

Mendelsk randomisering – genetisk tilnærming til epidemiologisk metode

BAKGRUNN Genetisk informasjon blir stadig lettere tilgjengelig, og metoder for å belyse interessante problemstillinger utvikles raskt. Mendelsk randomisering gjør det mulig å studere årsaker til sykdom med observasjonelle data. Navnet sikter til den tilfeldige fordelingen av genvarianter i meiosen. Metoden benytter seg av gener som påvirker en risikofaktor for en sykdom, uten å påvirke sykdommen direkte. I denne oversiktsartikkelen forklarer jeg prinsippene bak mendelsk randomisering og presenterer bruksområder for metoden.

KUNNSKAPSGRUNNLAG Metodeartikler som beskriver mendelsk randomisering er gjennomgått. Artikkene er funnet ved søk i PubMed med søkekombinasjonen «mendelian randomization» OR «mendelian randomisation», og søk i McMaster Plus med strengen «mendelian randomization». Det ble lest 15 metodeartikler i fulltekst. Metodeartiklene er supplementert med kliniske studier som ble funnet i PubMed-søket.

RESULTATER I motsetning til tradisjonelle observasjonsstudier rammes ikke mendelske randomiseringsstudier av to viktige feilkilder, konvensjonelle konfunderende variabler og invers kausalitet. Mendelsk randomisering er derfor et lovende verktøy for å studere årsaksammenhenger. Allerede har mendelske randomiseringsstudier gitt verdifull kunnskap om risikofaktorer for et vidt spekter av sykdommer. Likevel er det viktig å være klar over metodens begrensninger. Som følge av den raske utviklingen i genetisk forskning, vil mendelsk randomisering antakelig brukes mye de neste årene.

FORTOLKNING Hvis mendelske randomiseringsstudier utføres korrekt, kan de bidra til å avdekke både modifiserbare og ikke-modifiserbare årsaker til sykdommer.

Genetiske data fra mennesker samles inn i rekordfart. Det amerikanske gensekvensarkivet (SRA) har nå data fra hundretusener av individer, og informasjonen dobles hver syvende måned (1). Utviklingen i metoder for å analysere genetiske data har også vært imponerende. Dataene utnyttes selvsagt til å avdekke genetiske årsaker til sykdom og til å identifisere individer med høy genetisk risiko. I tillegg kan den genetiske informasjonen brukes til å studere modifiserbare faktorer som påvirker sykdom.

Mendelsk randomisering er en metode som benyttes i økende grad, og ideen ble første gang beskrevet for mer enn 30 år siden (2, 3). Navnet henspiller på Mendels andre lov, som sier at ulike gener nedarves uavhengig av hverandre til kjønnsceller. Loven åpner for å betrakte genvarianter som tilfeldig fordelt – altså randomisert – mellom individer. Når sammenhengen mellom en risikofaktor og en sykdom skal beregnes ved mendelsk randomisering, finner man genvarianter som påvirker risikofaktoren. Assosiasjonen mellom disse genvariantene og sykdommen blir deretter estimert. På bakgrunn av denne assosiasjonen regner man ut effekten av risikofaktoren på sykdommen.

Mendelsk randomisering er blitt beskrevet som naturens randomiserte, kontrollerte forsøk (4). Fordelen med metoden er at man unngår flere av svakhetene ved tradisjonelle observasjonsstudier. I denne oversikten vil

oppbyggingen av mendelske randomiseringsstudier bli beskrevet ved hjelp av et konkret eksempel. Deretter vil styrker og svakheter ved metoden bli omtalt. Til slutt presenterer jeg resultater fra store mendelske randomiseringsstudier og diskuterer potensielle bruksområder av metoden.

Kunnskapsgrunnlag

Et søk med uttrykket «mendelian randomization» ble utført i søkemotoren McMaster Plus, der informasjonskildene er rangert i et sekstrinns hierarki (5). I det høyeste trinnet ga søket ett treff, en systematisk oversikt i UpToDate. Videre ble det gjort et PubMed-søk med kombinasjonen «mendelian randomization» OR «mendelian randomisation». Søket ga 582 treff. Metodologiske artikler om mendelsk randomisering ble plukket ut etter en vurdering av titlene, og ytterligere seleksjon ble gjort på bakgrunn av abstraktenes innhold. Jeg leste 15 metodeartikler i fulltekst. Supplerende artikler, hvor man hadde brukt mendelsk randomisering på vanlige kliniske problemstillinger, ble valgt etter å ha vurdert titler og abstrakter fra PubMed-søket. Jeg avsluttet søket 21. november 2015.

Hva er en mendelsk randomiseringsstudie?

Formålet med en mendelsk randomiseringsstudie er å komme nærmere kausale sammenhenger, gjerne i situasjoner hvor rando-

Mats Julius Stensrud

m.j.stensrud@medisin.uio.no

Avdeling for biostatistikk

Oslo Centre for Biostatistics and Epidemiology (OCBE)

Universitetet i Oslo

> Se lederartikkel side 979

HOVEDBUDSKAP

Mendelsk randomisering er en epidemiologisk forskningsmetode der genetiske varianter brukes for å utforske kausale sammenhenger

Med denne metoden unngår man flere av de vanligste feilkildene i epidemiologiske studier, og den anvendes på stadig flere problemstillinger

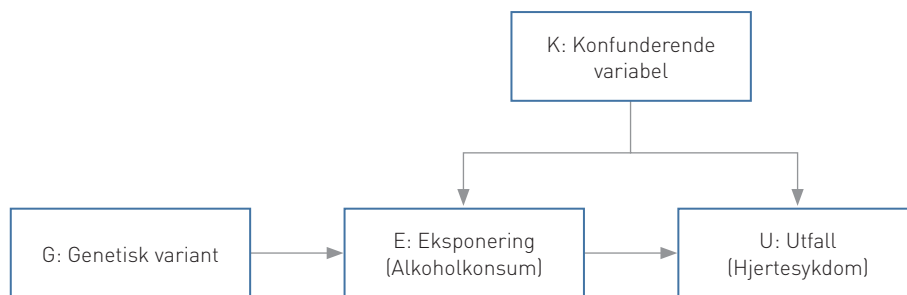
Mendelske randomiseringsstudier har viktige begrensninger som bør vurderes i hver enkelt studie

miserte, kontrollerte forsøk ikke kan utføres. For eksempel kan formålet være å kartlegge effekten av alkohol på kardiovaskulær sykdom. Det vil være både etisk og praktisk vanskelig å randomisere mennesker til å følge forskjellige alkoholvaner. Imidlertid hører vi ofte at et glass rødvin daglig «er bra for helsen», og i epidemiologiske studier er det et velkjent U-formet forhold mellom alkoholvaner og kardiovaskulær sykdom: Moderate alkoholvaner er assosiert med redusert risiko for hjerte- og karsykdom. Denne assosiasjonen betyr selvsagt ikke at et moderat alkoholkonsum i seg selv beskytter mot hjerte- og karsykdom. Konfunderende faktorer, altså variabler som er assosiert med både risikofaktoren (her: alkoholvaner) og utfallet (her: hjerte- og karsykdom), kan eksistere. For eksempel kan moderate alkoholkonsumenter befinne seg i øvre sosiale lag, der risikoen for hjerte- og karsykdom er lavere (6).

Et annet problem er invers kausalitet (7), som oppstår når sykdommen påvirker risikofaktoren. For eksempel kan en underliggende dårlig helse føre til at noen ikke drikker alkohol. Både konfundering og invers kausalitet gir falske assosiasjoner mellom risikofaktoren og sykdommen. I en biologisk forklaringsmodell er det foreslått at alkohol kan ha en gunstig virkning på HDL-kolesterolnivået, men likevel er det ikke opplagt at høye HDL-nivåer reduserer risikoen for hjerte- og karsykdom (8).

For å finne effekten av alkohol på hjerte- og karsykdom kan genet for alkoholdehydrogenase være til hjelp. Mutasjoner i genet fører til langsommere nedbrytning av etanol, og bærere opplever en ubehagelig flushing-respons ved alkoholinntak. Derfor drikker bærere av mutasjonen i gjennomsnitt mindre enn ikke-bærere (9). Dette er viktig når man skal bruke genet for alkoholdehydrogenase som en *markør* for alkoholkonsum: For å studere effekten av alkohol på hjertesykdom, ser man på assosiasjonen mellom alkoholdehydrogenase-varianten og hjertesykdom. For å sette dette i en kausal sammenheng, tenker vi oss at bærere av genet er blitt randomisert til å drikke mindre alkohol (10).

I en slik analyse slipper vi i teorien problemet med tradisjonelle konfunderende variabler – sosial status kan påvirke både våre drikkevaner og vår risiko for kardiovaskulær sykdom, men vi antar at genvarianten for alkoholdehydrogenase nedarves uavhengig av sosial status. I tillegg unngår vi problemet med invers kausalitet, helseplager kan påvirke alkoholkonsumet vårt, men ikke hvilke gener vi er født med. Denne enkle protokollen er grunnlaget for mendelsk randomisering. Poenget er også illustrert med en rettet asyklisk graf i figur 1. Den konfunderende variabelen blir uproblematisk når vi



Figur 1 Rettet asyklisk graf som illustrerer prinsippet bak mendelsk randomisering. Metoden bruker genetiske varianter for å undersøke effekten av en eksponering på et utfall. Dermed unngås problemer med konfunderende variabler og invers kausalitet

ser på genet for alkoholdehydrogenase i stedet for alkoholinntak *per se*.

Mendelsk randomisering ble nylig brukt i en metaanalyse av 56 epidemiologiske studier hvor man undersøkte alkoholdehydrogenase-genet (9). Genetiske varianter assosiert med mindre alkoholkonsum var også assosiert med færre kardiovaskulære hendelser. I konklusjonen skriver Holmes og medforfattere at redusert alkoholkonsum er en fordel, også hos moderate konsumenter (9).

Feilkilder

Resultatet fra alkoholdehydrogenase-studien er tilsynelatende overbevisende. Flere feilkilder må imidlertid evalueres før kausale slutninger kan trekkes fra mendelske randomiseringsstudier. Mange ble beskrevet i en oversiktsartikkel allerede i 2003 (11) og er utdypet i flere senere studier (12–14). Her diskuteres viktige feilkilder relatert til studien om alkohol og kardiovaskulær sykdom (9).

Bærere av den muterte varianten kan blant annet ha levd sunnere også på andre måter enn ved et nøkternt alkoholforbruk. Et slikt scenario er illustrert i figur 2. De kan ha røyket mindre eller vært mer fysisk aktive. Røyking og fysisk aktivitet er målbare variabler, og forfatterne sjekket at disse variablene ikke var assosiert med den genetiske varianten. Det styrker funnene, men, som i tradisjonelle

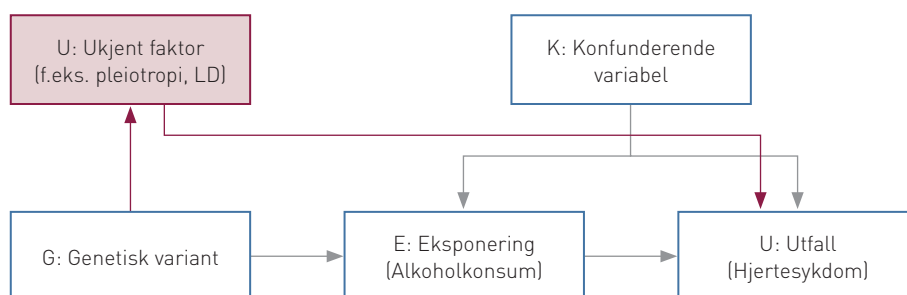
epidemiologiske studier, kan ukjente, umålte helsefaktorer være ulikt fordelt mellom gruppene. Disse vil kunne gi falske effekter. For eksempel har bærere endret alkoholnedbrytning og dermed endret eksponering for nedbrytningsproduktene (10).

Pleiotropi

Uttrykket genetisk pleiotropi brukes om gener som kan ha multiple funksjoner, og pleiotropi kan skape falske sammenhenger (11, 15). I vårt eksempel vil pleiotropi bli et problem hvis alkoholdehydrogenase-genet har andre, gunstige effekter på kardiovaskulær sykdom som ikke er relatert til alkohol.

Genetisk kobling

Et beslektet problem til genetisk pleiotropi er genetisk kobling (linkage disequilibrium). En viktig forutsetning for mendelske randomiseringsstudier er at genet nedarves uavhengig av andre gener som påvirker utfallet (her hjerte- og karsykdom), altså at Mendels andre lov er oppfylt. Dessverre er ikke loven alltid sann. Gener som ligger nær hverandre, har større sannsynlighet for å nedarves sammen, de er altså koblet. Hvis alkoholdehydrogenase-genet var koblet til et annet gen med effekt på hjertesykdom, ville falske assosiasjoner oppstå. Effekten av pleiotropi og genetisk kobling er vist i figur 2.



Figur 2 Det er viktig at den genetiske varianten bare virker på utfallet gjennom eksponeringen. Den rettede asykliske grafen viser at pleiotropi eller genetisk kobling (LD) kan skape falske assosiasjoner

Perfekte tester for å utelukke pleiotropi og genetisk kobling eksisterer ikke. Likevel vil en grunnleggende mekanistisk forståelse av genene og fenotypen fortelle oss hvorvidt pleiotropi eller kobling er sannsynlig.

Pleiotropi og kobling kan også undersøkes på andre måter. I mange situasjoner finnes det flere gener som virker inn på samme fenotype. For å gjøre studier mer robuste for pleiotropi og kobling bør flere forskjellige genvarianter brukes for å studere det samme problemet. Hvis effektene peker i samme retning, er resultatet mer overbevisende.

Kanalisering

Pleiotropi og genetisk kobling er feilkilder som kan føre til at funnene tolkes som kausale, uten at dette er tilfelle. På den annen side kan flere faktorer føre til at en sann effekt maskeres. Kanalisering er et eksempel på dette og innebærer at kroppen utvikler beskyttende reservemekanismer mot en potensielt skadelig genetisk effekt. Beskyttelsen kan skje både *in utero* og etter fødsel. For eksempel er det mulig å tenke seg at pasienter med genetisk predisposisjon for høyt LDL-nivå (low density lipoprotein) allerede *in utero* kan utvikle ekstra beskyttende mekanismer for de skadelige virkningene (16).

Lav teststyrke

Teststyrken ved mendelske randomiseringsstudier, altså studienes evne til å fange opp effekter hvis de faktisk eksisterer, har ofte vært lav. Det skyldes at enkeltgener gjerne har små effekter på en fenotype. Teststyrken kan beregnes før studien begynner.

I dag finnes det allerede metoder for å øke teststyrken. Blant annet er det blitt populært å utnytte mange genetiske varianter i samme mendelske randomiseringsstudie. I stedet for å bruke ett gen kan vi konstruere en genetisk risikoindeks, der alle individer får en verdi basert på deres kombinasjon av genetiske varianter. Dette ble blant annet gjort i en nylig publisert studie av LDL-effektene på mortalitet (17). En paradoksal sammenheng mellom LDL-nivå og mortalitet hos eldre er blitt foreslått, der høyt LDL-nivå er assosiert med økt overlevelse (18). LDL-studien tydet derimot på at høye LDL-nivåer også var assosiert med lavere overlevelse i de eldste aldersgruppene. Når flere gener brukes i samme studie, er det viktig at antagelsene om pleiotropi og genetisk kobling holder for hvert enkelt gen.

Viktige resultater

Selv om mendelske randomiseringsstudier har svake sider, har de allerede belyst mange interessante problemstillinger. Studien i *British Medical Journal (BMJ)* om alkoholdehydrogenase (10) utfordrer teorien om en U-formet effekt av alkohol, og LDL-studien

tydet på at høye LDL-nivåer også er skadelig hos eldre personer (17). Det finnes imidlertid flere andre eksempler der mendelske randomiseringsstudier gir hint om kausale mekanismer. Det kan blant annet ha konsekvenser for nye og etablerte behandlingsmåter.

Spesielt kan faktorer som påvirkes av relativt få gener, blant annet proteiner, være egnet for mendelsk randomisering (19). Et eksempel er C-reaktivt protein (CRP). Epidemiologiske studier har vist økt risiko for koronarsykdom ved økte CRP-verdier. Det har ført til forsøk på å utvikle medikamenter som kan påvirke CRP-nivåene (19). En mendelsk randomiseringsstudie viste imidlertid at genetiske varianter som disponerer for høy CRP-verdi ikke er assosiert med koronarsykdom (20), og dermed er arbeidet for å utvikle legemidler som senker CRP-verdiene, blitt avsluttet (19). På den annen side har mendelske randomiseringsstudier vist at interleukin-6 (IL-6) ser ut til å være assosiert med hjertesykdom (21), og kanskje kan dette være et fremtidig terapeutisk angrepspunkt.

Et annet eksempel i denne kategorien dreier seg om kolesterolsenkende medikamenter. Statiner kan øke risikoen for type 2-diabetes, og det ble spekulert i om effekten kunne skyldes ikke-selektive virkninger av medikamentet (22). Statiners hovedeffekt er inhibisjon av HMG-CoA-reduktase. En mendelsk randomiseringsstudie som brukte genet for HMG-CoA-reduktase, viste imidlertid at redusert HMG-CoA-reduktase-aktivitet var assosiert med høyere risiko for diabetes type 2 (23). Dette tyder på at diabetes er direkte knyttet til den selektive effekten av statiner. Mer selektive medikamenter vil antakelig ikke redusere risikoen for å utvikle diabetes.

Mendelske randomiseringsstudier av fenotyper som ikke er direkte modifiserbare, for eksempel høyde, er også utført. I slike tilfeller er det selvsagt umulig å utføre randomiserte, kontrollerte forsøk. I motsetning til proteiner er disse fenotypene gjerne påvirket av mange gener, og hvert enkeltgen har gjerne liten effekt. De genetiske variantene er ofte oppdaget i store genetiske assosiasjonsstudier, og bedre data fra slike analyser vil antagelig komme i de nærmeste årene. Et ferskt eksempel dreier seg om høyde og risiko for kardiovaskulær sykdom. I en mendelsk randomiseringsstudie rapporterte man nylig om at høye individer har lavere risiko for hjerte- og karsykdom (24). Assosiasjonen kan skyldes lavere kroppsmasseindeks og gunstigere lipidprofil hos høye individer.

Diskusjon

Korrekte statistiske analyser er like viktig når mendelske randomiseringsstudier publiseres som i alle andre studiedesign. Når metoden er relativt fersk, er likevel feilkildene

ofte mindre kjent i fagmiljøene. Det kan bety at analyser med større eller mindre mangler lettere blir publisert. For mendelsk randomisering er det mye å hente fra andre fagfelt, for eksempel økonomi (25), som har benyttet seg av lignende analyser i mange år. Likevel indikerer man i en fersk oversiktsartikkel at publiserte mendelske randomiseringsstudier ofte har metodologiske svakheter (26). Blant annet ble de underliggende antagelsene bare diskutert i 44 % av studiene, og de statistiske beregningene var mangelfullt rapportert i 14 % av studiene (26).

Forfatterne av artikkelen i *BMJ* kan for eksempel ha vært for bastante i sine konklusjoner. Resultatene tyder på at redusert alkoholinntak er assosiert med mindre kardiovaskulær risiko. Hvorvidt personer med et lite eller moderat alkoholforbruk vil dra spesiell fordel av å redusere inntaket, er imidlertid ikke direkte studert (10). Den spesifikke påstanden om at moderat alkoholkonsumenter vil dra fordel av å redusere inntaket bygger derfor på et tynt fundament.

I flere artikler har man formulert fremgangsmåter for å evaluere kvaliteten til mendelske randomiseringsstudier (27), og det er laget sjekklister for hvordan man bør vurdere gyldigheten av resultatene (26).

Mendelsk randomisering som metode nevnes stadig i ferske medisinske studier (28–33). Ofte blir et uløst medisinsk problem beskrevet, og det blir postulert at en mendelsk randomiseringsstudie kan gi oss dypere innsikt. På den annen side er det også blitt uttrykt skepsis til mendelske randomiseringsstudier. I løpet av 30 år er ingen kausale mekanismer blitt oppdaget som senere er replisert i randomiserte, kontrollerte forsøk (34). Årsaken kan imidlertid være at mendelske randomiseringsstudier ofte brukes når randomiserte, kontrollerte forsøk av praktiske eller etiske årsaker ikke er mulig å gjennomføre.

For å beskrive mendelsk randomisering har Maria Glymour uttalt at «nye metoder med urimelige antakelser er bedre enn gamle metoder som hviler på enda mer urimelige antakelser» (10). Mendelsk randomisering kan gi oss kausale innsikter, men vi må kjenne til forutsetningene.

Mats Julius Stensrud (f. 1989)

er dr.philos., har en mastergrad i statistikk fra Oxford og er siste års medisinstudent ved Universitetet i Oslo. Han er tilknyttet Avdeling for biostatistikk ved Universitetet i Oslo som forsker og underviser.

Forfatter har fylt ut ICMJE-skjemaet og oppgir ingen interessekonflikter.

>>>

Litteratur

1. Stephens ZD, Lee SY, Faghri F et al. Big Data: astronomical or genetical? *PLoS Biol* 2015; 13: e1002195.
2. Katan MB. Apolipoprotein E isoforms, serum cholesterol, and cancer. *Lancet* 1986; 1: 507–8.
3. Katan MB. Commentary: Mendelian Randomization, 18 years on. *Int J Epidemiol* 2004; 33: 10–1.
4. Hingorani A, Humphries S. Nature's randomised trials. *Lancet* 2005; 366: 1906–8.
5. Vandvik P, Bretthauer M, Kongerud I. Fra kliniske spørsmål til troverdige svar. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2013; 133: 1611–4.
6. Næss Ø, Rognerud M, Strand BH. Sosial ulikhet i helse: en faktarapport. Oslo: Nasjonalt folkehelseinstitutt, 2007. www.fhi.no/dav/1ae74b1d58.pdf (16.3.2016).
7. Stensrud MJ, Aalen OO. Hva kan vi si om kausalitet? *Tidsskr Nor Lægeforen* 2015; 135: 1465–7.
8. Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomisation study. *Lancet* 2012; 380: 572–80.
9. Holmes MV, Dale CE, Zuccolo L et al. Association between alcohol and cardiovascular disease: Mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ* 2014; 349: g4164.
10. Glymour MM. Alcohol and cardiovascular disease. *BMJ* 2014; 349: g4334.
11. Smith GD, Ebrahim S. 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *Int J Epidemiol* 2003; 32: 1–22.
12. Ebrahim S, Davey Smith G. Mendelian randomization: can genetic epidemiology help redress the failures of observational epidemiology? *Hum Genet* 2008; 123: 15–33.
13. Sheehan NA, Didelez V, Burton PR et al. Mendelian randomisation and causal inference in observational epidemiology. *PLoS Med* 2008; 5: e177.
14. Didelez V, Meng S, Sheehan NA. Assumptions of IV methods for observational epidemiology. *Stat Sci* 2010; 25: 22–40.
15. Didelez V, Sheehan N. Mendelian randomization as an instrumental variable approach to causal inference. *Stat Methods Med Res* 2007; 16: 309–30.
16. Thanassoulis G, O'Donnell C. Mendelian Randomization. *UpToDate* Versjon 10.0, 2016. www.uptodate.com/contents/mendelian-randomization (16.3.2016).
17. Postmus I, Deelen J, Sedaghat S et al. LDL cholesterol still a problem in old age? A Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol* 2015; 44: 604–12.
18. Petersen LK, Christensen K, Kragstrup J. Lipid-lowering treatment to the end? A review of observational studies and RCTs on cholesterol and mortality in 80+-year olds. *Age Ageing* 2010; 39: 674–80.
19. Burgess S, Timpson NJ, Ebrahim S et al. Mendelian randomization: where are we now and where are we going? *Int J Epidemiol* 2015; 44: 379–88.
20. Wensley F, Gao P, Burgess S et al. Association between C reactive protein and coronary heart disease: mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ* 2011; 342: d548.
21. Ridker PM, Lüscher TF. Anti-inflammatory therapies for cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2014; 35: 1782–91.
22. Axsom K, Berger JS, Schwartzbard AZ. Statins and diabetes: the good, the bad, and the unknown. *Curr Atheroscler Rep* 2013; 15: 299.
23. Swerdlow DI, Preiss D, Kuchenbaecker KB et al. HMG-coenzyme A reductase inhibition, type 2 diabetes, and bodyweight: evidence from genetic analysis and randomised trials. *Lancet* 2015; 385: 351–61.
24. Nüesch E, Dale C, Palmer TM et al. Adult height, coronary heart disease and stroke: a multi-locus Mendelian randomization meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2015; 0: 1–11.
25. Newhouse JP, McClellan M. Econometrics in outcomes research: the use of instrumental variables. *Annu Rev Public Health* 1998; 19: 17–34.
26. Boef AG, Dekkers OM, le Cessie S. Mendelian randomization studies: a review of the approaches used and the quality of reporting. *Int J Epidemiol* 2015; 44: 496–511.
27. Glymour MM, Tchetgen Tchetgen EJ, Robins JM. Credible Mendelian randomization studies: approaches for evaluating the instrumental variable assumptions. *Am J Epidemiol* 2012; 175: 332–9.
28. Garcia-Anguita A, Kakourou A, Tsilidis KK. Biomarkers of inflammation and immune function and risk of colorectal cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2015; 11: 250–8.
29. Hankey GJ. Social network and stroke risk: size matters. *Stroke* 2014; 45: 2853–4.
30. Ladeiras-Lopes R, Agewall S, Tawakol A et al. Atherosclerosis: Recent trials, new targets and future directions. *Int J Cardiol* 2015; 192: 72–81.
31. Rader DJ. Human genetics of atherosclerotic disease and its risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35: 741–7.
32. Roerecke M, Rehm J. Alcohol consumption, drinking patterns, and ischemic heart disease: a narrative review of meta-analyses and a systematic review and meta-analysis of the impact of heavy drinking occasions on risk for moderate drinkers. *BMC Med* 2014; 12: 182.
33. Salzer J, Biström M, Sundström P. Vitamin D and multiple sclerosis: where do we go from here? *Expert Rev Neurother* 2014; 14: 9–18.
34. Pickrell J. Fulfilling the promise of Mendelian randomization. *bioRxiv* 2015. <http://biorxiv.org/content/early/2015/04/16/018150> (16.3.2016).

Mottatt 24.11. 2015, første revisjon innsendt 4.3. 2016, godkjent 4.4. 2016. Redaktør: Ragnhild Ørstavik.