

Ο πολυμορφισμός C677T στο γονίδιο MTHFR αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη διαβητικής νεφροπάθειας: μία μεταανάλυση μελετών γενετικής συσχέτισης

Θ. Κουφάκης
Σ. Καρούς
Χ. Τρακατέλλη
Ε. Αγγελούδη
Μ. Γραμματίκη
Ε. Ράπτη
Π. Ζεμπεκάκης
Κ. Κώτσα

Περίληψη

Ο πολυμορφισμός MTHFR C677T σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα και έχει κατά καιρούς προταθεί ως παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη διαβητικής νεφροπάθειας (ΔΝ). Ωστόσο, οι μελέτες που εξέτασαν την παραπάνω σχέση στερούνταν επαρκούς ισχύος και παρήγαγαν αντιφατικά αποτελέσματα. Για τους λόγους αυτούς, διεξαγάγαμε μία μεταανάλυση των σχετικών μελετών. Αναζητήσαμε συστηματικά στη βάση δεδομένων Pubmed μελέτες που έχουν εξετάσει τη σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού MTHFR C677T και της ΔΝ. Υπολογίσθηκε ο γενικευμένος λόγος πιθανοτήτων (OR_G) με το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων και προσδιορίστηκε η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες. Η ποιότητα των μελετών ελέγχθηκε εξετάζοντας τη συμμόρφωση της γονοτυπικής κατανομής των μαρτύρων στην ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE). Διεξήχθησαν επιμέρους αναλύσεις για ασθενείς με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 (ΣΔ1) και 2 (ΣΔ2), για τους Καυκάσιους καθώς και για τις μελέτες σε HWE. Δεκαοχτώ μελέτες ασθενών μαρτύρων πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στη μεταανάλυση, παρέχοντας δεδομένα για συνολικά 2.450 ασθενείς και 3.131 μαρτυρες. Σε 12 μελέτες, η γονοτυπική κατανομή της ομάδας μαρτύρων ήταν σύμφωνη με το HWE. Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν εξαιρετικά υψηλή ($I^2=86%$). Συνολικά, ο πολυμορφισμός MTHFR C677T βρέθηκε να παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΝ (OR_G 1.63, 95% CI 1.212-2.206). Οι επιμέρους αναλύσεις παρήγαγαν επίσης σημαντικές συσχετίσεις σε ό,τι αφορά τους ασθενείς με ΣΔ1 (OR_G 1.84, 95% CI 1.009-3.382), τους ασθενείς με ΣΔ2 (OR_G 1.58, 95% CI 1.115-2.241) και τους Καυκάσιους (OR_G 1.32, 95% CI 1.004-1.754). Όταν αποκλείστηκαν από την ανάλυση οι μελέτες που δεν παρουσίαζαν συμμόρφωση στο HWE, η σχέση του πολυμορφισμού με τη ΔΝ παρέμεινε στατιστικά σημαντική (OR_G 1.59, 95% CI 1.055-2.394). Η παρούσα μεταανάλυση παρέχει ενδείξεις πως ο πολυμορφισμός C677T στο γονίδιο MTHFR αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔ1 και ΣΔ2. Περισσότερες μελέτες απαιτούνται προκειμένου να καταλήξουμε σε ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με το γενετικό υπόβαθρο της ΔΝ.

Τμήμα Ενδοκρινολογίας και
Μεταβολισμού – Διαβητολογικό
Κέντρο, Α' Παθολογική Κλινική
ΑΠΘ, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ,
Θεσσαλονίκη

Εισαγωγή

Η Διαβητική Νεφροπάθεια (ΔΝ) αποτελεί σοβαρή μικροαγγειακή επιπλοκή του Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 1 (ΣΔ1) και τύπου 2 (ΣΔ2) και ταυτόχρονα πρωτεύον αίτιο νεφρικής ανεπάρκειας τελικού σταδίου¹. Αποτελεί σύνθετη νοσολογική οντότητα, στην αιτιοπαθογένεια της οποίας συμβάλλουν πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις γενετικών και περιβαλλοντικών συνιστωσών².

Η αναγωγή του μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού (Methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) είναι ένα ένζυμο το οποίο παίζει κομβικό ρόλο στον μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης προς μεθειονίνη, καταλύοντας τη μετατροπή του 5,10-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού σε 5-μεθυλτετραϋδροφυλλικό. Στο γονίδιο της MTHFR, το οποίο εδράζεται στο χρωμόσωμα 1, απαντά –μεταξύ άλλων– ο πολυμορφισμός C677T (εξόνιο 4 στο κωδόνιο 222), στον οποίο η αντικατάσταση C>T στη θέση 677 οδηγεί σε αντικατάσταση της αλανίνης από βαλίνη³. Η ομοζυγωτία για το αλληλίο T σχετίζεται με μειωμένη ενεργότητα του ενζύμου και αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα⁴. Δεδομένου ότι υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης είναι τοξικά για το ενδοθήλιο⁵, η φορία του MTHFR C677T έχει συνδεθεί με πλήθος αγγειακών νοσημάτων, μεταξύ των οποίων η στεφανιαία νόσος και η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση⁶.

Μέχρι σήμερα, αρκετές μελέτες έχουν εξετάσει τη σχέση ανάμεσα στον πολυμορφισμό MTHFR C677T και τον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΝ, σε ασθενείς τόσο με ΣΔ1 όσο και με ΣΔ2. Ωστόσο, οι παραπάνω μελέτες στερούνταν επαρκούς ισχύος και παρήγαγαν αντιφατικά μεταξύ τους αποτελέσματα. Για τους λόγους αυτούς, προχωρήσαμε στη μεταανάλυση των διαθέσιμων μελετών, προκειμένου να αποσαφηνίσουμε τον ρόλο του MTHFR C677T στην αιτιοπαθογένεια της ΔΝ.

Μέθοδοι

Επιλογή των μελετών

Αναζητήσαμε συστηματικά στη βάση δεδομένων Pubmed μελέτες που εξέτασαν τη σχέση του πολυμορφισμού με τη ΔΝ, χρησιμοποιώντας ως κριτήρια αναζήτησης τους κάτωθι όρους: “MTHFR” or “Methylenetetrahydrofolate reductase” or “C677T” and “diabetic nephropathy”. Κατόπιν αρχικής επιλογής από τις διαθέσιμες περιλήψεις, οι μελέτες που

θεωρήθηκαν υποψήφιες διαβάστηκαν στο σύνολό τους, προκειμένου να διαπιστωθεί η καταλληλότητά τους για συμπερίληψη στη μεταανάλυση. Αναφορές περιπτώσεων, ανασκοπήσεις, άρθρα σύνταξης και επιστολές αποκλείστηκαν από την ανάλυση, καθώς και άρθρα γραμμένα σε άλλες γλώσσες πέραν της Αγγλικής.

Μελέτες ασθενών – μαρτύρων που παρείχαν την πλήρη γονοτυπική κατανομή διαβητικών ασθενών με μικρο- ή/και μακροαλβουμινουρία, ανεξαρτήτως της έκπτωσης του ρυθμού σπειροματικής διήθησης καθώς και διαβητικών μαρτύρων χωρίς ΔΝ, θεωρήθηκαν υποψήφιες για ένταξη στη μεταανάλυση.

Εξαγωγή δεδομένων

Από κάθε μελέτη εξάγονταν οι ακόλουθες πληροφορίες ενδιαφέροντος: πρώτος συγγραφέας, έτος δημοσίευσης, φυλετική προέλευση των συμμετεχόντων, τύπος διαβήτη, αριθμός και γονοτυπική κατανομή ασθενών και μαρτύρων. Οι πληροφορίες αυτές καταγράφονταν σε ειδικές φόρμες.

Μεταανάλυση

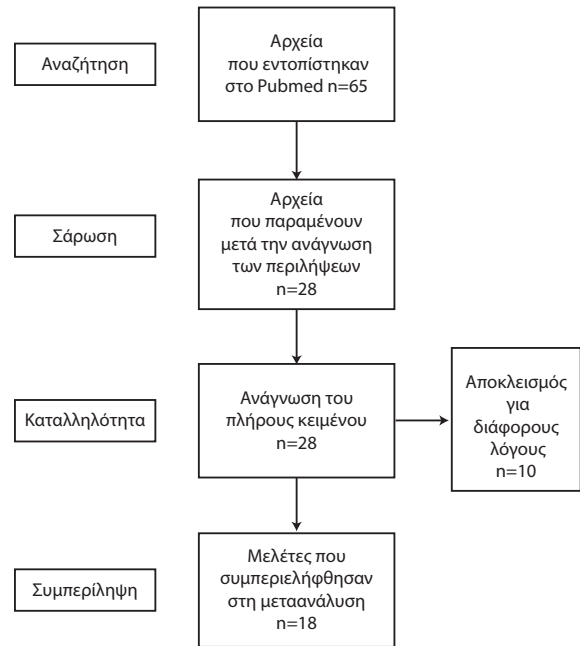
Η συσχέτιση ανάμεσα στον γονότυπο και τη ΔΝ εξετάστηκε με τον υπολογισμό του γενικευμένου λόγου πιθανοτήτων (Generalized Linear Odds Ratio / OR_G)⁷. Ο OR_G εκφράζει την πιθανότητα νόσησης ενός ατόμου, λαμβάνοντας υπ’ όψιν ότι οι ασθενείς έχουν μεγαλύτερο «μεταλλακτικό φορτίο» σε σχέση με τους υγιείς⁸. Ο OR_G υπολογίστηκε με το μοντέλο των τυχαίων επιδράσεων των DerSimonian και Laird⁹. Οι συσχετίσεις παρουσιάζονται ως λόγοι πιθανοτήτων με τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (CIs). Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες υπολογίστηκε με το στατιστικό μέτρο Cochran’s Q και αποτυπώθηκε με το μέτρο I², το οποίο λαμβάνει τιμές από 0 έως 100 %, με τις υψηλότερες τιμές να υποδηλώνουν μεγαλύτερη ετερογένεια¹⁰. Ο OR_G υπολογίστηκε με τη χρήση του λογισμικού ORGGASMA (<http://biomath.med.uth.gr>). Η ποιότητα των μελετών ελέγχθηκε εξετάζοντας τη συμμόρφωση της γονοτυπικής κατανομής των μαρτύρων στην ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE) με τη χρήση του Fisher’s exact test¹¹. Απόκλιση από το HWE είναι πιθανό να υποδηλώνει λάθη στη γονοτύπωση, διαστρωμάτωση πληθυσμού ή προκατάληψη στη διαδικασία επιλογής των μαρ-

τύρων¹². Τέλος, διεξήχθησαν επιμέρους αναλύσεις για ασθενείς με ΣΔ1 και ΣΔ2, για τους Κανκάσιους καθώς και αποκλειστικά για τις μελέτες σε HWE.

Αποτελέσματα

Μελέτες

Συνολικά εντοπίστηκαν 65 τίτλοι. Μετά την εφαρμογή των σχετικών κριτηρίων, 18 μελέτες κρίθηκαν κατάλληλες για να συμπεριληφθούν στην παρούσα μετα-ανάλυση¹³⁻²⁹. Η διαδικασία επιλογής των μελετών περιγράφεται στο **Διάγραμμα 1**. Τα βασικά χαρακτηριστικά των συμπεριληφθεισών μελετών, καθώς και η γονοτυπική κατανομή ασθενών και μαρτύρων, παρουσιάζονται στον **Πίνακα 1**. Οι εν λόγω μελέτες παρείχαν δεδομένα για συνολικά 2.450 ασθενείς με ΔΝ και 3.131 μάρτυρες. Σε 12 μελέτες, η γονοτυπική κατανομή της ομάδας μαρτύρων ήταν σύμφωνη με το HWE. Τέσσερις μελέτες συμπεριελάβαν ασθενείς με ΣΔ1 και 14 ασθενείς με ΣΔ2. Εννέα από τις 18 μελέτες αφορούσαν σε Κανκάσιους.

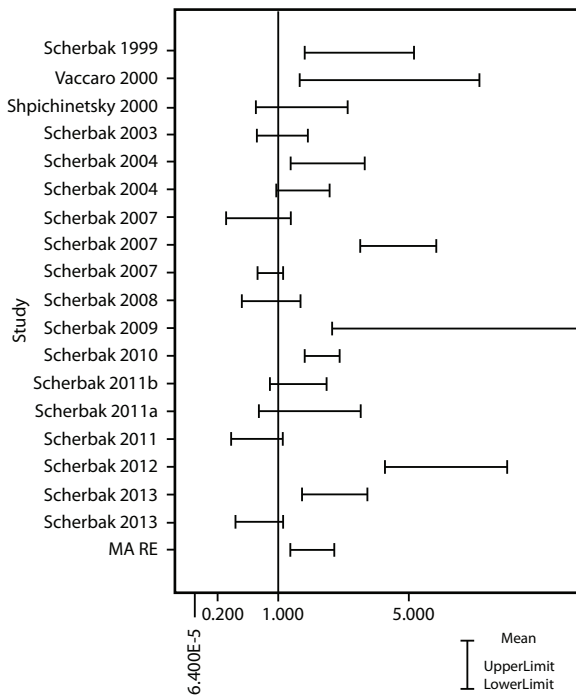


Διάγραμμα 1. Διάγραμμα ροής που περιγράφει τη διαδικασία επιλογής των μελετών που συμπεριελήφθησαν στη μεταανάλυση.

Πίνακας 1. Τα κύρια χαρακτηριστικά των μελετών που συμπεριελήφθησαν στη μεταανάλυση.

α/α	Ιος συγγραφέας, έτος (β/α)	Φυλετική Προέλευση	Τύπος Διαβήτη	Ασθενείς (n)	Μάρτυρες (n)	Συμμόρφωση στο HWE	Ασθενείς			Μάρτυρες		
							TT	CT	CC	TT	CT	CC
1	Shcherbak, 1999 (13)	Κανκάσιοι	ΣΔ1	51	91	Ναι	11	21	19	5	29	56
2	Shpichinetsky, 2000 (14)	Κανκάσιοι	ΣΔ2	55	43	Ναι	10	22	23	6	16	21
3	Vaccaro, 2000 (15)	Κανκάσιοι	ΣΔ1	20	46	Ναι	10	6	4	6	20	20
4	Makita, 2003 (16)	Κανκάσιοι	ΣΔ1	88	310	Ναι	13	35	40	32	143	135
5	Ksiazek, 2004 (17)	Κανκάσιοι	ΣΔ2	171	155	Ναι	29	65	77	15	58	82
6	Sun, 2004 (18)	Ασιάτες	ΣΔ2	124	96	Όχι	26	53	45	16	23	57
7	Mitraoui, 2007 (19)	Άραβες	ΣΔ2	93	267	Όχι	26	56	11	36	79	152
8	Boger, 2007 (20)	Κανκάσιοι	ΣΔ2	439	476	Ναι	32	219	188	58	221	197
9	Eroglu, 2007 (21)	Τούρκοι	ΣΔ2	47	56	Ναι	1	20	26	6	25	25
10	Maeda, 2008 (22)	Ασιάτες	ΣΔ2	72	87	Όχι	15	25	32	10	51	26
11	Ukinc, 2009 (23)	Τούρκοι	ΣΔ2	22	30	Ναι	0	16	6	0	8	22
12	Nemr, 2010 (24)	Άραβες	ΣΔ2	476	637	Όχι	78	162	236	41	186	410
13	Zsom, 2011a (25)	Κανκάσιοι	ΣΔ1	21	200	Όχι	2	11	8	24	72	104
14	Zsom, 2011b (25)	Κανκάσιοι	ΣΔ2	93	200	Όχι	10	44	39	24	72	104
15	Movva, 2011 (26)	Ινδοί	ΣΔ2	136	100	Ναι	0	30	106	0	32	68
16	El-Baz, 2012 (27)	Άραβες	ΣΔ2	102	100	Ναι	24	46	32	3	19	78
17	Kumar, 2013 (28)	Ινδοί	ΣΔ2	407	185	Ναι	18	129	260	3	35	147
18	Tomic, 2013 (29)	Κανκάσιοι	ΣΔ2	33	52	Ναι	5	15	13	11	22	19

α/α: αύξων αριθμός, β/α: βιβλιογραφική αναφορά, ΣΔ1: Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 1, ΣΔ2: Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2, HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium



Διάγραμμα 2. Διάγραμμα τύπου forest plot στο οποίο αποτυπώνονται οι λόγοι πιθανοτήτων των επιμέρους μελετών καθώς και ο συγκεντρωτικός λόγος πιθανοτήτων (MA RE = Meta-analysis Random Effects).

Συνολική Ανάλυση

Η ετερογένεια ανάμεσα στις μελέτες ήταν εξαιρετικά υψηλή ($I^2=86\%$). Ο πολυμορφισμός MTHFR C677T βρέθηκε να παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο ανάπτυξης ΔΝ ($OR_G 1.63, 95\% CI 1.212-2.206$) (Διάγραμμα 2).

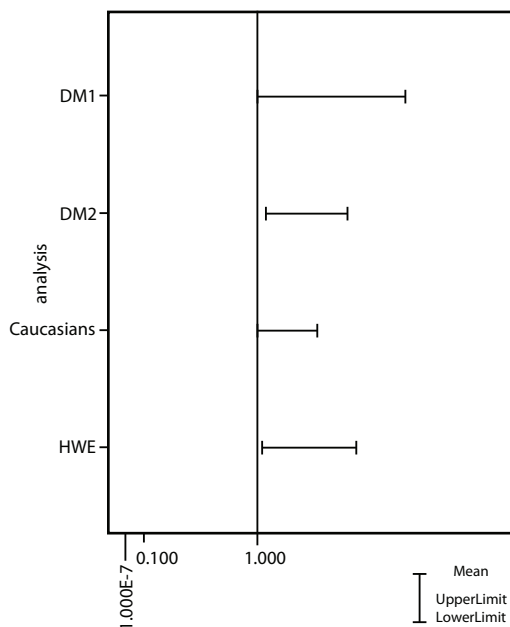
Επιμέρους αναλύσεις

Οι επιμέρους αναλύσεις παρήγαγαν επίσης σημαντικές συσχετίσεις σε ό,τι αφορά τους ασθενείς με ΣΔ1 ($OR_G 1.84, 95\% CI 1.009-3.382$), τους ασθενείς με ΣΔ2 ($OR_G 1.58, 95\% CI 1.115-2.241$) και τους Καυκάσιους ($OR_G 1.32, 95\% CI 1.004-1.754$). Όταν αποκλείστηκαν από την ανάλυση οι μελέτες που δεν παρουσίαζαν συμμόρφωση στο HWE, η σχέση του πολυμορφισμού με τη ΔΝ παρέμεινε στατιστικά σημαντική ($OR_G 1.59, 95\% CI 1.055-2.394$) (Διάγραμμα 3).

Συζήτηση

Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί προκειμένου να ερμηνεύσουν τον τρόπο με τον οποίο η υπερομοκυστεϊναιμία προάγει αθηροσκληρωτικές και θρομβωτικές διαδικασίες. Υπάρχουν ενδείξεις πως υψηλά επίπεδα ομοκυστεϊνης αυξάνουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα³⁰, ενώ παράλληλα ενισχύουν την έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) σε κυτταρικές σειρές, μέσω ενεργοποίησης της μεταγραφής του γονιδίου του VEGF³¹. Ο VEGF είναι προ-αγγειογενετικός παράγοντας του οποίου ο δυνητικός ρόλος στην παθογένεια της ΔΝ έχει επισημανθεί από προηγούμενες μελέτες³². Κατά συνέπεια, η συσχέτιση του MTHFR C677T με τη ΔΝ θα μπορούσε να ερμηνευθεί στη βάση του ότι ο πολυμορφισμός αποτελεί γενετικό καθοριστή της υπερομοκυστεϊναιμίας.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μεταανάλυσης θα πρέπει να αναγνωστούν υπό το φως κάποιων περιορισμών. Για παράδειγμα, η συγκεκριμένη ανάλυση συμπεριέλαβε άρθρα δημοσιευμένα σε περιοδικά που καταχωρούνται στη βάση δεδομένων Pubmed. Είναι ωστόσο γνωστό ότι γενετικές μελέτες που καταδεικνύουν θετικές συσχετίσεις είναι πιθανότερο να δημοσιευτούν σε έγκυρα περιοδικά, σε αντίθεση με αρνητικές μελέτες που συχνότερα δημοσιεύονται σε περιοδικά που δεν ταξινο-



Διάγραμμα 3. Διάγραμμα τύπου forest plot στο οποίο αποτυπώνονται οι συγκεντρωτικοί λόγοι πιθανοτήτων των επιμέρους αναλύσεων για ασθενείς με ΣΔ1 και ΣΔ2, Καυκάσιους καθώς και για τις μελέτες σε HWE (DM1: Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1, DM2: Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2, HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium).

μούνται σε γνωστές βάσεις δεδομένων^{6,12}. Επιπλέον η παρούσα ανάλυση είναι δυνατό να έχασε αξιολογικά άρθρα, γραμμένα σε άλλες γλώσσες πλην της Αγγλικής.

Ιδανικά, ο ορισμός της ΔΝ θα έπρεπε να συμπεριλάβει αποκλειστικά ασθενείς με μακροαλβουμινουρία και όχι με μικροαλβουμινουρία, δεδομένου ότι η τελευταία μπορεί να αναστραφεί στην πορεία του ΣΔ². Από την άλλη, ένας τόσο «αυστηρός» ορισμός της ΔΝ θα περιορίζε δραματικά τον αριθμό των υποψηφίων προς ένταξη στη μεταανάλυση μελετών. Οι διαφορές στον ορισμό της ΔΝ στις επιμέρους μελέτες, η ποικίλη φυλετική προέλευση των συμμετεχόντων και η απόκλιση ορισμένων μελετών από το HWE, θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν την υψηλή ετερογένεια που διαπιστώθηκε ανάμεσα στις μελέτες.

Η ανάλυση ευαισθησίας με τη συμπεριληψη μόνο των «ποιοτικών» μελετών σε HWE, δεν ανέτρεψε το πρότυπο των αποτελεσμάτων, τα οποία διατήρησαν τη στατιστική τους σημαντικότητα. Ως εκ τούτου, θεωρείται απίθανο μελέτες ανεπαρκούς ποιότητας να αλλοίωσαν την εγκυρότητα της μεταανάλυσης.

Ενδιαφέρον σημείο στην ανάγνωση των αποτελεσμάτων αποτελεί το γεγονός ότι η σημαντικότητα της σχέσης πολυμορφισμού και ΔΝ διατηρήθηκε τόσο για τους ασθενείς με ΣΔ1 όσο και για αυτούς με ΣΔ2, υποδηλώνοντας κοινά παθογενετικά μονοπάτια στην ανάπτυξη της ΔΝ, ανεξάρτητα από τον τύπο του ΣΔ.

Συμπερασματικά, η παρούσα μεταανάλυση παρέχει ενδείξεις πως ο πολυμορφισμός C677T στο γονίδιο MTHFR αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη ΔΝ σε ασθενείς με ΣΔ1 και ΣΔ2. Ωστόσο, όπως συμβαίνει με όλα τα σύνθετα νοσήματα, πολλά μένουν να αποσαφηνιστούν σχετικά με τους μηχανισμούς που οδηγούν στη ΔΝ και ειδικότερα σε ό,τι αφορά τον τρόπο που γονίδια αλληλεπιδρούν με άλλα γονίδια αλλά και με το περιβάλλον. Περισσότερες και μεγαλύτερες μελέτες απαιτούνται προκειμένου να καταλήξουμε σε πιο ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με το γενετικό υπόβαθρο της ΔΝ.

Abstract

Koufakis Th, Karras S, Trakatelli Ch, Aggeloudi E, Grammatiki M, Rapti E, Zebekakis P, Kotsa K. MTHFR C677T polymorphism predisposes to the development of diabetic nephropathy: a meta-

analysis of genetic association studies. *Hellenic Diabetol Chron* 2018; 4: 209-215.

MTHFR C677T polymorphism – a genetic determinant of hyperhomocysteinemia – has been associated with an increased risk of developing Diabetic Nephropathy (DN). However, relevant studies were not adequately powered and produced conflicting and inconclusive results. For the above reasons, we proceeded to a meta-analysis of available evidence to shed some light on the relationship between MTHFR C677T and DN. Pubmed was systematically searched to identify relevant studies. The Generalized Odds Ratio (OR_G) was calculated with Random Effects Model, as well as the heterogeneity between studies. The quality of included studies was judged according to compliance of genotype distribution in controls with the Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE). Separate analyses were conducted for patients with Diabetes Mellitus Type 1 (DM1), Type 2 (DM2), for Caucasians and for studies in HWE. 18 studies were included in the meta-analysis, providing data for 2.450 cases and 3.131 controls. 12 studies were in HWE. The overall analysis produced a significant association between the polymorphism and DN (OR_G 1.63, 95% CI 1.212-2.206). The association remained significant for both DM1 (OR_G 1.84, 95% CI 1.009-3.382) and DM2 (OR_G 1.58, 95% CI 1.115-2.241) patients, for Caucasians (OR_G 1.32, 95% CI 1.004-1.754) and for studies in HWE (OR_G 1.59, 95% CI 1.055-2.394). In conclusion, the present meta-analysis provides evidence of significant relationship between MTHFR C677T and the risk of DN. More and larger studies are required, before reaching definite conclusions regarding the genetic background of DN.

Βιβλιογραφία

1. Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 2005; 28: 164-76.
2. Zintzaras E, Stefanidis I. Association between the GLUT1 gene polymorphism and the risk of diabetic nephropathy: a meta-analysis. *J Hum Genet* 2005; 50: 84-91.
3. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 1994; 7: 195-200.
4. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111-13.

5. Bostom AG, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH. Power shortage: clinical trials testing the “homocysteine hypothesis” against a background of folic acid-fortified cereal grain flour. *Ann Intern Med* 2001; 135: 133-37.
6. Zintzaras E, Koufakis T, Ziakas PD, Rodopoulou P, Giannoulis S, Voulgarelis M. A meta-analysis of genotypes and haplotypes of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Epidemiol* 2006; 21: 501-10.
7. Zintzaras E. The generalized odds ratio as a measure of genetic risk effect in the analysis and meta-analysis of association studies. *Stat Appl Genet Mol Biol* 2010; 9: article 21.
8. Zintzaras E. The power of generalized odds ratio in assessing association in genetic studies. *J Appl Stat* 2012; 39: 2569-81.
9. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7: 177-88.
10. Cochran WG. The combination of estimates from different experiments. *Biometrics* 1954; 10: 101-29.
11. Zintzaras E. Impact of Hardy-Weinberg equilibrium deviation on allele-based risk effect of genetic association studies and meta-analysis. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 553-60.
12. Zintzaras E, Lau J. Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches. *J Clin Epidemiol* 2008; 61: 634-45.
13. Shcherbak NS, Shutskaya ZV, Sheidina AM, Larionova VI, Schwartz CH. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism as a risk factor for diabetic nephropathy in IDDM patients. *Mol Genet Metab* 1999; 68: 375-8.
14. Shpichinetsky V, Raz I, Friedlander Y, Goldschmidt N, Wexler ID, Ben-Yehuda A, et al. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type II diabetic patients. *J Nutr* 2000; 130: 2493-7.
15. Vaccaro O, Perna AF, Mancini FP, Iovine C, Cuomo V, Sacco M, et al. Plasma homocysteine and microvascular complications in type 1 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10: 297-304.
16. Makita Y, Moczulski DK, Bochenski J, Smiles AM, Warram JH, Krolewski AS. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and susceptibility to diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 1189-94.
17. Ksiazek P, Bednarek-Skublewska A, Buraczynska M. The C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation and nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Med Sci Monit* 2004; 10: BR47-51.
18. Sun J, Xu Y, Zhu Y, Lu H. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for diabetic nephropathy in Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 64: 185-90.
19. Mitraoui N, Ezzidi I, Chaieb M, Marmouche H, Aouni Z, Chaieb A, et al. MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms and hyperhomocysteinemia as risk factors of diabetic nephropathy in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 75: 99-106.
20. Boger CA, Stubanus M, Haak T, Gotz AK, Christ J, Hoffmann U, et al. Effect of MTHFR C677T genotype on survival in type 2 diabetes patients with end-stage diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 154-62.
21. Eroglu Z, Erdogan M, Tetik A, Karadeniz M, Cetinalp S, Kosova B, et al. The relationship of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism in Turkish type 2 diabetic patients with and without nephropathy. *Diabetes Metab Res Rev* 2007; 23: 621-4.
22. Maeda M, Yamamoto I, Fukuda M, Motomura T, Nishida M, Nonen S, et al. MTHFR gene polymorphism is susceptible to diabetic retinopathy but not to diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications* 2008; 22: 119-25.
23. Ukinc K, Ersoz HO, Karahan C, Erem C, Eminagaoglu S, Hacıhasanoglu AB, et al. Methyltetrahydrofolate reductase C677T gene mutation and hyperhomocysteinemia as a novel risk factor for diabetic nephropathy. *Endocrine* 2009; 36: 255-61.
24. Nemr R, Salman RA, Jawad LH, Juma EA, Keleshian SH, Almawi WY. Differential contribution of MTHFR C677T variant to the risk of diabetic nephropathy in Lebanese and Bahraini Arabs. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 1091-4.
25. Zsom M, Fulop T, Zsom L, Barath A, Maroti Z, Endreffy E. Genetic polymorphisms and the risk of progressive renal failure in elderly Hungarian patients. *Hemodial Int* 2011; 15: 501-8.
26. Movva S, Alluri RV, Venkatasubramanian S, Vedicherla B, Vattam KK, Ahuja YR, et al. Association of methylene tetrahydrofolate reductase C677T genotype with type 2 diabetes mellitus patients with and without renal complications. *Genet Test Mol Biomarkers* 2011; 15: 257-61.
27. El-Baz R, Settin A, Ismaeel A, Khaleel AA, Abbas T, Tolba W, et al. MTHFR C677T, A1298C and ACE I/D polymorphisms as risk factors for diabetic nephropathy among type 2 diabetic patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2012; 13: 472-7.
28. Kumar R, Sharma RK, Agarwal S. Genetic predisposition for development of nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Biochem Genet.* 2013; 51: 865-75.
29. Tomić NG, Marusić S, Božikov V, Kusec R, Bacić-Vrca V, Tadić M. The relationship between methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism and diabetic nephropathy in Croatian type 2 diabetic patients. *Coll Antropol.* 2013; 37: 789-93.
30. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996; 2: 386-89.
31. Maeda M, Yamamoto I, Fujio Y, Azuma J. Homocysteine induces vascular endothelial growth factor expression

in differentiated THP-1 macrophages. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1623: 41-46.
32. *Sung SH, Ziyadeh FN, Wang A, Pyagay PE, Kanwar YS,*

Chen S. Blockade of vascular endothelial growth factor signaling ameliorates diabetic albuminuria in mice. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3093-104.

Λέξεις-κλειδιά:

Σακχαρώδης διαβήτης
Διαβητική νεφροπάθεια
MTHFR
Μεταανάλυση
Μελέτες γενετικής συσχέτισης
Υπερομοκυστεϊναιμία

Key-words:

Diabetes mellitus
Diabetic nephropathy
MTHFR
Meta-analysis
Genetic associations studies
Hyperhomocysteinemia