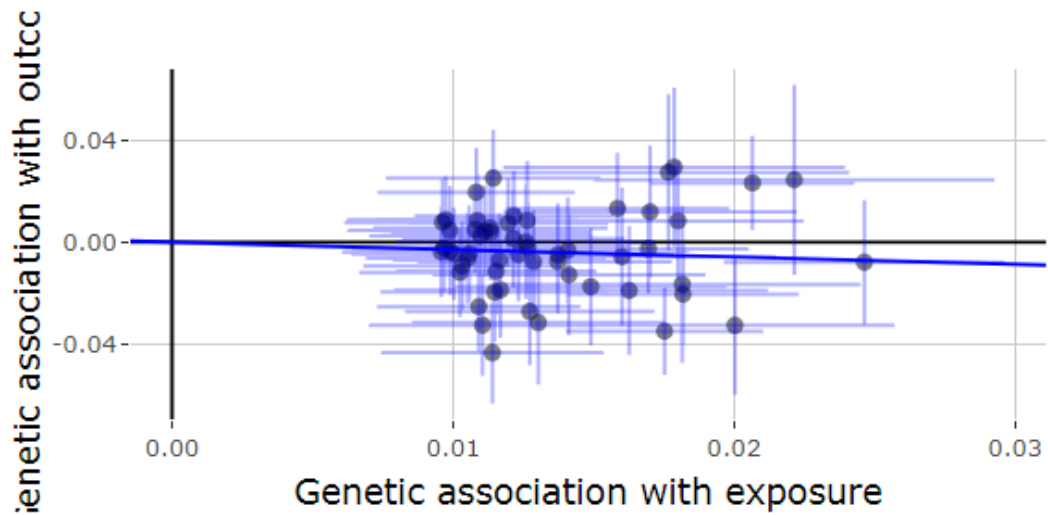
εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 6). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι δε φαίνεται να υπάρχει συμμετρία γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης συνεπώς αποτελεί και αυτό ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 7). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0001 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας)
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκαν τα πλειοτροπικά SNPs (rs11670024 και rs12523398).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.1697$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

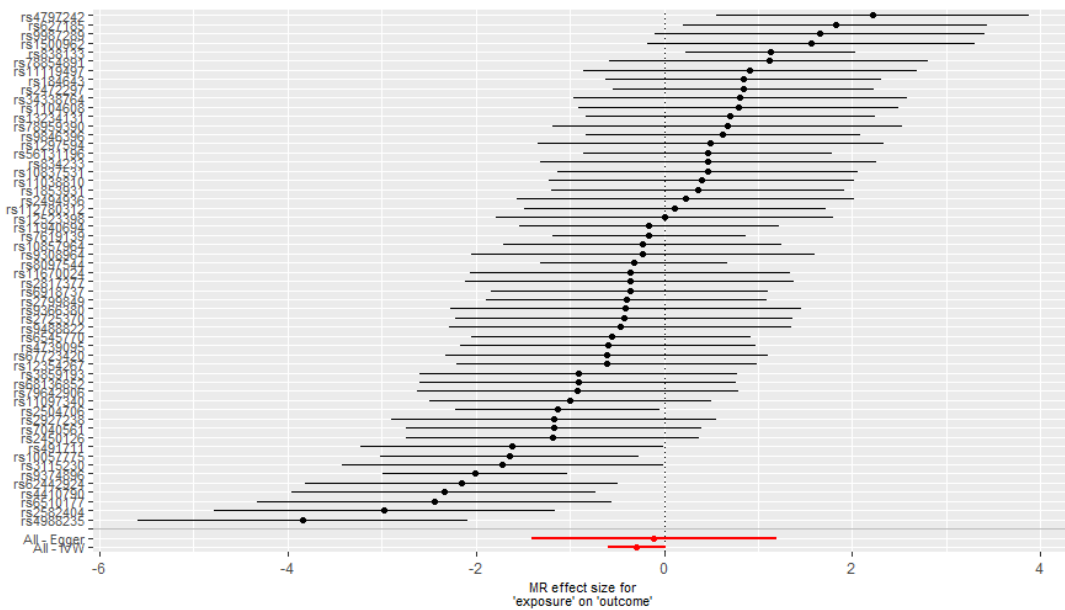
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση δημητριακών φάνηκε ότι πιθανώς συσχετίζεται με ήπιο στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο παχέος εντέρου.

Τα SNPs που βρέθηκαν ως πλειοτροπικά στην MR-PRESSO, μέσω της πλατφόρμας του Rphenoscanner σχετίστηκαν με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

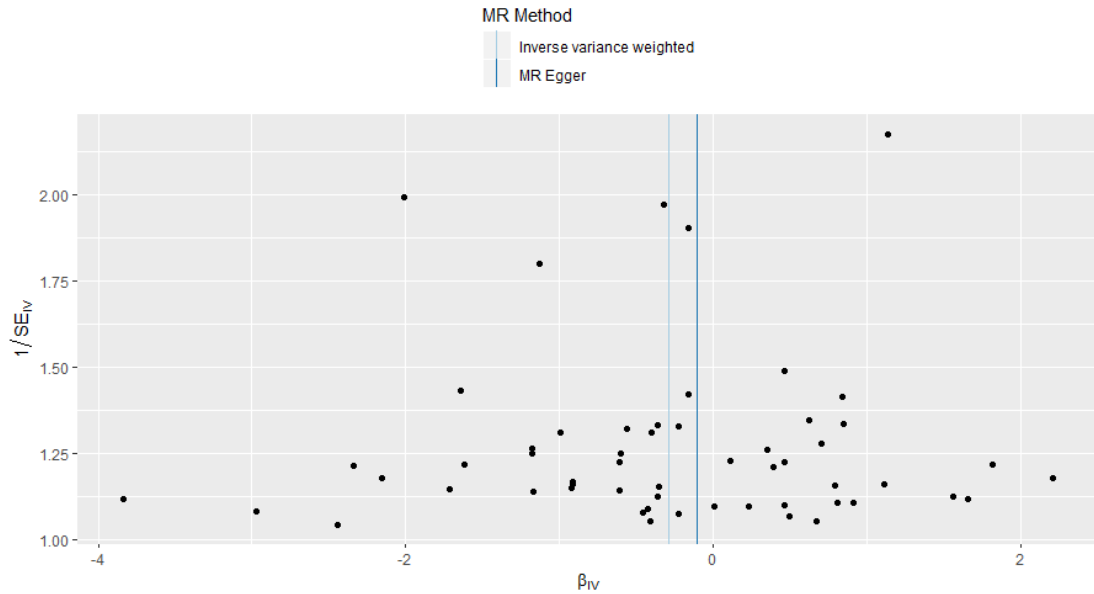
SNPs	Χαρακτηριστικό	p-value
rs11670024	Ποσοστό λίπους κορμού	0.0000000952
	Ποσοστό λίπους σώματος	0.0000004303
	Ποσοστό λίπους δεξιού μπράτσου	0.000001751
	Μάζα λίπους κορμού	0.000001921
	Ποσοστό λίπους αριστερού μπράτσου	0.000006485
rs12523398	Χρόνια σπουδών	0.0000034



Σχήμα 5: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα δημητριακά με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.



Σχήμα 6: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο συνολικά του παχέος εντέρου.



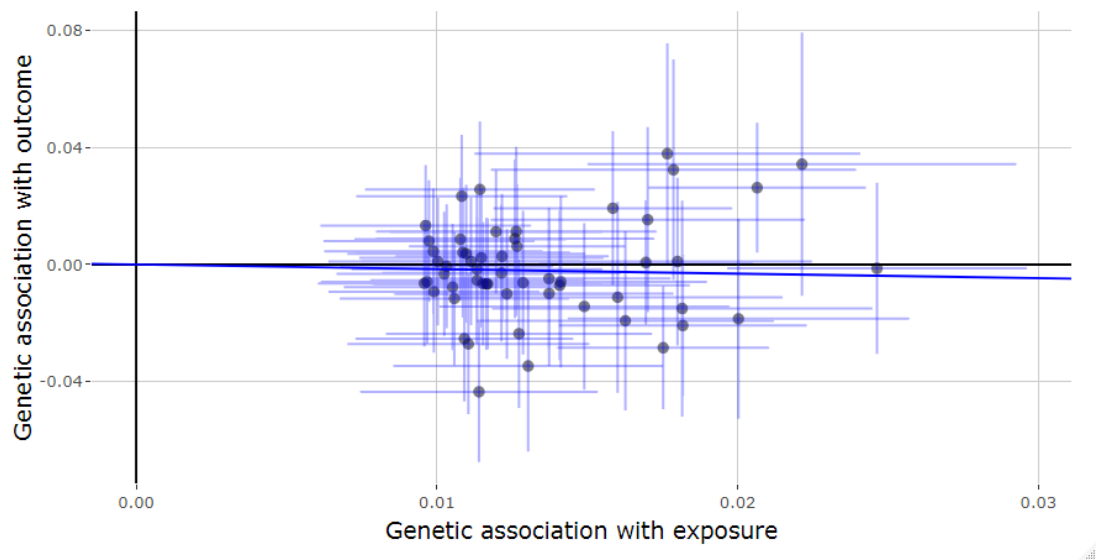
Σχήμα 7: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο συνολικά του παχέος εντέρου.

Για τον **καρκίνο στο κόλον** παρατηρήθηκε από τις εκτιμήσεις των IVW fixed και random ένα OR=0.86 ME 95% ΔΕ (0.67-1.09) και (0.63-1.16) αντίστοιχα. Αναλόγως, ως μη στατιστικά σημαντικές κρίθηκαν και οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας (Πίνακας 2). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια. Κατ'επέκταση δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=34.5% < 90%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 3). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 9). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης για την IVW αλλά όχι τόσο για την MR-Egger. (Σχήμα 10). Με τη σειρά της η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

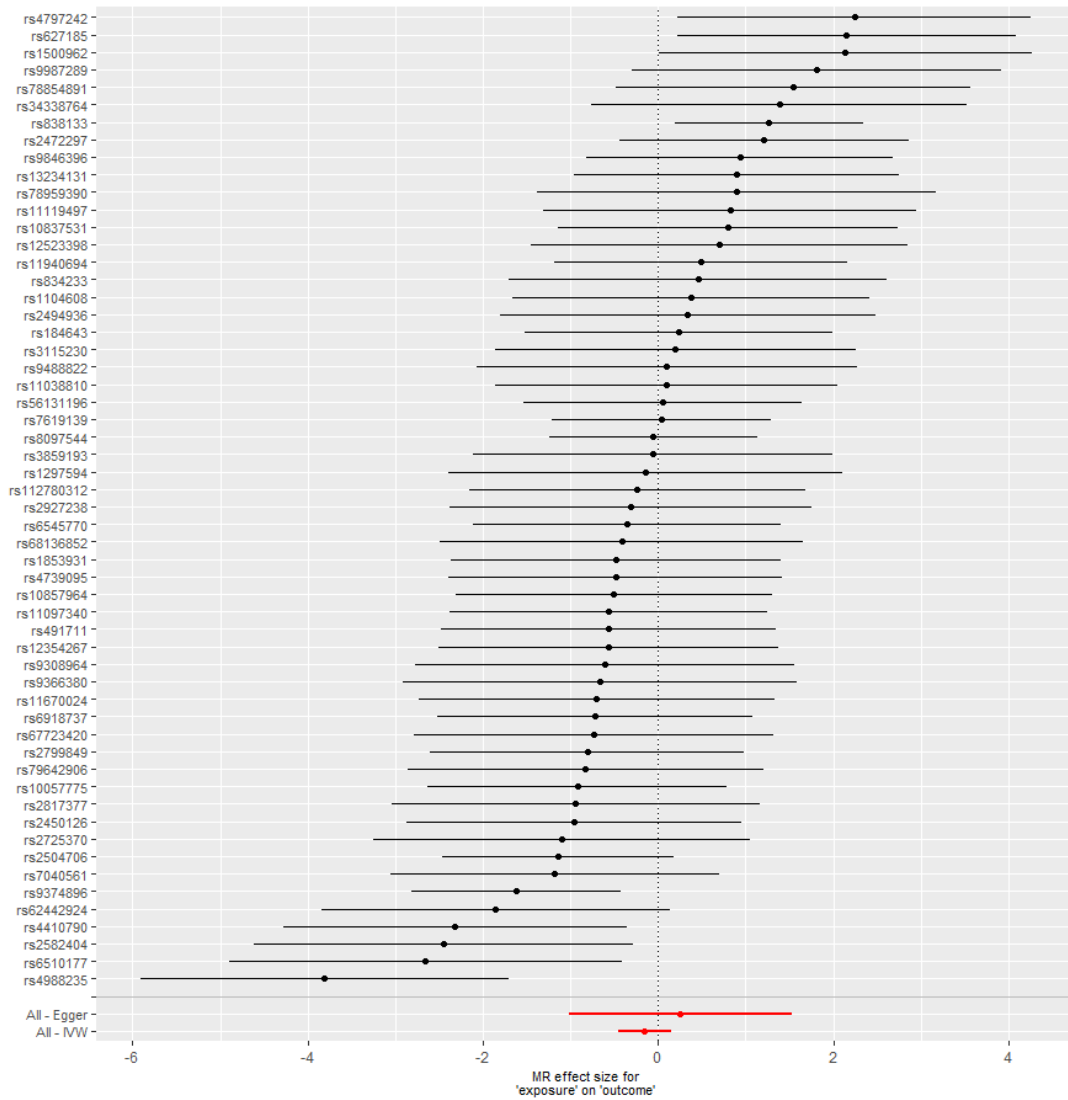
- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0087 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας)
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκαν ένα πλειοτροπικό SNP (το rs11670024).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.5408$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

Το SNP rs11670024 που βρέθηκε ως πλειοτροπικό στην MR-PRESSO αναφέρθηκε και στο συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου.

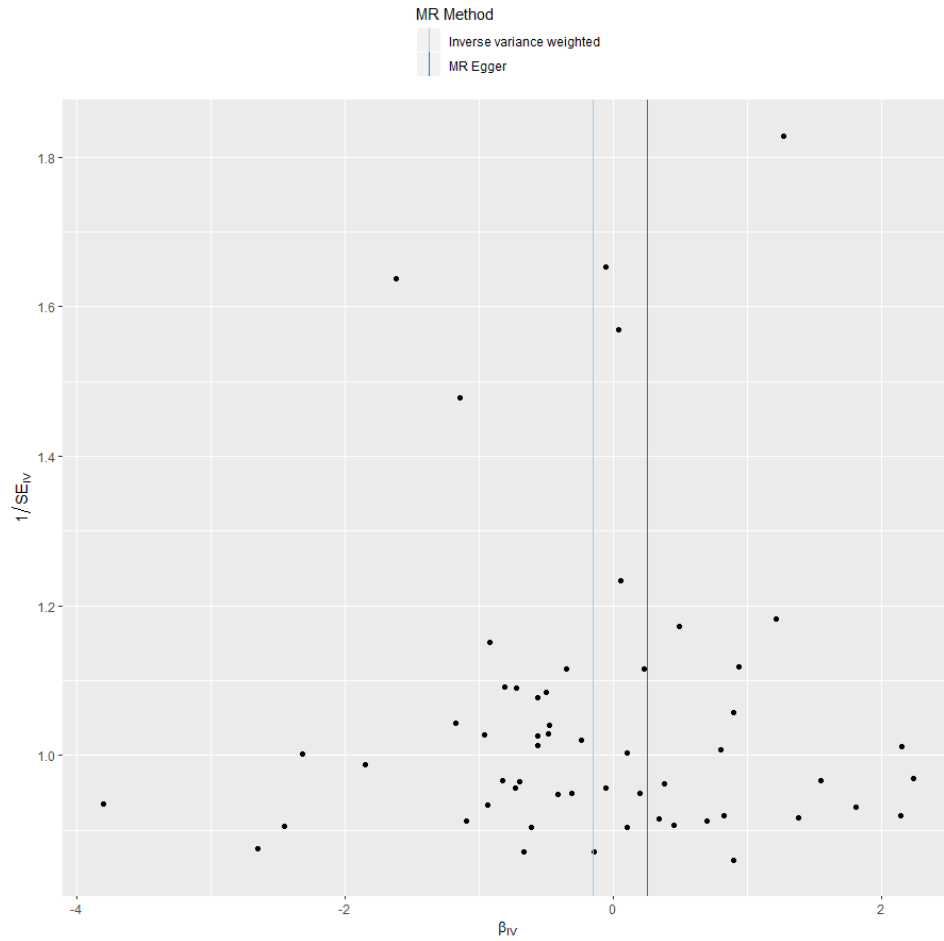
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση δημητριακών δε συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο στο κόλον.



Σχήμα 8: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα δημητριακά με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο στο κόλον.

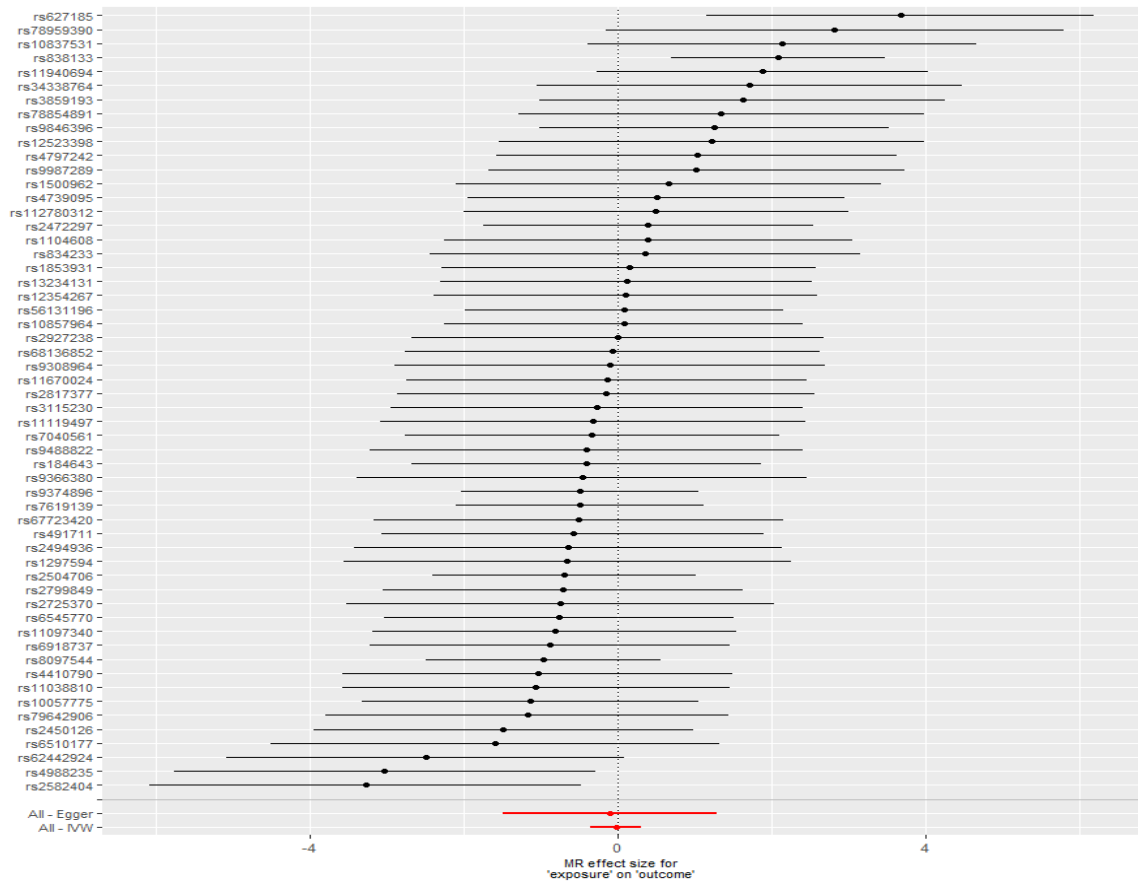


Σχήμα 9: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο στο κόλον.

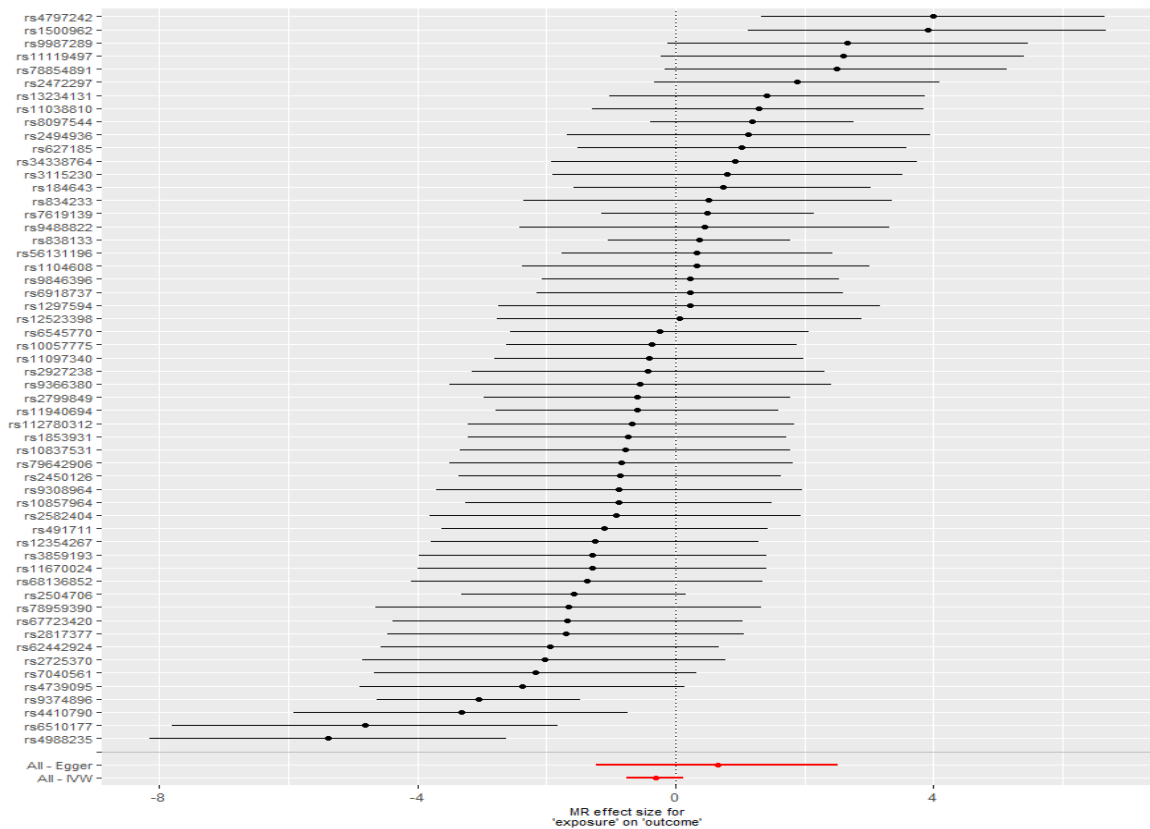


Σχήμα 10: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο στο κόλον.

Για τους καρκίνους σε **δεξί** και **αριστερό κόλον** τα αποτελέσματα δε διαφέρουν από αυτά του ολικού κόλου καθώς έδειξαν μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση των δημητριακών.



Σχήμα 11: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο στο δεξί κόνον όπου βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης.

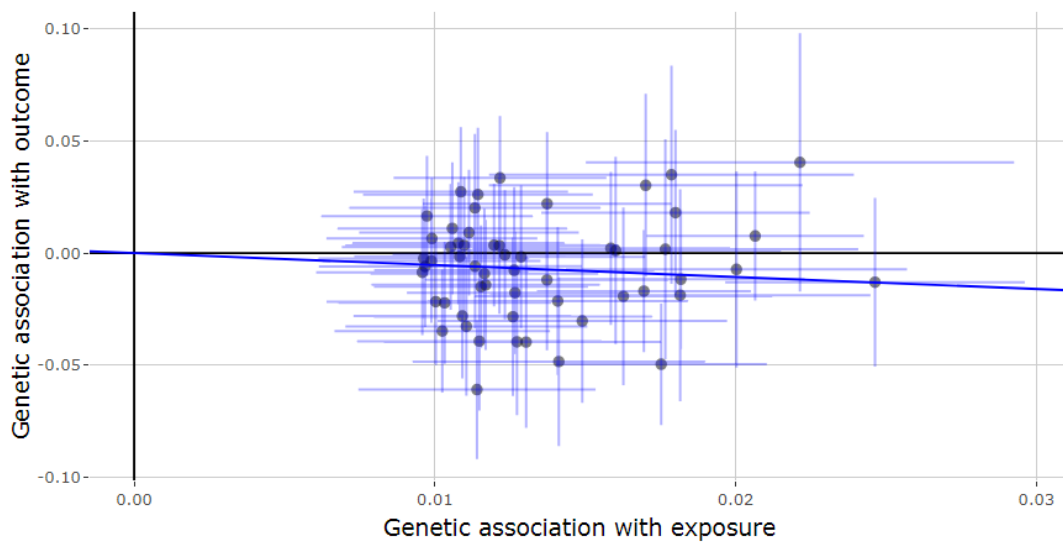


Σχήμα 12: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο στο αριστερό κόλον όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας

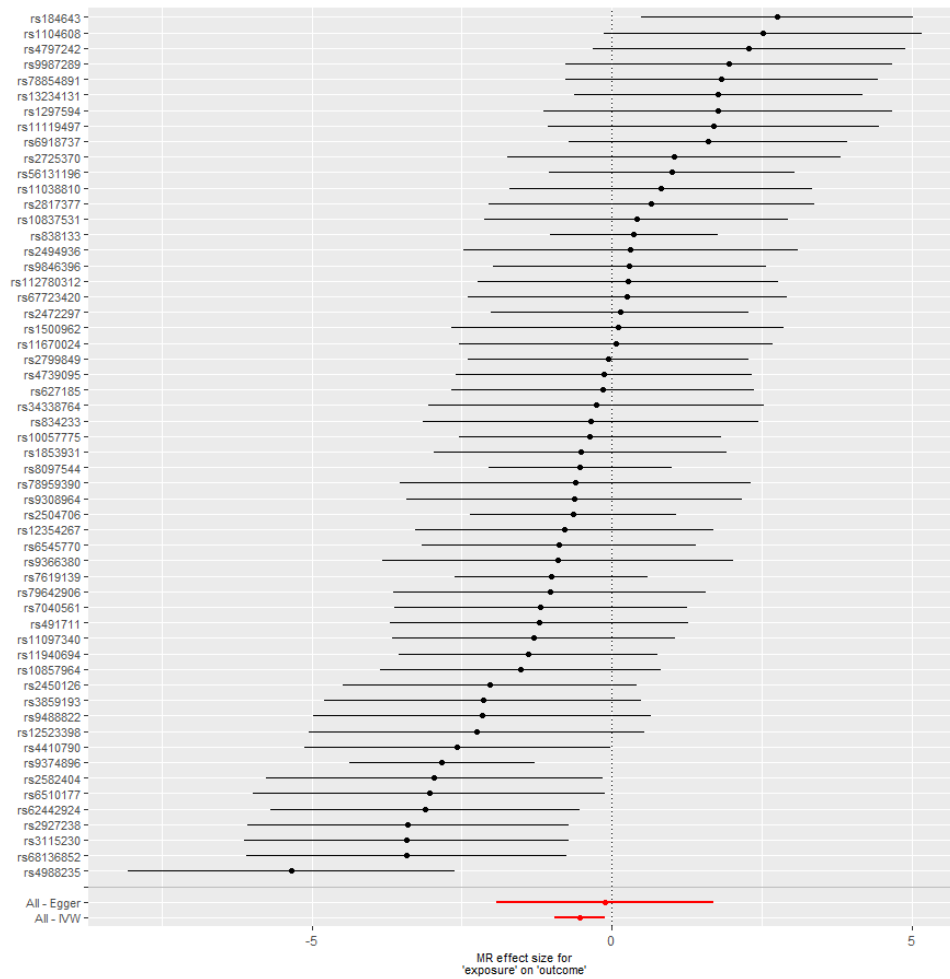
Όσον αφορά τον **καρκίνο στο ορθό** εδώ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικά προστατευτική σχέση των δημητριακών. Για την ακρίβεια οι εκτιμήσεις των IVW fixed και random έδωσαν ένα OR=0.59 με 95% ΔΕ (0.43-0.81) και (0.38-0.89) αντίστοιχα. Από τις αναλύσεις ευαισθησίας, η εκτίμηση της weighted median έδωσε ίδιο OR με αυτό των IVW και στατιστικά σημαντικό (OR=0.59, 95% ΔΕ=(0.36-0.97)) ενώ η εκτίμηση simple median ήταν οριακά μη στατιστικά σημαντικά σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5%. Οι υπόλοιπες μέθοδοι έδωσαν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 2). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Ως εκ τούτου, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=35% < 90%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 3). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας. (Σχήμα 14). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης συνεπώς αποτελεί και αυτό ένδειξη πλειοτροπίας. (Σχήμα 15). Με τη σειρά της η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0002 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας)
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκε πλειοτροπικό SNPs (το rs11670024).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση του outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.7248$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

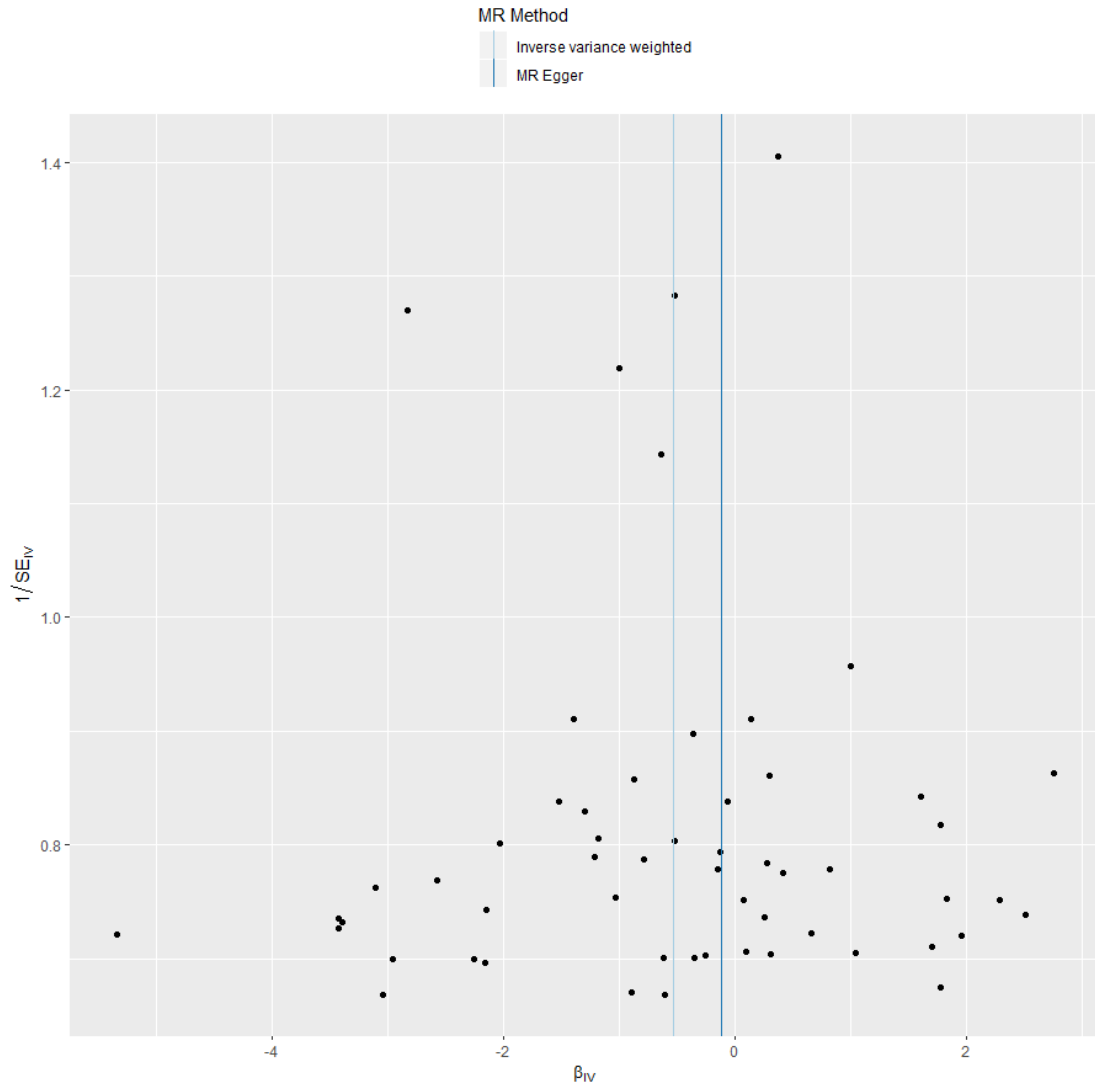
Συμπερασματικά, υπάρχει πιθανή υποστήριξη η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση δημητριακών να έχει προστατευτική σχέση στον καρκίνο του ορθού.



Σχήμα 13: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα δημητριακά με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του ορθού.



Σχήμα 14: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο στο ορθό.



Σχήμα 15: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP για τον καρκίνο στο ορθό.

Τέλος, το p-value του intercept της MR-Egger και συνολικά αλλά και κατά σημείο του παχέος εντέρου μας δείχνει έλλειψη πλειοτροπίας (p-value>0.05 με H_0 την έλλειψη πλειοτροπίας).

Πίνακας 2: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης δημητριακών στις 5 εκβάσεις.

56 SNPs Έκβαση	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	0.75	1.11	0.61	0.91	0.00468
	Random-effects IVW	0.75	1.17	0.55	1.01	0.06149
	MR-Egger slope	0.89	1.94	0.24	3.31	0.87282
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.02	0.77278
	Simple median	0.71	1.18	0.51	0.99	0.04253
	Weighted median	0.74	1.18	0.53	1.03	0.07086
	Weighted mode	0.74	1.50	0.33	1.66	0.46969
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	0.86	1.13	0.67	1.09	0.213952
	Random-effects IVW	0.86	1.17	0.63	1.16	0.314252
	MR-Egger slope	1.29	1.92	0.36	4.63	0.693398
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.01	0.514813
	Simple median	0.76	1.21	0.52	1.10	0.147969
	Weighted median	0.85	1.21	0.59	1.24	0.411679
	Weighted mode	0.67	1.58	0.27	1.65	0.386496
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	0.97	1.18	0.71	1.33	0.8575
	Random-effects IVW	0.97	1.18	0.69	1.35	0.8627
	MR-Egger slope	0.90	2.03	0.22	3.62	0.8835
	MR-Egger Intercept	1.00	1.01	0.98	1.02	0.9134
	Simple median	0.80	1.26	0.51	1.27	0.3473
	Weighted median	0.72	1.27	0.45	1.14	0.1573
	Weighted mode	0.59	1.55	0.25	1.38	0.2223
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	0.73	1.18	0.53	1.01	0.05848
	Random-effects IVW	0.73	1.26	0.47	1.14	0.17047
	MR-Egger slope	1.92	2.59	0.29	12.5	0.49317
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.96	1.01	0.29761
	Simple median	0.62	1.29	0.37	1.02	0.06121
	Weighted median	0.68	1.29	0.41	1.11	0.12658
	Weighted mode	1.08	1.71	0.38	3.07	0.88805
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	0.59	1.16	0.43	0.81	0.000957
	Random-effects IVW	0.59	1.24	0.38	0.89	0.014472
	MR-Egger slope	0.89	2.51	0.15	5.42	0.899160
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.97	1.02	0.641532
	Simple median	0.64	1.28	0.39	1.05	0.075819
	Weighted median	0.59	1.28	0.36	0.97	0.038189
	Weighted mode	0.70	1.65	0.26	1.88	0.483099

Πίνακας 3: Ετερογένεια των SNPs των δημητριακών στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.00000018	0.000000123	34.6%
Καρκίνος στο κόλον	0.007308299	0.006498203	34.5%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.3227649	0.2898803	35.2%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.00005988003	0.000716064	34.3%
Καρκίνος στο ορθό	0.0001838306	0.0001456271	35%

3.2 Φρέσκα φρούτα

Για τη μεταβλητή έχουν χρησιμοποιηθεί 62 SNPs και έχει χωριστεί σε 3 επίπεδα. Σε αυτούς που τρώνε κανένα κομμάτι φρέσκων φρούτων (επίπεδο 0), αυτούς που τρώνε 1-2 κομμάτια φρέσκων φρούτων (επίπεδο 1) και αυτούς που τρώνε πάνω από 3 κομμάτια φρέσκων φρούτων (επίπεδο 2). Δηλαδή, εξετάζουμε τον κίνδυνο για καρκίνο αυτών είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (όμοια για αυτούς που είναι στο επίπεδο 2 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 1). Όσον αφορά το **συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου** παρατηρήθηκε μια μη στατιστικά σημαντική προστατευτική συσχέτιση. Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.84 με 95% ΔΕ (0.64-1.10) και (0.58-1.20) αντίστοιχα. Ομοίως και οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 4). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Κατ'επέκταση δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=62.2%<90%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 5). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 17). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι δε φαίνεται να υπάρχει συμμετρία γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης συνεπώς αποτελεί και αυτό ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 18). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

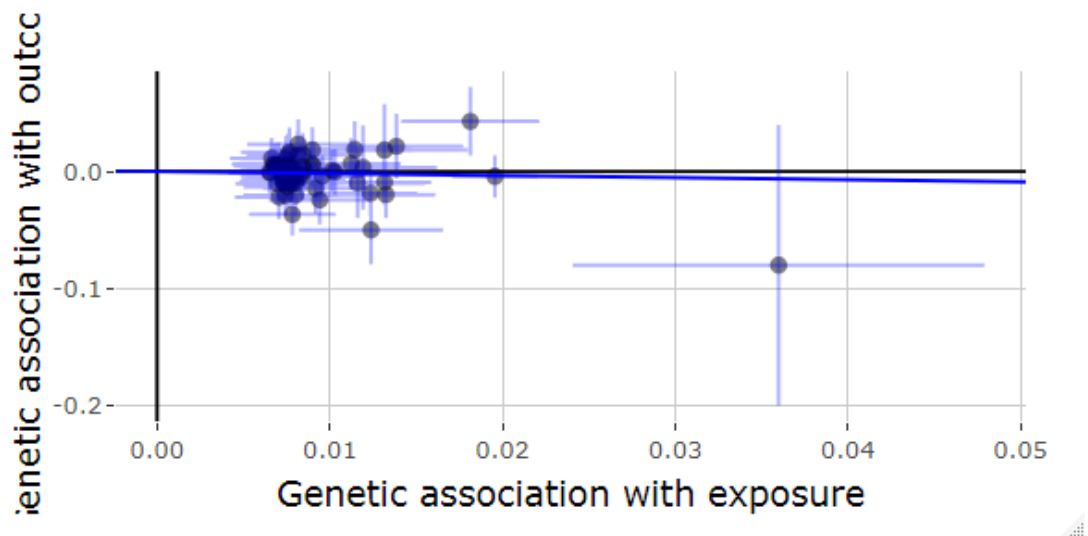
- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0005<0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).

- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκε πλειοτροπικό SNP(το rs10064431).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση του outlier SNP μέσω του Distortion Test (p -value=0.4326 με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση του outlier).

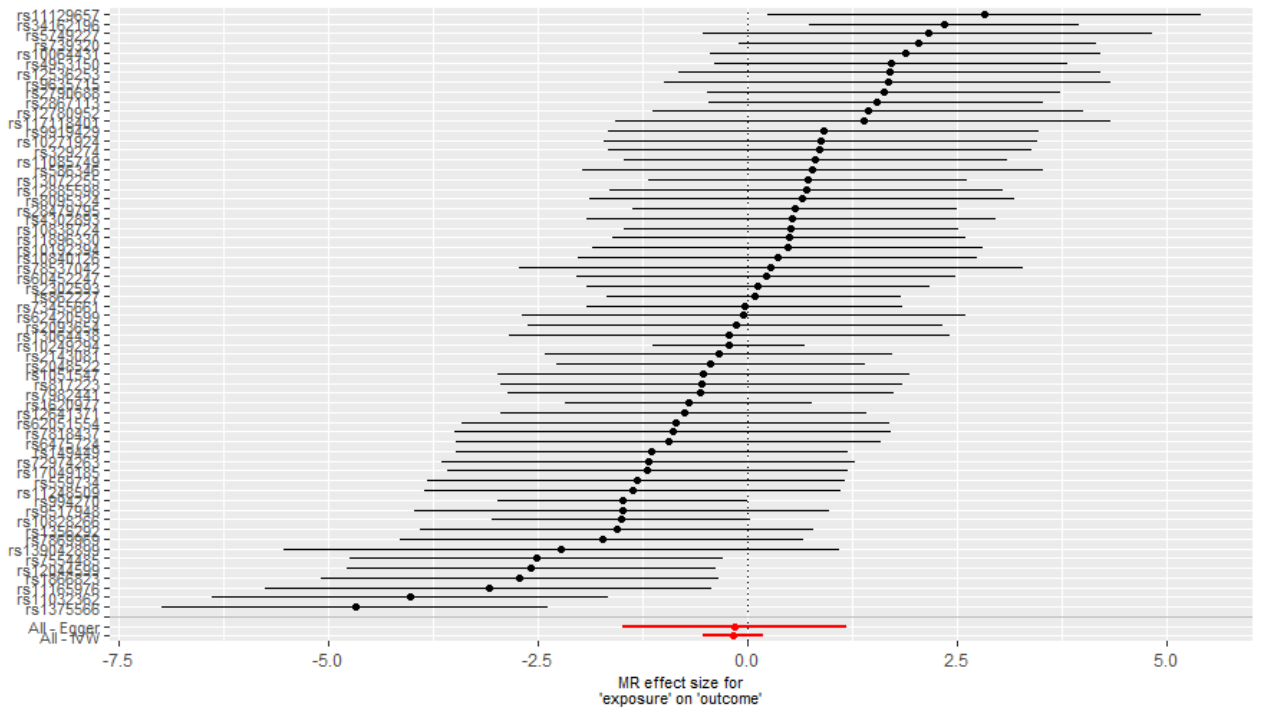
Το SNPs που βρέθηκε ως πλειοτροπικό στην MR-PRESSO, μέσω της πλατφόρμας του Rphenoscanner σχετίστηκε με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

SNPs	Χαρακτηριστικό	p-value
rs10064431	Number of incorrect matches in round	0.00000433

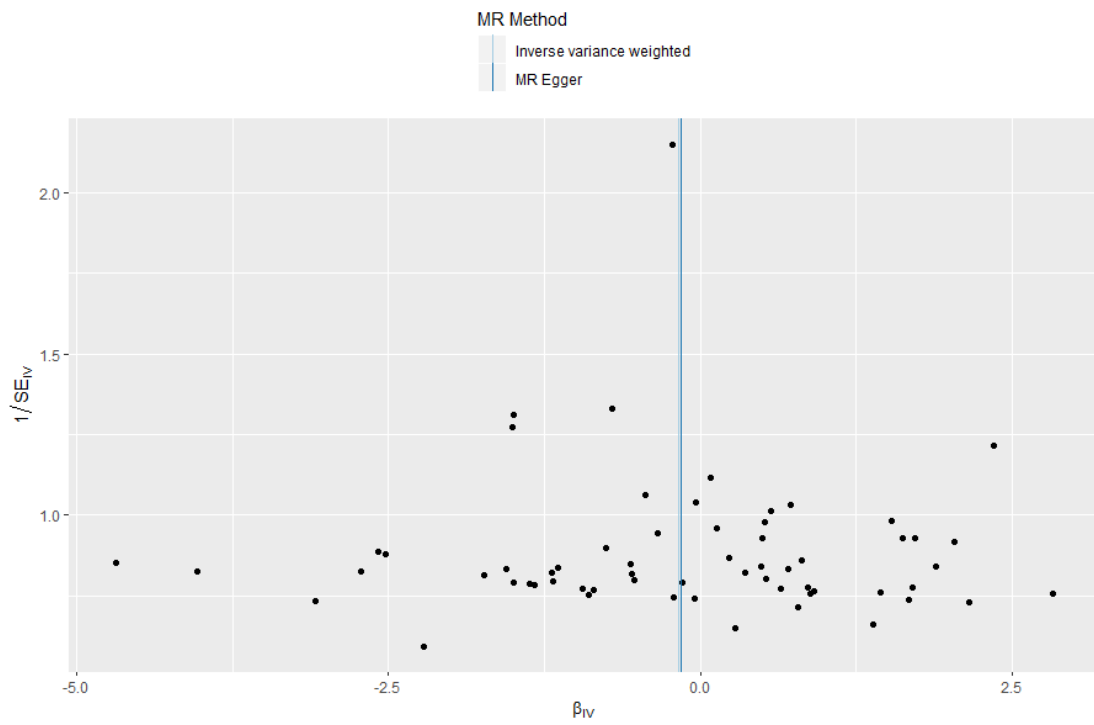
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση φρέσκων φρούτων δε συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο παχέος εντέρου.



Σχήμα 16: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα φρέσκα φρούτα με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

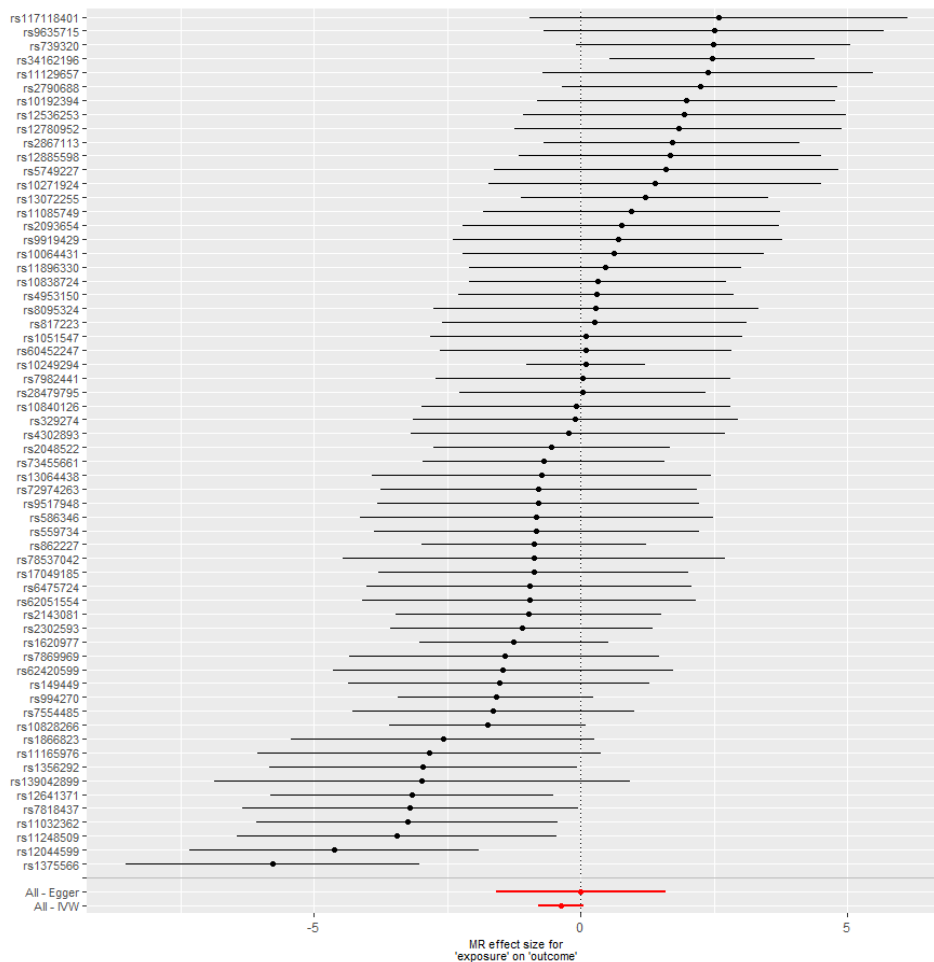


Σχήμα 17: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

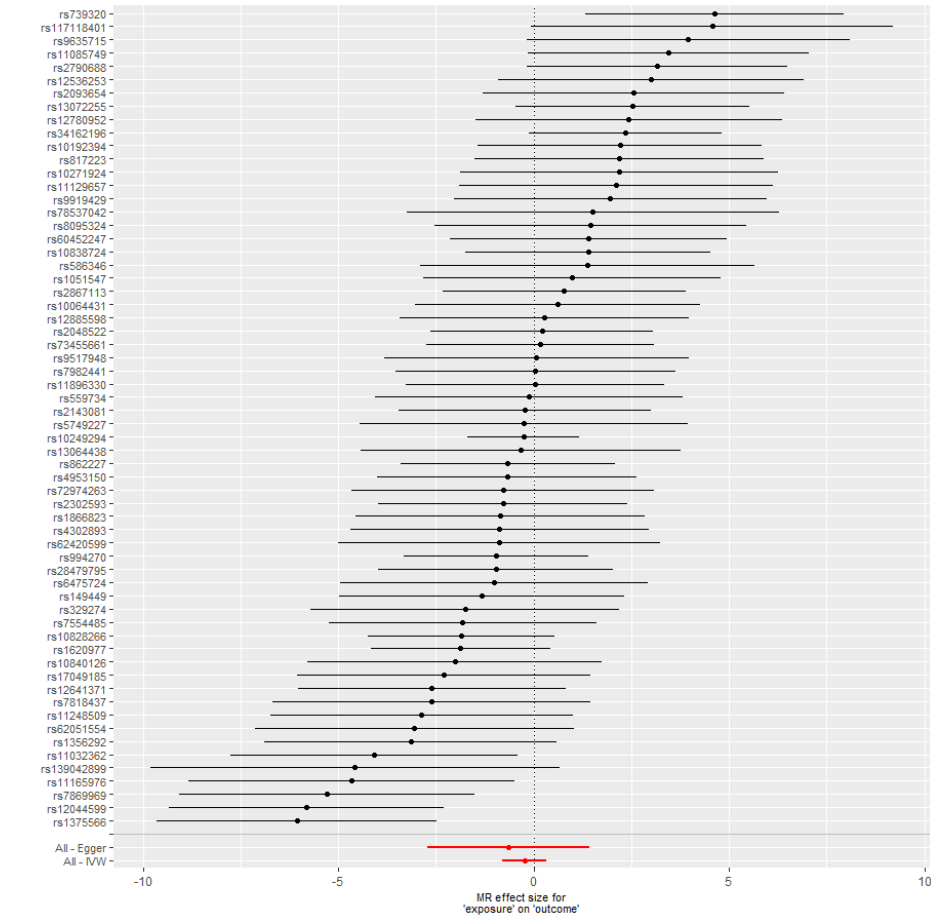


Σχήμα 18: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

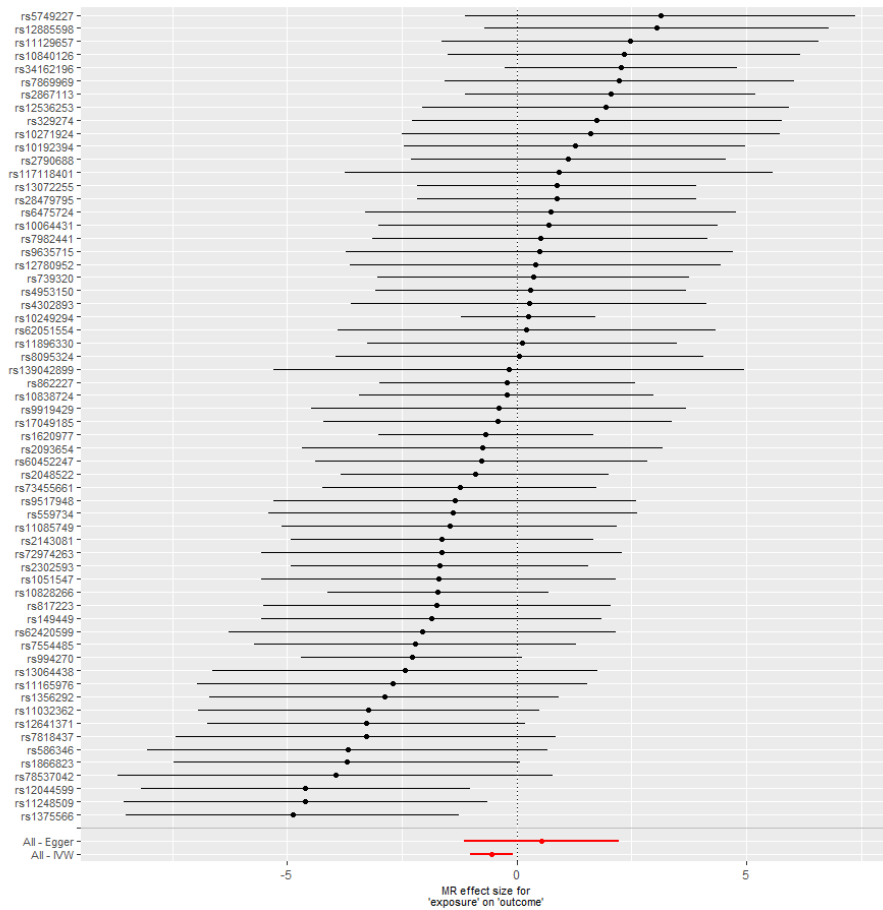
Όμοια για τους **καρκίνους στο κόλον, δεξί κόλον** και **ορθό** δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της κατανάλωσης φρέσκων φρούτων. Όσον αφορά τον καρκίνο στο **αριστερό κόλον** παρατηρήθηκε μια προστατευτική σχέση των φρέσκων φρούτων καθώς η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.58 με 95% ΔΕ (0.37-0.89) και (0.36-0.92) αντίστοιχα και λόγω της έλλειψης πλειοτροπίας (Πίνακας 5) εμπιστευόμαστε την εκτίμηση της IVW fixed-effects. Παρόλα αυτά, οι εκτιμήσεις των αναλύσεων ευαισθησίας ήταν μη στατιστικά σημαντικές και κατ'επέκταση δεν μπορούμε να αποδώσουμε πιθανή προστατευτική συσχέτιση. Στα σχήματα (19,20,21,22) τα αντίστοιχα forest plot των υπότυπων του καρκίνου.



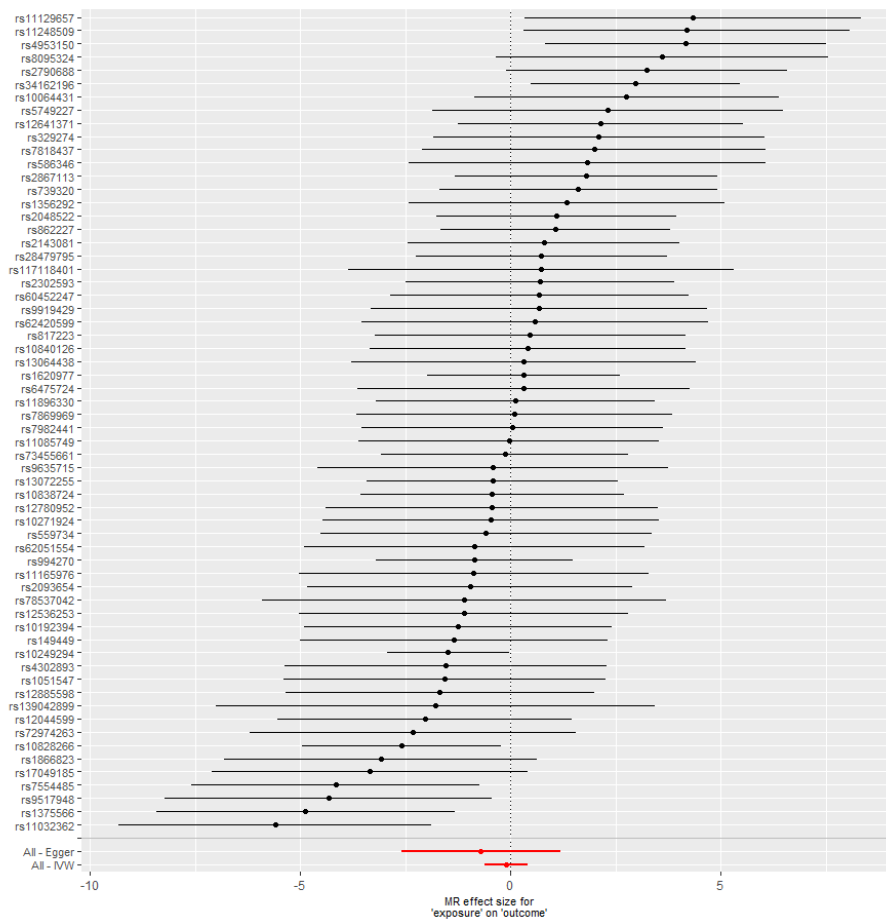
Σχήμα 19: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 20: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 21: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 22: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη

πλειοτροπίας.

Πίνακας 4: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης φρέσκων φρούτων στις 5 εκβάσεις.

62 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	0.84	1.15	0.64	1.10	0.20676
	Random-effects IVW	0.84	1.21	0.58	1.20	0.34121
	MR-Egger slope	0.86	1.978	0.23	3.26	0.82181
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.99	1.01	0.97272
	Simple median	0.96	1.24	0.63	1.47	0.84495

	Weighted median	0.81	1.26	0.51	1.27	0.35621
	Weighted mode	0.90	1.49	0.42	1.97	0.80047
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	0.69	1.18	0.49	0.97	0.0298696
	Random-effects IVW	0.69	1.25	0.45	1.07	0.0978264
	MR-Egger slope	1.01	2.25	0.20	4.94	0.9968731
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.01	0.6376888
	Simple median	0.68	1.30	0.41	1.13	0.1414576
	Weighted median	0.90	1.31	0.53	1.54	0.7088493
	Weighted mode	0.74	1.65	0.28	1.98	0.5551382
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	0.79	1.24	0.51	1.21	0.27622
	Random-effects IVW	0.79	1.33	0.45	1.39	0.40954
	MR-Egger slope	0.52	2.88	0.07	4.16	0.53896
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.99	1.02	0.68467
	Simple median	0.79	1.39	0.41	1.52	0.47711
	Weighted median	0.77	1.43	0.38	1.57	0.47228
	Weighted mode	0.62	1.78	0.20	1.93	0.41266
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	0.58	1.25	0.37	0.89	0.0133440
	Random-effects IVW	0.58	1.27	0.36	0.92	0.0204337
	MR-Egger slope	1.71	2.36	0.32	9.24	0.5312704
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.01	0.1889646
	Simple median	0.67	1.40	0.35	1.29	0.2353227
	Weighted median	0.79	1.40	0.40	1.53	0.4820815
	Weighted mode	1.11	1.92	0.31	3.97	0.8762945
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	0.90	1.24	0.59	1.38	0.633809
	Random-effects IVW	0.90	1.30	0.54	1.51	0.692759
	MR-Egger slope	0.49	2.63	0.07	3.30	0.467267
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.99	1.02	0.519479
	Simple median	1.07	1.40	0.55	2.06	0.848691
	Weighted median	0.96	1.39	0.50	1.85	1.243232
	Weighted mode	1.02	2.13	0.23	4.49	0.979158

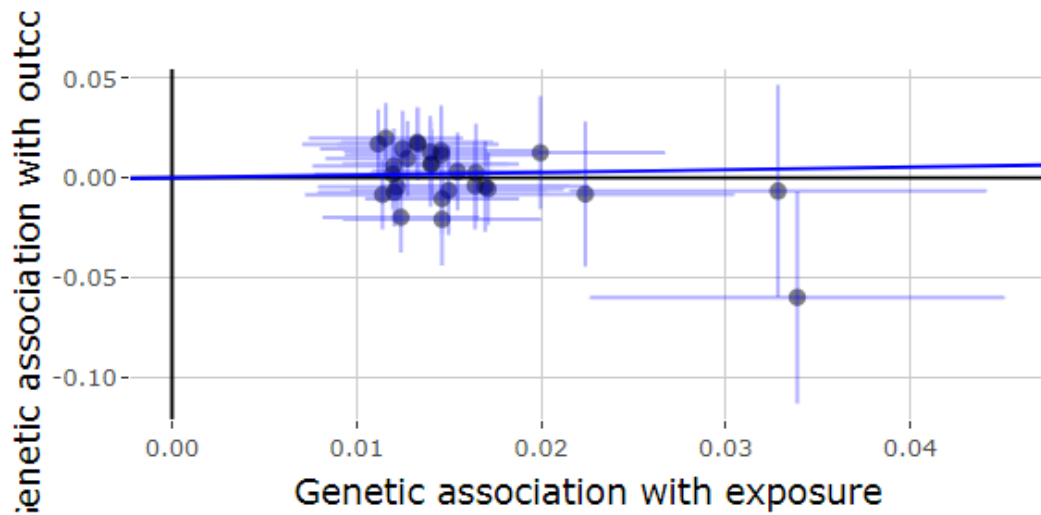
Πίνακας 5: Ετερογένεια των SNPs των φρέσκων φρούτων στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.000231	0.000169	62.2%
Καρκίνος στο κόλον	0.0003987580	0.0003223413	61.5%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.0002920074	0.0002297169	62.4%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.2130774	0.2349189	61.7%
Καρκίνος στο ορθό	0.01186734	0.01061622	62.3%

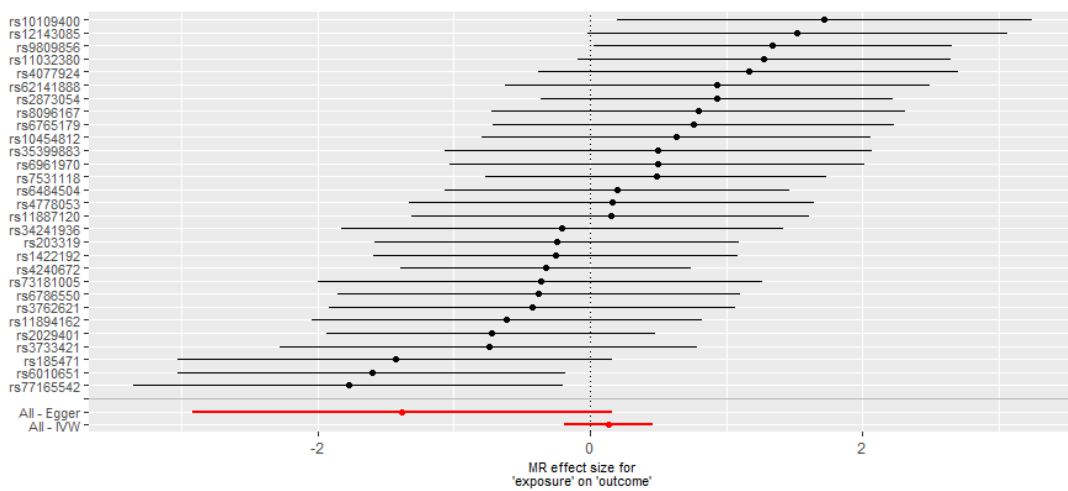
3.3 Επεξεργασμένο κρέας

Για τη μεταβλητή έχουν χρησιμοποιηθεί 29 SNPs και έχει χωριστεί σε 6 επίπεδα. Σε αυτούς που δεν τρώνε ποτέ επεξεργασμένο κρέας (επίπεδο 0), αυτούς που τρώνε λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα (επίπεδο 1), αυτούς που τρώνε 1 φορά την εβδομάδα (επίπεδο 2), αυτούς που τρώνε 2-4 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 3), αυτούς που τρώνε 5-6 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 4) και αυτούς που τρώνε 1 φορά ή και παραπάνω καθημερινά (επίπεδο 5). Δηλαδή, εξετάζουμε τον κίνδυνο για καρκίνο αυτών είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (όμοια και για 2vs1, 3vs2, 4vs3, 5vs4). Όσον αφορά το **συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου** παρατηρήθηκε μια μη στατιστικά σημαντική επιβαρυντική συσχέτιση. Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=1.14 με 95% ΔΕ (0.88-1.49) και (0.83-1.58) αντίστοιχα. Ομοίως και οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Επιπρόσθετα, το p-value του intercept της MR-Egger μας δείχνει ύπαρξη έλλειψη πλειοτροπίας (p-value=0.048952791>0.05 με H_0 την έλλειψη πλειοτροπίας) (Πίνακας 6). Έπειτα, οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν μη στατιστικά σημαντική ετερογένεια και στατιστικά σημαντική αντίστοιχα. Κατ'επέκταση δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=0\%<90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 7). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 24). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι για την MR Egger δε φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης ενώ για την IVW φαίνεται μια συμμετρία (Σχήμα 25). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO έδειξε ότι παρόλο που το Global Test ήταν στατιστικά σημαντικό (Global Test: p-value=0.045<0.05 με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας), δεν εντοπίστηκε κάποιο outlier SNP.

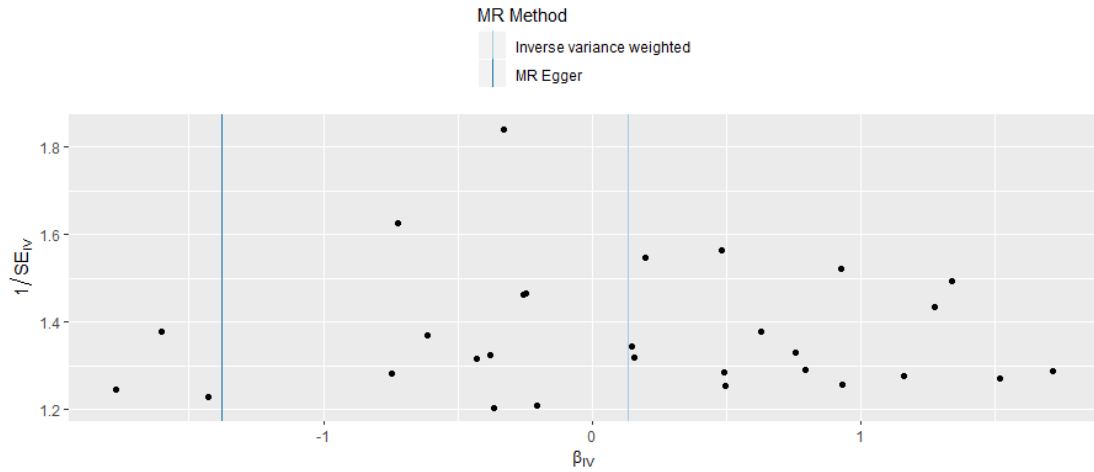
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τον καρκίνο παχέος εντέρου.



Σχήμα 23: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στο επεξεργασμένο κρέας με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

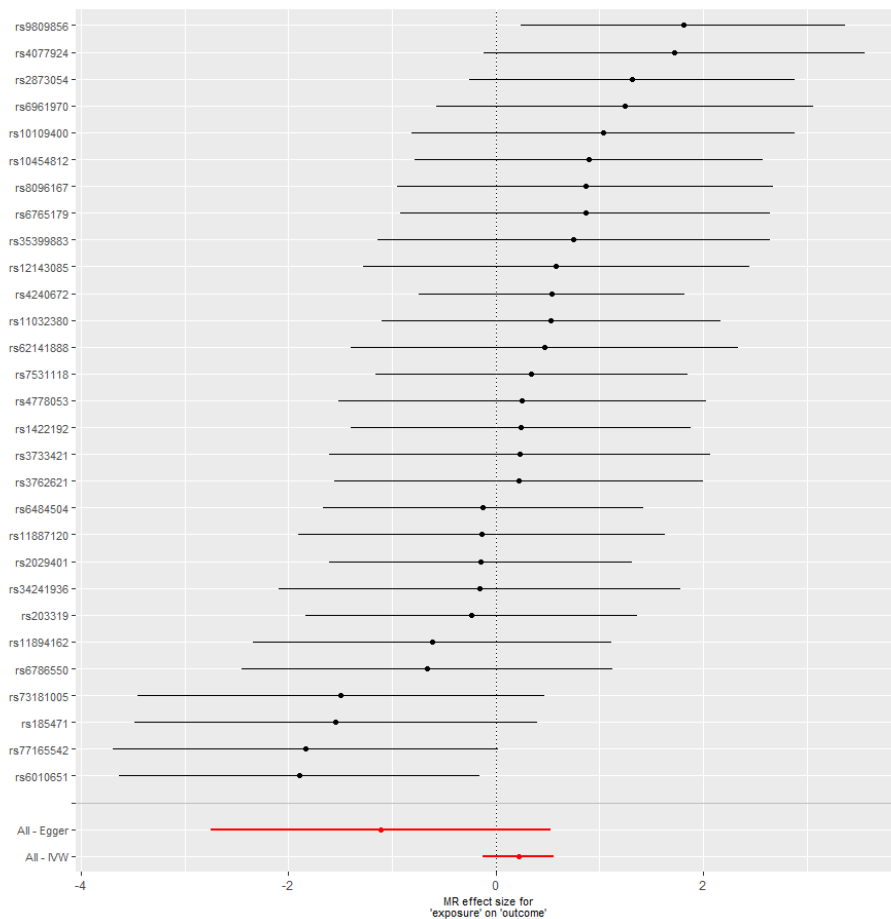


Σχήμα 24: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

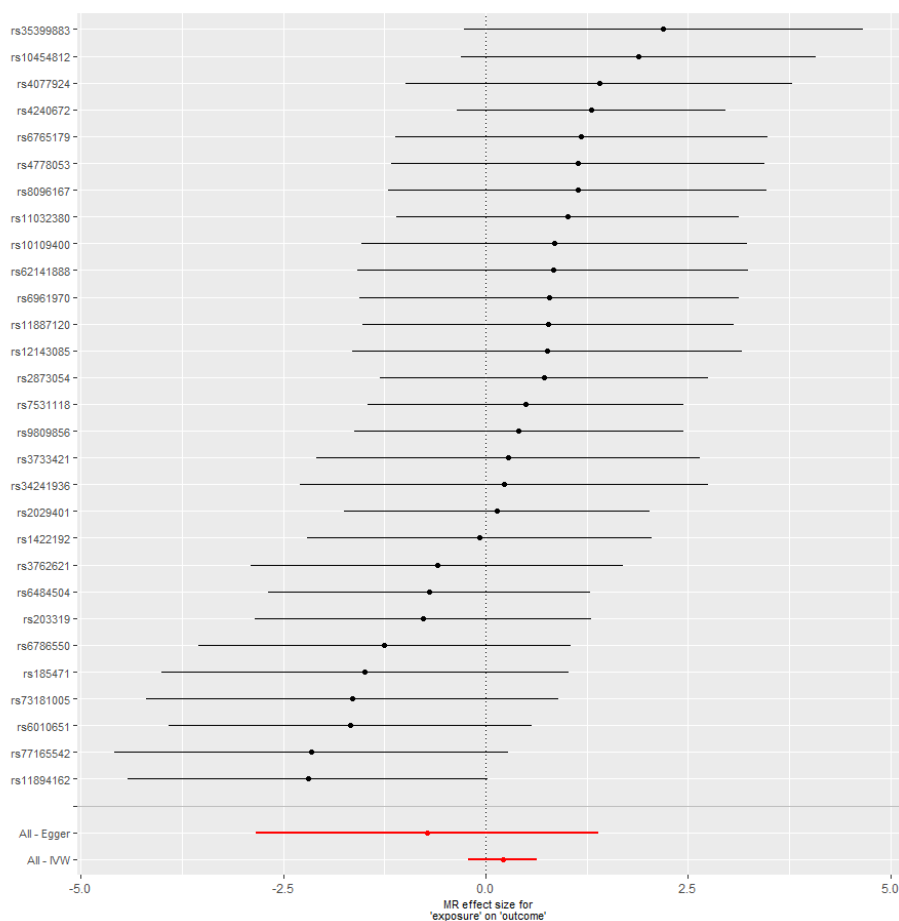


Σχήμα 25: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

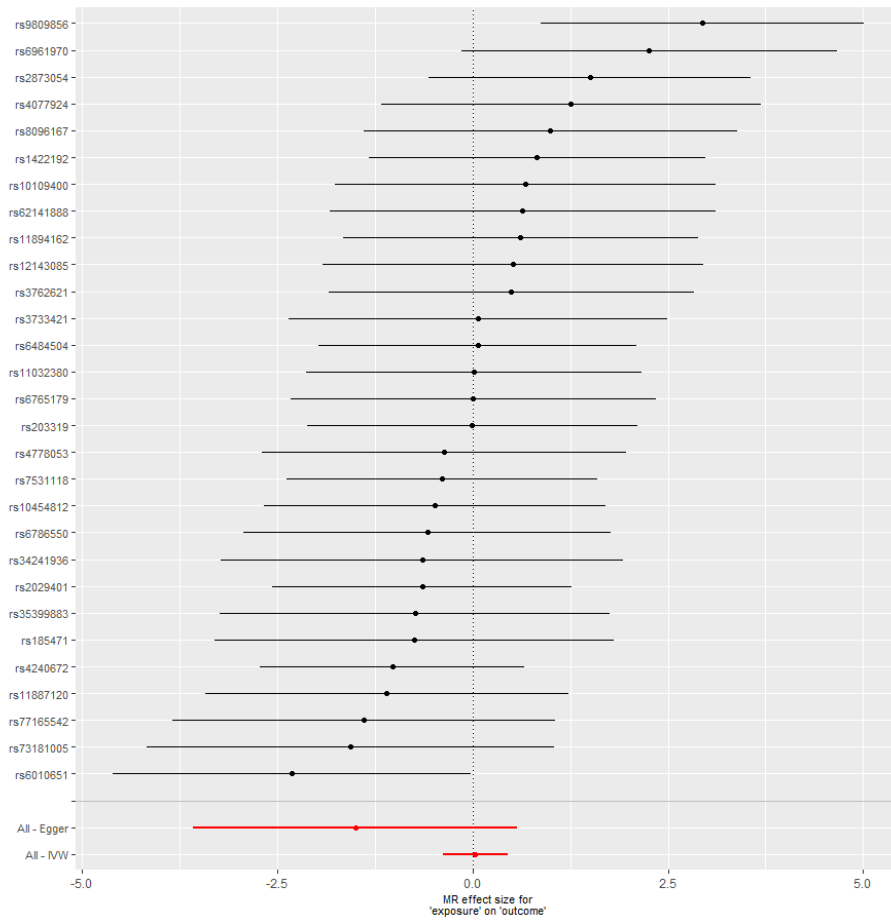
Όμοια για τους **καρκίνους στο κόλον, δεξί κόλον, αριστερό κόλον** και **ορθό** δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της κατανάλωσης επεξεργασμένου κρέατος. Στα σχήματα (26,27,28,29) τα αντίστοιχα forest plot των υπότυπων του καρκίνου.



Σχήμα 26: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση και στις δύο μεθόδους που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.

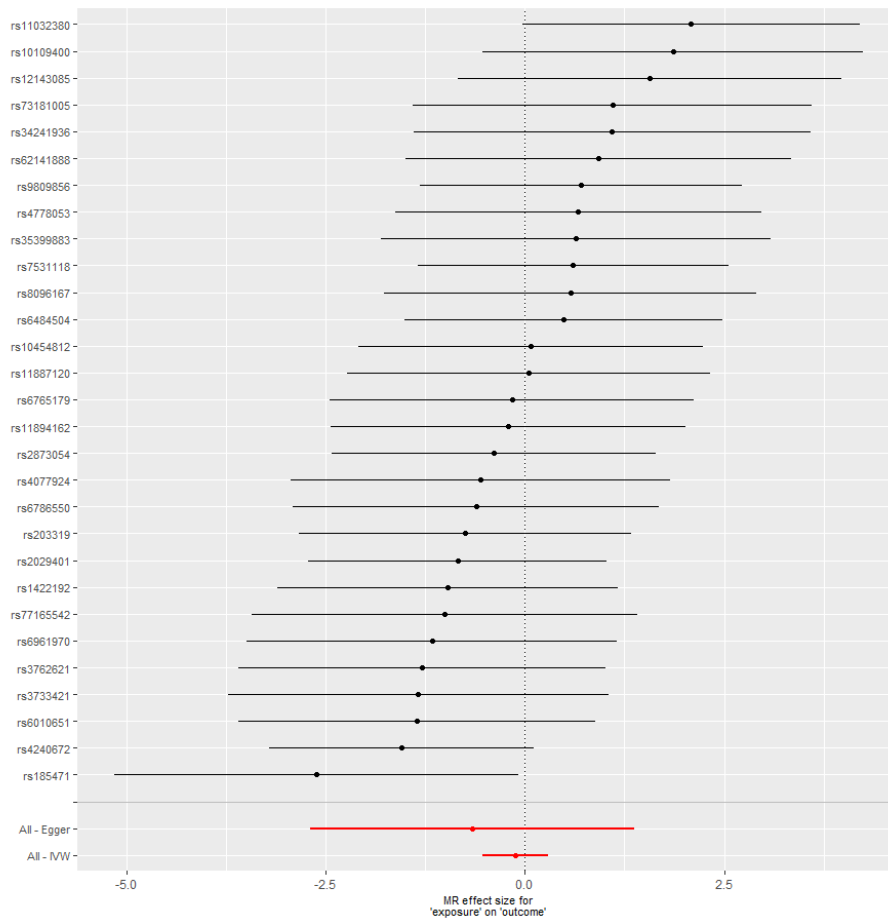


Σχήμα 27: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 28:
Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη

πλειοτροπίας.



Σχήμα 29: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι δε φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης συνεπώς αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης επεξεργασμένου κρέατος στις 5 εκβάσεις.

29 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	1.14	1.14	0.88	1.49	0.31719
	Random-effects IVW	1.14	1.18	0.83	1.58	0.41524
	MR-Egger slope	0.25	2.19	0.05	1.17	0.07882
	MR-Egger Intercept	1.02	1.01	1.01	1.04	0.04895
	Simple median	1.17	1.23	0.78	1.77	0.45249
	Weighted median	1.17	1.23	0.78	1.75	0.44346
	Weighted mode	0.82	1.54	0.35	1.91	0.64663
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	1.24	1.18	0.90	1.70	0.1820589
	Random-effects IVW	1.24	1.19	0.88	1.75	0.2137473
	MR-Egger slope	0.33	2.31	0.06	1.70	0.1851922
	MR-Egger Intercept	1.02	1.01	0.99	1.04	0.1060566
	Simple median	1.29	1.27	0.81	2.05	0.2790704
	Weighted median	1.34	1.27	0.85	2.11	0.2086528
	Weighted mode	1.45	1.53	0.63	3.36	0.3794996
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	1.23	1.23	0.82	1.86	0.31889
	Random-effects IVW	1.23	1.24	0.81	1.88	0.33427
	MR-Egger slope	0.48	2.95	0.06	4.04	0.50260
	MR-Egger Intercept	1.01	1.02	0.98	1.04	0.37793
	Simple median	1.64	1.36	0.90	3.01	0.10544
	Weighted median	1.65	1.35	0.92	2.97	0.09578
	Weighted mode	2.23	1.79	0.71	7.02	0.16969
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	1.03	1.24	0.68	1.57	0.8723638
	Random-effects IVW	1.03	1.24	0.68	1.57	0.8723638
	MR-Egger slope	0.22	2.89	0.03	1.77	0.1557838
	MR-Egger Intercept	1.02	1.02	0.99	1.05	0.1383140
	Simple median	1.01	1.35	0.55	1.84	0.9796015
	Weighted median	1.01	1.35	0.56	1.81	0.9899133
	Weighted mode	0.70	1.80	0.22	2.21	0.5396821
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	0.88	1.23	0.59	1.33	0.556295
	Random-effects IVW	0.88	1.23	0.59	1.33	0.556295
	MR-Egger slope	0.52	2.82	0.07	3.94	0.523291
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.98	1.04	0.595772
	Simple median	0.85	1.35	0.47	1.54	0.589976
	Weighted median	0.83	1.35	0.46	1.48	0.519976
	Weighted mode	0.47	1.88	0.14	1.60	0.225969

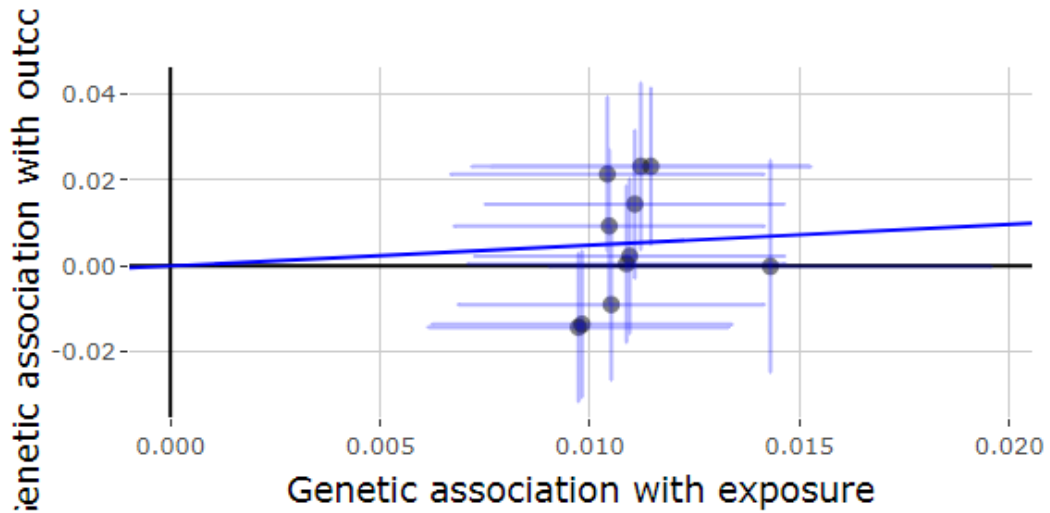
Πίνακας 7: Ετερογένεια των SNPs του επεξεργασμένου κρέατος στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.041472	0.096849	0%
Καρκίνος στο κόλον	0.2642883	0.3413438	0%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.3710080	0.3607625	0%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.4919038	0.5582335	0%
Καρκίνος στο ορθό	0.52206	0.4828714	0%

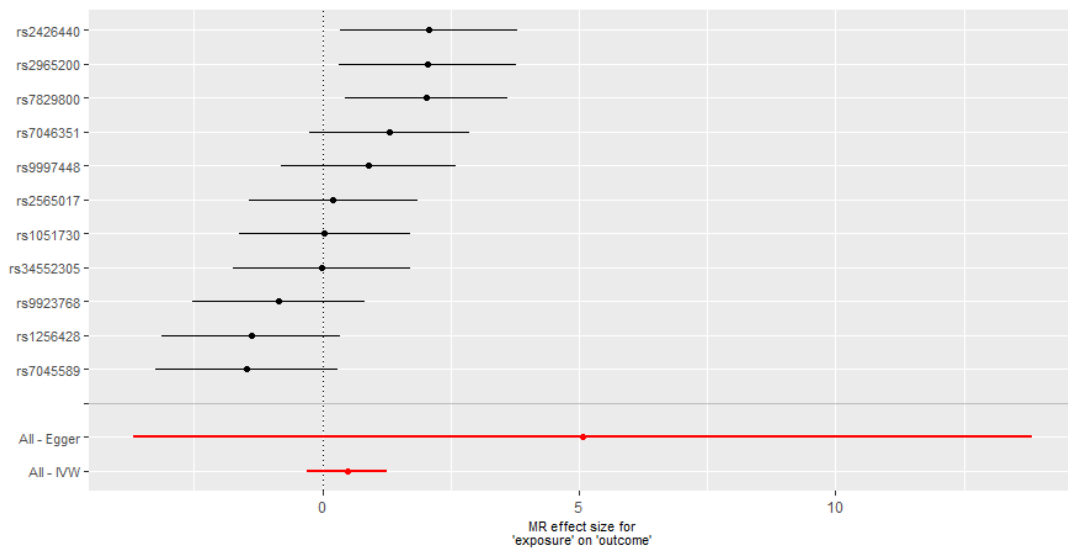
3.4 Πουλερικά

Για τη μεταβλητή έχουν χρησιμοποιηθεί 11 SNPs και έχει χωριστεί σε 6 επίπεδα. Σε αυτούς που δεν τρώνε ποτέ επεξεργασμένο κρέας (επίπεδο 0), αυτούς που τρώνε λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα (επίπεδο 1), αυτούς που τρώνε 1 φορά την εβδομάδα (επίπεδο 2), αυτούς που τρώνε 2-4 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 3), αυτούς που τρώνε 5-6 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 4) και αυτούς που τρώνε 1 φορά ή και παραπάνω καθημερινά (επίπεδο 5). Δηλαδή, εξετάζουμε τον κίνδυνο για καρκίνο αυτών είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (όμοια και για 2vs1, 3vs2, 4vs3, 5vs4). Όσον αφορά το **συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου** παρατηρήθηκε μια μη στατιστικά σημαντική επιβαρυντική συσχέτιση. Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=1.62 με 95% ΔΕ (0.98-2.69) και (0.75-3.53) αντίστοιχα. Ομοίως και οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. Επιπρόσθετα, το p-value του intercept της MR-Egger μας δείχνει έλλειψη πλειοτροπίας (p-value=0.30155>0.05 με H_0 την έλλειψη πλειοτροπίας) (Πίνακας 8). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Ως εκ τούτου, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=0%<90%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 9). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις είναι σχετικά γύρω από την ολική εκτίμηση της IVW ενώ είναι εντελώς μακριά από την ολική εκτίμηση της MR-Egger (Σχήμα 31). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης της IVW. Αντίθετα, είναι εντελώς μακριά ως προς την επίδραση της MR-Egger (Σχήμα 32). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO έδειξε ότι παρόλο που το Global Test ήταν στατιστικά σημαντικό (Global Test: p-

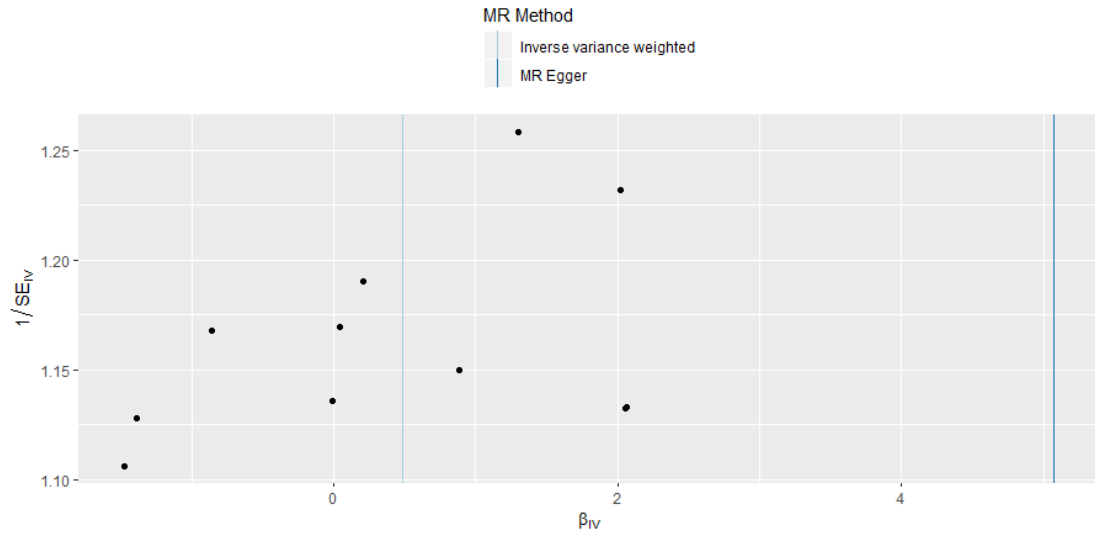
value=0.0087<0.05 με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας), δεν εντοπίστηκε κάποιο outlier SNP.



Σχήμα 30: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα πουλερικά με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

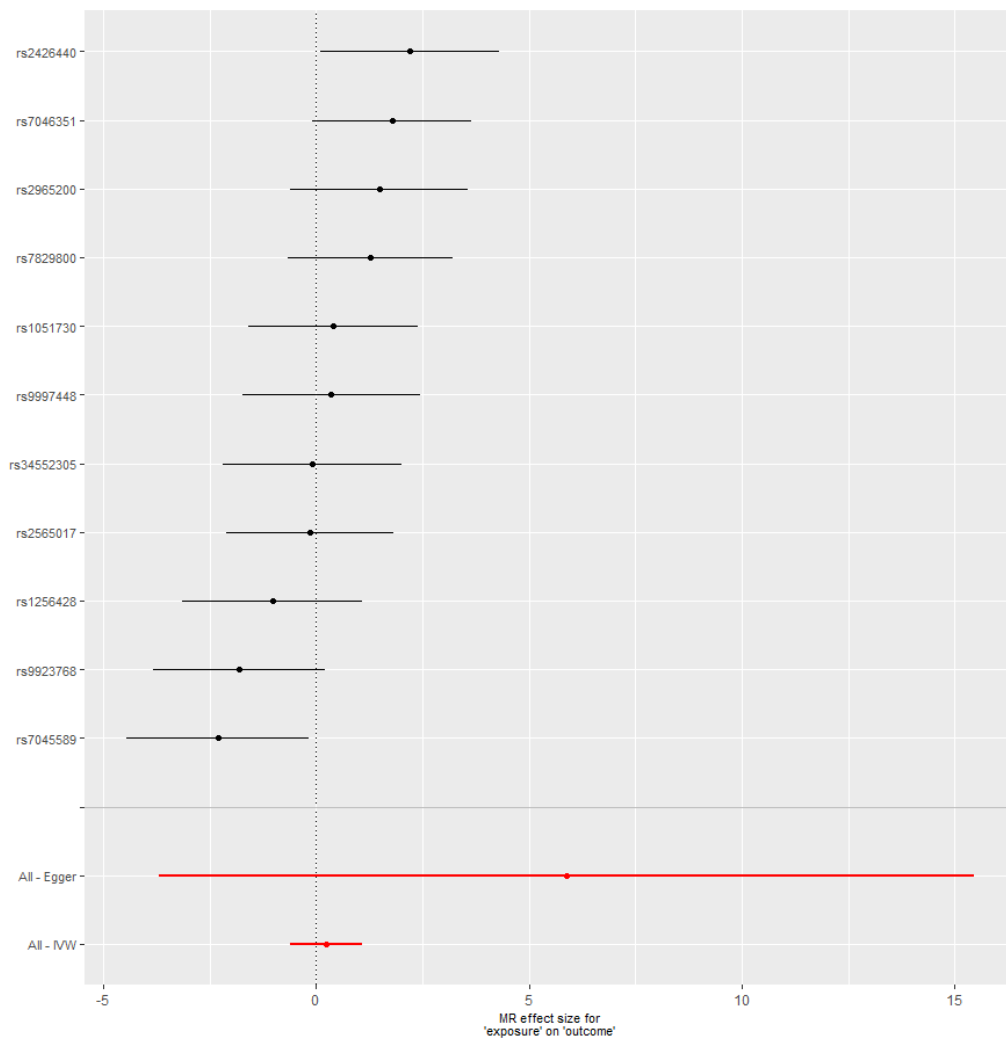


Σχήμα 31: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

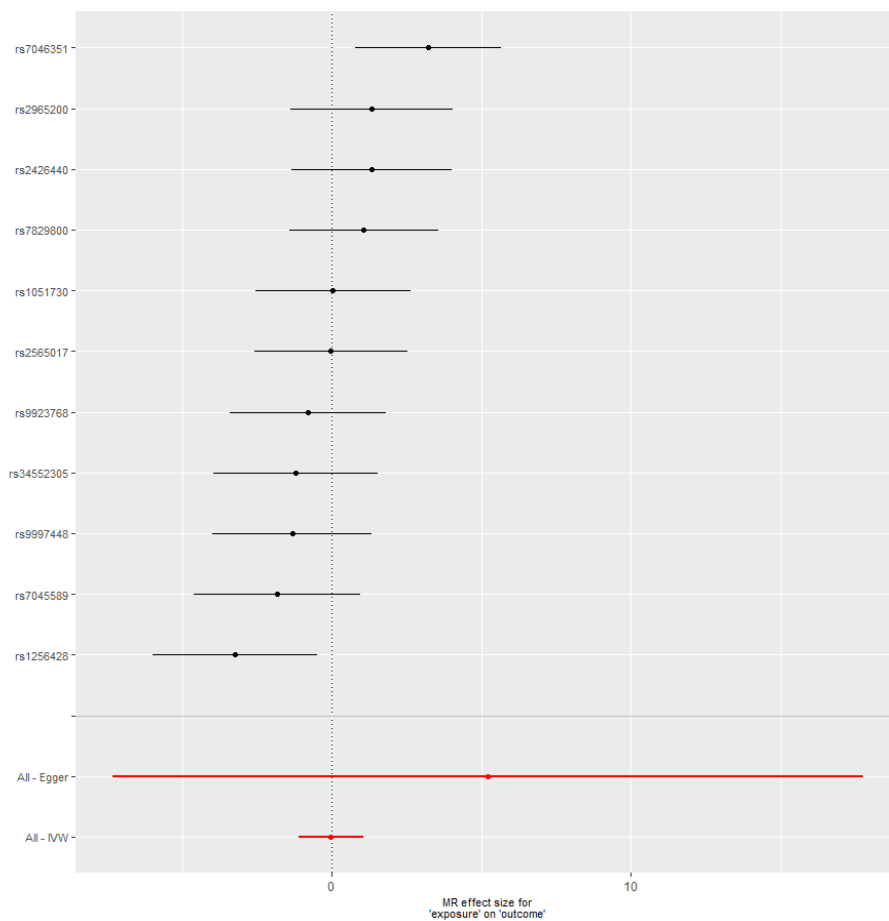


Σχήμα 32: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

Όμοια για τους **καρκίνους στο κόλον, δεξί κόλον, αριστερό κόλον** και **ορθό** δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της κατανάλωσης πουλερικών. Στα σχήματα (33,34,35,36) τα αντίστοιχα forest plot των υπότυπων του καρκίνου.

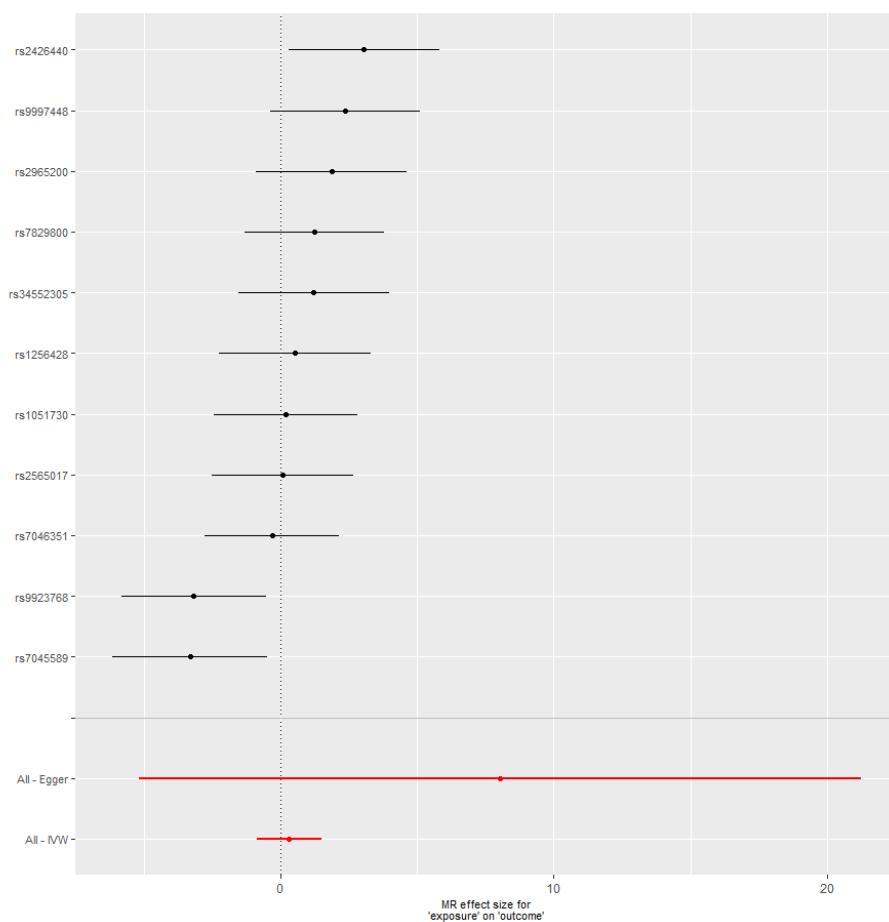


Σχήμα 33: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις φαίνονται να είναι γύρω από την ολική εκτίμηση της IVW ενώ δεν ισχύει το ίδιο για την MR-Egger.



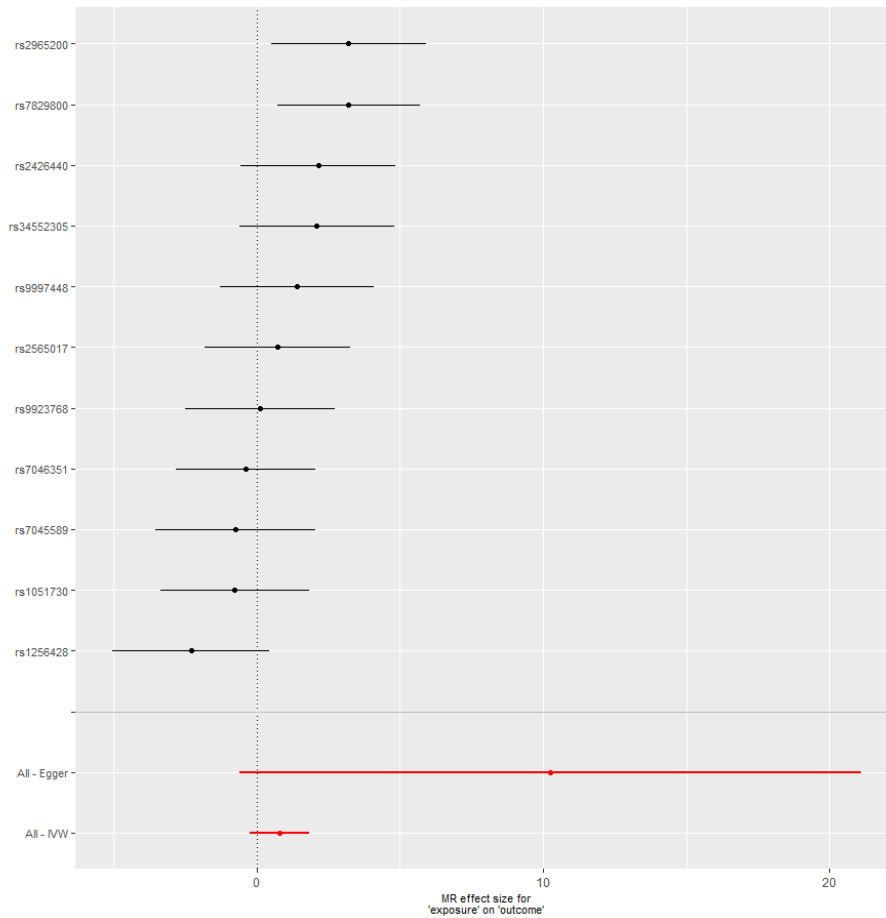
Σχήμα 34:
Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη

πλειοτροπίας.



Σχήμα 35:
Forest plot των εκτιμήσεων του

καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 36:
Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη

πλειοτροπίας.

Πίνακας 8: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης πουλερικών στις 5 εκβάσεις.

11 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	1.62	1.30	0.98	2.69	0.06161
	Random-effects IVW	1.62	1.49	0.75	3.53	0.22278
	MR-Egger slope	160.13	86.71	0.03	1,006,879.32	0.25534
	MR-Egger Intercept	0.95	1.05	0.87	1.05	0.30155
	Simple median	1.23	1.54	0.53	2.87	0.62559
	Weighted median	1.39	1.51	0.62	3.09	0.42351
	Weighted mode	1.34	2.29	0.26	6.80	0.72523
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	1.26	1.37	0.68	2.33	0.456305
	Random-effects IVW	1.26	1.55	0.54	2.97	0.593709
	MR-Egger slope	357.35	132.29	0.02	5,143,635	0.228819
	MR-Egger Intercept	0.94	1.05	0.85	1.04	0.245964
	Simple median	1.42	1.63	0.54	3.72	0.470829
	Weighted median	1.43	1.60	0.57	3.61	0.443512
	Weighted mode	1.74	2.29	0.34	8.88	0.50285
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	0.96	1.50	0.43	2.13	0.9226
	Random-effects IVW	0.96	1.73	0.33	2.82	0.9429
	MR-Egger slope	183.3	597.78	0.00066	5,0715,190	0.4150
	MR-Egger Intercept	0.94	1.07	0.82	1.08	0.4097
	Simple median	0.96	1.85	0.29	3.19	0.9409
	Weighted median	0.97	1.81	0.30	3.09	0.9591
	Weighted mode	0.72	2.81	0.10	5.48	0.7542
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	1.37	1.51	0.61	3.06	0.449278
	Random-effects IVW	1.37	1.83	0.42	4.45	0.605796
	MR-Egger slope	3044.73	850.06	0.005519	1,679,450,000	0.234382
	MR-Egger Intercept	0.92	1.06	0.80	1.06	0.251191
	Simple median	1.68	1.87	0.50	5.70	0.404068
	Weighted median	1.59	1.84	0.48	5.23	0.447733
	Weighted mode	1.57	2.51	0.26	9.53	0.626126
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	2.24	1.50	1.01	4.94	0.046231
	Random-effects IVW	2.24	1.70	0.79	6.36	0.130259
	MR-Egger slope	28,257.6	252.30	0.55	1,441,502,000	0.063859

		4				
	MR-Egger Intercept	0.90	1.06	0.80	1.01	0.086501
	Simple median	2.08	1.87	0.61	7.11	0.244713
	Weighted median	2.00025				
		11	1.86	0.59	6.73	0.262973
	Weighted mode	0.98	3.07	0.11	8.88	0.989051

Πίνακας 9: Ετερογένεια των SNPs των πουλερικών στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.009032	0.012597	0%
Καρκίνος στο κόλον	0.03435439	0.04930158	0%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.04804914	0.04655542	0%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.01790127	0.02739810	0%
Καρκίνος στο ορθό	0.06688124	0.15888543	0%

3.5 Λιπαρά ψάρια

Για τη μεταβλητή έχουν χρησιμοποιηθεί 72 SNPs και έχει χωριστεί σε 6 επίπεδα. Σε αυτούς που δεν τρώνε ποτέ λιπαρά ψάρια (επίπεδο 0), αυτούς που τρώνε λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα (επίπεδο 1), αυτούς που τρώνε 1 φορά την εβδομάδα (επίπεδο 2), αυτούς που τρώνε 2-4 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 3), αυτούς που τρώνε 5-6 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 4) και αυτούς που τρώνε 1 φορά ή και παραπάνω καθημερινά (επίπεδο 5). Δηλαδή, εξετάζουμε τον κίνδυνο για καρκίνο αυτών είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (όμοια και για 2vs1, 3vs2, 4vs3, 5vs4). παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική προστατευτική συσχέτιση των λιπαρών ψαριών. Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.73 με 95% ΔΕ (0.62-0.86) και (0.58-0.92) αντίστοιχα. Οι εκτιμήσεις από τις προσεγγίσεις των median είναι οριακά μη στατιστικά σημαντικές ($OR_{\text{simple median}}=OR_{\text{weighted median}}=0.78$ με 95% ΔΕ (0.60-1.01) αμφότερες) ενώ οι εκτιμήσεις των υπόλοιπων μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 10). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Ως εκ τούτου, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=37.3\%<90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 11). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις να είναι σχετικά γύρω από την ολική εκτίμηση και των δύο μεθόδων (IVW και MR-Egger) (Σχήμα 38). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω

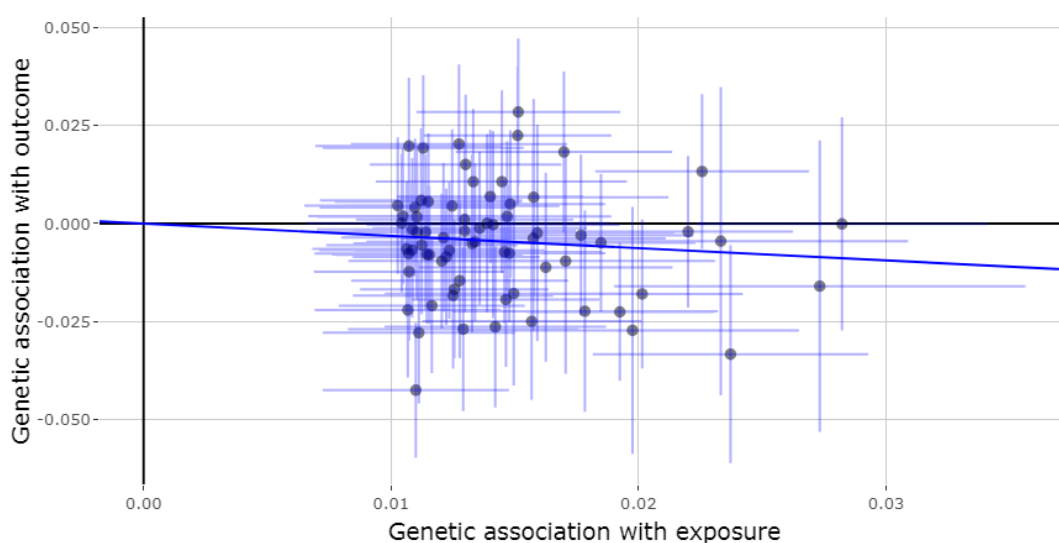
από την ολική εκτίμηση της επίδρασης και των δύο μεθόδων (Σχήμα 39). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0001 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκαν τα πλειοτροπικά SNPs (rs703987 και rs7683782).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.9943$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

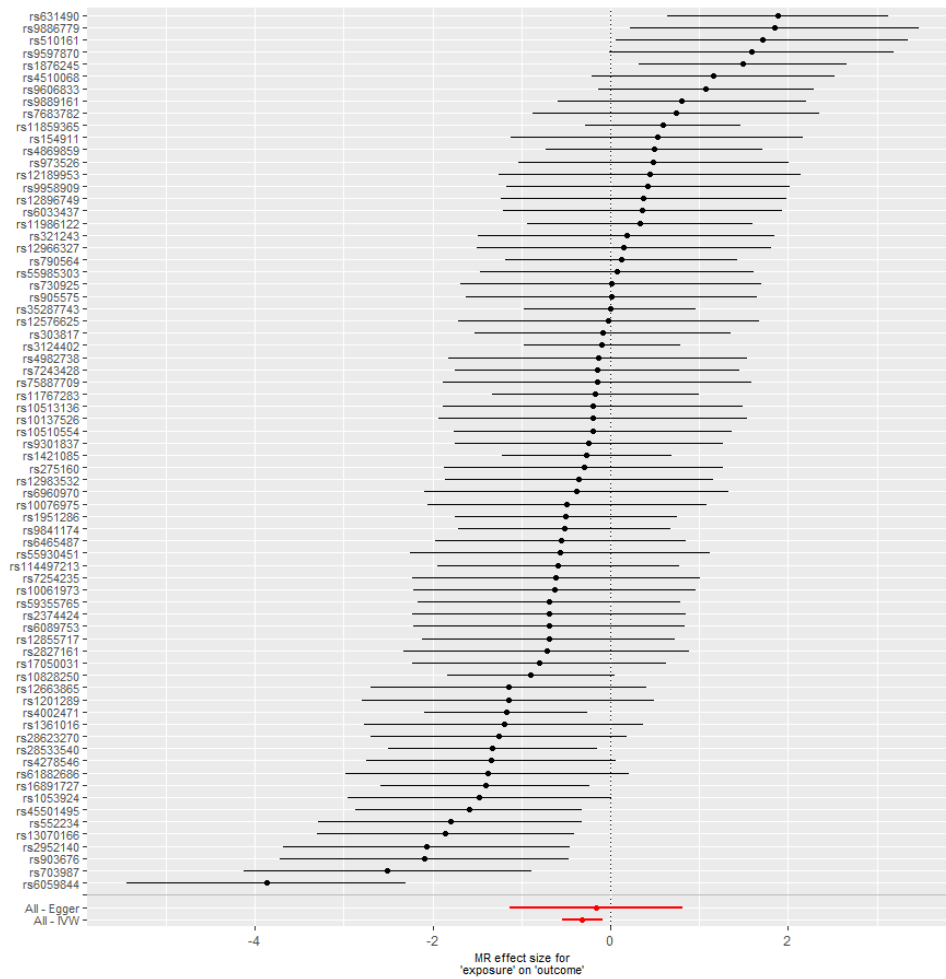
Τα SNPs που βρέθηκαν ως πλειοτροπικά στην MR-PRESSO, μέσω της πλατφόρμας του Phenoscanner σχετίστηκαν με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

<u>SNPs</u>	<u>Χαρακτηριστικό</u>	<u>p-value</u>
rs703987	Treatment with metformin	0.000000000188
	Diabetes diagnosed by doctor	0.000000000263
	Type II diabetes	0.000000008400
	Self-reported diabetes	0.000000011100
	Type II diabetes adjusted for BMI	0.000000240000
rs7683782	<u>Δε βρέθηκαν δεδομένα</u>	

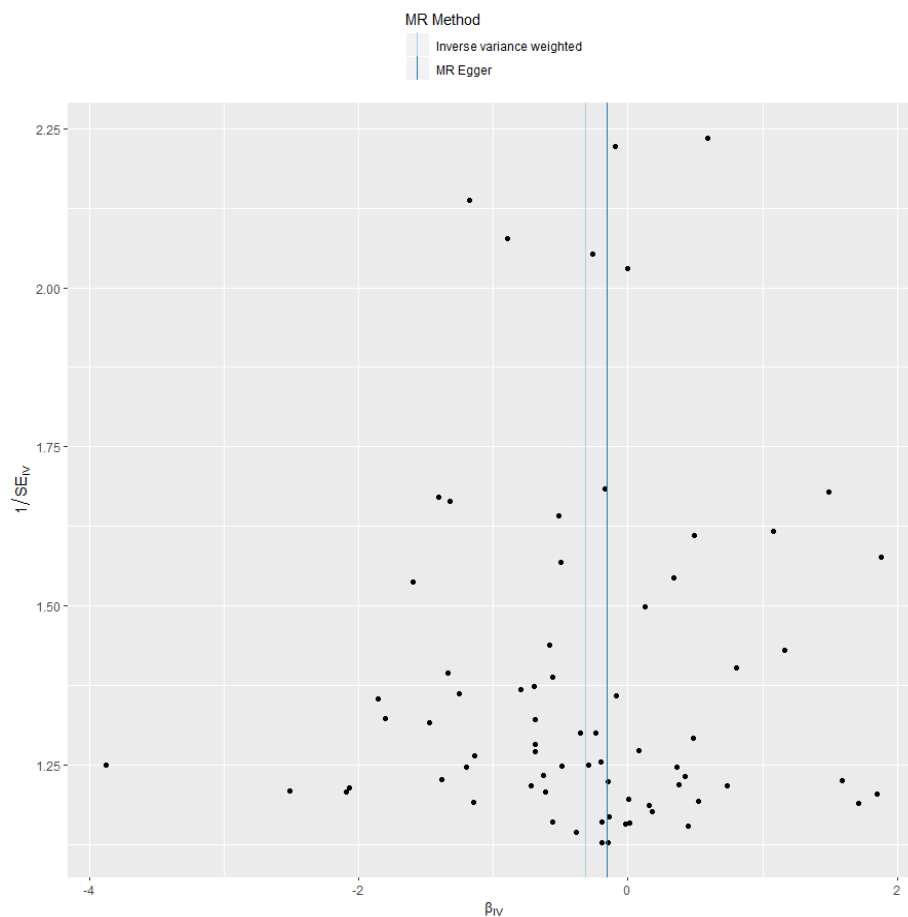
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών φάνηκε ότι πιθανώς συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο παχέος εντέρου.



Σχήμα 37: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα λιπαρά ψάρια με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.



Σχήμα 38: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.



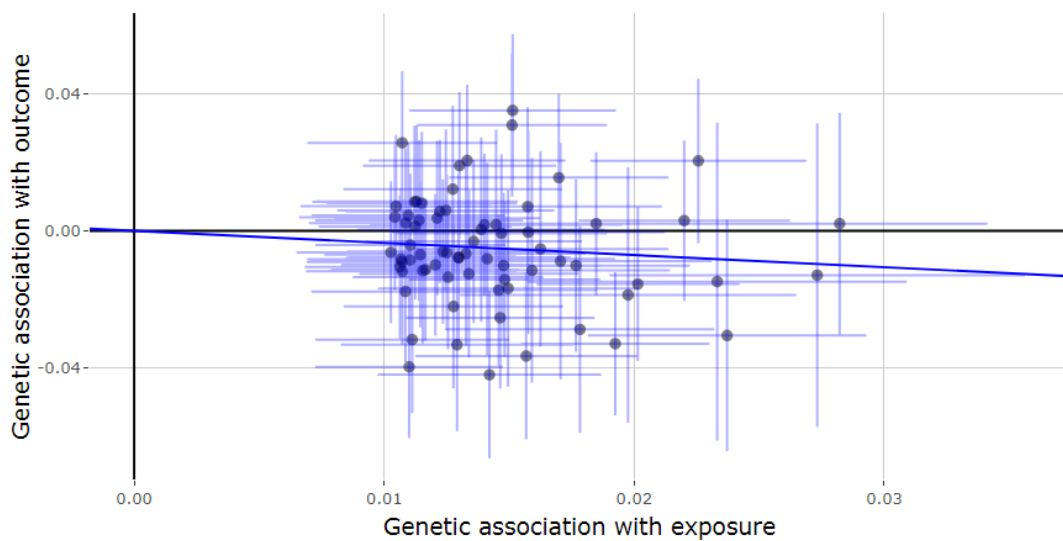
Σχήμα 39: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

Για τον **καρκίνο στο κόλον** παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική προστατευτική συσχέτιση των λιπαρών ψαριών. Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.70 με 95% ΔΕ (0.58-0.85) και (0.54-0.91) αντίστοιχα. Η σημαντικότητα αυτή ενισχύεται καθώς οι εκτιμήσεις από τις προσεγγίσεις των median είναι στατιστικά σημαντικές με $OR_{\text{simple median}}=OR_{\text{weighted median}}=0.78$ με 95% ΔΕ (0.44-0.81) και (0.44-0.82) αντίστοιχα ενώ η εκτίμηση της weighted mode είναι οριακά μη στατιστικά σημαντική σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5% με OR=0.51 και 95% ΔΕ=(0.23-1.13) (Πίνακας 10). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Συνεπώς, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=37.3\% < 90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 11). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 41). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι δε φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης και συνεπώς αποτελεί και αυτό ένδειξη πλειοτροπίας. (Σχήμα 42). Με τη σειρά της η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

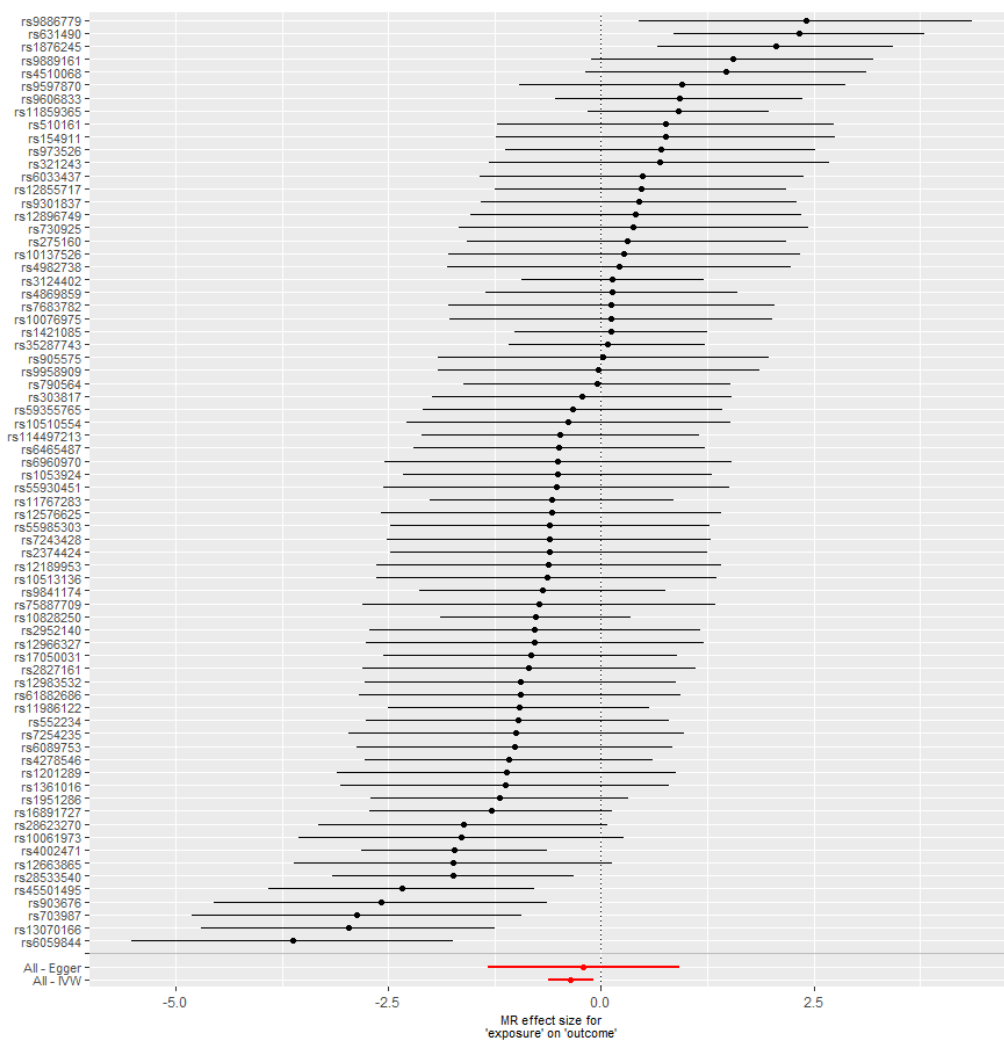
- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0001 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκαν τα πλειοτροπικά SNPs (rs703987, rs7683782 και rs17050031).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.6529$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

Το SNP rs17050031 που εντοπίστηκε ως πλειοτροπικό στην MR-PRESSO δε βρέθηκαν πληροφορίες στο Phenoscaner σχετικά με ενδεχόμενη συσχέτιση με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά ενώ τα SNPs rs703987 και rs7683782 αναφέρθηκαν στο συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου.

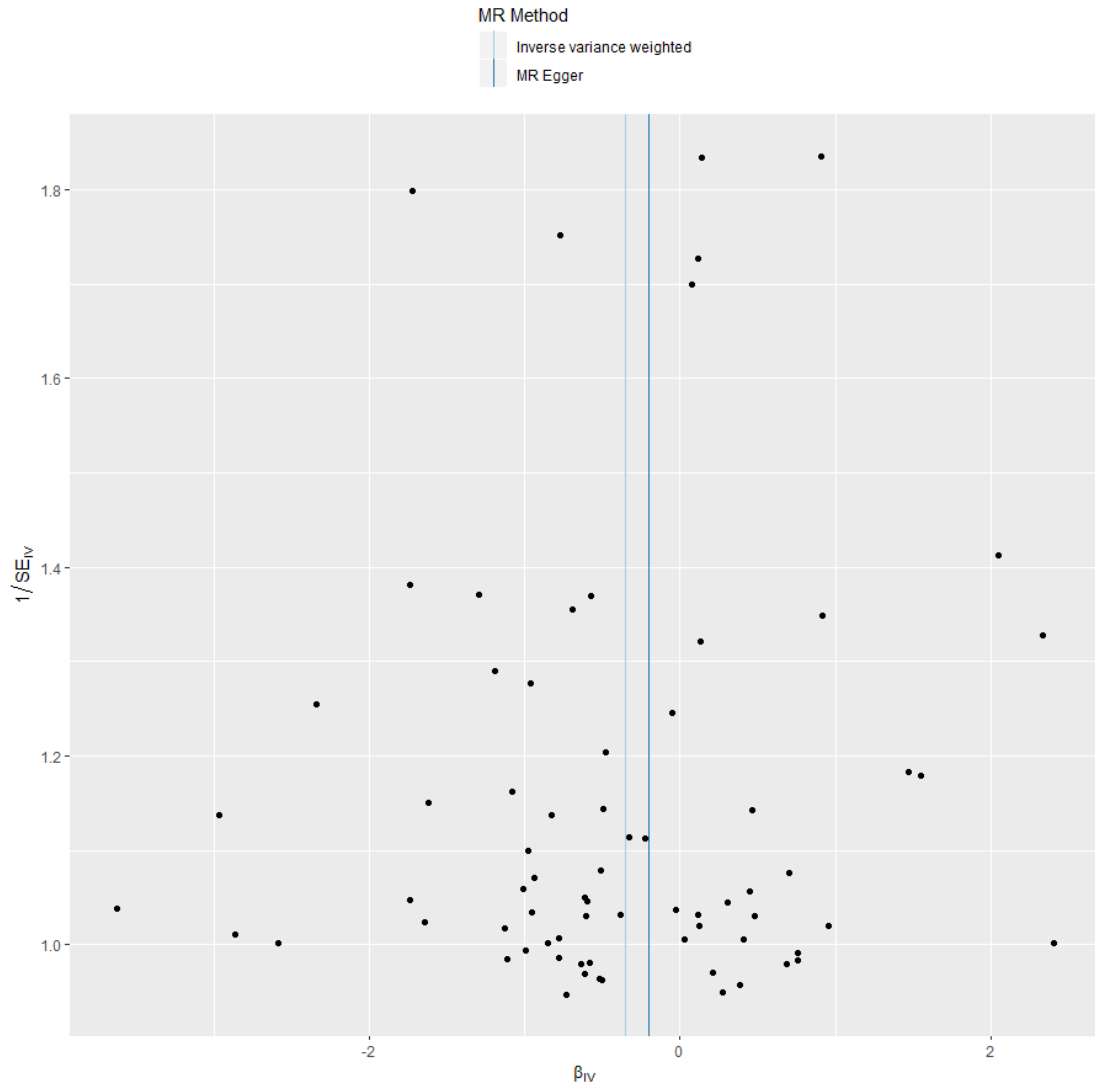
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών φάνηκε ότι είναι αρκετά πιθανό να συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο στο κόλον.



Σχήμα 40: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα λιπαρά ψάρια με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο στο κόλον.



Σχήμα 41: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.



Σχήμα 42: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

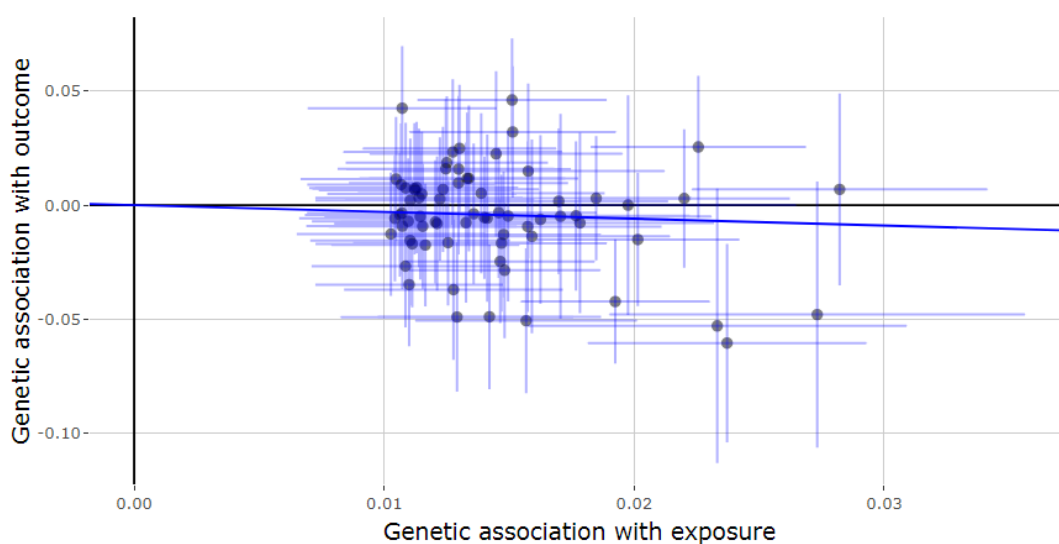
Για τον **καρκίνο στο δεξί κόλον** παρατηρήθηκε μια προστατευτική σχέση των λιπαρών ψαριών. Ειδικότερα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.74 με 95% ΔΕ (0.58-0.96) και (0.53-1.04) αντίστοιχα. Όμως οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 10). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Ως εκ τούτου, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed-effects. Με βάση την τιμή του $I^2=37.1% < 90%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 11). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας. (Σχήμα 44). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει μια συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της

επίδρασης της IVW αλλά όχι και για την MR-Egger. (Σχήμα 45). Με τη σειρά της η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

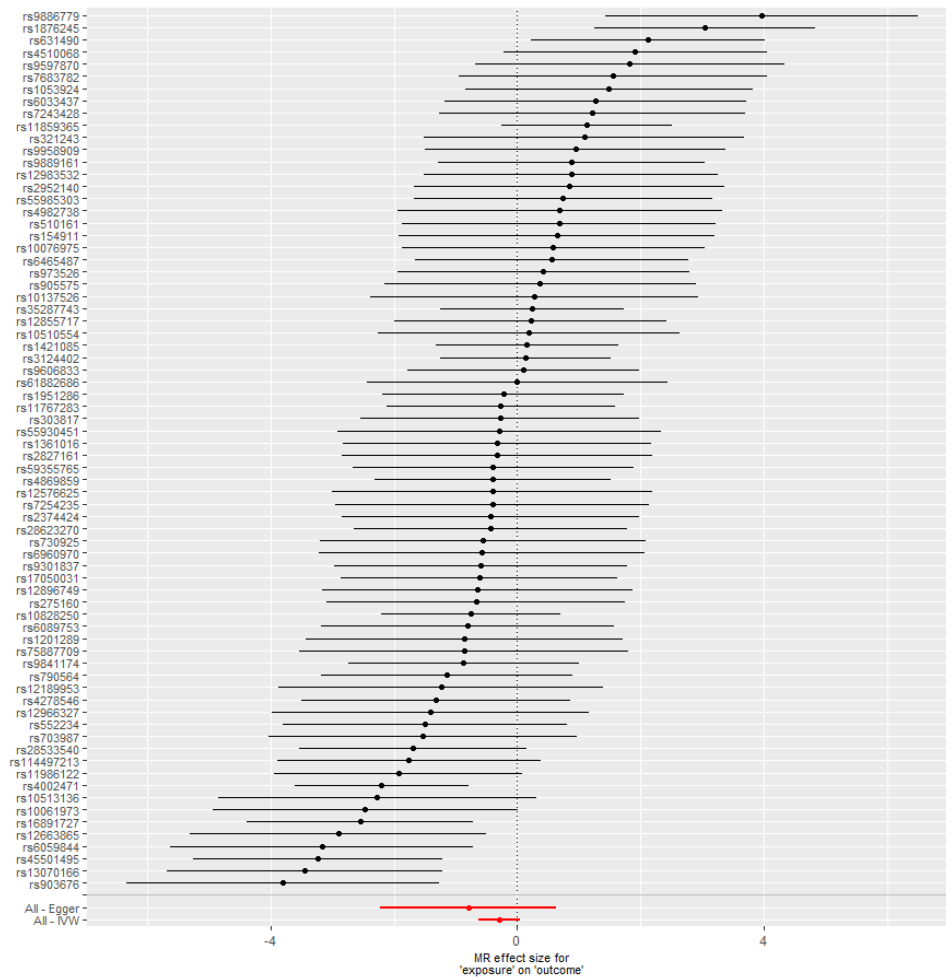
- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0001 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας)
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκαν τα πλειοτροπικά SNPs(rs703987, rs7683782 και rs17050031).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.7254$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

Τα SNPs rs17050031, rs703987 και rs7683782 που βρέθηκαν ως πλειοτροπικά στην MR-PRESSO σχολιάστηκαν για συσχέτιση με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά και στις προηγούμενες εκβάσεις.

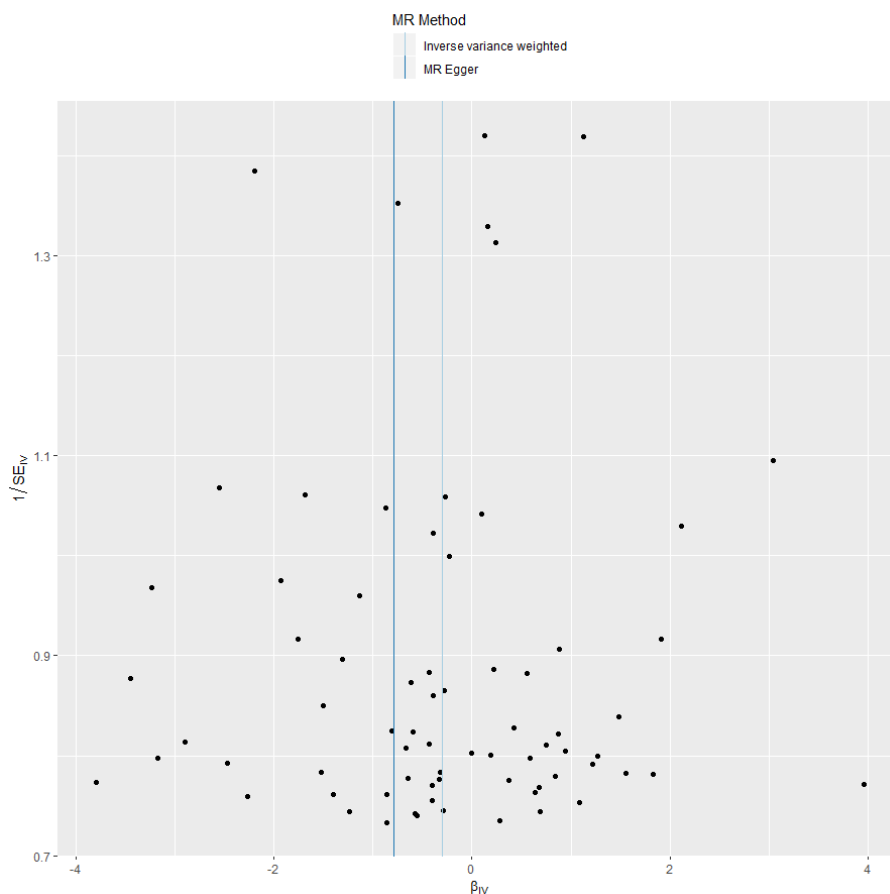
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών δε φάνηκε να συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο στο δεξί κόλον.



Σχήμα 43: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα λιπαρά ψάρια με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο στο δεξί κόλον.



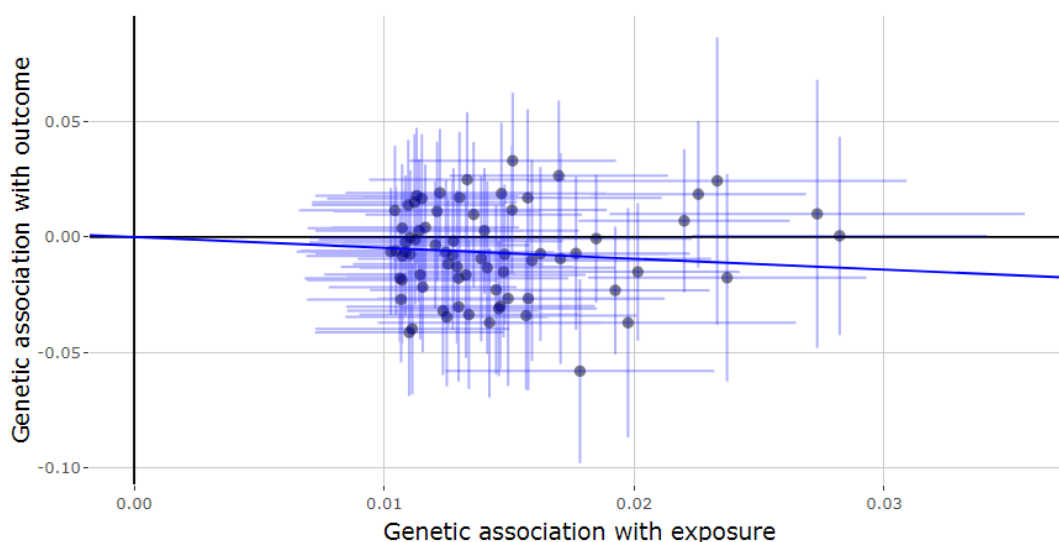
Σχήμα 44: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.



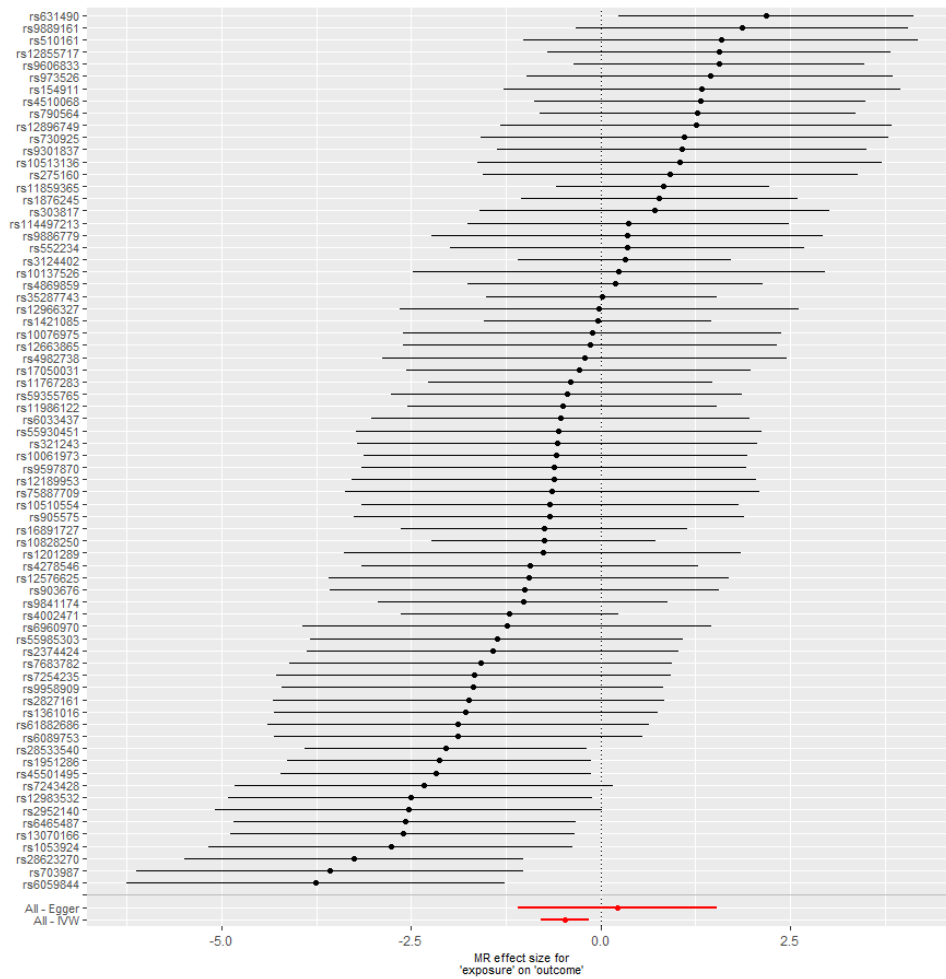
Σχήμα 45: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

Ανάλογα συμπεράσματα με το ολικό κόλον υπήρξαν και για τον **καρκίνο στο αριστερό κόλον**. Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα $OR=0.63$ με 95% ΔΕ (0.48-0.81) και (0.46-0.85) αντίστοιχα. Η σημαντικότητα αυτή ενισχύεται καθώς οι εκτιμήσεις από τις προσεγγίσεις των median είναι στατιστικά σημαντικές με $OR_{simple\ median}=0.56$ (0.44-0.81) και $OR_{weighted\ median}=0.60$ (0.44-0.82). Από την άλλη, οι εκτιμήσεις των υπόλοιπων μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας είναι μη στατιστικά σημαντικές (Πίνακας 10). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Ως εκ τούτου, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed-effects. Με βάση την τιμή του $I^2=37.2\% < 90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 11). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας. (Σχήμα 47). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας. (Σχήμα 48). Με τη σειρά της η MR-PRESSO έδειξε ότι, μέσω του Global Test, εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0091 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας), παρόλα αυτά δεν εντοπίστηκαν τα πλειοτροπικά SNPs.

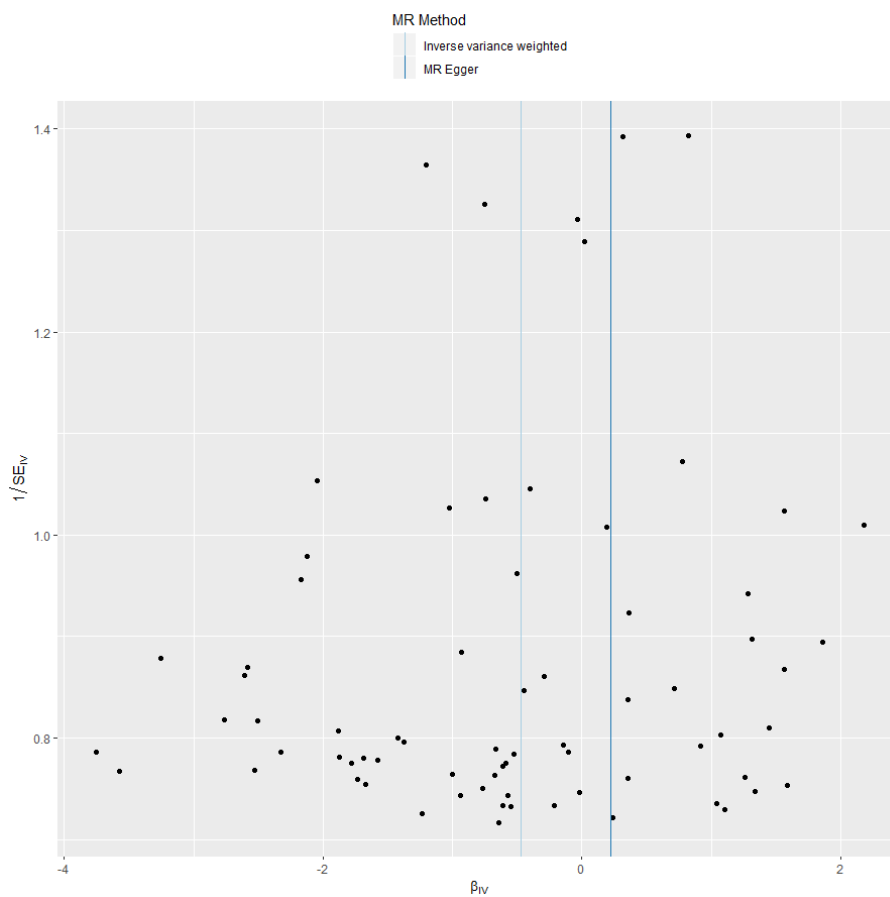
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών φάνηκε ότι είναι αρκετά πιθανό να συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο στο αριστερό κόλον.



Σχήμα 46: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα λιπαρά ψάρια με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο στο αριστερό κόλον.



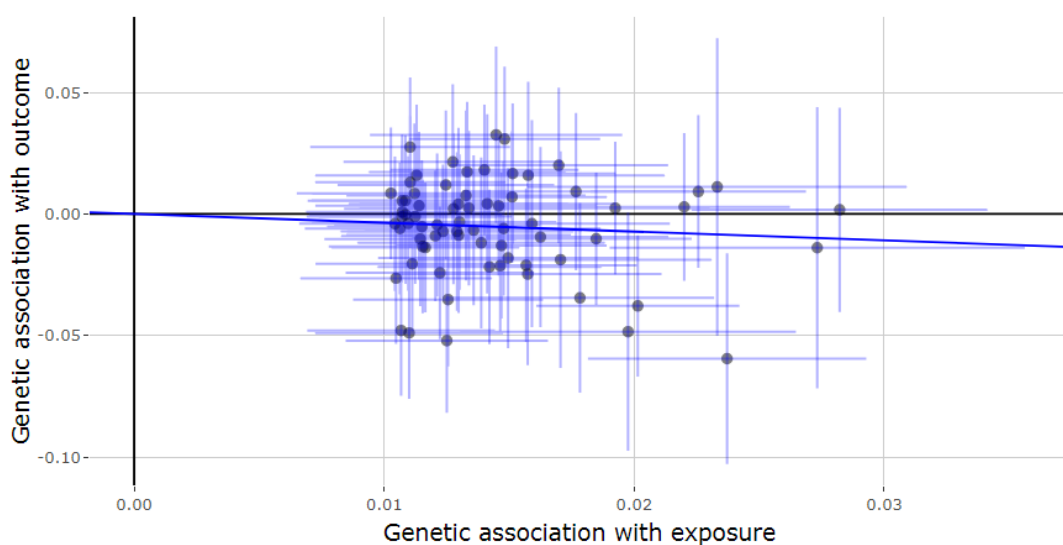
Σχήμα 47: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.



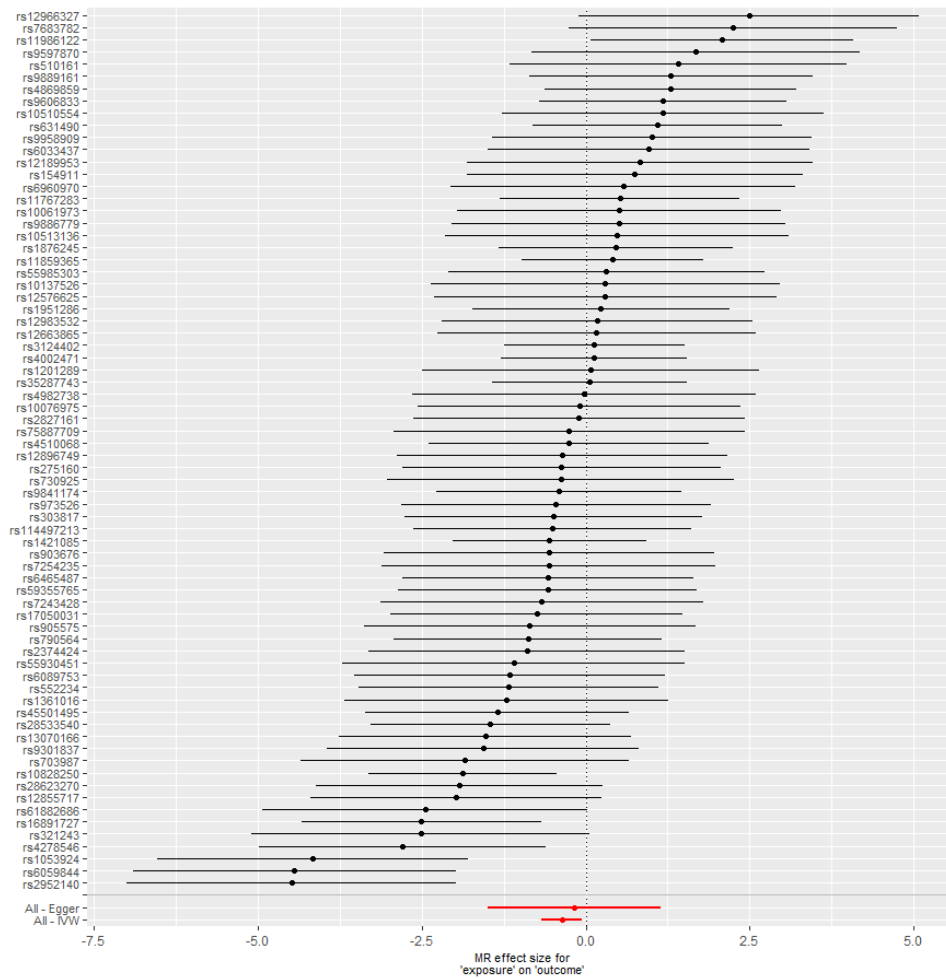
Σχήμα 48: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

Για τον **καρκίνο στο ορθό** παρατηρήθηκε μια προστατευτική σχέση των λιπαρών ψαριών. Ειδικότερα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.70 με 95% ΔΕ (0.54-0.90) και (0.51-0.95) αντίστοιχα. Όμως οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 10). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Κατά συνέπεια, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=37.5% < 90%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 11). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 50). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει μια συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης (κυρίως για την IVW) (Σχήμα 51). Με τη σειρά της η MR-PRESSO έδειξε ότι παρόλο που, μέσω του Global Test, εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0064 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας), παρόλα αυτά δεν εντοπίστηκε κάποιο σημαντικό outlier SNP.

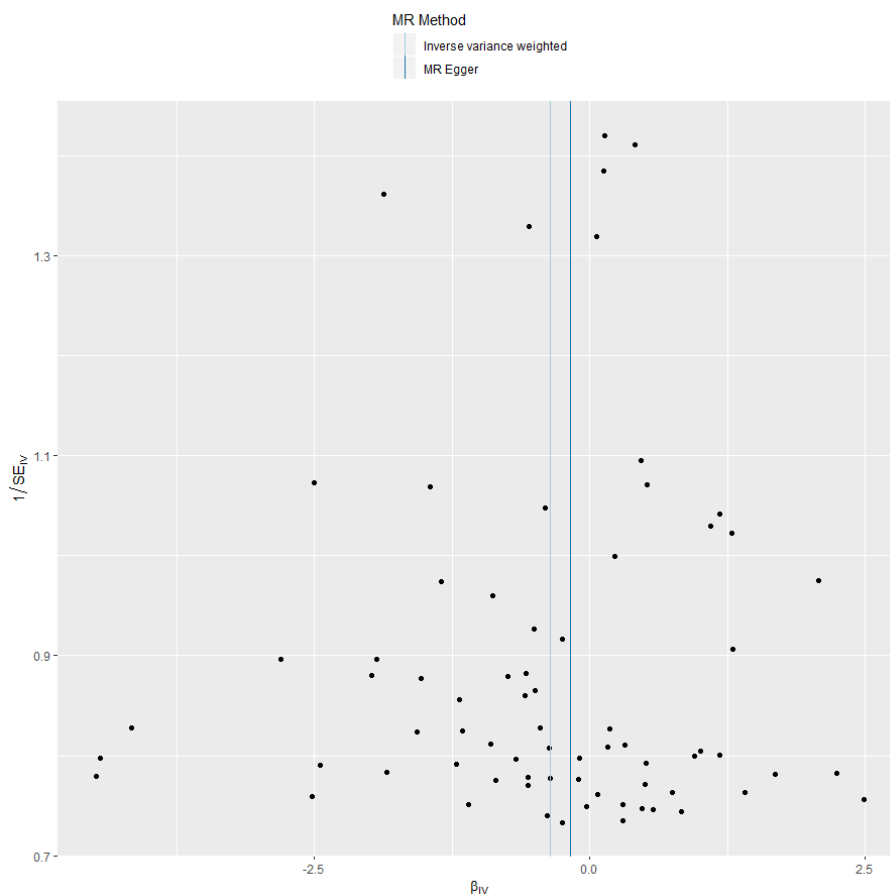
Συμπερασματικά, δεν υπάρχει ισχυρή ένδειξη ότι η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο του ορθού.



Σχήμα 49: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα λιπαρά ψάρια με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του ορθού.



Σχήμα 50: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.



Σχήμα 51: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

Τέλος, το p-value του intercept της MR-Egger και συνολικά αλλά και κατά σημείο του παχέος εντέρου μας δείχνει έλλειψη πλειοτροπίας (p-value>0.05 με H_0 την έλλειψη πλειοτροπίας).

Πίνακας 10: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης λιπαρών ψαριών στις 5 εκβάσεις.

72 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	0.73	1.09	0.62	0.86	0.0001684
	Random-effects IVW	0.73	1.12	0.58	0.92	0.00738
	MR-Egger slope	0.85	1.65	0.32	2.27	0.75048
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.01	0.74751
	Simple median	0.78	1.14	0.60	1.01	0.06002
	Weighted median	0.78	1.14	0.60	1.01	0.05898
	Weighted mode	0.80	1.39	0.42	1.53	0.50165
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	0.70	1.11	0.58	0.85	0.0004057
	Random-effects IVW	0.70	1.14	0.54	0.91	0.0084107
	MR-Egger slope	0.82	1.77	0.27	2.51	0.7226220
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.01	0.7842985
	Simple median	0.60	1.17	0.44	0.81	0.0011395
	Weighted median	0.60	1.17	0.44	0.82	0.0013870
	Weighted mode	0.51	1.50	0.23	1.13	0.0982257
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	0.74	1.14	0.58	0.96	0.02228
	Random-effects IVW	0.74	1.19	0.53	1.04	0.08296
	MR-Egger slope	0.45	2.07	0.11	1.87	0.27483
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.99	1.03	0.48245
	Simple median	0.72	1.23	0.49	1.08	0.11170
	Weighted median	0.75	1.22	0.51	1.12	0.15832
	Weighted mode	0.83	1.57	0.34	2.01	0.68206
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	0.63	1.14	0.48	0.81	0.0003889
	Random-effects IVW	0.63	1.17	0.46	0.85	0.0031913
	MR-Egger slope	1.25	1.96	0.33	4.66	0.7389803
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.97	1.01	0.2876597
	Simple median	0.56	1.23	0.37	0.84	0.0052233
	Weighted median	0.60	1.23	0.40	0.89	0.0124265

	Weighted mode	0.63	1.64	0.24	1.68	0.3572317
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	0.70	1.14	0.54	0.90	0.005337
	Random-effects IVW	0.70	1.17	0.51	0.95	0.021871
	MR-Egger slope	0.84	1.96	0.23	3.12	0.792871
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.02	0.774990
	Simple median	0.74	1.22	0.50	1.09	0.121448
	Weighted median	0.78	1.22	0.53	1.14	0.200686
	Weighted mode	1.000234	1.50	0.45	2.22	0.999541

Πίνακας 11: Ετερογένεια των SNPs των λιπαρών ψαριών στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.00000198	0.00000146	37.3%
Καρκίνος στο κόλον	0.00004098347	0.00003075505	37.3%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.0001169029	0.0001054771	37.1%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.00815748	0.008815884	37.2%
Καρκίνος στο ορθό	0.005579438	0.004544096	37.5%

3.6 Μη Λιπαρά Ψάρια

Για τη μεταβλητή έχουν χρησιμοποιηθεί 12 SNPs και έχει χωριστεί σε 6 επίπεδα. Σε αυτούς που δεν τρώνε ποτέ μη λιπαρά ψάρια (επίπεδο 0), αυτούς που τρώνε λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα (επίπεδο 1), αυτούς που τρώνε 1 φορά την εβδομάδα (επίπεδο 2), αυτούς που τρώνε 2-4 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 3), αυτούς που τρώνε 5-6 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 4) και αυτούς που τρώνε 1 φορά ή και παραπάνω καθημερινά (επίπεδο 5). Δηλαδή, εξετάζουμε τον κίνδυνο για καρκίνο αυτών είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (όμοια και για 2vs1, 3vs2, 4vs3, 5vs4). Όσον αφορά το **συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου** παρατηρήθηκε μια προστατευτική σχέση των μη λιπαρών ψαριών. Ειδικότερα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.53 με 95% ΔΕ (0.32-0.88) και (0.25-1.13) αντίστοιχα. Επειδή όμως η μέθοδος της IVW δίνει στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'έπекταση ένδειξη πλειοτροπίας, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Συνεπώς, η εκτίμηση για τη σχέση των μη λιπαρών ψαριών με τον καρκίνο του παχέος εντέρου δίνεται από την IVW random-effects και είναι μη στατιστικά σημαντική. Ομοίως και οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 12). Έπειτα, και η μέθοδος

της MR-Egger δίνει στατιστικά σημαντική ετερογένεια όμως με βάση την τιμή του $I^2=0\%<90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της συγκεκριμένης μεθόδου και ως προς την ετερογένεια και ως προς την εκτίμηση της συσχέτισης δεν είναι ακριβές (Πίνακας 13). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 53). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι δε φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης συνεπώς αποτελεί και αυτό ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 54). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.016$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκε ένα πλειοτροπικό SNP (το rs4318925).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.132$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

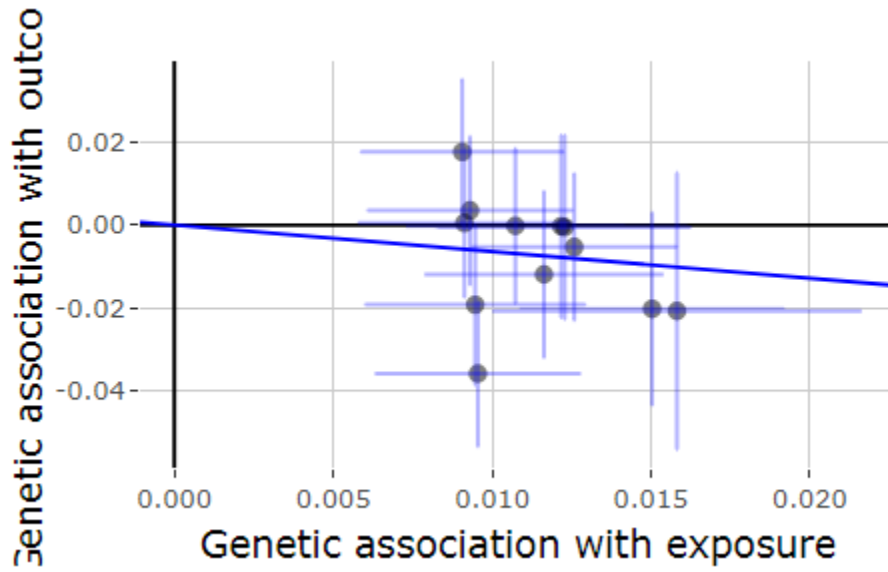
Τα SNPs που βρέθηκαν ως πλειοτροπικά στην MR-PRESSO, μέσω της πλατφόρμας του PhenoScanner σχετίστηκαν με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

<u>SNP</u>	<u>Χαρακτηριστικό</u>	<u>p-value</u>
rs4318925	Basophil count	$1.58 \cdot 10^{-9}$
	Eosinophil count	$1.07 \cdot 10^{-28}$
	Eosinophil percentage of granulocytes	$1.11 \cdot 10^{-9}$
	Eosinophil percentage of white cells	$2.23 \cdot 10^{-10}$
	Granulocyte count	$2.59 \cdot 10^{-29}$
	Hematocrit	$3.74 \cdot 10^{-10}$
	Hemoglobin concentration	$7.43 \cdot 10^{-12}$
	High light scatter percentage of red cells	$4.44 \cdot 10^{-11}$
	High light scatter reticulocyte count	$5.74 \cdot 10^{-15}$
	Lymphocyte count	$6 \cdot 10^{-32}$
	Mean corpuscular volume	$2.22 \cdot 10^{-6}$
	Monocyte count	$4.80 \cdot 10^{-29}$
	Myeloid white cell count	$6.15 \cdot 10^{-33}$
	Neutrophil count	$1.67 \cdot 10^{-24}$
	Neutrophil percentage of granulocytes	$4.37 \cdot 10^{-9}$
	Platelet count	$2.25 \cdot 10^{-6}$
	Red blood cell count	$9.75 \cdot 10^{-16}$
	Reticulocyte count	$4.86 \cdot 10^{-29}$
	Reticulocyte fraction of red cells	$2.16 \cdot 10^{-21}$

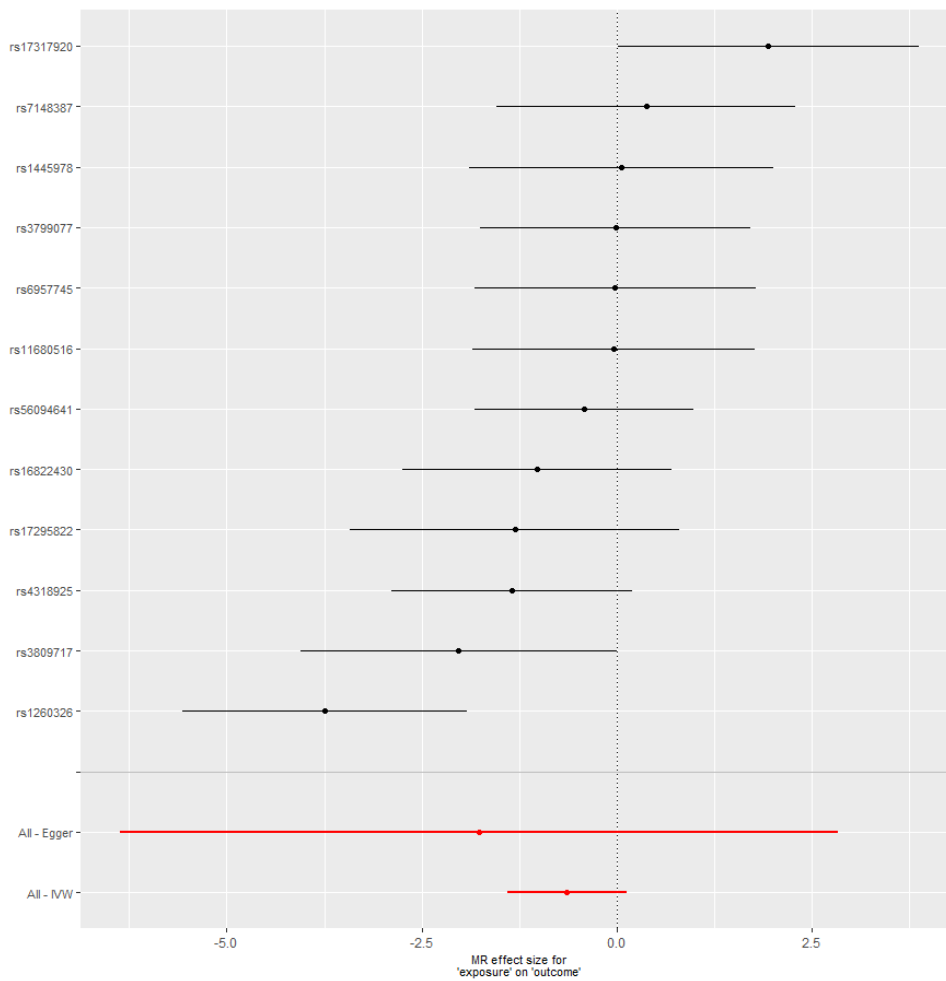
	Sum basophil neutrophil counts	$6.44 \cdot 10^{-25}$
	Sum eosinophil basophil counts	$4.79 \cdot 10^{-32}$
	Sum neutrophil eosinophil counts	$6.94 \cdot 10^{-29}$
	White blood cell count	$1.02 \cdot 10^{-49}$
	IgA deficiency	$8.03 \cdot 10^{-48}$
	Primary sclerosing cholangitis	$1.59 \cdot 10^{-87}$
	Arm fat-free mass left	$6.97 \cdot 10^{-11}$
	Arm fat-free mass right	$2.99 \cdot 10^{-12}$
	Arm predicted mass left	$4.95 \cdot 10^{-11}$
	Arm predicted mass right	$1.16 \cdot 10^{-11}$
	Asthma	$1.72 \cdot 10^{-6}$
	Basal metabolic rate	$1.50 \cdot 10^{-13}$
	Comparative body size at age 10	$6.71 \cdot 10^{-10}$
	Diastolic blood pressure	$7.92 \cdot 10^{-10}$
	Doctor diagnosed sarcoidosis	$1.78 \cdot 10^{-13}$
	Forced expiratory volume in 1-second, predicted percentage	$2.69 \cdot 10^{-6}$
	Height	$6.47 \cdot 10^{-13}$
	Hip circumference	$6.66 \cdot 10^{-7}$
	Impedance of leg left	$5.82 \cdot 10^{-9}$
	Impedance of leg right	$8.04 \cdot 10^{-9}$
	Impedance of whole body	$2.41 \cdot 10^{-8}$
	Intestinal malabsorption	$4.71 \cdot 10^{-93}$
	Leg fat-free mass left	$2.32 \cdot 10^{-13}$
	Leg fat-free mass right	$1.07 \cdot 10^{-14}$
	Leg predicted mass left	$1.28 \cdot 10^{-13}$
	Leg predicted mass right	$1.56 \cdot 10^{-14}$
	Medication for cholesterol, blood pressure or diabetes: insulin	$6.49 \cdot 10^{-10}$
	Mouth or teeth dental problems: dentures	$2.19 \cdot 10^{-6}$
	Self-reported adrenocortical insufficiency or addisons disease	$1.59 \cdot 10^{-11}$
	Self-reported asthma	$1.12 \cdot 10^{-6}$
	Self-reported hyperthyroidism or thyrotoxicosis	$1.45 \cdot 10^{-59}$
	Self-reported hypothyroidism or myxoedema	$7.41 \cdot 10^{-7}$
	Self-reported malabsorption or coeliac disease	$3.37 \cdot 10^{-297}$
	Self-reported psoriasis	$1.50 \cdot 10^{-6}$
	Self-reported sarcoidosis	$6.48 \cdot 10^{-17}$
	Self-reported sjogrens syndrome or sicca	$2.21 \cdot 10^{-10}$

	syndrome	
	Self-reported systemic lupus erythematosis or sle	$1.83 \cdot 10^{-8}$
	Self-reported thyroid radioablation therapy	$7.97 \cdot 10^{-6}$
	Self-reported type 1 diabetes	$4.02 \cdot 10^{-6}$
	Sitting height	$4.11 \cdot 10^{-21}$
	Started insulin within one year diagnosis of diabetes	$2.36 \cdot 10^{-20}$
	Thyrototoxicosis	$4.39 \cdot 10^{-7}$
	Treatment with carbimazole	$6.20 \cdot 10^{-7}$
	Treatment with ferrous sulphate	$9.48 \cdot 10^{-6}$
	Treatment with fludrocortisone	$9.17 \cdot 10^{-13}$
	Treatment with insulin	$3.84 \cdot 10^{-10}$
	Treatment with insulin product	$4.67 \cdot 10^{-19}$
	Treatment with levothyroxine sodium	$1.12 \cdot 10^{-12}$
	Trunk fat-free mass	$9.27 \cdot 10^{-16}$
	Trunk predicted mass	$1.66 \cdot 10^{-15}$
	Unspecified haematuria	$3.81 \cdot 10^{-6}$
	Weight	$1.69 \cdot 10^{-8}$
	Whole body fat-free mass	$2.36 \cdot 10^{-15}$
	Whole body water mass	$4.57 \cdot 10^{-15}$
	Rheumatoid arthritis	$1.40 \cdot 10^{-6}$
	Rheumatoid arthritis	$5.10 \cdot 10^{-21}$
	Rheumatoid arthritis	$7.60 \cdot 10^{-26}$
	Schizophrenia	$2.86 \cdot 10^{-11}$

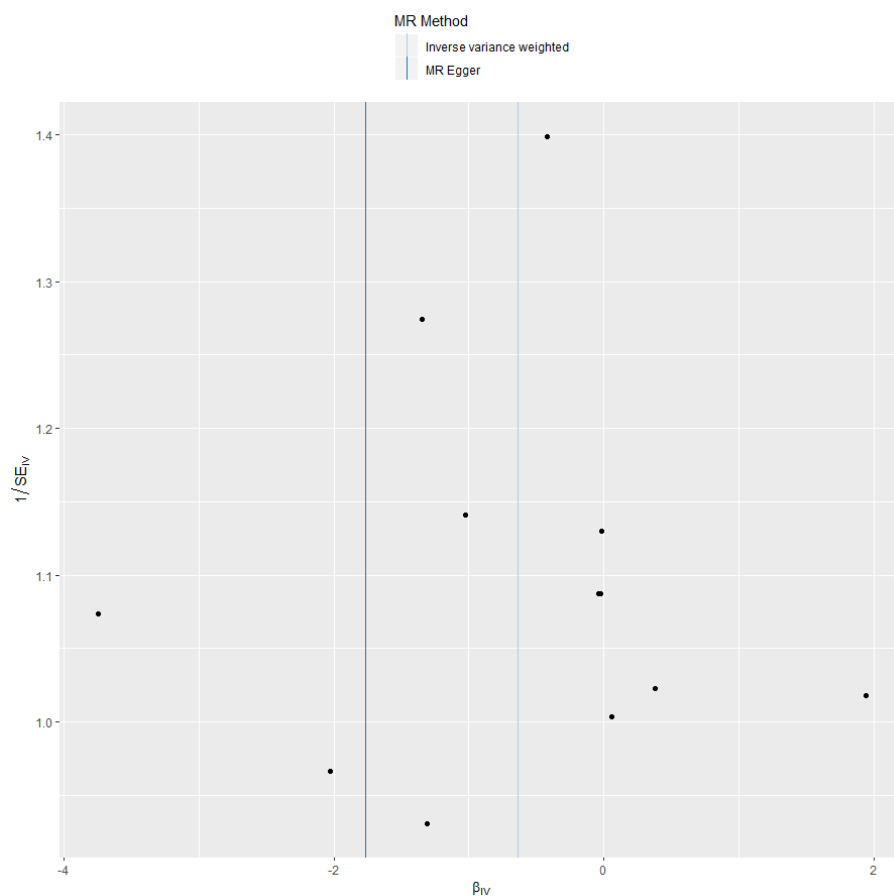
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση μη λιπαρών ψαριών δε συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τον καρκίνο παχέος εντέρου.



Σχήμα 52: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα μη λιπαρά ψάρια με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.



Σχήμα 53: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.



Σχήμα 54: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

Όσον αφορά τον **καρκίνο στο κόλον** παρατηρήθηκε μια προστατευτική σχέση των μη λιπαρών ψαριών. Ειδικότερα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα $OR=0.50$ με 95% ΔΕ (0.27-0.93) και (0.19-1.29) αντίστοιχα. Επειδή όμως η μέθοδος της IVW δίνει στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας, δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Συνεπώς, η εκτίμηση για τη σχέση των μη λιπαρών ψαριών με τον καρκίνο του παχέος εντέρου δίνεται από την IVW random-effects και είναι μη στατιστικά σημαντική. οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα εκτός από τις προσεγγίσεις των

median $OR_{simplemedian} = OR_{weightedmedian} = 0.30$ και 95% ΔΕ (0.12-0.72) και (0.13-0.74) αντίστοιχα (Πίνακας 12). Έπειτα, και η μέθοδος της MR-Egger δίνει στατιστικά σημαντική ετερογένεια όμως με βάση την τιμή του $I^2 = 0\% < 90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της συγκεκριμένης μεθόδου και ως προς την ετερογένεια και ως προς την εκτίμηση της συσχέτισης δεν είναι ακριβές (Πίνακας 13). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 56). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι δε φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης συνεπώς αποτελεί και αυτό ένδειξη πλειοτροπίας (Σχήμα 57). Με τη σειρά της η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

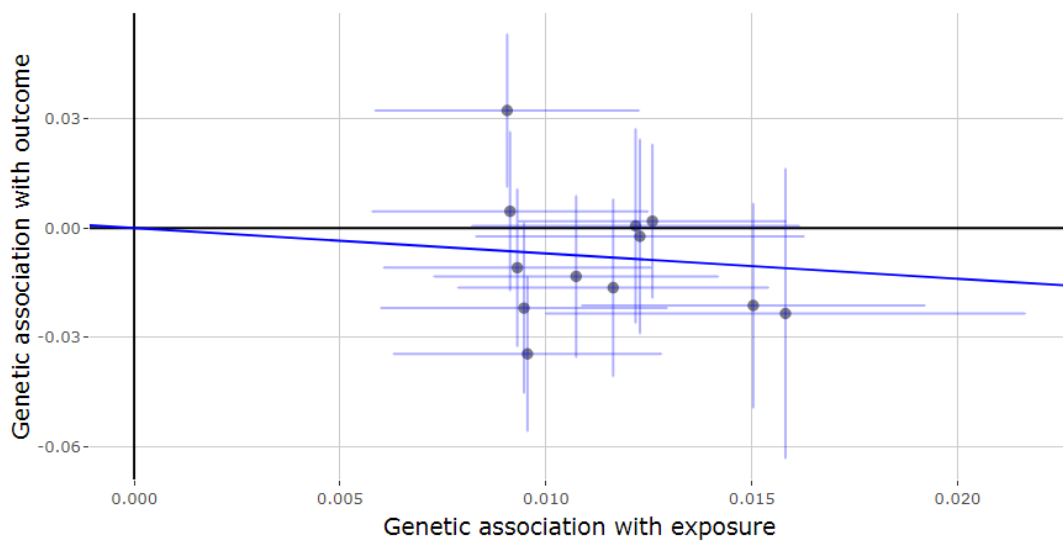
- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value} = 0.0097 < 0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκε ένα πλειοτροπικό SNP (το rs6957745).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value} = 0.484$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

Το SNP που βρέθηκε ως πλειοτροπικό στην MR-PRESSO, μέσω της πλατφόρμας του Phenoscanner σχετίστηκαν με τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

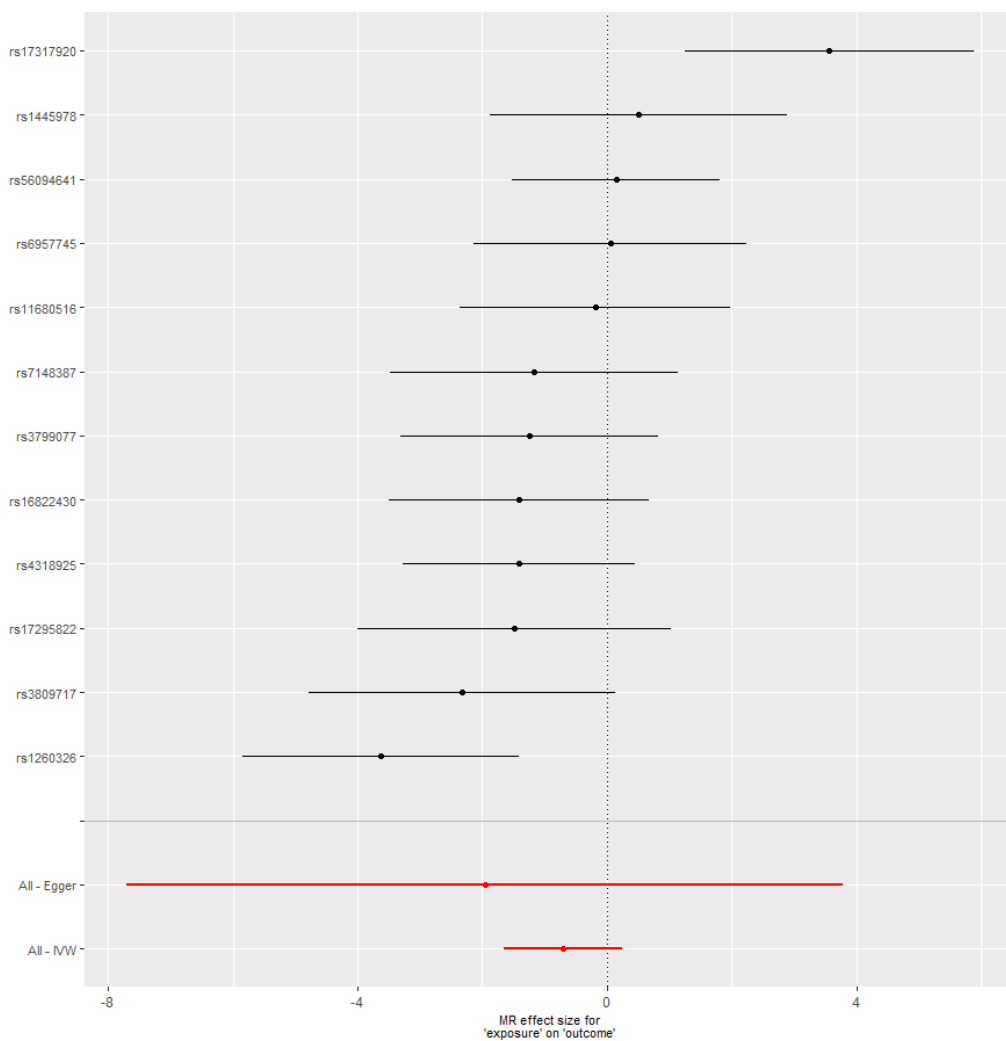
SNPs	Χαρακτηριστικό	p-value
rs6957745	Eosinophil percentage of granulocytes	0.0000006523
	Eosinophil percentage of white cells	0.000004402
	Granulocyte count	0.000005845
	Granulocyte percentage of myeloid white cells	0.00000000004129
	High light scatter percentage of red cells	0.00000000000004257
	High light scatter reticulocyte count	0.00000000000001234
	Immature fraction of reticulocytes	0.000001733
	Mean platelet volume	0.0000001216
	Monocyte percentage of white cells	0.00000000000431
	Neutrophil count	0.000001101
	Neutrophil percentage of granulocytes	0.000000471
	Red cell distribution width	0.000005449
	Reticulocyte count	0.000000000000008549
	Reticulocyte fraction of red cells	0.00000000000001372
	Sum basophil neutrophil counts	0.000001601
	Sum neutrophil eosinophil counts	0.000004023
	Granulocyte percentage of myeloid white cells	0.00000000004
	Monocyte percentage of white cells	0.000000000004

Alcohol intake frequency	0.000001664
Arm fat-free mass left	0.000000000000008372
Arm fat-free mass right	0.0000000000000007242
Arm predicted mass left	0.00000000000001018
Arm predicted mass right	0.0000000000000001979
Basal metabolic rate	0.00000000004243
Height	0.000001672
Hip circumference	0.0000000002915
Impedance of arm left	0.000000000007558
Impedance of arm right	0.000000000008144
Impedance of leg left	0.0000009257
Impedance of leg right	0.00000005155
Impedance of whole body	0.0000000001095
Leg fat-free mass left	0.000000008871
Leg fat-free mass right	0.000000000862
Leg predicted mass left	0.00000000677
Leg predicted mass right	0.0000000009635
Self-reported gout	0.0000001804
Sitting height	0.00000000001611
Sodium in urine	0.00000002109
Trunk fat-free mass	0.0000000000002138
Trunk predicted mass	0.00000000000009569
Weight	0.00000009594
Whole body fat-free mass	0.0000000000009321
Whole body water mass	0.0000000000004861
Triglycerides	0.00000008937

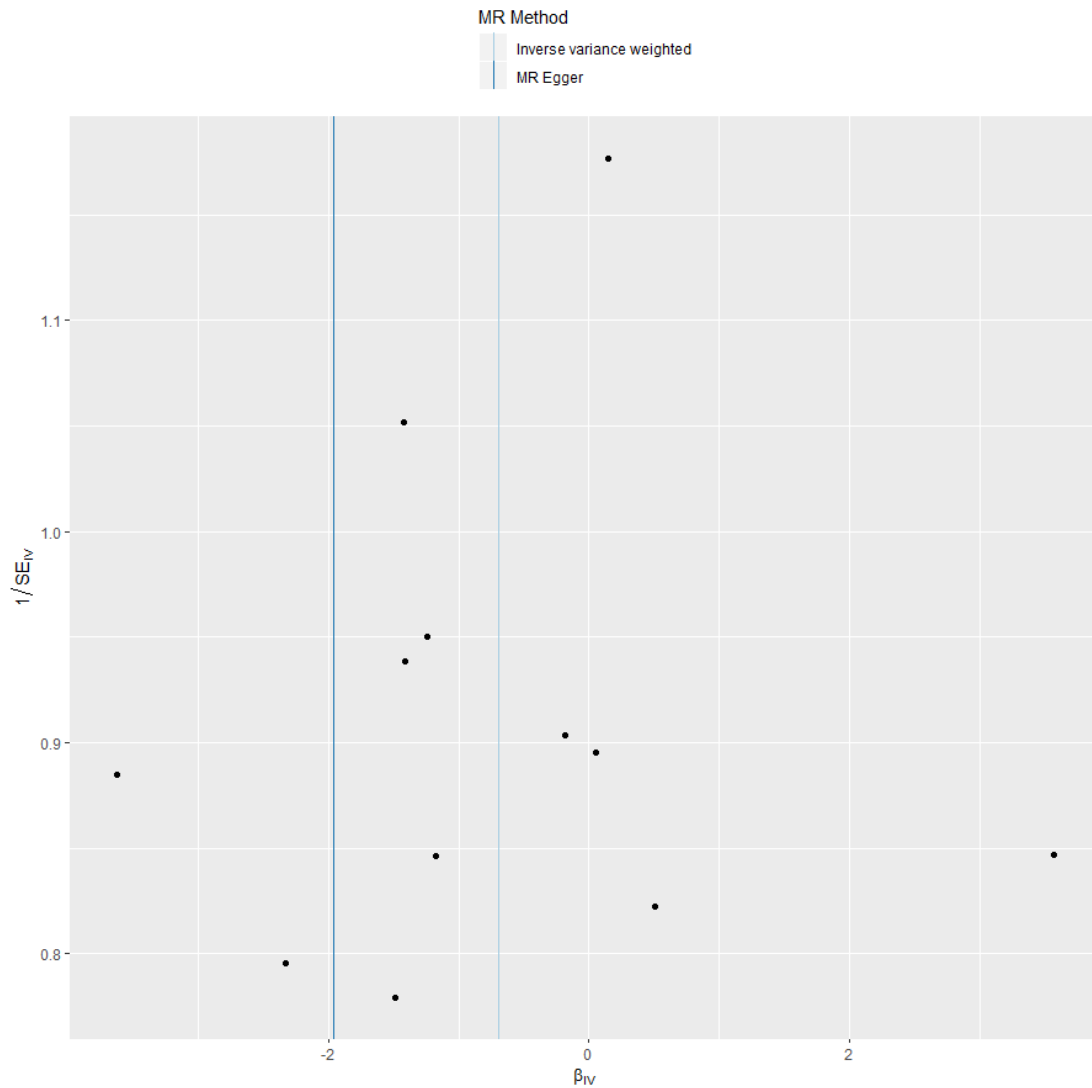
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση μη λιπαρών ψαριών φάνηκε ότι πιθανώς δε συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο στο κόλον.



Σχήμα 55: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στα μη λιπαρά ψάρια με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο στο κόλον.

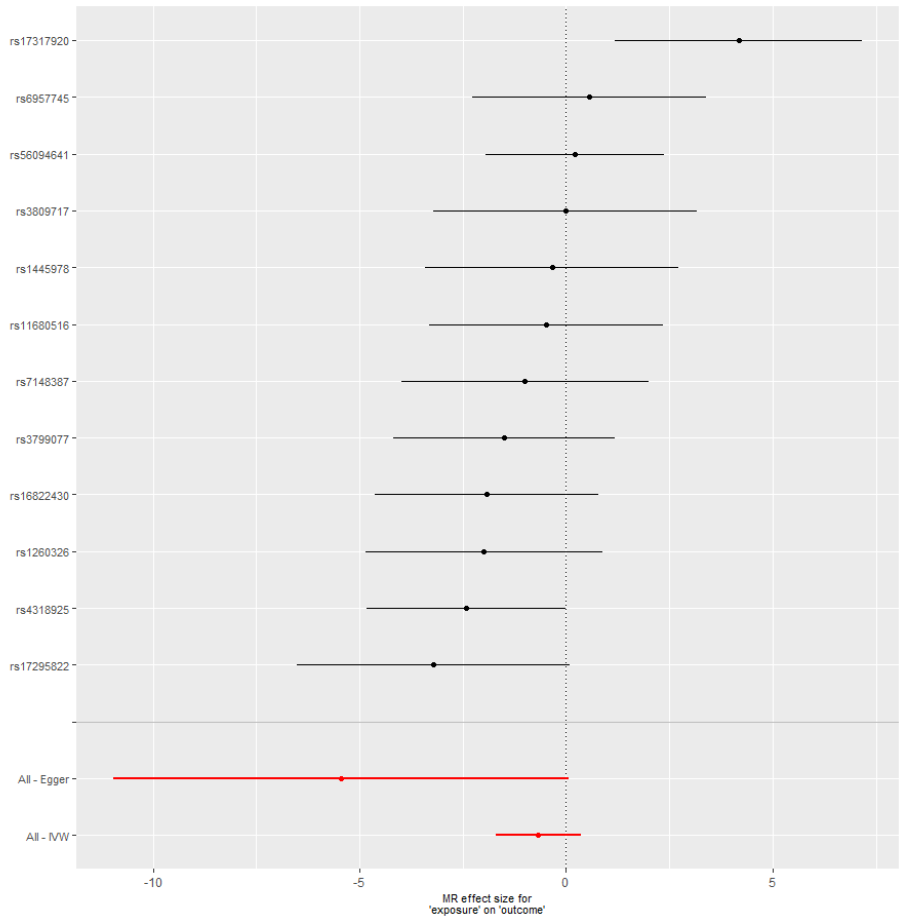


Σχήμα 56: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

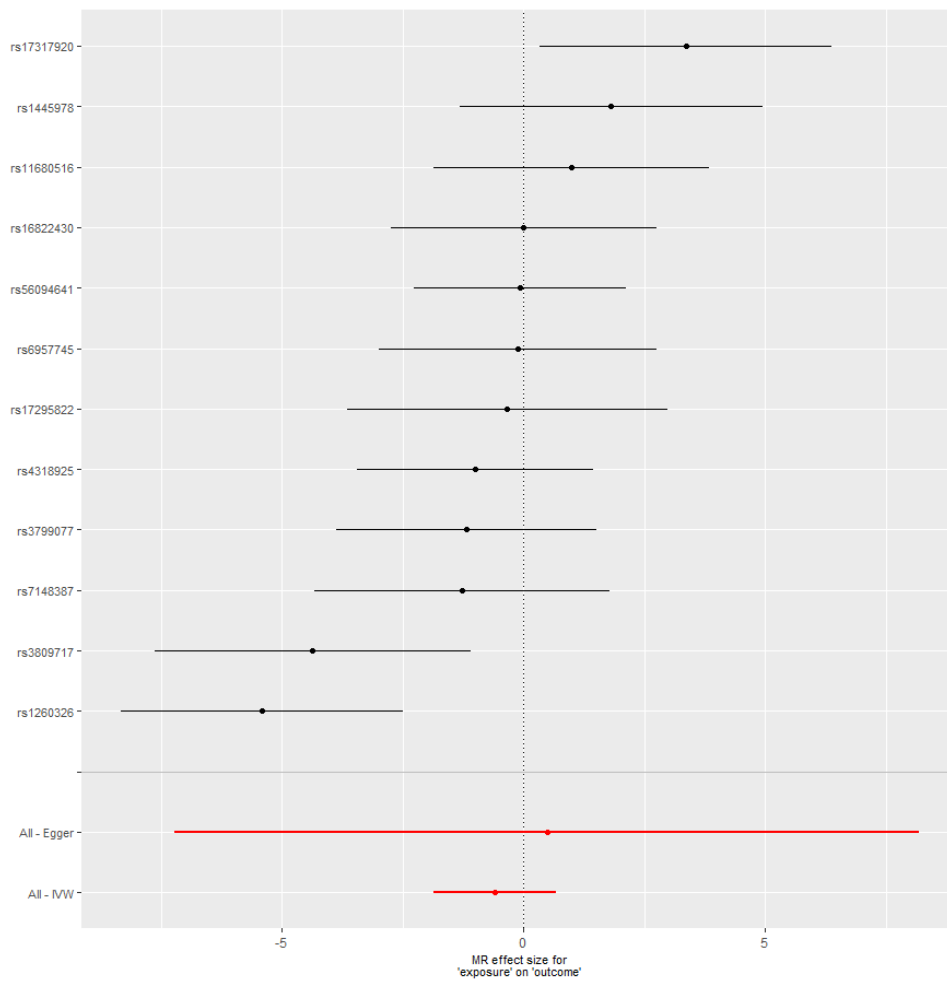


Σχήμα 57: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

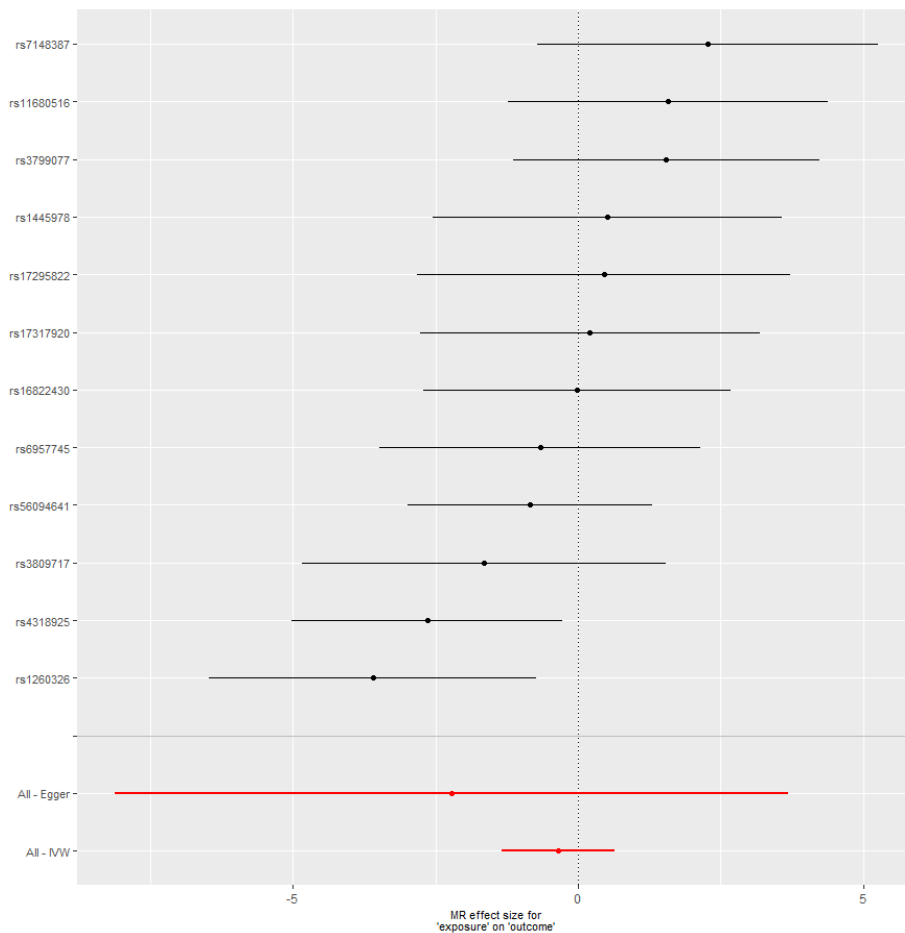
Για τους **καρκίνους στο δεξί κόλον, αριστερό κόλον και ορθό** δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της κατανάλωσης μη λιπαρών ψαριών. Στα σχήματα (58,59,60) τα αντίστοιχα forest plot των υπότυπων του καρκίνου.



Σχήμα 58:
 Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις φαίνονται να είναι γύρω από την ολική εκτίμηση.



Σχήμα 59: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 60: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου οι εκτιμήσεις φαίνονται να είναι γύρω από την ολική εκτίμηση.

Πίνακας 12: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης μη λιπαρών ψαριών στις 5 εκβάσεις.

12 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	0.53	1.30	0.32	0.88	0.01460
	Random-effects IVW	0.53	1.48	0.25	1.13	0.09996
	MR-Egger slope	0.17	10.43	0.001731	16.9	0.45182
	MR-Egger Intercept	1.01	1.03	0.96	1.07	0.62648

	Simple median	0.79	1.44	0.39	1.62	0.52703
	Weighted median	0.73	1.45	0.35	1.51	0.39512
	Weighted mode	0.83	1.70	0.29	2.36	0.73265
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	0.50	1.37	0.27	0.93	0.0275083
	Random-effects IVW	0.50	1.62	0.19	1.29	0.1504242
	MR-Egger slope	0.14	18.65	0.00046	43.5	0.5027511
	MR-Egger Intercept	1.01	1.03	0.95	1.08	0.6608607
	Simple median	0.30	1.57	0.12	0.72	0.0071467
	Weighted median	0.30	1.57	0.13	0.74	0.0083303
	Weighted mode	0.51	1.50	0.23	1.13	0.0982257
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	0.51	1.51	0.23	1.13	0.09666
	Random-effects IVW	0.51	1.69	0.18	1.42	0.19511
	MR-Egger slope	0.004	16.62	0.000018	1.07	0.05291
	MR-Egger Intercept	1.05	1.03	0.99	1.12	0.08554
	Simple median	0.48	1.767	0.16	1.45	0.19319
	Weighted median	0.48	1.77	0.16	1.46	0.19372
	Weighted mode	0.61	2.50	0.10	3.66	0.58835
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	0.55	1.52	0.24	1.24	0.1496767
	Random-effects IVW	0.55	1.91	0.15	1.95	0.3540596
	MR-Egger slope	1.62	50.82	0.00073	3571.59	0.9024608
	MR-Egger Intercept	0.99	1.04	0.91	1.08	0.7801368
	Simple median	0.79	1.80	0.25	2.51	0.6925475
	Weighted median	0.85	1.82	0.26	2.75	0.7847197
	Weighted mode	0.67	2.20	0.14	3.13	0.609654
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	0.70	1.50	0.32	1.57	0.389474
	Random-effects IVW	0.70	1.66	0.26	1.89	0.486329
	MR-Egger slope	0.11	20.25	0.00029	39.6	0.461071
	MR-Egger Intercept	1.02	1.03	0.96	1.09	0.528765
	Simple median	1.10	1.79	0.35	3.44	0.874862
	Weighted median	0.86	1.82	0.27	2.78	0.803218
	Weighted mode	0.96	2.87	0.12	7.58	0.968591

Πίνακας 13: Ετερογένεια των SNPs των μη λιπαρών ψαριών στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.011756	0.008497	0%
Καρκίνος στο κόλον	0.00684474	0.004709402	0%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.07960557	0.17486313	0%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.005310001	0.003264281	0%
Καρκίνος στο ορθό	0.11364214	0.09492623	0%

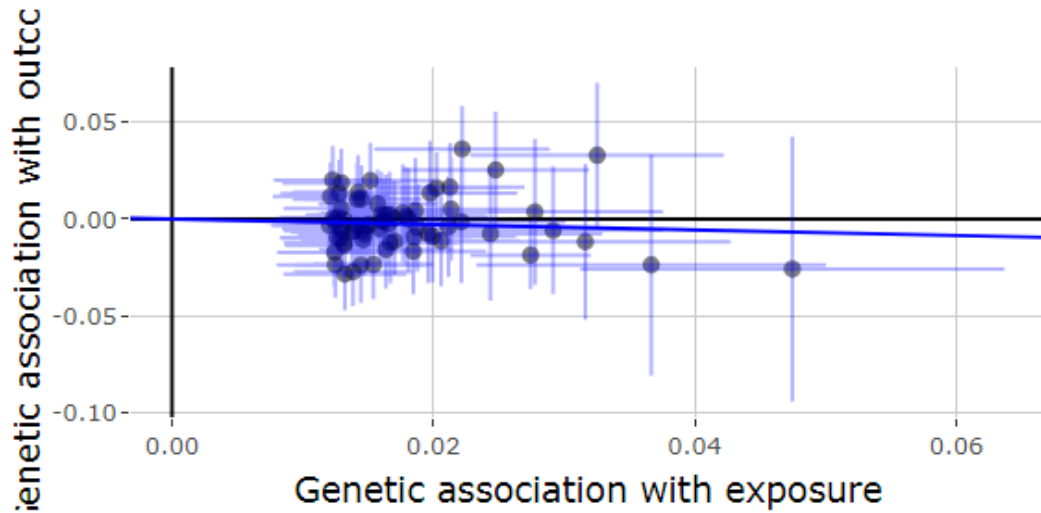
3.7 Τυρί

Για τη μεταβλητή έχουν χρησιμοποιηθεί 72 SNPs και έχει χωριστεί σε 6 επίπεδα. Σε αυτούς που δεν τρώνε ποτέ τυρί (επίπεδο 0), αυτούς που τρώνε λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα (επίπεδο 1), αυτούς που τρώνε 1 φορά την εβδομάδα (επίπεδο 2), αυτούς που τρώνε 2-4 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 3), αυτούς που τρώνε 5-6 φορές την εβδομάδα (επίπεδο 4) και αυτούς που τρώνε 1 φορά ή και παραπάνω καθημερινά (επίπεδο 5). Δηλαδή, εξετάζουμε τον κίνδυνο για καρκίνο αυτών είναι που στο επίπεδο 1 σε σχέση με αυτούς που είναι στο επίπεδο 0 (όμοια και για 2vs1, 3vs2, 4vs3, 5vs4). Όσον αφορά το **συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου** παρατηρήθηκε μια μη στατιστικά σημαντική προστατευτική συσχέτιση. Συγκεκριμένα, η εκτίμηση των IVW fixed και random δίνουν ένα OR=0.87 με 95% ΔΕ (0.75-1.01) και (0.72-1.04) αντίστοιχα. Ομοίως και οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 14). Έπειτα, αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν στατιστικά σημαντική ετερογένεια και κατ'επέκταση ένδειξη πλειοτροπίας. Ως εκ τούτου δεν είμαστε σίγουροι ότι μπορούμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=0\%<90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 15). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις είναι γύρω από την ολική εκτίμηση της IVW και όχι τόσο της MR-Egger (Σχήμα 62). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης της IVW ενώ δε φαίνεται το ίδιο για την MR-Egger (Σχήμα 63). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO έβγαλε τα εξής αποτελέσματα:

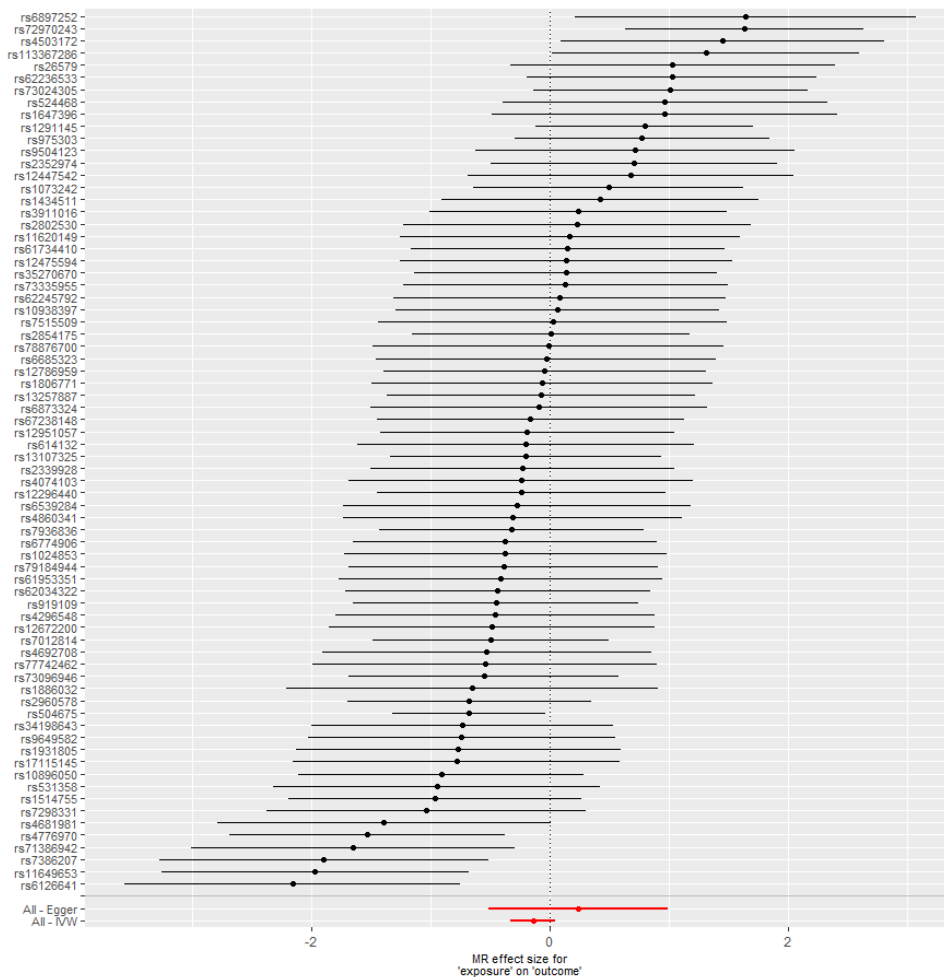
- Πρώτον, μέσω του Global Test εντοπίστηκε οριζόντια πλειοτροπία των SNPs ($p\text{-value}=0.0019<0.05$ με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).
- Δεύτερον, μέσω του outlier test εντοπίστηκε πλειοτροπικό SNP (rs78876700).
- Τρίτον, δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην εκτίμηση μετά την αφαίρεση των outlier SNPs μέσω του Distortion Test ($p\text{-value}=0.7209$ με H_0 τη μη στατιστικά σημαντική διαφορά των εκτιμήσεων πριν και μετά την αφαίρεση των outlier).

Για το SNP rs78876700 που εντοπίστηκε ως πλειοτροπικό στην MR-PRESSO δε βρέθηκαν πληροφορίες στο PhenoScanner σχετικά με ενδεχόμενη συσχέτιση με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά.

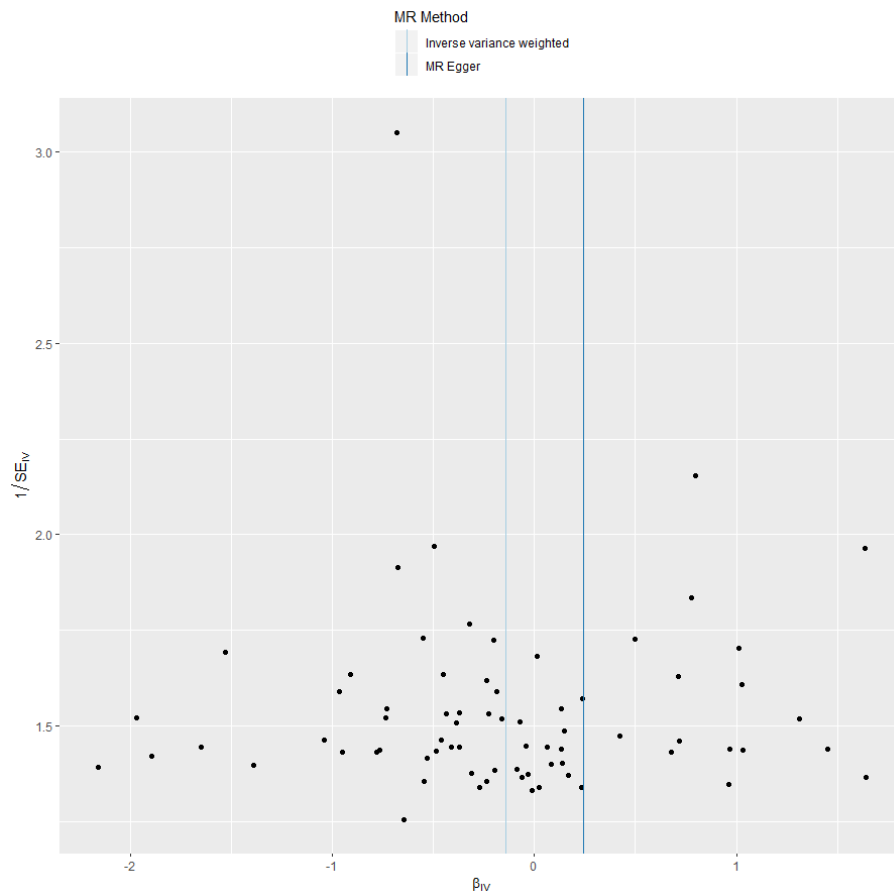
Συμπερασματικά, η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση τυριού δε συσχετίζεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο με τον καρκίνο παχέος εντέρου.



Σχήμα 61: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στο τυρί με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.

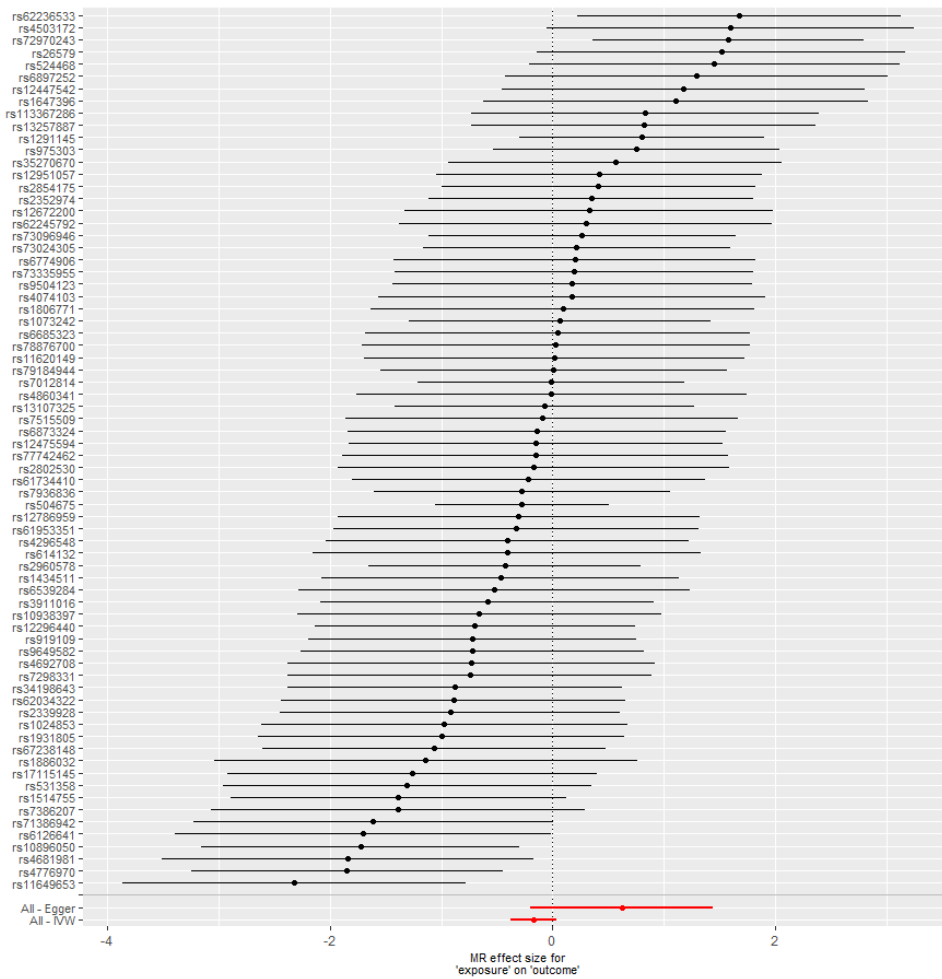


Σχήμα 62: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

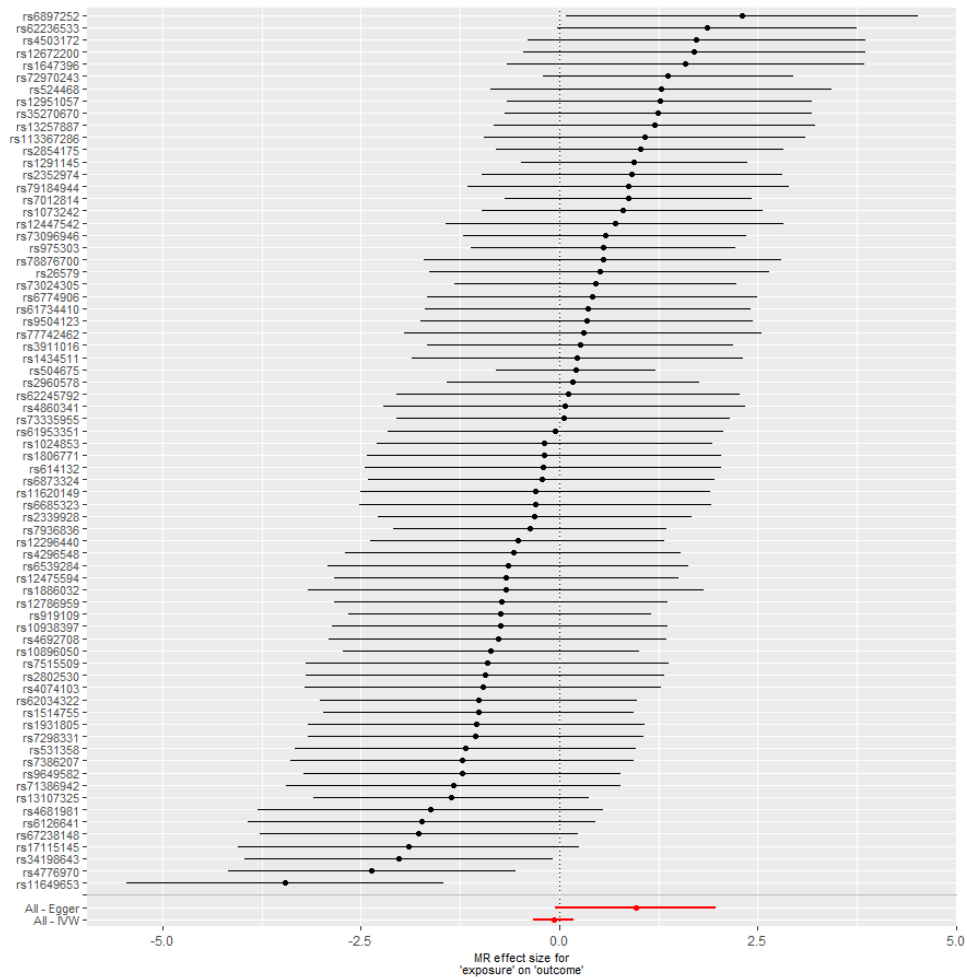


Σχήμα 63: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

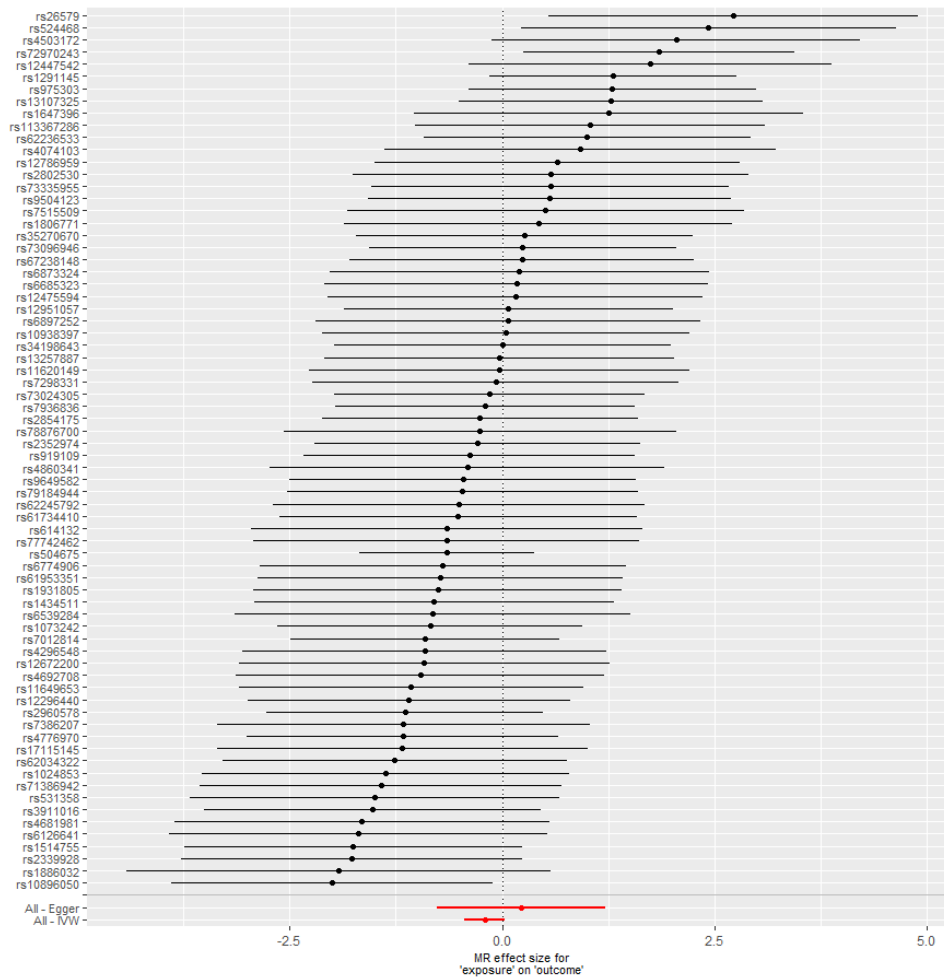
Όμοια για τους καρκίνους στο κόλον, δεξί κόλον, αριστερό κόλον και ορθό δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της κατανάλωσης τυριού. Στα σχήματα (64,65,66,67) τα αντίστοιχα forest plot των υπότυπων του καρκίνου.



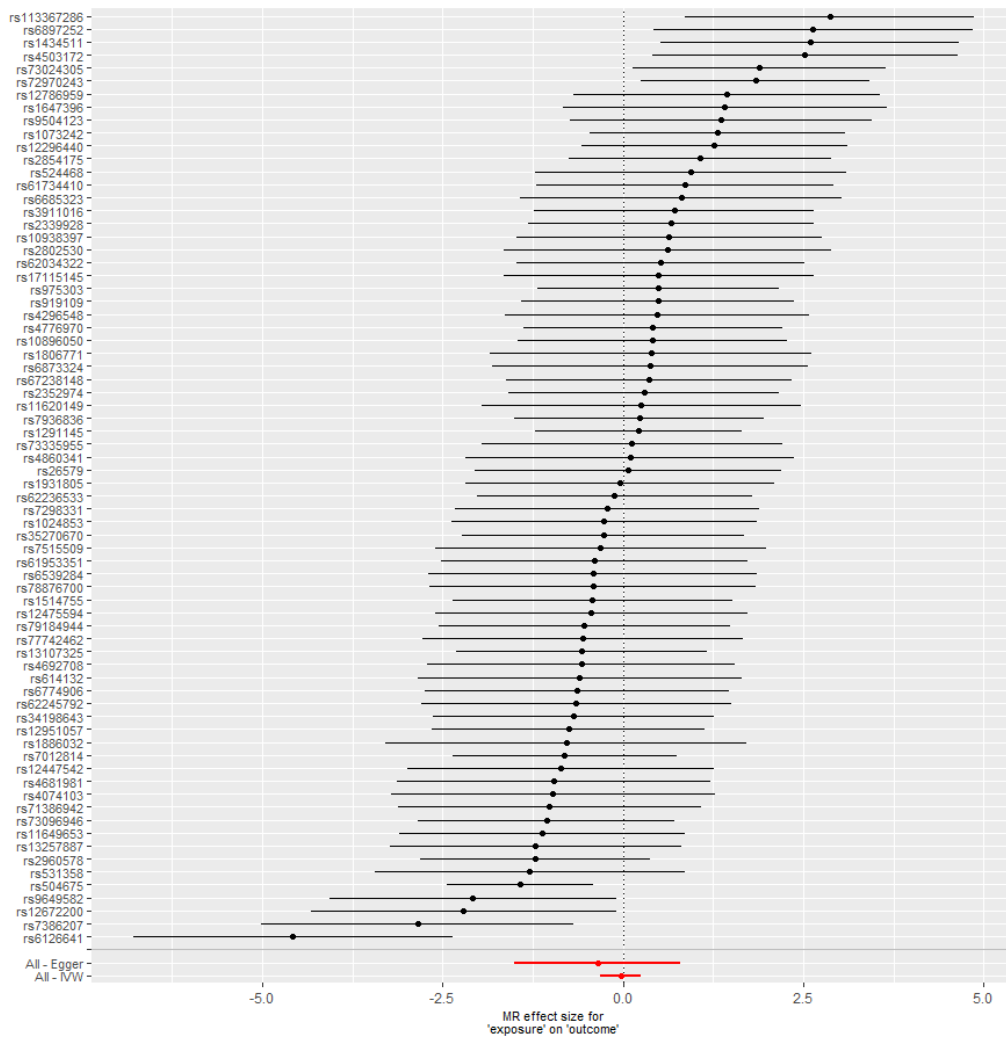
Σχήμα 64: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 65: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 66: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 67: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.

Πίνακας 14: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης τυριού στις 5 εκβάσεις.

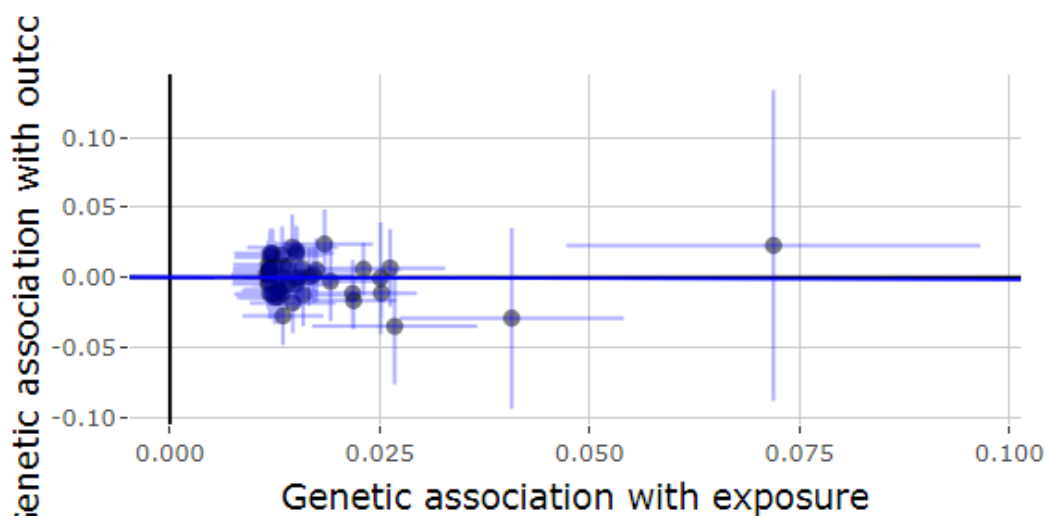
72 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	0.87	1.08	0.75	1.01	0.06084
	Random-effects IVW	0.87	1.10	0.72	1.04	0.13419
	MR-Egger slope	1.27	1.47	0.60	2.71	0.52879
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.01	0.30298
	Simple median	0.82	1.12	0.65	1.03	0.08504
	Weighted median	0.80	1.12	0.64	1.00	0.05257
	Weighted mode	0.70	1.31	0.41	1.18	0.18104
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	0.84	1.10	0.71	1.01	0.0642695
	Random-effects IVW	0.84	1.11	0.69	1.04	0.1063068
	MR-Egger slope	1.86	1.52	0.82	4.22	0.1361233
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.97	1.00	0.0506856
	Simple median	0.86	1.15	0.66	1.12	0.2613272
	Weighted median	0.86	1.15	0.65	1.13	0.2659204
	Weighted mode	0.90	1.35	0.50	1.61	0.7177565
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	0.93	1.13	0.74	1.17	0.55327
	Random-effects IVW	0.93	1.14	0.72	1.20	0.58769
	MR-Egger slope	2.61	1.67	0.95	7.15	0.06179
	MR-Egger Intercept	0.98	1.01	0.97	0.999	0.03874
	Simple median	0.83	1.20	0.59	1.16	0.27578
	Weighted median	1.11	1.20	0.78	1.58	0.55905
	Weighted mode	1.36	1.48	0.63	2.95	0.43118
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	0.81	1.13	0.64	1.03	0.0869626
	Random-effects IVW	0.81	1.13	0.64	1.04	0.0973448
	MR-Egger slope	1.26	1.66	0.47	3.39	0.6530593
	MR-Egger Intercept	0.99	1.01	0.98	1.01	0.3774834
	Simple median	0.71	1.19	0.51	1.01	0.0548333
	Weighted median	0.68	1.19	0.48	0.96	0.0280128
	Weighted mode	0.52	1.48	0.24	1.12	0.0935976
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	0.97	1.13	0.77	1.23	0.815779
	Random-effects IVW	0.97	1.15	0.73	1.29	0.848608
	MR-Egger slope	0.70	1.80	0.22	2.23	0.548829
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.99	1.02	0.568449
	Simple median	1.02	1.19	0.72	1.43	0.930438
	Weighted median	1.002	1.19	0.71	1.42	0.988814
	Weighted mode	1.38	1.64	0.52	3.66	0.513419

Πίνακας 15: Ετερογένεια των SNPs του τυριού στις 5 εκβάσεις.

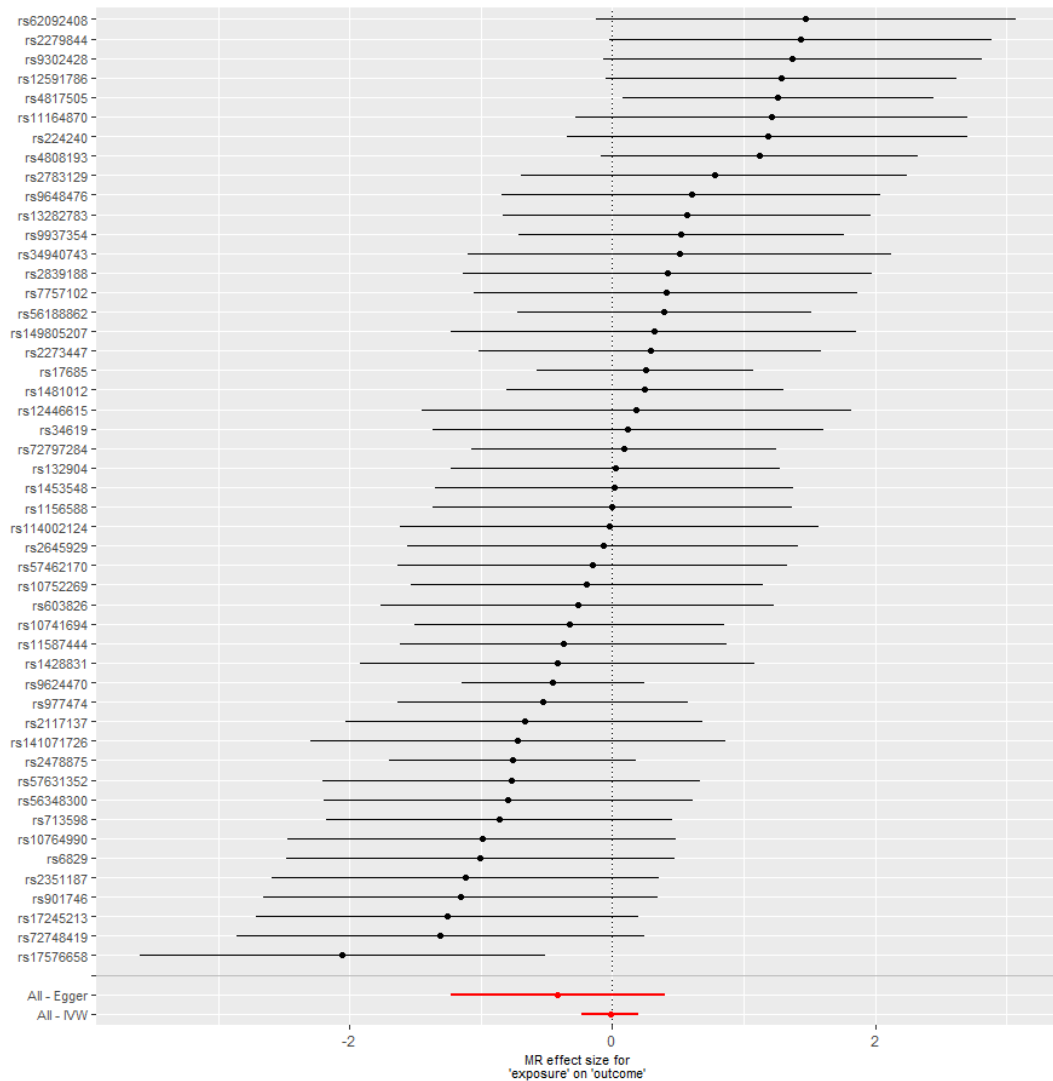
	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.001619	0.00176	0%
Καρκίνος στο κόλον	0.03986398	0.06812981	0%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.1244452	0.1935439	0%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.3299038	0.3239413	0%
Καρκίνος στο ορθό	0.004704351	0.004095376	0%

3.8 Τσάι

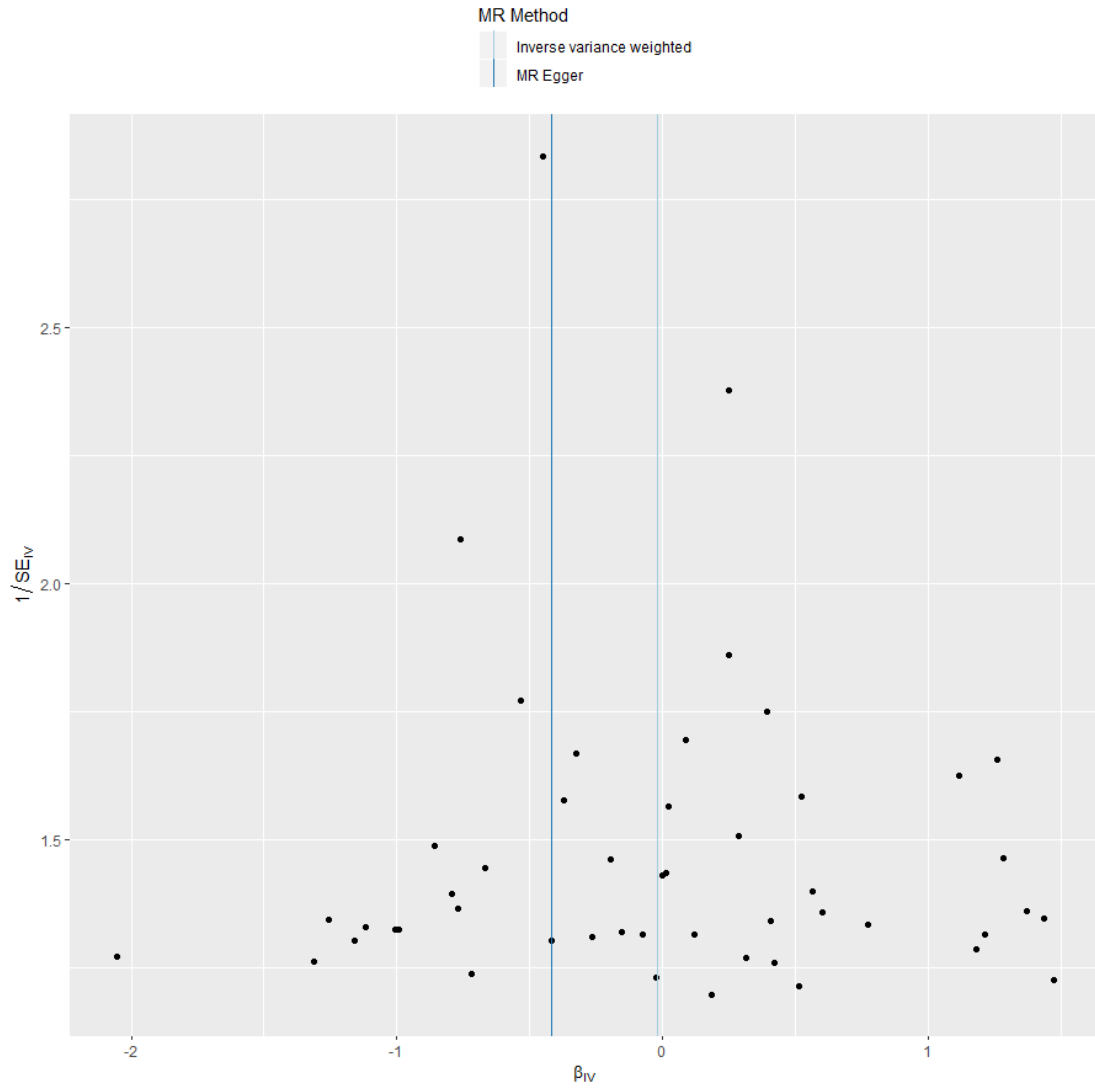
Για τη μεταβλητή χρησιμοποιήθηκαν 49 SNPs και είναι συνεχής. Δηλαδή, εξετάζουμε τι κάνει ένα επιπλέον φλιτζάνι τσάι ανά ημέρα στον κίνδυνο για καρκίνο. Για το **συνολικό καρκίνο του παχέος εντέρου**, με βάση την εκτίμηση των IVW fixed και random, έχουμε OR=0.98 με 95% ΔΕ (0.82-1.18) και (0.79-1.22) αντίστοιχα. Ομοίως και οι εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας δίνουν μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Πίνακας 16). Αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν οριακά μη στατιστικά σημαντική ετερογένεια. Κατ'επέκταση θα μπορούσαμε να εμπιστευτούμε την εκτίμηση της IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=37.4% < 90%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές (Πίνακας 17). Μέσω του forest plot βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις φαίνονται να είναι γύρω από την ολική εκτίμηση της IVW και όχι τόσο ως προς την MR-Egger (Σχήμα 69). Μέσω του funnel plot βλέπουμε ότι φαίνεται να υπάρχει συμμετρία των SNPs γύρω από την ολική εκτίμηση της επίδρασης ως προς την IVW ενώ όχι για την MR-Egger (Σχήμα 70). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO δεν εντόπισε κάποιο outlier SNP (Global Test: p-value=0.0605 > 0.05 με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).



Σχήμα 68: Scatter plot της επίδρασης των SNPs στο τσάι με τα SNPs που επιδρούν στον καρκίνο του παχέος εντέρου.



Σχήμα 69: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.



Σχήμα 70: Funnel plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP.

Όμοια για τους **καρκίνους στο κόλον, δεξί κόλον, αριστερό κόλον και ορθό** δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της κατανάλωσης τσαγιού. Στα σχήματα (71,72,73,74) τα αντίστοιχα forest plot των υπότυπων του καρκίνου.



Σχήμα 71:
Forest plot
των

εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



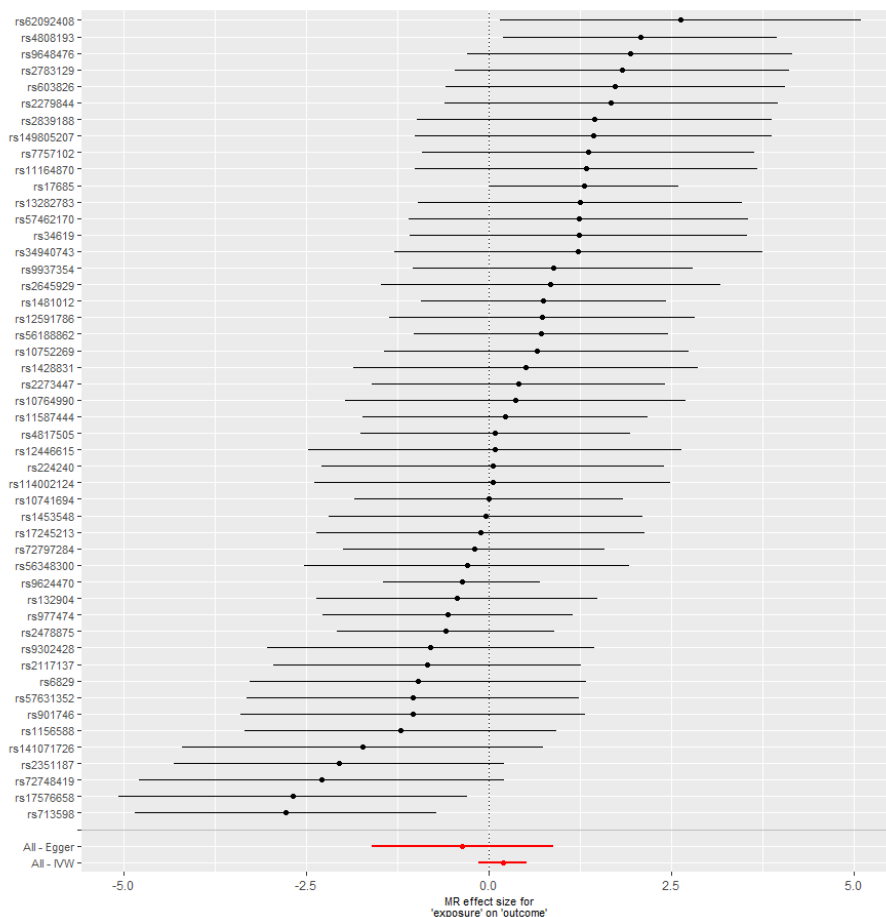
Σχήμα 72:
Forest plot
των

εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.



Σχήμα 73:
Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη

πλειοτροπίας.



Σχήμα 74:
Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP όπου βλέπουμε ότι οι

εκτιμήσεις δεν είναι γύρω από την ολική εκτίμηση που αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας.

Πίνακας 16: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης τσαγιού στις 5 εκβάσεις.

49 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	0.98	1.10	0.82	1.18	0.85937
	Random-effects IVW	0.98	1.12	0.79	1.22	0.87838
	MR-Egger slope	0.66	1.51	0.29	1.49	0.31581
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.99	1.02	0.31811
	Simple median	1.02	1.16	0.76	1.36	0.92009
	Weighted median	1.01	1.16	0.76	1.34	0.94619
	Weighted mode	1.06	1.35	0.59	1.90	0.83457
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	0.93	1.12	0.75	1.17	0.5486694
	Random-effects IVW	0.93	1.14	0.72	1.20	0.5959375
	MR-Egger slope	0.73	1.64	0.28	1.91	0.5200589
	MR-Egger Intercept	1.00	1.01	0.99	1.02	0.6015458
	Simple median	0.82	1.19	0.59	1.15	0.2513371
	Weighted median	0.82	1.19	0.59	1.14	0.2478385
	Weighted mode	0.63	1.37	0.34	1.15	0.1329154
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	1.07	1.16	0.80	1.43	0.63875
	Random-effects IVW	1.07	1.16	0.80	1.43	0.63875
	MR-Egger slope	1.01	1.75	0.34	3.02	0.98637
	MR-Egger Intercept	1.00	1.01	0.98	1.02	0.91117
	Simple median	1.05	1.24	0.69	1.62	0.81026

	Weighted median	1.08	1.25	0.70	1.67	0.72227
	Weighted mode	0.87	1.56	0.36	2.08	0.75268
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	0.94	1.16	0.70	1.26	0.6605765
	Random-effects IVW	0.94	1.19	0.67	1.32	0.7024141
	MR-Egger slope	0.58	1.93	0.16	2.11	0.4073010
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.99	1.03	0.4503514
	Simple median	1.06	1.26	0.67	1.68	0.7998113
	Weighted median	0.999	1.26	0.64	1.56	0.9965180
	Weighted mode	1.26	1.58	0.51	3.07	0.6191738
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	1.21	1.16	0.90	1.62	0.201611
	Random-effects IVW	1.21	1.18	0.87	1.68	0.257282
	MR-Egger slope	0.70	1.88	0.20	2.42	0.569565
	MR-Egger Intercept	1.01	1.01	0.99	1.03	0.368191
	Simple median	1.25	1.25	0.80	1.94	0.329138
	Weighted median	1.09	1.25	0.70	1.69	0.701849
	Weighted mode	0.92	1.60	0.36	2.30	0.852020

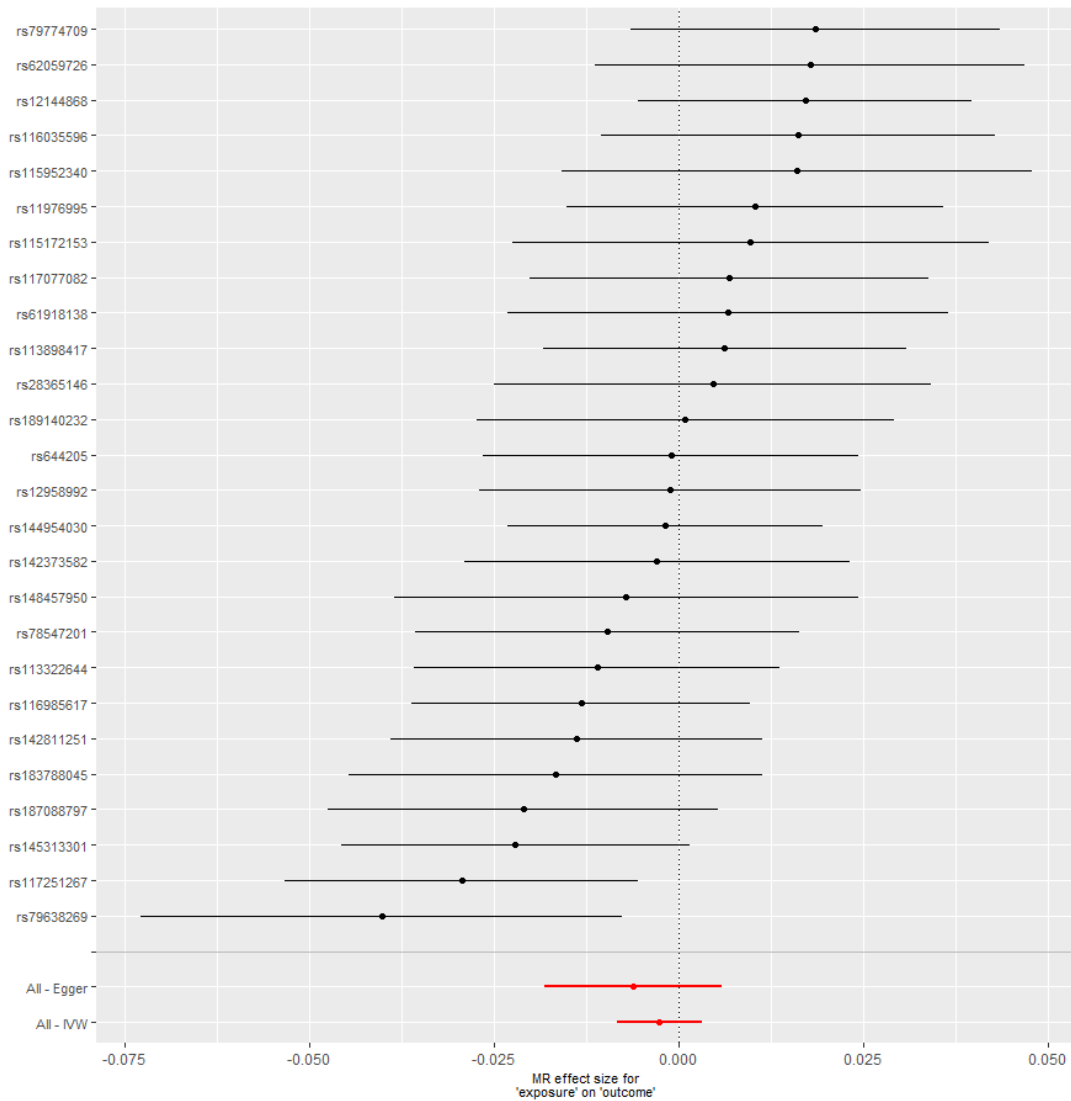
Πίνακας 17: Ετερογένεια των SNPs του τσαγιού στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		I^2_{GX}
	IVW	MR-Egger	
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.057457	0.059174	37.4%
Καρκίνος στο κόλον	0.09256623	0.08177203	36%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.7060351	0.6693084	36.3%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.06726930	0.06298565	35.9%
Καρκίνος στο ορθό	0.09870847	0.09719038	37%

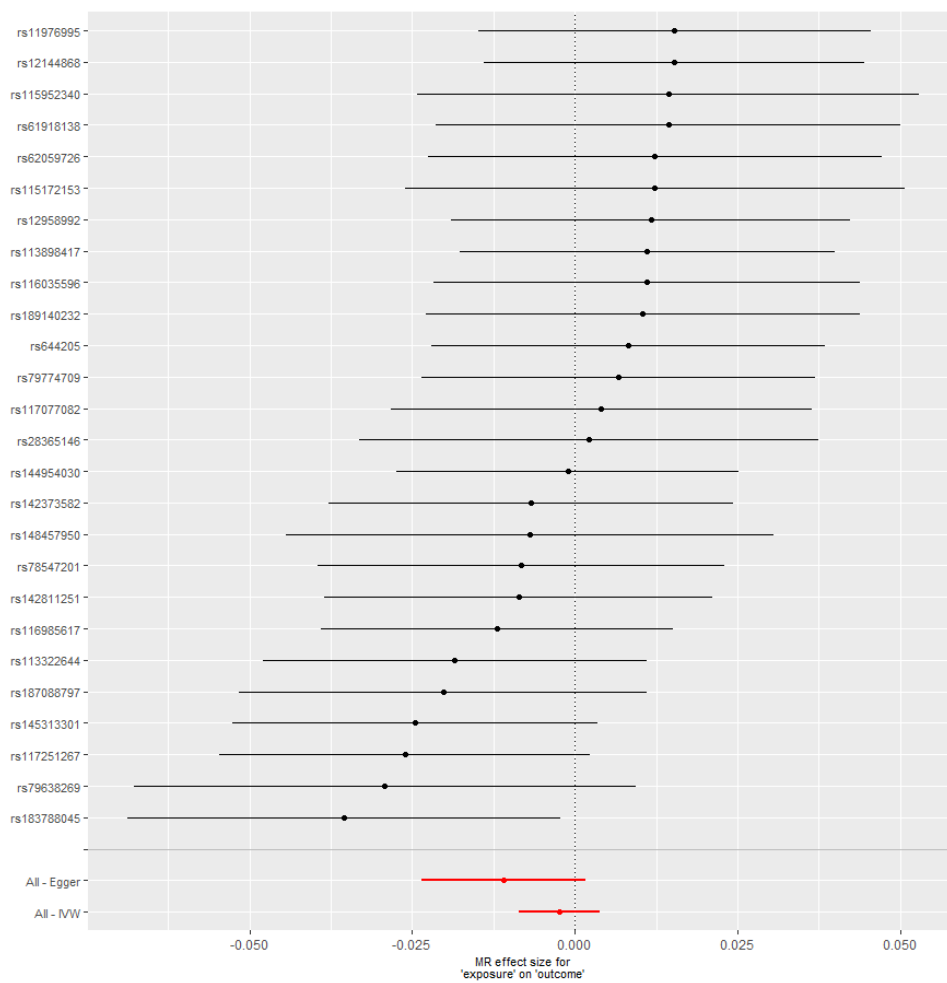
3.9 Πράσινο Τσάι

Για τη μεταβλητή χρησιμοποιήθηκαν 26 SNPs, είναι συνεχής και μετρά ανά επιπλέον ένα φλιτζάνι ανά ημέρα τη μεταβολή του κινδύνου για καρκίνο συνολικά και ανά περιοχή. Στην προκειμένη περίπτωση προκύπτει ότι όλες οι μέθοδοι δίνουν ουσιαστικά απουσία σχέσης πράσινου τσαγιού με όλους τους καρκίνους που εξετάζουμε καθώς όλα τα ORs συγκλίνουν οριακά στο 1 και μη στατιστικά σημαντικά (Πίνακας 18). Αμφότερες οι μέθοδοι των MR-Egger και IVW δίνουν μη στατιστικά σημαντική ετερογένεια σε κάθε έκβαση. Κατ'έπекταση θα μπορούσαμε να εμπιστευτούμε τις εκτιμήσεις των IVW fixed. Με βάση την τιμή του $I^2=0\%<90\%$ μπορούμε να πούμε ότι το αποτέλεσμα της μεθόδου MR-Egger δεν είναι ακριβές σε

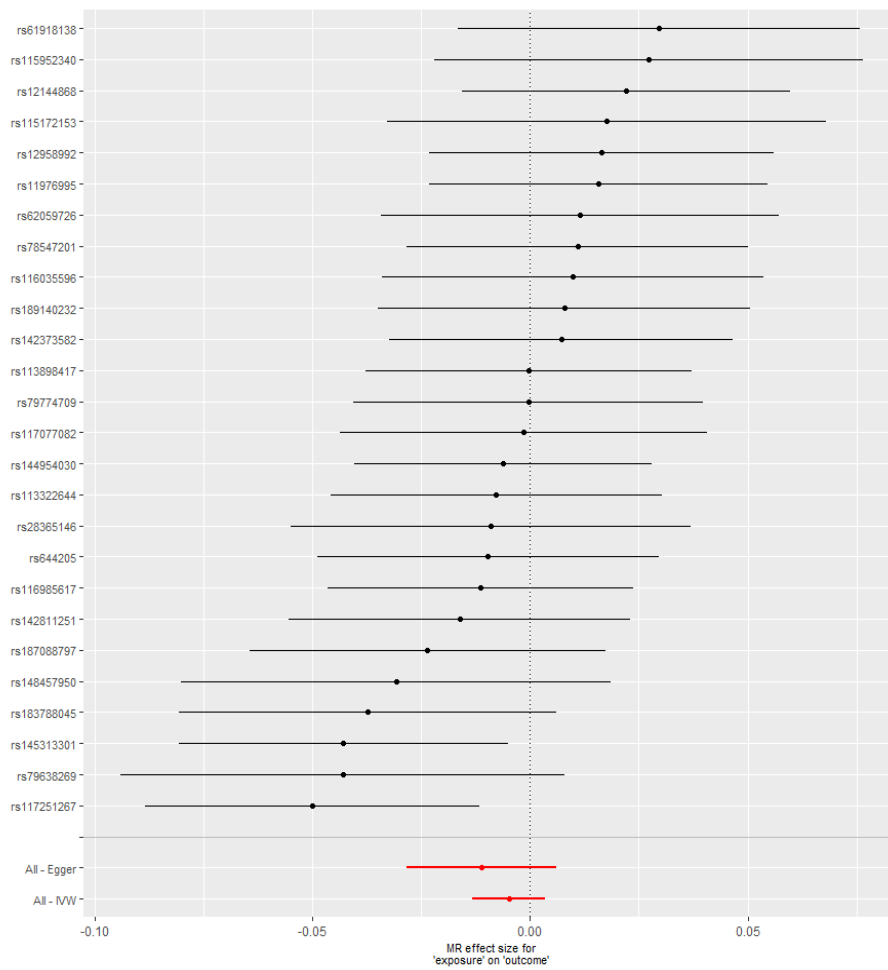
κάθε έκβαση (Πίνακας 19). Μέσω των forest plot σε κάθε έκβαση βλέπουμε ότι οι εκτιμήσεις και στις δύο μεθόδους είναι γύρω από την ολική εκτίμηση. (Σχήματα 75,76,77,78,79). Με τη σειρά της, η MR-PRESSO δεν εντόπισε κάποιο outlier SNP σε καμία από τις εκβάσεις (Global Test: p -value>0.05 με H_0 την έλλειψη οριζόντιας πλειοτροπίας).



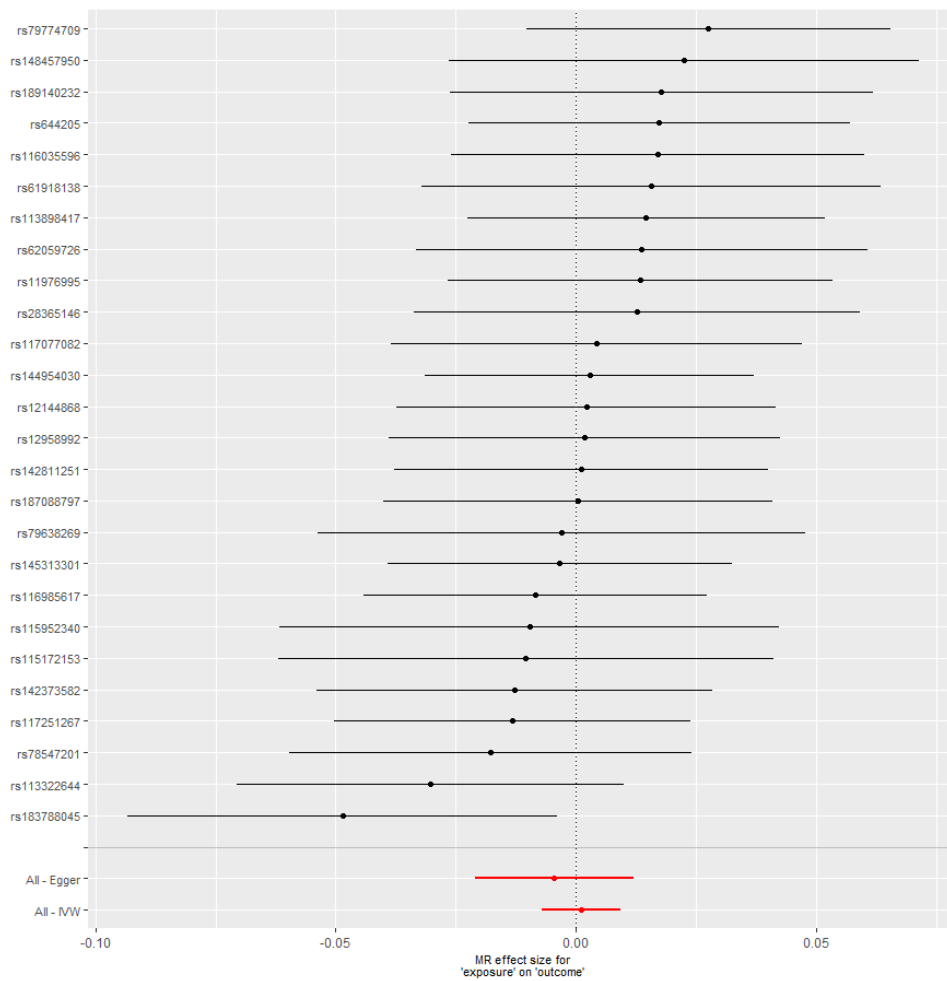
Σχήμα 75: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP στον καρκίνο του παχέος εντέρου.



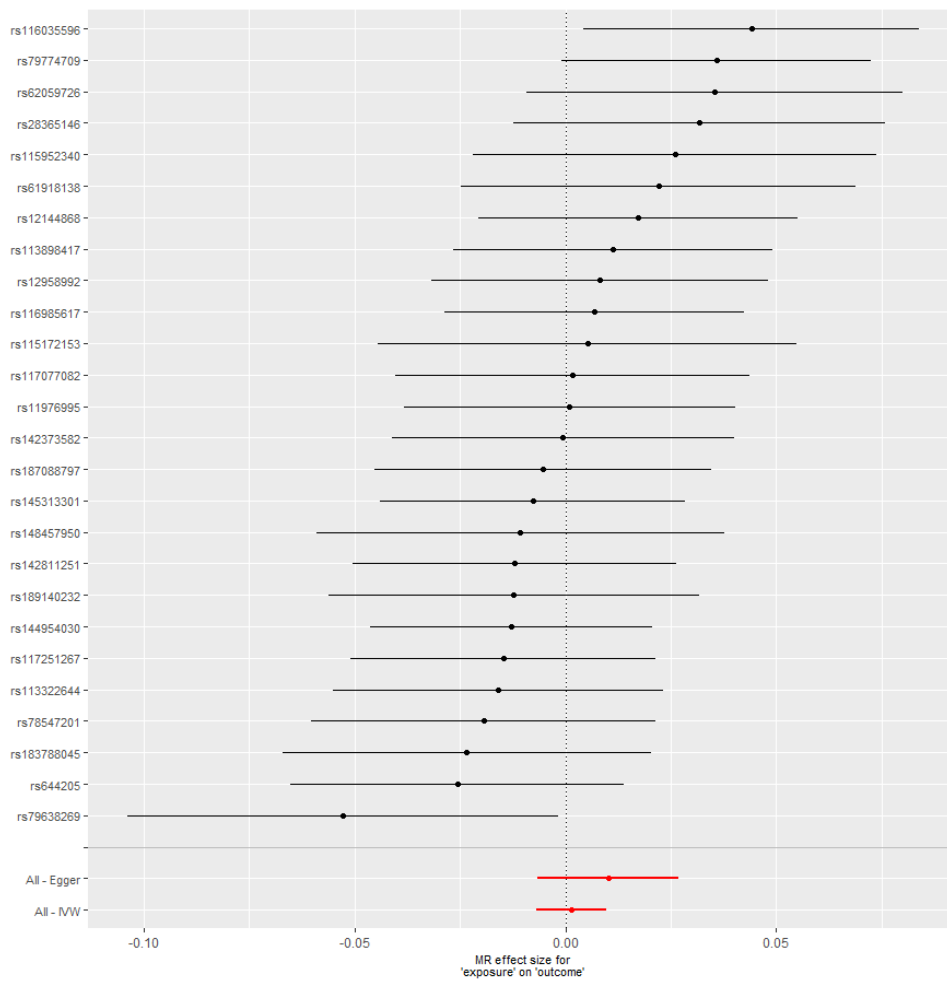
Σχήμα 76: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP στον καρκίνο στο κόλον.



Σχήμα 77: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP στον καρκίνο στο δεξί κόλον.



Σχήμα 78: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP στον καρκίνο στο αριστερό κόλον.



Σχήμα 79: Forest plot των εκτιμήσεων του καθενός SNP στον καρκίνο του ορθού.

Πίνακας 18: Αποτελέσματα ανάλυσης επίδρασης πράσινου τσαγιού στις 5 εκβάσεις.

26 SNPs	Μέθοδος	OR	Τυπική Απόκλιση	95% ΔΕ		p-value
Έκβαση						
Καρκίνος παχέος εντέρου	Fixed-effects IVW	0.9973	1.0026	0.992252068	1.00252099	0.3166507
	Random-effects IVW	0.9973	1.0029	0.991604428	1.00317576	0.374187437
	MR-Egger slope	0.9939	1.0061	0.981987299	1.005843005	0.3132066
	MR-Egger Intercept	1.0102	1.0153	0.980399196	1.040879605	0.506885753
	Simple median	0.9989	1.00388	0.991317048	1.006478337	0.770076873
	Weighted median	0.9987	1.00391	0.991051217	1.006320877	0.730415293
	Weighted mode	1.0012	1.00811	0.985470083	1.017162451	0.8828249
Καρκίνος στο κόλον	Fixed-effects IVW	0.9976	1.00316	0.9914405	1.0037668	0.442963496
	Random-effects IVW	0.9976	1.00316	0.9914405	1.0037668	0.442963496
	MR-Egger slope	0.9891	1.00646	0.9766539	1.001608	0.08720705
	MR-Egger Intercept	1.0248	1.01612	0.9931597	1.057406	0.12583746
	Simple median	1.0031	1.00446	0.9944026	1.0119088	0.484456304
	Weighted median	1.0015	1.004499	0.9926901	1.0103140	0.744648076
	Weighted mode	1.01002	1.00924	0.9919928	1.028394	0.2777022
Καρκίνος στο δεξί κόλον	Fixed-effects IVW	0.9952	1.004112	0.9872543	1.0032610	0.243423322
	Random-effects IVW	0.9952	1.004274	0.9869414	1.0035790	0.261758120
	MR-Egger slope	0.98889	1.00882	0.9720294	1.006057	0.2033624
	MR-Egger Intercept	1.0183	1.02199	0.9757904	1.062629	0.4047795
	Simple median	0.9991	1.005813	0.9878166	1.0105183	0.876956050
	Weighted median	0.9986	1.005898	0.9871635	1.0101818	0.812519882
	Weighted mode	0.99991	1.01075	0.9791633	1.021092	0.9931137
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	Fixed-effects IVW	1.00104	1.00416	0.9929434	1.0092197	0.800541029
	Random-effects IVW	1.00105	1.00416	0.9929434	1.0092197	0.800541029
	MR-Egger slope	0.99549	1.00845	0.9792093	1.012040	0.5909973
	MR-Egger Intercept	1.01608	1.02118	0.975177	1.058693	0.4467419
	Simple median	1.00196	1.005601	0.9910466	1.0129838	0.72655764
	Weighted median	1.00194	1.005645	0.9909508	1.0130593	0.730074303
	Weighted mode	1.00229	1.01043	0.9821026	1.022885	0.8258354
Καρκίνος στο ορθό	Fixed-effects IVW	1.00138	1.00407	0.9934403	1.0093766	0.734701276
	Random-effects IVW	1.00138	1.00421	0.9931573	1.0096642	0.743544879
	MR-Egger slope	1.01016	1.00856	0.9934278	1.027176	0.2355209
	MR-Egger Intercept	0.97523	1.02157	0.9352792	1.016884	0.2398318
	Simple median	1.00019	1.005831	0.9888599	1.0116564	0.973492952
	Weighted median	0.99973	1.005857	0.9883551	1.0112417	0.963516619
	Weighted mode	0.99129	1.01085	0.9705525	1.012486	0.4179485

Πίνακας 19: Ετερογένεια των SNPs του πράσινου τσαγιού στις 5 εκβάσεις.

	Cochran's Q test p-value		
	IVW	MR-Egger	I^2_{GX}
Καρκίνος παχέος εντέρου	0.165566	0.1489	0%
Καρκίνος στο κόλον	0.5479741	0.6290296	0%
Καρκίνος στο δεξί κόλον	0.3554192	0.3405948	0%
Καρκίνος στο αριστερό κόλον	0.9233779	0.9170655	0%
Καρκίνος στο ορθό	0.3648058	0.3862781	0%

4.Συζήτηση

4.1 Γενικό συμπέρασμα

Συμπερασματικά, σε αυτή τη μελέτη Μενδελιανής Τυχαιοποίησης για τη συσχέτιση 9 διατροφικών παραγόντων με τον ολικό καρκίνο του παχέος εντέρου καθώς και κατά ανατομική εντόπιση παρατηρήθηκε πιθανή προστατευτική σχέση της πρόσληψης λιπαρών ψαριών με τον καρκίνο παχέος εντέρου. Οι περισσότερες αναλυτικές μέθοδοι συντέιναν σε αυτό το εύρημα, αλλά αρκετά SNPs για την πρόσληψη λιπαρών ψαριών ήταν πλειοτροπικά. Επίσης, παρατηρήθηκε μια πιθανή υποστήριξη για προστατευτική σχέση της κατανάλωσης δημητριακών στον ολικό καρκίνο του παχέος εντέρου αλλά και τον καρκίνο του ορθού. Αυτή η συσχέτιση ερχόταν σε συμφωνία με κάποιες από τις αναλύσεις ευαισθησίας που έγιναν. Δεν παρατηρήθηκε σχέση για κάποιον άλλο διατροφικό παράγοντα.

4.2 Συμπεράσματα ανά παράγοντα και σύγκριση με βιβλιογραφία

4.2.1 Δημητριακά

Για τα **δημητριακά** υπήρξε πιθανή υποστήριξη για προστατευτική σχέση σε κάποιες από τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, στον καρκίνο του παχέος εντέρου παρατηρήθηκε μια οριακά μη στατιστικά σημαντική προστατευτική σχέση των δημητριακών με $OR=0.75$, 95% Δ.Ε.=(0.55-1.01), για τους καρκίνους σε κόλον, δεξί κόλον και αριστερό κόλον δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με $OR=0.86$, 95% Δ.Ε.=(0.63-1.16), $OR=0.97$, 95% Δ.Ε.=(0.71-1.33), $OR=0.73$, 95% Δ.Ε.=(0.47-1.14) αντίστοιχα ενώ για τον καρκίνο του ορθού παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα καθώς βρέθηκε προστατευτική συσχέτιση των δημητριακών με $OR=0.59$, 95% Δ.Ε.=(0.38-0.89). Ετερογένεια σημειώθηκε στις περισσότερες εκβάσεις (εκτός του δεξιού κόλου) ενώ τα SNPs rs11670024 στον ολικό καρκίνο παχέος εντέρου, στο κόλον, στο αριστερό κόλον και στο ορθό και rs12523398 στον ολικό καρκίνο και στο αριστερό κόλον σχετίστηκαν με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά το οποίο αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας και κατ'επέκταση παραβίασης των προϋποθέσεων της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Με την αφαίρεση των άνωθεν SNPs, μέσω της διαδικασίας της MR-PRESSO, δεν άλλαξαν οι εκτιμήσεις των σχέσεων. Από βιολογικής πλευράς, Τα ολικής αλέσεως, που είναι κατηγορία των δημητριακών, είναι πηγή διαιτητικών ινών, οι οποίες μπορεί να μειώσουν τον κίνδυνο καρκίνου του παχέος εντέρου μέσω της σύνθεσης λιπαρών οξέων μικρής αλυσίδας των εντερικών μικροβίων. Επίσης, είναι μια πλούσια πηγή διαφόρων βιοδραστικών ενώσεων όπως βιταμίνη E, σελήνιο, φυτοοιστρογόνα και φαινολικές ενώσεις. Πολλές από αυτές τις ενώσεις, που βρίσκονται σε μεγάλο βαθμό στο πίτουρο έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, πολλά φαινολικά οξέα έχουν αποδειχθεί σε πειραματικές μελέτες ότι ενισχύουν την αντιοξειδωτική δράση. Με βάση τη βιβλιογραφία, σε μια συστηματική ανασκόπηση

για κατανάλωση 90 γρ./ημέρα κατηγορίας δημητριακών προέκυψαν τα εξής: Από 6 μελέτες για τον καρκίνο του παχέος εντέρου κι από 4 για τον καρκίνο του κόλου παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντικά προστατευτική σχέση με $RR=0.83$, 95% $\Delta E=(0.79-0.89)$ και $RR=0.82$, 95% $\Delta E=(0.73-0.92)$ αντίστοιχα ενώ από 3 μελέτες για τον καρκίνο του ορθού δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση καθώς παρατηρήθηκε ένα $RR=0.82$ με 95% $\Delta E=(0.57-1.16)$ (Norat, Teresa., Vierira, A.R., Chan, Doris., Aune, Dagfinn., Abar, Leila., Navarro, Deborah., Vingeliene, Snieguole., Thompson, 2013).

4.2.2 Φρέσκα φρούτα

Για τα **φρέσκα φρούτα** δε φαίνεται να υπάρχει σχέση για εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου καθώς και για τους υπότυπους του. Συγκεκριμένα, έχουμε ότι ο ολικός καρκίνος παχέος εντέρου δίνει $OR=0.84$, 95% $\Delta E=(0.58-1.20)$, ο καρκίνος στο κόλον $OR=0.69$, 95% $\Delta E=(0.45-1.07)$, ο καρκίνος στο δεξί κόλον $OR=0.79$, 95% $\Delta E=(0.45-1.39)$ και ο καρκίνος στο ορθό $OR=0.90$, 95% $\Delta E=(0.54-1.51)$. Για τον καρκίνο στο αριστερό κόλον παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική εκτίμηση ($OR=0.58$, 95% $\Delta E=(0.37-0.89)$) αλλά δεν υπήρξε συμφωνία με τις εκτιμήσεις των αναλύσεων ευαισθησίας. Με βάση τη βιβλιογραφία, σε μια συστηματική ανασκόπηση για κατανάλωση 100 γρ./ημέρα φρούτων παρατηρήθηκε απουσία σχέσης με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, σε 13 μελέτες παρατηρήθηκε ένα $RR=0.96$, 95% $\Delta E=(0.93-1.00)$, για τον καρκίνο στο κόλον ένα $RR=0.98$, 95% $\Delta E=(0.96-1.01)$ και για τον καρκίνο στο ορθό ένα $RR=0.98$, 95% $\Delta E=(0.93-1.03)$ (Norat, Teresa., Vierira, A.R., Chan, Doris., Aune, Dagfinn., Abar, Leila., Navarro, Deborah., Vingeliene, Snieguole., Thompson, 2013).

4.2.3 Επεξεργασμένο κρέας

Για το **επεξεργασμένο κρέας** δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, προέκυψε ότι ο ολικός καρκίνος παχέος εντέρου δίνει $OR=1.14$, 95% $\Delta E=(0.83-1.58)$, ο καρκίνος στο κόλον $OR=1.24$, 95% $\Delta E=(0.90-1.70)$, ο καρκίνος στο δεξί κόλον $OR=1.23$, 95% $\Delta E=(0.82-1.86)$, ο καρκίνος στο αριστερό κόλον $OR=1.03$, 95% $\Delta E=(0.68-1.57)$ και ο καρκίνος στο ορθό $OR=0.88$, 95% $\Delta E=(0.59-1.33)$. Με βάση τη βιβλιογραφία δεν έχουμε συμφωνία των αποτελεσμάτων. Συγκεκριμένα, σε μια συστηματική ανασκόπηση σε μελέτες κοορτών έδειξε ότι για 50 γρ./ημέρα υπάρχει επιβαρυντική σχέση του επεξεργασμένου κρέατος στους καρκίνους. Ειδικότερα, σε 12 μελέτες κοορτών έχουμε στατιστικά σημαντικά επιβαρυντική συσχέτιση για καρκίνο του παχέος εντέρου ($RR=1.15$, 95% $\Delta E=(1.07-1.24)$, $p\text{-value}<0.01$), 12 μελέτες κοορτών έδειξαν στατιστικά σημαντικά επιβαρυντική συσχέτιση για καρκίνο του κόλου ($RR=1.21$, 95% $\Delta E=(1.13-1.31)$, $p\text{-value}<0.01$), 6 μελέτες κοορτών έδειξαν μη στατιστικά σημαντικά επιβαρυντική συσχέτιση για καρκίνο του δεξιού κόλου ($RR=1.06$,

95%Δ.Ε.=(0.92-1.23), p-value=0.39), 6 μελέτες κοορτών έδειξαν στατιστικά σημαντικά επιβαρυντική συσχέτιση για καρκίνο του αριστερού κόλου (RR=1.34, 95%Δ.Ε.=(1.15-1.56), p-value<0.01) και 10 μελέτες κοορτών έδειξαν μη στατιστικά σημαντικά επιβαρυντική συσχέτιση για καρκίνο του δεξιού κόλου (RR=1.17, 95%Δ.Ε.=(0.99-1.38), p-value=0.06) (Zhao *et al.*, 2019).

4.2.4 Πουλερικά

Για τα **πουλερικά** δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, προέκυψε ότι ο ολικός καρκίνος παχέος εντέρου δίνει OR=1.62, 95% Δ.Ε.=(0.75-3.53), ο καρκίνος στο κόλον OR=1.26, 95% Δ.Ε.=(0.54-2.97), ο καρκίνος στο δεξί κόλον OR=0.96, 95% Δ.Ε.=(0.33-2.82), ο καρκίνος στο αριστερό κόλον OR=1.37, 95% Δ.Ε.=(0.42-4.45) ενώ έχουμε στατιστικά σημαντική εκτίμηση για τον καρκίνο στο ορθό αλλά με μεγάλη αβεβαιότητα λόγω του ευρέος διαστήματος εμπιστοσύνης (OR=2.24, 95% Δ.Ε.=(1.01-4.94)). Με βάση τη βιβλιογραφία έχουμε συμφωνία των αποτελεσμάτων καθώς σε μια συστηματική ανασκόπηση παρατηρήθηκε μη στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ πουλερικών και των καρκίνων. Συγκεκριμένα, 7 μελέτες κοορτών έδειξαν μη στατιστικά σημαντικά προστατευτική συσχέτιση για καρκίνο του παχέος εντέρου ανά 100γρ./ημέρα (RR=0.81, 95% Δ.Ε.=(0.53-1.25), $I^2=48%$, p-value heterogeneity=0.05), 10 μελέτες κοορτών έδειξαν μη στατιστικά σημαντικά προστατευτική συσχέτιση για τον καρκίνο στο κόλον (RR=0.83, 95% Δ.Ε.=(0.63-1.11), $I^2=35%$, p-value heterogeneity=0.08) και για τον καρκίνο στο ορθό 6 μελέτες κοορτών έδειξαν μη στατιστικά σημαντικά προστατευτική συσχέτιση (RR=0.86, 95% Δ.Ε.=(0.72-1.01), $I^2=0%$, p-value heterogeneity=0.96). Για τους καρκίνους σε δεξί και αριστερό κόλον 4 μελέτες έδειξαν έλλειψη σχέσης (Vieira *et al.*, 2017).

4.2.5 Λιπαρά ψάρια

Για τα **λιπαρά ψάρια** φαίνεται πως υπάρχει προστατευτική σχέση απέναντι στον καρκίνο του παχέος εντέρου καθώς και κατά ανατομική εντόπιση. Συγκεκριμένα, προέκυψε ότι ο ολικός καρκίνος παχέος εντέρου δίνει OR=0.73, 95% Δ.Ε.=(0.58-0.92), ο καρκίνος στο κόλον OR=0.70, 95% Δ.Ε.=(0.54-0.91), ο καρκίνος στο αριστερό κόλον OR=0.63, 95% Δ.Ε.=(0.46-0.85) και ο καρκίνος στο ορθό OR=0.70, 95% Δ.Ε.=(0.51-0.95) ενώ η εκτίμηση για τον καρκίνο στο δεξί κόλον ήταν οριακά μη στατιστικά σημαντική με OR=0.74, 95% Δ.Ε.=(0.53-1.04). Σε κάθε έκβαση υπήρχε στατιστικά σημαντική ετερογένεια ενώ τα SNPs rs703987 στον ολικό καρκίνο παχέος εντέρου, στο κόλον, στο δεξί κόλον και στο ορθό, rs7683782 στον ολικό καρκίνο, στο κόλον και στο δεξί κόλον και rs17050031 στο κόλον και στο δεξί κόλον σχετίστηκαν με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά το οποίο αποτελεί ένδειξη πλειοτροπίας κατ'επέκταση παραβίασης των προϋποθέσεων της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Με την αφαίρεση των άνωθεν SNPs, μέσω της διαδικασίας της MR-PRESSO, δεν άλλαξαν οι εκτιμήσεις των σχέσεων. Από βιολογικής πλευράς, πειραματικές μελέτες υποδεικνύουν ότι τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας n-3 (n-3

polyunsaturated fatty acids [PUFA]) που εντοπίζονται σε ψάρια, όπως το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (eicosapentaenoic acid [EPA]) και το εικοσιεξανοϊκό οξύ (docosahexaenoic acid [DHA]), καταστέλλουν την ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου (Tsai *et al.*, 1998; Larsson *et al.*, 2004),(Larsson *et al.*, 2004). Όσον αφορά τη βιβλιογραφία, δεν υπήρχε συμφωνία των αποτελεσμάτων καθώς δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των λιπαρών ψαριών με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, από συγκεντρωτική ανάλυση 7 μελετών κοορτών ανά 50 γρ./μέρα παρατηρήθηκε στον καρκίνο του παχέος εντέρου RR=0.89, 95% ΔΕ=(0.70–1.13), στον καρκίνο του κόλου RR=0.82, 95% ΔΕ= (0.61–1.11) και στον καρκίνο του ορθού RR=0.99 95% ΔΕ= (0.68–1.44) (Norat, Teresa., Vierira, A.R., Chan, Doris., Aune, Dagfinn., Abar, Leila., Navarro, Deborah., Vingeliene, Snieguole., Thompson, 2013).

4.2.6 Μη λιπαρά ψάρια

Για τα **μη λιπαρά ψάρια** δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, προέκυψε ότι ο ολικός καρκίνος παχέος εντέρου δίνει OR=0.53, 95% Δ.Ε.=(0.25-1.13), ο καρκίνος στο κόλον OR=0.50, 95% Δ.Ε.=(0.19-1.29), ο καρκίνος στο δεξί κόλον OR=0.51, 95% Δ.Ε.=(0.23-1.13), ο καρκίνος στο αριστερό κόλον OR=0.55, 95% Δ.Ε.=(0.15-1.95) και ο καρκίνος στο ορθό OR=0.70, 95% Δ.Ε.=(0.32-1.57). Τα SNPs rs4318925 σε ολικό καρκίνο και αριστερό κόλον και rs6957745 σε κόλον σχετίστηκαν με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά. Με βάση τη βιβλιογραφία έχουμε συμφωνία των αποτελεσμάτων καθώς δε σχετίστηκαν με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, από την ίδια συγκεντρωτική ανάλυση 7 μελετών με τα λιπαρά ψάρια, ανά 50 γρ./μέρα, παρατηρήθηκε στον καρκίνο του παχέος εντέρου RR=0.92, 95% ΔΕ=(0.70–1.21), στον καρκίνο του κόλου RR=0.84, 95% ΔΕ= (0.59–1.19) και στον καρκίνο του ορθού RR=1.12, 95% ΔΕ= (0.70–1.81) (Norat, Teresa., Vierira, A.R., Chan, Doris., Aune, Dagfinn., Abar, Leila., Navarro, Deborah., Vingeliene, Snieguole., Thompson, 2013).

4.2.7 Τυρί

Για το **τυρί** δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, προέκυψε ότι ο ολικός καρκίνος παχέος εντέρου δίνει OR=0.87, 95% Δ.Ε.=(0.72-1.04), ο καρκίνος στο κόλον OR=0.84, 95% Δ.Ε.=(0.69-1.04), ο καρκίνος στο δεξί κόλον OR=0.93, 95% Δ.Ε.=(0.74-1.17), ο καρκίνος στο αριστερό κόλον OR=0.81, 95% Δ.Ε.=(0.64-1.03) και ο καρκίνος στο ορθό OR=0.97, 95% Δ.Ε.=(0.73-1.29). Με βάση τη βιβλιογραφία έχουμε συμφωνία των αποτελεσμάτων καθώς από 7 μελέτες κοορτών έχουμε ότι η κατανάλωση 50γρ. τυρί/ημέρα δε σχετίστηκε με καρκίνο του παχέος εντέρου (RR=0.94, 95% Δ.Ε.=(0.87-1.02), $I^2=10\%$, p-value heterogeneity=0.36) και σε 6 μελέτες κοορτών με καρκίνο στο κόλον (RR=0.91, 95% Δ.Ε.=(0.80-1.03), $I^2=19\%$, p-value heterogeneity=0.29) ενώ για καρκίνο στο ορθό η συσχέτιση ήταν οριακά μη στατιστικά σημαντική από 4 μελέτες κοορτών (RR=0.95, 95% Δ.Ε.=(0.90-1.00), $I^2=0\%$, p-value heterogeneity=0.96)(Vieira *et al.*, 2017).

4.2.8 Τσάι

Για το **τσάι** δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση με τις εκβάσεις. Συγκεκριμένα, προέκυψε ότι ο ολικός καρκίνος παχέος εντέρου δίνει $OR=0.98$, 95% Δ.Ε.=(0.82-1.18), ο καρκίνος στο κόλον $OR=0.93$, 95% Δ.Ε.=(0.75-1.17), ο καρκίνος στο δεξί κόλον $OR=1.07$, 95% Δ.Ε.=(0.80-1.43), ο καρκίνος στο αριστερό κόλον $OR=0.94$, 95% Δ.Ε.=(0.70-1.26) και ο καρκίνος στο ορθό $OR=1.21$, 95% Δ.Ε.=(0.90-1.62). Με βάση τη βιβλιογραφία έχουμε συμφωνία των αποτελεσμάτων καθώς δε σχετίστηκε με τον καρκίνο. Συγκεκριμένα, για καρκίνο του παχέος εντέρου από 8 μελέτες όπου για 1 φλιτζάνι/ημέρα είχαμε $RR=0.99$ (95% Δ.Ε.=(0.97-1.01), $I^2=26\%$, p-value heterogeneity=0.23), για καρκίνο στο κόλον από 6 μελέτες $RR=0.99$ (95% Δ.Ε.=(0.94-1.03), $I^2=75\%$, p-value heterogeneity<0.001), για καρκίνο του ορθού από 9 μελέτες $RR=0.99$ (95% Δ.Ε.=(0.97-1.02), $I^2=0\%$, p-value heterogeneity=0.49), για καρκίνο στο εγγύτατο από 4 μελέτες $RR=1.02$ (95% Δ.Ε.=(0.99-1.05), $I^2=0\%$, p-value heterogeneity=0.74) και για καρκίνο στο απομακρυσμένο από 4 μελέτες $RR=1.07$ (95% Δ.Ε.=(0.97-1.05), $I^2=25\%$, p-value heterogeneity=0.26) (Vieira *et al.*, 2017).

4.2.9 Πράσινο τσάι

Για το **πράσινο τσάι** παρατηρήθηκε απουσία σχέσης με τον ολικό καρκίνο του παχέος εντέρου καθώς και κατά σημείο του με όλα τα OR να είναι στο 1 και μη στατιστικά σημαντικά. Με βάση τη βιβλιογραφία, έχουμε συμφωνία των αποτελεσμάτων καθώς δε σχετίστηκε με τον καρκίνο. Συγκεκριμένα, για καρκίνο του παχέος εντέρου από συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση 5 μελετών για 1 φλιτζάνι/ημέρα είχαμε $RR=0.99$, 95% Δ.Ε.=(0.97-1.01) και από μετα-ανάλυση 6 μελετών για καρκίνο στο κόλον ένα $RR=0.97$, 95% Δ.Ε.=(0.91-1.03) (Norat, Teresa., Vierira, A.R., Chan, Doris., Aune, Dagfinn., Abar, Leila., Navarro, Deborah., Vingeliene, Snieguole., Thompson, 2013).

4.3 Πλεονεκτήματα μελέτης

Στα πλεονεκτήματα αυτής της μελέτης είναι ότι μέσω της Μενδελιανής Τυχαιοποίησης προσπαθούμε να αποδώσουμε πιθανή αιτιότητα στη σχέση διατροφικών παραγόντων με τον καρκίνο του παχέος εντέρου εάν και εφόσον οι παραδοχές της μεθόδου πληρούνται. Δεν υπάρχει τρόπος απόδειξης ότι οι παραδοχές πληρούνται, αλλά κάναμε αρκετές αναλύσεις ευαισθησίας για την εξέταση αυτών. Μέθοδοι όπως η MR-Egger ή η MRPRESSO είναι ενδεικτικές για να μας κάνουν να παρατηρήσουμε ενδεχόμενη πλειοτροπία. Οι πιο συνηθισμένες μελέτες είναι παρατήρησης που μόνο συσχέτιση μπορεί να αποδώσουν στη ζητούμενη σχέση κι όχι την απαιτούμενη αιτιότητα. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της μελέτης είναι ότι εφαρμόστηκε Μενδελιανή τυχαιοποίηση από δύο δείγματα. Δεν καταγράφουν όλες οι GWAS δεδομένα για μεγάλο αριθμό φαινοτυπικών μεταβλητών. Ως εκ τούτου, ενδέχεται γενετικές συσχετίσεις με τους παράγοντες

κινδύνου και τις εκβάσεις να μην είναι διαθέσιμες στο ίδιο δείγμα. Στην παρούσα μελέτη αντλήθηκαν δεδομένα από τις μεγαλύτερες διαθέσιμες GWAS τόσο για τους διατροφικούς παράγοντες από την UK Biobank όσο και για τις εκβάσεις από το συνασπισμό του GECCO.

4.4 Περιορισμοί μελέτης

Όσον αφορά τους περιορισμούς της μελέτης, ο βασικός είναι ότι στους περισσότερους διατροφικούς παράγοντες εντοπίζουμε ετερογένεια και κατ'επέκταση ενδεχόμενη οριζόντια πλειοτροπία και αυτό αποτελεί παραβίαση της προϋπόθεσης της Μενδελιανής Τυχαιοποίησης που θέλει όλη η επίδραση των SNPs στον καρκίνο του παχέος εντέρου να περνά μέσω των διατροφικών παραγόντων και όχι μέσω άλλου μονοπατιού. Πολλά SNPs εντοπίσαμε να σχετίζονται με δευτερεύοντα χαρακτηριστικά που κάνουν επισφαλή την ανωτέρω προϋπόθεση. Σε γενικά πλαίσια, εμφανίζεται δυσκολία στην ανεύρεση γονιδιακών πολυμορφισμών που σχετίζονται με διατροφική πρόσληψη. Οι τροφές είναι ένας παράγοντας που είναι δύσκολο να οριστεί στο τι ακριβώς προκαλεί στον οργανισμό. Η εύρεση αρκετών SNPs που κρίθηκαν ως πλειοτροπικά, κάνει πιο σημαντική τη λεπτομερή ανάλυση και μελέτη πολυμορφισμών που θα σχετίζονται με πιο συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Επιπρόσθετα, ο μικρός αριθμός των SNPs σε κάθε διατροφικό παράγοντα ίσως οδηγήσει σε μη αξιόπιστα αποτελέσματα και κατ'επέκταση να μη γίνει σωστά η αξιολόγηση των προϋποθέσεων της ΜΤ. Επιπλέον, στους περισσότερους διατροφικούς παράγοντες η εκτίμηση της συσχέτισης δε συμφωνούσε είτε ως προς την ένταση της συσχέτισης αλλά και αρκετές φορές και ως προς την κατεύθυνση με τις εκτιμήσεις των μεθόδων των αναλύσεων ευαισθησίας. Ένας ακόμα περιορισμός της μελέτης βρίσκεται στο γεγονός ότι στη σχέση των SNPs με τους διατροφικούς παράγοντες, τα δεδομένα για τους δεύτερους πάρθηκαν μέσω ερωτηματολογίων που όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή το σφάλμα ανάκλησης είναι ένας βασικός παράγοντας μεροληψίας της μελέτης.

4.5 Τελικό συμπέρασμα

Εν κατακλείδι, πραγματοποιήσαμε μια μελέτη Μενδελιανής Τυχαιοποίησης περιληπτικών δεδομένων από δύο δείγματα για τη σχέση διατροφικών παραγόντων στον καρκίνο του παχέος εντέρου συνολικά αλλά και σε περιοχές του. Τα ευρήματα έδειξαν πιθανή προστατευτική σχέση της κατανάλωσης λιπαρών ψαριών με τον ολικό καρκίνο του παχέος εντέρου και κατά ανατομική περιοχή και επίσης πιθανή προστατευτική σχέση της κατανάλωσης δημητριακών για ολικό καρκίνο παχέος εντέρου αλλά κυρίως του ορθού. Παρόλα αυτά, δεν μπορούμε να αποφανθούμε με σιγουριά για την πιθανή αιτιότητα των σχέσεων λόγω εύρεσης πλειοτροπικής δράσης των γονιδιακών πολυμορφισμών που χρησιμοποιήθηκαν. Περαιτέρω

μελέτες πρέπει να πραγματοποιηθούν στο μέλλον ώστε να επιβεβαιωθούν αυτά τα ευρήματα και να καταλήξουν σε πιο στιβαρά αποτελέσματα. Μελλοντικές μελέτες θα μπορούσαν να επικεντρωθούν με μεγαλύτερη λεπτομέρεια στη διερεύνηση της λειτουργίας όλων των SNPs που αξιοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη για κάθε διατροφικό παράγοντα, ώστε να εστιάσουμε μόνο σε αυτά που ενδεχομένως λειτουργούν μέσω της κατανάλωσης των τροφίμων καθώς υπάρχουν ενδείξεις ότι κάποιοι από τους πολυμορφισμούς που χρησιμοποιήθηκαν σχετίζονται με την αίσθηση της γεύσης και της όσφρησης το οποίο οδηγεί στο ενδεχόμενο ορισμένοι άνθρωποι να έχουν διαφορετική σχετική αίσθηση όταν λαμβάνουν συγκεκριμένες τροφές που μπορεί να τους «υποχρεώνει» να τις καταναλώνουν λιγότερο ή περισσότερο συχνά. Τέλος, μια άλλη μέθοδος που θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε νέα μελέτη είναι η πολυμεταβλητή Μενδελιανή τυχαιοποίηση ώστε να εκτιμηθεί η ανεξάρτητη αιτιακή επίδραση κάθε παράγοντα κινδύνου στο συγκεκριμένο καρκίνο.

Περίληψη

Εισαγωγή: Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι ο τρίτος πιο διαδεδομένος καρκίνος παγκοσμίως απαριθμώντας πάνω από 1.2 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και 600.000 θανάτους ανά έτος. Ορισμένα χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με τη διατροφή είναι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για τον καρκίνο του παχέος εντέρου ενώ για την πλειοψηφία των διατροφικών παραγόντων, οι ενδείξεις ήταν είτε ασαφείς είτε περιορισμένες. Τα περισσότερα στοιχεία σχετικά με τη διατροφή και τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου προκύπτουν από μελέτες παρατήρησης. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να ξεπεραστούν οι περιορισμοί αυτών των μελετών με τη χρήση της μεθόδου της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Εκτιμήθηκαν συσχετίσεις μεταξύ των γενετικά καθορισμένων προσλήψεων διατροφικών παραγόντων και του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου. Διεξήχθησαν αναλύσεις για τους ακόλουθους διατροφικούς παράγοντες: δημητριακά, φρέσκα φρούτα, επεξεργασμένο κρέας, πουλερικά, λιπαρά ψάρια, μη λιπαρά ψάρια, τυρί, τσάι και πράσινο τσάι.

Μέθοδος: Πραγματοποιήθηκε μελέτη Μενδελιανής τυχαιοποίησης δύο δειγμάτων με τη χρήση περιληπτικών δεδομένων. Τα δεδομένα για τη σχέση των SNPs με τον καρκίνο του παχέος εντέρου αντλήθηκαν από 58,221 ασθενείς και 67,694 μάρτυρες από τη GECCO. Οι διατροφικοί παράγοντες επιλέχθηκαν από το World Cancer Research Fund (WCRF) Continuous Update Project (CUP) και τα περιληπτικά δεδομένα για τη σχέση τους με τα SNPs προήλθαν από GWAS της UK Biobank. Εφαρμόστηκε η μέθοδος Inverse Variance Weighted (IVW) για την εκτίμηση της αιτιακής σχέσης και πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις ευαισθησίας (simple median, weighted median, MR-Egger, weighted mode, MR-PRESSO) για τον έλεγχο των παραδοχών της Μενδελιανής τυχαιοποίησης. Επιπρόσθετα, διεξήχθησαν αναλύσεις ανά υπότυπο του καρκίνου του παχέος εντέρου (κόλον, δεξί κόλον, αριστερό κόλον και ορθό).

Αποτελέσματα: Η γενετικά καθορισμένη κατανάλωση λιπαρών ψαριών συσχετίστηκε με 27% χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου (Odds Ratio [OR]=0.73, 95% Διάστημα Εμπιστοσύνης [ΔΕ]=(0.58-0.92)), 30% χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του κόλου (OR=0.70, 95% ΔΕ=(0.54-0.91)) και 37% χαμηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του αριστερού κόλου (OR=0.63, 95% ΔΕ=(0.46-0.85)). Επίσης, παρατηρήθηκε προστατευτική επίδραση της γενετικά καθορισμένης κατανάλωσης δημητριακών στον καρκίνο του ορθού (OR=0.59, 95% ΔΕ=(0.38-0.89)), ενώ οριακής στατιστικής σημαντικότητας προστατευτική συσχέτιση παρατηρήθηκε για τον ολικό καρκίνο παχέος εντέρου (OR=0.75, 95% ΔΕ=(0.55-1.01)). Προστατευτική επίδραση παρατηρήθηκε και για τη γενετικά καθορισμένη κατανάλωση φρέσκων φρούτων με τον καρκίνο του αριστερού κόλου (OR=0.58, 95% ΔΕ=(0.37-0.89)) χωρίς όμως να ενισχύεται από τις εκτιμήσεις των αναλύσεων

ευαισθησίας. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση των υπόλοιπων διατροφικών παραγόντων με τον καρκίνο του παχέος εντέρου.

Συμπεράσματα: Τα ευρήματα έδειξαν πιθανή προστατευτική επίδραση των λιπαρών ψαριών στον ολικό καρκίνο του παχέος εντέρου, το ολικό κόλον και το αριστερό κόλον και ήπια προστατευτική των δημητριακών με τον ολικό καρκίνο του παχέος εντέρου και τον καρκίνο του ορθού. Παρόλα αυτά, δεν μπορούμε να αποφανθούμε με σιγουριά αιτιότητα λόγω πιθανής ύπαρξης πλειοτροπίας. Περαιτέρω μελέτες πρέπει να πραγματοποιηθούν στο μέλλον ώστε να επιβεβαιωθούν αυτά τα ευρήματα και να καταλήξουν σε στιβαρά αποτελέσματα.

Abstract

Background: Colorectal cancer is the third most common type of cancer worldwide with over one million new cases and 600,000 deaths each year. Several nutrition-related characteristics are well-established risk factors of colorectal cancer but for the vast majority of dietary factors the evidence was either inconclusive or limited. Most of the evidence regarding diet and risk of cancer occurrence emerges from observational studies. The aim of this study is to overcome their inherent limitations using the Mendelian randomization (MR) approach. Associations were estimated between genetically determined intakes of dietary factors and risk of colorectal cancer. We run analyses for the following dietary factors: cereals, fresh fruits, processed meat, poultry, oily fish, non-oily fish, cheese, tea and green tea.

Methods: A two-sample MR study was conducted using summary data. Data for the association between the selected SNPs and risk of colorectal cancer were retrieved from 58,221 cases and 67,694 controls from GECCO. Diet factors were selected from World Cancer Research Fund (WCRF) Continuous Update Project (CUP) and summary data of their association with the SNPs stemmed from GWAS from the UK Biobank. Inverse Variance Weighted (IVW) method was implemented for the assessment of potential causality and sensitivity analyses (simple median, weighted median, MR-Egger weighted mode, MR-PRESSO) were performed to secure the non-violation of the MR assumptions. Subgroup analyses were conducted according to cancer anatomical distribution (colon, distal colon, proximal colon and rectal cancer).

Results: One standard deviation (SD: highest vs lowest consumption) higher genetically determined consumption of oily fish was associated with a 27% (Odds Ratio [OR]= 0.73, 95% Confidence Interval [CI]=(0.58 -0.92), 30% (OR=0.70, 95% CI=0.54 -0.91)) and 37% (OR= 0.63, 95% CI=(0.46 -0.85)) lower risk of colorectal, colon and distal colon cancer, respectively. An inverse association was observed for a SD higher genetically determined consumption of cereals and rectal cancer (OR=0.59, 95% CI=(0.38-0.89)). A suggestive inverse association was observed for a SD higher genetically determined consumption of cereals with overall colorectal cancer (OR= 0.75, 95% CI=(0.55-1.01)). A suggestive inverse association was observed for a SD higher genetically determined consumption of fresh fruits with distal cancer (OR= 0.58, 95% CI=(0.37-0.89)) but was not robust to sensitivity analyses. There was no evidence that any of the other dietary factors were associated with colorectal cancer.

Conclusions: There was an inverse association between oily fish and colorectal cancer, colon cancer and distal colon cancer. A suggestive inverse association was observed between cereals and both colorectal and rectal cancer. However, strong

evidence cannot be proven due to potential pleiotropy. Further work is required to replicate and strengthen these findings.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Boffetta, P. *et al.* (2008) 'False-positive results in cancer epidemiology: A plea for epistemological modesty', *Journal of the National Cancer Institute*, 100(14), pp. 988–995. doi: 10.1093/jnci/djn191.
- Bowden, J., Fabiola Del Greco, M., *et al.* (2016) 'Assessing the suitability of summary data for two-sample mendelian randomization analyses using MR-Egger regression: The role of the I² statistic', *International Journal of Epidemiology*, 45(6), pp. 1961–1974. doi: 10.1093/ije/dyw220.
- Bowden, J., Davey Smith, G., *et al.* (2016) 'Consistent Estimation in Mendelian Randomization with Some Invalid Instruments Using a Weighted Median Estimator', *Genetic Epidemiology*, 40(4), pp. 304–314. doi: 10.1002/gepi.21965.
- Bowden, J., Smith, G. D. and Burgess, S. (2015) 'Mendelian randomization with invalid instruments: Effect estimation and bias detection through Egger regression', *International Journal of Epidemiology*, 44(2), pp. 512–525. doi: 10.1093/ije/dyv080.
- Boyle, T. *et al.* (2012) 'Physical activity and risks of proximal and distal colon cancers: A systematic review and meta-analysis', *Journal of the National Cancer Institute*, 104(20), pp. 1548–1561. doi: 10.1093/jnci/djs354.
- Burgess, S. *et al.* (2015) 'Using published data in Mendelian randomization: A blueprint for efficient identification of causal risk factors', *European Journal of Epidemiology*, 30(7), pp. 543–552. doi: 10.1007/s10654-015-0011-z.
- Burgess, S. and Bowden, J. (2015) 'INTEGRATING SUMMARIZED DATA FROM MULTIPLE'.
- Burgess, S., Butterworth, A. and Thompson, S. G. (2013) 'Mendelian randomization analysis with multiple genetic variants using summarized data', *Genetic Epidemiology*, 37(7), pp. 658–665. doi: 10.1002/gepi.21758.
- Dekker, E. *et al.* (2019) 'Colorectal cancer', pp. 1467–1480.
- Demidenko, E. (2007) 'Sample size determination for logistic regression revisited', (December 2006), pp. 3385–3397. doi: 10.1002/sim.
- Hartwig, F. P. *et al.* (2017) 'Two-sample Mendelian randomization : avoiding the downsides of a powerful , widely applicable but potentially fallible technique', pp. 1717–1726. doi: 10.1093/ije/dyx028.
- Hartwig, F. P., Smith, G. D. and Bowden, J. (2017) 'Robust inference in summary data Mendelian randomization via the zero modal pleiotropy assumption', *International Journal of Epidemiology*, 46(6), pp. 1985–1998. doi: 10.1093/ije/dyx102.
- Hemani, G. *et al.* (2018) 'The MR-Base platform supports systematic causal inference across the human phenome', pp. 1–29.
- Jemal, A., Smith, R. A. and Ward, E. (2009) 'Worldwide Variations in Colorectal

Cancer'. doi: 10.3322/caac.20038.Available.

Kristal, A. R., Peters, U. and Potter, J. D. (2005) 'Is It Time to Abandon the Food Frequency Questionnaire?', *14(December)*, pp. 2826–2829. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-editorial.

Larsson, S. C. *et al.* (2004) 'Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: A review of potential mechanisms', *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(6), pp. 935–945. doi: 10.1093/ajcn/79.6.935.

Ma, Y. *et al.* (2013) 'Obesity and Risk of Colorectal Cancer: A Systematic Review of Prospective Studies', *PLoS ONE*, 8(1). doi: 10.1371/journal.pone.0053916.

Norat, Teresa., Vierira, A.R., Chan, Doris., Aune, Dagfinn., Abar, Leila., Navarro, Deborah., Vingeliene, Snieguole., Thompson, R. (2013) 'World Cancer Research Fund International Systematic Literature Review The Associations between Food , Nutrition and Physical Activity and the Risk of Prostate Cancer', (September 2014), p. 762. Available at: <http://www.wcrf.org/sites/default/files/Prostate-Cancer-SLR-2014.pdf>.

Schatzkin, A. *et al.* (2009) 'Mendelian randomization: How it can - and cannot - help confirm causal relations between nutrition and cancer', *Cancer Prevention Research*, 2(2), pp. 104–113. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0070.

Schatzkin, A. and Kipnis, V. (2004) 'Could exposure assessment problems give us wrong answers to nutrition and cancer questions?', *Journal of the National Cancer Institute*, 96(21), pp. 1564–1565. doi: 10.1093/jnci/djh329.

Screening, C. C. (2006) 'Baglietto L, Jenkins MA, Severi G, et al. Measures of familial aggregation depend on definition of family history: meta-analysis for colorectal cancer. *J Clin Epidemiol*. 2006;59(2):114–124', *Lancet (London, England)*. Elsevier Ltd, 383(9927), pp. 1490–1502. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61649-9.

Siegel, R. *et al.* (2012) 'Cancer treatment and survivorship statistics, 2012', *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 62(4), pp. 220–241. doi: 10.3322/caac.21149.

Simon, G. (no date) *MENDELIAN RANDOMIZATION Methods for Using Genetic Variants Methods for Using*.

Testa, U., Pelosi, E. and Castelli, G. (2018) 'Colorectal Cancer: Genetic Abnormalities, Tumor Progression, Tumor Heterogeneity, Clonal Evolution and Tumor-Initiating Cells', *Medical Sciences*, 6(2), p. 31. doi: 10.3390/medsci6020031.

Tsai, W. S. *et al.* (1998) 'Inhibitory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on sigmoid colon cancer transformants', *Journal of Gastroenterology*, 33(2), pp. 206–212. doi: 10.1007/s005350050071.

Vieira, A. R. *et al.* (2017) 'Foods and beverages and colorectal cancer risk: A systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project', *Annals of Oncology*. Elsevier Masson SAS, 28(8), pp. 1788–1802. doi: 10.1093/annonc/mdx171.

Visscher, P. M. *et al.* (2012) 'Five Years of GWAS Discovery', *The American Journal of Human Genetics*. The American Society of Human Genetics, 90(1), pp. 7–24. doi: 10.1016/j.ajhg.2011.11.029.

World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research (2011) 'Continuous Update Project Report', *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer*. Available at: <http://www.wcrf.org/sites/default/files/Colorectal-Cancer-2011-Report.pdf>.

Zhao, Z. *et al.* (2019) 'Red and processed meat consumption and esophageal cancer risk: a systematic review and meta-analysis', *Clinical and Translational Oncology*, 8(47), pp. 83306–83314. doi: 10.1007/s12094-019-02157-0.