

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

д-р СВЕТЛА ТОДОРОВА НИКОЛОВА

**АСОЦИАТИВНО ПРОУЧВАНЕ НА ПОЛИМОРФНИ ГЕНЕТИЧНИ
ВАРИАНТИ С ПРЕДРАЗПОЛАГАЩ И МОДИФИЦИРАЩ ЕФЕКТ ЗА
ИДИОПАТИЧНА СКОЛИОЗА ПРИ БЪЛГАРСКИ ПАЦИЕНТИ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд
за придобиване на образователна и научна степен “ДОКТОР”

Област на висше образование: 4.Природни науки, математика и информатика

Професионално направление: 4.3.Биологически науки

Научна специалност: „ГЕНЕТИКА“

Научен ръководител: доц. д-р Алексей Савов, дб

Научен консултант: проф. д-р Иво Кременски, дм, дмн

Официални рецензенти:

проф. д-р Любен Стоков, дм, дмн

проф. д-р Върбан Ганев, дм, дбн

София

2016

Дисертационният труд съдържа 184 стандартни печатни страници и е онагледен с 90 таблици и 107 фигури.

Библиографията обхваща 322 литературни източника, от които 7 на кирилица и 315 на латиница. Цитирани са 11 интернет сайта.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от Катедра по акушерство и гинекология, Медицински Университет – София от дата 12.10.2015 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 24.02.2016 г. от 13.30 ч. в Аулата на УСБАЛАГ „Майчин дом”, ул. Здраве № 2, гр. София на открито заседание на научно жури в състав:

Председател:

1. Доц. д-р Алексей Савов, дб (становище)

Членове:

2. Проф. д-р Любен Стоков, дм, дмн (рецензия)

3. Проф. д-р Върбан Ганев, дм, дбн (рецензия)

4. Проф. д-р Емил Симеонов, дм, дмн (становище)

5. Доц. д-р Венета Георгиева-Абаджиева, дм (становище)

Включените в дисертацията изследвания са извършени в: Национална генетична лаборатория, УСБАЛАГ „Майчин дом” и в Център по молекулна медицина, Медицински университет-София.

Работата по дисертационния труд е финансирана частично от Съвета за медицинска наука на Медицински Университет – София (Договори №24/17.07.2012 и №2-Д/23.01.2014).

Автор: д-р Светла Тодорова Николова

Заглавие: „Асоциативно проучване на полиморфни генетични варианти с предразполагащ и модифициращ ефект за идиопатична сколиоза при български пациенти”

Материалите по защитата са на разположение в секретариата на Катедра по акушерство и гинекология към Медицински университет – София, УСБАЛАГ „Майчин дом”, ул. Здраве № 2, ет. 1, гр. София.

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

Кирилица:

АИС – адолесцентна идиопатична сколиоза

ИИС – инфантилна идиопатична сколиоза

ЮИС – ювенилна идиопатична сколиоза

Латиница:

Th – торакална сколиоза

Th-L – тораколумбална сколиоза

L – Лумбална сколиоза

SRS – Scoliosis Research Society

SNP – единичен нуклеотиден полиморфизъм

PCR – полимеразна верижна реакция

RFLP – полиморфизъм по дължината на рестрикционните фрагменти

HWE – равновесие по Харди-Вайнберг

GWAS – цялостно геномно проучване

CHD7 – хромодомен хеликаза свързващ белтък-7

MTNR1B – мелатонинов рецептор тип 1B

IL17RC – рецептор за интерлевкин-17

GPR126 – G-протеин свързан рецептор G6

TGFβ1 – трансформиращ растежен фактор тип β1

LBX1 - Ladybird Homeobox Domain 1

CHL1 – клетъчна адхезионна молекула L1 подобен ген

IL-6 – интерлевкин-6

MMP3 – матриксна металопротеиназа-3

TRH1 – триптофан хидроксилаза-1

MATN1 – матрилин-1

ESR1 – естрогенов рецептор тип 1

ACE – ангиотензин конвертиращ ензим

ACTN3 – актинин-3

AMPD1 – аденозинмонофосфатдезаминаза-1

VDR – витамин Д рецептор

BMP4 – костен морфогенен протеин-4

Lep – лептин

IGF-1 – инсулиноподобен растежен фактор-1

OR – отношение на шансовете

RR – релативен риск, отношение на рисковете

CI – доверителен интервал

N – Брой пациенти плюс контроли

n – брой пациенти или брой контроли

n₁ – брой пациенти

n₂ – брой контрол

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Идиопатичната сколиоза, обект на дисертационния труд, представлява актуален и обществено значим проблем в световен мащаб.

Сколиозата е най-често срещаната гръбначна деформация с начало в детска възраст. При ненавременно и неправилно проведено лечение сколиозата може да доведе до трайни последици, влошаващи сериозно качеството на живот, като: хронична болка, дегенеративни изменения на гръбначния стълб, затрудняване функцията на дихателната, сърдечно-съдовата и гастроинтестиналната система. Ефектът върху психиката, особено в пубертета, не бива да се подценява, тъй като съществува сериозен риск от пренасяне на негативните емоционални събития в зряла възраст с последваща социална изолация. Жените със сколиоза са изложени на риск от бърза прогресия на деформацията при бременност, а родоразрешението е предимно с цезарово сечение.

В най-малко 75% от случаите деформацията има неясен произход и се означава като идиопатична сколиоза. Съвременната концепция разглежда идиопатичната сколиоза като мултифакторно заболяване с участие на генетични и негенетични фактори при възникването и прогресията на изкривяването.

Първите популационни проучвания върху генетичните фактори за идиопатична сколиоза датират от 60-те години на миналия век. Фамилните и близначните проучвания показват влиянието на наследствеността и предлагат модели на унаследяване без да са в състояние да идентифицират конкретни гени и генетични промени, свързани със заболяването.

Прогресът на молекулярната биология дава възможност за цялостни геномни проучвания, идентифициране на локуси, скачени с дадено заболяване, откриване на полиморфизми в гени, които предразполагат към или модифицират риска от развитие на дадено заболяване. Така, наред с клинично-генеалогичните данни (висок процент на съвпадение при монозиготни близнаци, по-голям брой на засегнати индивиди от единия пол, наличие на семейства с поне един болен във всяко поколение) се получават и директни доказателства за участието и тежестта на генетичния компонент при възникването и прогресията на дадено заболяване.

В периода 1992-2015 г. са проведени над 100 молекулярно-генетични проучвания: на кандидат-гени за идиопатична сколиоза (анализи за скаченост, асоциативни проучвания) и няколко цялостни геномни асоциативни проучвания.

Намерени са положителни асоциации предимно с единични нуклеотидни полиморфизми в гени, свързани със структурата на съединителната тъкан, костната обмяна, сигналния път на мелатонина, пубертета и растежа и аксоналната ориентация. Силната вариабилност по отношение на резултатите предполага етническа и генетична хетерогенност.

В България проучванията върху етиологията на идиопатичната сколиоза датират от 80-те години на XX век, когато Т. Милковска-Димитрова и колектив установяват симптоми на вродена съединително-тъканна малостойност при голяма част от изследваните деца с клинична диагноза идиопатична сколиоза.

През 2000 г. П. Танчев и колектив от УСБАЛО „Проф. Бойчо Бойчев” провеждат клинични и рентгенографски изследвания при момичета, трениращи художествена гимнастика, в опит да обяснят 10 пъти по-високата честота на срещане на идиопатична сколиоза при тези спортисти в сравнение с контроли, които не се занимават активно със спорт. Резултатите предполагат важната етиологична роля на „опасната триада”: общ лакситет на ставите, забавена зрелост, асиметрично натоварване на гръбначния стълб.

През 2015 г. Николова и колектив публикуват първите резултати от молекулярно-генетични асоциативни проучвания тип случаи/контроли, целящи да изследват

връзката на единични нуклеотидни полиморфизми в кандидат-гени с предразположението към идиопатична сколиоза при български пациенти. Полиморфизми в гените за интерлевкин-6 и естрогенов рецептор тип 1 показват статистически значима асоциация с възникването на идиопатичната сколиоза и нейната прогресия. Същите полиморфни варианти са докладвани като рискови за развитието и прогресията на идиопатичната сколиоза в кавказката и в китайската популация.

Има нужда от нови генетични маркери с диагностична и прогностична стойност, в частност за вземането на терапевтични решения при засегнатите индивиди. Такива генетични маркери могат да осигурят прогноза на сколиозата в по-големи популационни групи в сравнение с тези, които понастоящем могат да бъдат скринирани с помощта на известни рискови фактори. Наличието на генетичен тест ще позволи ранна диагностика и прогноза на сколиозата, както и ранни клинични интервенции за ограничаване прогресията на болестта. Идентифицирането на генетични маркери ще позволи също селекция на индивиди за клинични процедури, включващи по-слабо инвазивни методи.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ на настоящия дисертационен труд е изследване на асоциацията между единични нуклеотидни полиморфизми в кандидат-гени и идиопатичната сколиоза при български пациенти.

За постигане на целта бяха поставени следните основни **ЗАДАЧИ**:

1. Подбор на пациенти с идиопатична сколиоза и контроли чрез съответните клинични методи и образно-диагностични методи.
2. Определяне на клинични подгрупи според: начало на идиопатичната сколиоза, прогресия, фамилна история, тип гръбначна крива, проведено корсетолечение и пол на лицата.
3. Сравняване стойностите на средната възраст и на средния ъгъл на сколиозата между отделните клинични подгрупи и определяне на връзката между тях.
4. Селекция на полиморфизми в кандидат-гени, показали връзка със заболяването при различни популационни групи:
 - 4.1. При предходни асоциативни проучвания;
 - 4.2. При цялостни геномни проучвания.
5. Оптимизиране и въвеждане на методи за генотипиране на полиморфни варианти в кандидат-гените: *CHD7*, *MTNR1B*, *IL17RC*, *GPR126*, *TGFB1*, *LBX1*, *CHL1*, *IL-6*, *MMP3*, *TPH1*, *MATN1*, *ESR1*, *ACE*, *ACTN3*, *VDR*, *BMP4*, *Lep*, *IGF-1*.
6. Проучване на асоциацията между идиопатичната сколиоза и полиморфизми в кандидат гени, неизследвани до момента за асоциация с идиопатичната сколиоза - *AMPD1*.
7. Определяне на генотипните и алелните честоти на изследваните полиморфни варианти при подгрупите от пациенти и контроли за проучване на връзката им с началото на идиопатичната сколиоза, прогресията, фамилната история и пола.
8. Сравняване на генотипните и алелните честоти на изследваните полиморфни варианти при подгрупите от пациенти за проучване на връзката им с типа на гръбначната крива и с изхода от корсетолечението.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

МАТЕРИАЛИ

1. Клиничен материал

В настоящото проучване бяха включени 105 пациенти с клинично поставена диагноза идиопатична сколиоза и 210 неродствени доброволци без клинични признаци на сколиоза. Всички участници в изследването подписаха информирано съгласие (по образец). Генетичните изследвания бяха одобрени от етичната комисия на МУ-София.

Пациентите бяха насочени от Трета ортопедична клиника на УСБАЛЮ ”Проф. Бойчо Бойчев” и Отделение по ортопедия и травматология към Токуда Болница София. Таблица 3.1 показва разпределението на случаите по основни клинични и демографски показатели.

Таблица 3.1. Клинични и демографски данни за пациентите с идиопатична сколиоза (n=105)

Показател	Брой (%)
1. Пол	
1.1. Мъже	19 (18.1 %)
1.2. Жени	86 (81.9 %)
2. Тип сколиоза според началото на заболяването	
2.1. Адолесцентна идиопатична сколиоза	78 (74.3 %)
2.2. Ювенилна идиопатична сколиоза	23 (21.9 %)
2.3. Инфантилна идиопатична сколиоза	4 (3.8 %)
3. Тип сколиоза според засегнатия гръбначен отдел	
3.1. Торакална сколиоза	62 (59.1 %)
3.2. Лумбална сколиоза	12 (11.4 %)
3.3. Тораколумбална сколиоза	31 (29.5 %)
4. Тип сколиоза според конвекситета на основната крива	
4.1. Дясноконвексна сколиоза	87 (82.9 %)
4.2. Лявоконвексна сколиоза	18 (17.1 %)
5. Корсетолечение	
5.1. Да	55 (52.4 %)
5.2. Не	47 (43.7 %)
5.3. Липсват данни	3 (2.9%)
6. Оперативно лечение – вертеброеза, дистракция	
6.1. Да	84 (80.0 %)
6.2. Не	21 (20.0 %)
7. Фамилност	
7.1. Положителна фамилна анамнеза	28 (26.7 %)
7.2. Спорадични случаи	77 (73.3 %)
8. Скелетна зрялост (към датата на пробовземане)	
8.1. Пациенти, достигнали скелетна зрялост	36 (34.3 %)
8.2. Пациенти, недостигнали скелетна зрялост	69 (65.7 %)
9. Етнос	
9.1. Български	90 (85.7 %)
9.2. Турски	5 (4.8 %)
9.3. Ромски	10 (9.5 %)

Контролите бяха насочени от други болнични отделения и от Национална генетична лаборатория, като бяха включени членове на болничния персонал и студенти. Те съответстваха на пациентите по пол и етнос, като всички бяха подбрани сред възрастни доброволци със завършил скелетен растеж за изключване възможността от развитие на идиопатична деформация на по-късен етап (Таблица 3.2).

Таблица 3.2. Клинични и демографски данни за контролите (n=210)

Показател	Брой (%)
1. Пол	
1.1. Мъже	38 (18.1 %)
1.2. Жени	172 (81.9 %)
2. Скелетна зрялост (към дата на пробовземане)	
2.1. Индивиди, достигнали скелетна зрялост	210 (100 %)
2.2. Индивиди, недостигнали скелетна зрялост	0 (0 %)
3. Етнос	
3.1. Български	180 (85.7 %)
3.2. Турски	10 (4.8 %)
3.3. Ромски	20 (9.5 %)

Критериите за включване в проучването бяха стриктно съблюдавани от лекарските екипи и приложени при всички лица (Таблица 3.3 и 3.4).

Таблица 3.3. Критерии за включване/изключване на пациенти с идиопатична сколиоза

Критерии за включване	Критерии за изключване
<ol style="list-style-type: none"> 1. Първична деформация 2. Структурна сколиоза - ъгъл на Коб над 10⁰, установен рентгенографски 3. Инфантилна идиопатична сколиоза 4. Ювенилна идиопатична сколиоза 5. Адолесцентна идиопатична сколиоза 6. Амбулаторни и хоспитализирани пациенти 7. Подписано информирано съгласие 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Функционална сколиоза 2. Конгенитална сколиоза 3. Невромускулна сколиоза 4. Синдромна сколиоза: <ul style="list-style-type: none"> • Marfan, DiGeorge, Prader-Willi, Turner, Von Recklinghausen и др. 5. Дегенеративна сколиоза 6. Травматична сколиоза 7. Вторични деформации при: <ul style="list-style-type: none"> • Тумори, инфекции, рахит и др. 8. Неподписано информирано съгласие

*базиран на Етиологичната класификация на Scoliosis Research Society

Таблица 3.4. Критерии за включване/изключване на контроли в изследването

Критерии за включване	Критерии за изключване
<ol style="list-style-type: none"> 1. Възраст над 18 години (скелетна зрялост) 2. Подписано информирано съгласие 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Първични деформации, установени при клиничен преглед или от налична рентгенография 2. Неподписано информирано съгласие

2. Биологичен материал

От пациентите и контролите бяха взети кръвни проби (10 ml венозна кръв) според медицинските стандарти за извършване на венепункция в стерилни епруветки с антикоагулант (калиева сол на ЕДТА). Кръвта беше съхранявана на 4°C до обработка за изолиране на геномна ДНК. Към настоящия момент в Национална генетична лаборатория се съхранява геномна банка, съдържаща ДНК-проби от 105 лица с идиопатична сколиоза и 210 здрави доброволци.

МЕТОДИ

За изпълнение на поставените цел и задачи бяха прилагани следните методи:

1. Клинични методи

- 1.1 Анамнеза
- 1.2 Обективно изследване
- 1.3 Образно-диагностични изследвания

2. Молекулярно-генетични методи

- 2.1 Биобанкиране
 - 2.1.1 Солева екстракция на ДНК от венозна кръв
 - 2.1.2 Фенолна екстракция на ДНК от венозна кръв
 - 2.1.3 Полуавтоматично изолиране на ДНК от венозна кръв
- 2.2 Полимеразна верижна реакция (polymerase chain reaction – PCR)
 - 2.2.1 Конвенционален PCR
 - 2.2.2 TaqMan PCR в реално време
- 2.3 Полиморфизъм по дължината на рестрикционните фрагменти (RFLP)
- 2.4 Агарозна гел-електрофореза
- 2.5 Директно секвениране (по Sanger)

3. Статистически методи (IBM SPSS Statistics 19.0 за Windows)

3.1 Дескриптивна статистика

- 3.1.1 Вариационен анализ (количествени променливи) – средни стойности (средна аритметична, медиана), стандартно отклонение, минимална и максимална стойност;
- 3.1.2 Честотен анализ (номинални и рангови променливи), абсолютни и относителни честоти;
- 3.1.3 Графични изображения.

3.2 Анализ на равновесието по закона на Харди-Вайнберг (Hardy-Weinberg equilibrium)

3.3 Методи за проверка на хипотези

3.2.1 Параметрични методи

- Т-тест при две независими извадки (Independent Samples Test) – тест на Levene за равенство на две средни при нормално разпределение;
- Дисперсионен анализ (OneWay ANOVA) – сравняване на повече от две независими групи.

3.2.2 Непараметрични методи

- Тест на Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) и тест на Шапиро-Уйлк (Shapiro-Wilk) – проверка за нормалност на разпределението на количествена променлива;
- Тест на Ман-Уитни (Mann-Whitney) – сравняване на две независими групи, когато разпределението не е нормално;
- Тест на Кръскал-Уолис (Kruskal-Wallis) – сравняване на повече от две независими групи, когато разпределението не е нормално;
- Корелационен анализ по Спийрман (Spearman) за изследване на връзка между две количествени променливи;
- Хи-квадрат тест (Pearson Chi-square test и Phi and Crammer's V) или точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – търсене на връзка между две качествени променливи (p-value).

3.4 Изчисляване на относителен риск (Odds ratio – OR, Risk Ratio – RR, 95% Confidence Interval - CI).

IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

1. РЕЗУЛТАТИ ОТ КЛИНИЧНАТА ИЗВАДКА И ОБСЪЖДАНЕ

В изследването бяха включени 105 пациенти със средна възраст към началото на заболяването $11,2 \pm 3,1$ години. Средният ъгъл на Cobb беше $54,6 \pm 22,7^{\circ}$, а средният предоперативен ъгъл – $62,7 \pm 17,4^{\circ}$. Средният ъгъл на сколиозата беше определен по данни: 1) от последно проведените рентгенографии при пациенти, подлежащи на консервативно (изправителна гимнастика) и полуконсервативно лечение (корсетолечение); 2) от предоперативните рентгенографии.

Сред пациентите с идиопатична сколиоза преобладаваха тези от женски пол (момичета:момчета 4:1 в общата група и 4,6:1 при оперативните случаи). По литературни данни идиопатичната сколиоза се среща по-често при момичета с общо съотношение на момичета:момчета от 1.5:1 до 3:1, което нараства значително с възрастта. Съотношението е 1.4:1 при малки криви от 10° до 20° и достига 7.2:1 при криви над 40° [1]. Тези данни показват значително по-високия риск от прогресия на деформацията при женския пол.

Най-голяма беше групата от пациенти с адолесцентна идиопатична сколиоза (74,3 %). Според епидемиологичните проучвания АИС е най-често срещаната форма на идиопатична сколиоза [2], която засяга между 2 и 3 % от децата на възраст 10-16 години [3, 4]. Според класификацията на Scoliosis Research Society АИС може да възникне до 18-годишна възраст.

Бяха изследвани основно пациенти с прогресивна идиопатична сколиоза, показани за оперативно лечение (80 %). Сред тях преобладаваха пациентите с АИС, показани за задна вертебротомия. При 52,4 % от всички случаи и при 58,3 % от оперативните случаи има анамнеза за проведено корсетолечение. По данни от ретроспективни проучвания близо 10 % от пациентите с АИС се нуждаят от корсетолечение, а само 0.1 % от всички случаи стигат до етап, в който са показани за оперативно лечение [4, 5].

Наблюдаваха се всички основни видове първични криви – торакална, тораколумбална, лумбална, двойна крива; дясноконвексна и лявоконвексна сколиоза; С-образна и S-образна сколиоза. Преобладаваха пациенти с дясноконвексна торакална сколиоза според първичната крива, а най-малко бяха тези с лявоконвексна лумбална сколиоза. Имаше един случай с две първични криви. По литературни данни торакалните криви са най-чести и при двата пола, следвани от тораколумбални/лумбални криви и значително по-редките модели като двойна първична крива [1, 6]. Около 85% от кривите са дясноконвексни (www.orthopediatrics.com/docs/Guides/scoliosis.html). Все още не са известни причините, поради които дясноконвексната сколиоза се среща по-често от лявоконвексната форма. Данни за асиметрия, дясна ротация на торакални прешлени и дясноконвексна неструктурна торакална крива са докладвани и при нормалния гръбнак [7].

Преобладаващият тип в изследваната извадка от пациенти с АИС беше 1AN според класификацията на Lenke [8] за най-често срещаният вид идиопатична сколиоза. Тип 1AN съответства на първична торакална крива без оформена вторична лумбална крива и без отклонения в гръдната кифоза в посока на хипо- или хиперкифоза. По-често се срещат още типове: 1A+, 1BN, 1CN, 3C+, 2AN, 3C+, 4B+, 4C+ и 6AN. Инфантилните и ювенилните форми на идиопатична сколиоза не бяха оценявани по класификацията на Lenke. По данни от рентгенографските проучвания най-често срещаният тип АИС е 1AN. Други често срещани варианти са 1BN и 2AN [9].

Преобладаващият брой случаи в извадката беше този на спорадичните. Само 26,7% от изследваните бяха с положителна фамилна анамнеза – поне един болен родственик. Ролята на наследствените фактори в етиологията на идиопатичната сколиоза е доказана. Въпреки това, в клиничната практика около 90% от пациентите са спорадични случаи [10]. Точното съотношение на фамилни към нефамилни случаи не е установено.

Основните клинично-демографски данни са представени на таблица 4.1 и 4.2.

Таблица 4.1. Средна възраст (към началото на заболяването) в различните подгрупи.

Възраст	N (%)	Mean	SD	Median	Min	Max	Sig.
1. Пол							
Жени	86 (81.9%)	11,0	3,1	12,0	2	16	0.204*
Мъже	19 (18.1%)	11,9	3,1	13,0	6	16	
2.Начало на сколиоза							
ИИС	4 (3.8%)	2,5	0,6	2,5	2	3	0.000**
ЮИС	23 (21.9%)	7,8	1,6	9,0	4	9	
АИС	78 (74.3%)	12,6	1,6	12,0	10	16	
3.Ъгъл на Cobb							
<40 ⁰	21 (20.0%)	11,2	2,7	11,0	7	16	0.555*
>40 ⁰	84 (80.0%)	11,1	3,2	12,0	2	16	
4.Корсетолечение							
Корсетолечение	55 (52.4%)	10,2	3,0	11,0	2	15	0.000*
Без корсетолечение	47 (47.6%)	12,3	2,8	12,0	3	16	
5.Тип на кривата							
Торакална крива	62 (59.1%)	11,0	3,1	12,0	2	16	0.388**
Тораколумбална крива	31 (29.5%)	11,1	3,2	11,0	2	15	
Лумбална крива	12 (11.4%)	12,4	2,8	13,0	9	16	
6.Конвекситет							
D – сколиоза	87 (82.9%)	11,3	2,9	12,0	2	16	0.945*
L – сколиоза	18 (17.1%)	10,9	3,8	11,5	3	16	
7.Фамилна история							
Фамилни случаи	28 (26.7%)	11,1	3,2	12,0	3	16	0.985*
Нефамилни случаи	77 (73.3%)	11,2	3,1	12,0	2	16	
Общо	105 (100%)	11,2	3,1	12,0	2	16	

ИИС – инфантилна идиопатична сколиоза; ЮИС – ювенилна идиопатична сколиоза; АИС – адолесцентна идиопатична сколиоза; D – дясноконвексна сколиоза; L – лявоконвексна сколиоза; SD – стандартно отклонение. * Mann-Whitney; ** Kruskal-Wallis

От таблицата правят впечатление няколко статистически значими разлики. На първо място, това е очакваната разлика в средната възраст на пациентите с ИИС, ЮИС и АИС. Преобладават пациентите с АИС със средна възраст $12,6 \pm 1,6$ години. Минималната възраст е 10 години, а максималната възраст – 16 години.

Другата статистически значима разлика се наблюдава между средната възраст на пациентите с и без проведено корсетолечение. При проведено корсетолечение, средната възраст е $10,2 \pm 3,0$ години, а при липса на такова лечение - $12,3 \pm 2,8$ години ($p < 0.0005$). Тези резултати показват, че при по-малките деца по-често се прилага ортезно лечение, докато оперативното лечение се планира по възможност към момент, когато вече няма бурно развитие и нарастване на скелета. Средната възраст, на която е проведена задна вертебротомия при пациенти с АИС, е $14,7 \pm 2,0$ години.

Таблица 4.2. Среден ъгъл на Cobb в различните подгрупи.

Ъгъл на Cobb	N (%)	Mean	SD	Median	Min	Max	Sig.
1.Пол							
Жени	86 (81.9%)	54,2	22,0	55,0	15	120	0.753*
Мъже	19 (18.1%)	56,1	26,3	54,0	12	125	
2.Начало на сколиоза							
ИИС	4 (3.8%)	82,5	30,7	81,5	46,9	120	0.012***
ЮИС	23 (21.9%)	47,1	21,3	48,0	12	93	
АИС	78 (74.3%)	55,2	21,7	56,5	16	125	
3.Ъгъл на Cobb							
<40 ⁰	21 (20.0%)	22,1	6,3	20,0	12	32	0.000**
>40 ⁰	84 (80.0%)	62,7	17,4	59,5	36	125	
4.Корсетолечение							
Корсетолечение	55 (52.4%)	56,5	17,0	56,0	16	99,7	0.484*
Без корсетолечение	47 (47.6%)	53,4	28,0	53,0	12	125	
5.Тип на кривата							
Торакална крива	62 (59.1%)	54,7	24,7	55,0	12	125	0.071***
Тораколумбална крива	31 (29.5%)	59,3	17,8	60,0	16	99,7	
Лумбална крива	12 (11.4%)	41,6	19,6	42,5	16	80	
6.Конвекситет							
D – сколиоза	87 (82.9%)	54,3	22,1	55,0	12	120	0.821*
L – сколиоза	18 (17.1%)	55,7	25,9	58,0	16	125	
7.Фамилна история							
Фамилни случаи	28 (26.7%)	40,7	24,5	34,0	15	120	0.000**
Нефамилни случаи	77 (73.3%)	59,6	19,8	59,0	12	125	
Общо	105 (100%)	54,6	22,7	55,0	12	125	

ИИС – инфантилна идиопатична сколиоза; ЮИС – ювенилна идиопатична сколиоза; АИС – адолесцентна идиопатична сколиоза; D – дясноконвексна сколиоза; L – лявоконвексна сколиоза; SD – стандартно отклонение. *T-test; **Mann-Whitney; ***OneWay ANOVA

На таблица 4.2 се наблюдават значителни разлики в средния ъгъл на Cobb при прогресивна сколиоза (оперирани случаи) - $62,7^0 \pm 17,4$ и при непрогресивна или бавнопрогресивна сколиоза (неоперирани случаи) – $22,1^0 \pm 6,3$. При разделяне само на оперативните случаи на такива след проведено и без проведено корсетолечение се вижда, че предоперативният ъгъл на Cobb е с по-голяма средна стойност при тези, които никога не са провеждали корсетолечение ($66,0^0 \pm 22,0$).

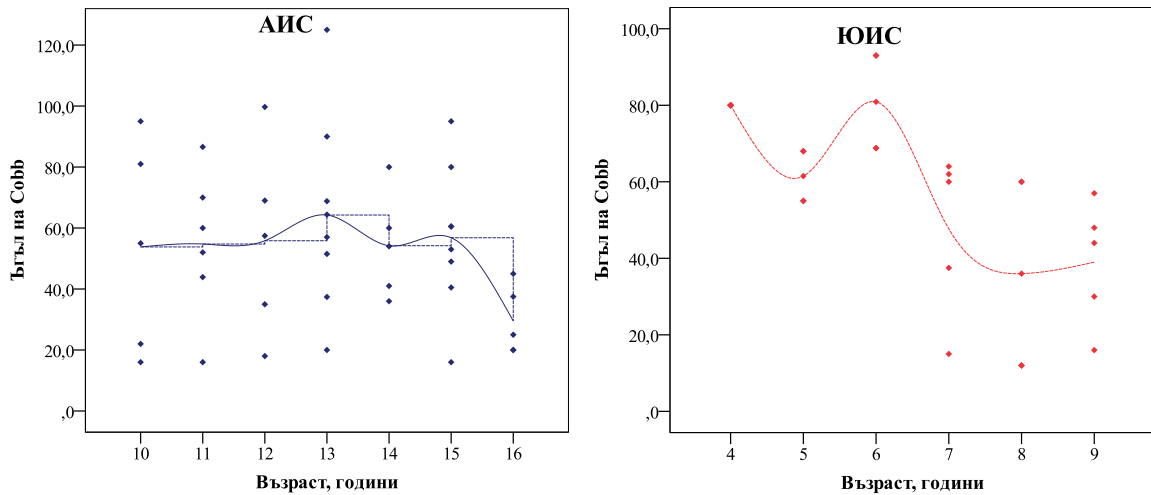
Средният предоперативен ъгъл на сколиозата се различава значително и в зависимост от възрастта ($p=0.012$, OneWay ANOVA). Само при четирима пациенти се наблюдава ИИС и техният среден резултат не е показателен. При сравняване на останалите две групи – на ЮИС и АИС не се достига статистическа значимост ($p=0.11$, T-test). Едно ново сравнително проучване на ЮИС и АИС не открива статистически значими разлики в средния ъгъл на Cobb при пациенти с двете форми на идиопатична сколиоза [11].

При фамилните случаи средният ъгъл на Cobb е значително по-малък от този при нефамилните случаи, но когато се разглеждат само прогресивните фамилни и спорадични случаи, стойностите са близки.

При сравняване на средния ъгъл на лумбалната сколиоза спрямо този при торакалната и тораколумбалната сколиоза, се вижда, че при първични деформации в лумбалния отдел не се достигат толкова високи градуси на ъгъла на Cobb ($41,6^0 \pm 19,6$).

При изследване на 190 пациенти с АИС тип 3С според класификацията на Lenke е установен по-малък предоперативен среден ъгъл на сколиозата в лумбалната област – $43,5^0$ спрямо торакалните криви – 53^0 [12].

Беше потвърдена линейна корелация между възрастта към началото на заболяването и ъгъла на сколиозата в групата на АИС и ЮИС (фигура 4.1):



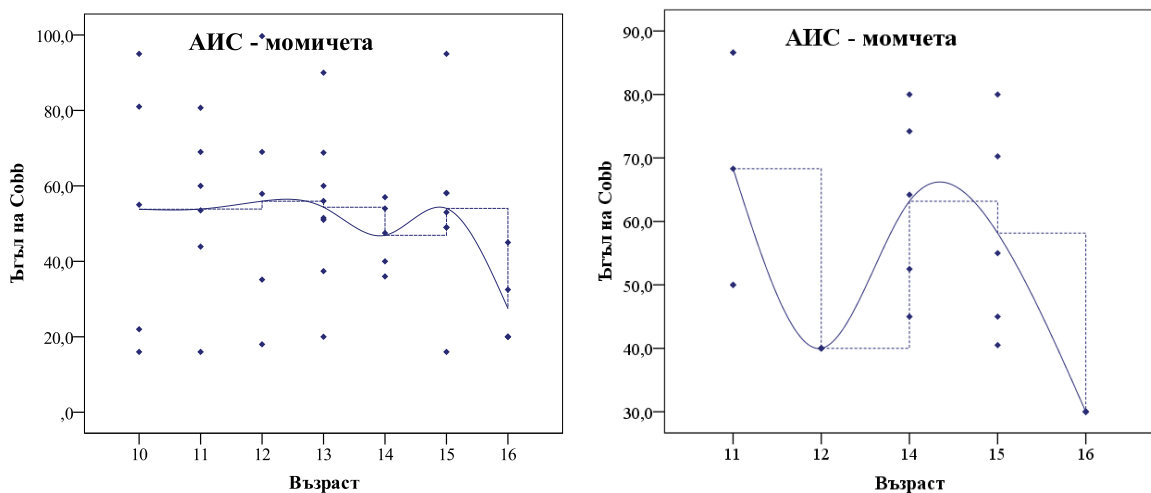
А. R=0,194; p=0.089

Б. R=0,605; p=0.002

Фигура 4.1. Линеен корелационен анализ между ъгъла на сколиозата и възрастта: А. При АИС; Б. При ЮИС; R-коефициент на Spearman, p-вероятност.

От фиг 4.1 се вижда, че в групата на ЮИС средният ъгъл най-общо намалява с възрастта, като пикът е на 6-годишна възраст. Прогнозата е по-лоша при начало на ЮИС до 6-годишна възраст, тази ранна сколиоза се характеризира със сериозен риск от прогресия и кардио-пулмонални усложнения [13]. Колкото по-малко е детето по време на поставяне на диагнозата, толкова по-голям е рискът от прогресия на деформацията и предоперативният ъгъл на Cobb е по-голям.

При АИС се наблюдава тенденция към асоциация и при разделяне на случаите по пол се достига статистическа значимост в групата на момичетата (фиг. 4.2А).



А. R=0,251; p=0.043

Б. R=0,309; p=0.33

Фигура 4.2. Линеен корелационен анализ между ъгъла на сколиозата и възрастта при АИС: А. При момичета Б. При момчета; R-коефициент на Spearman, p-вероятност.

Пиковите съответстват на периодите на ускорен растеж, когато вероятността от поява или прогресия на съществуваща деформация е по-голяма. Средната възраст на пикова растежна скорост е 11.6 години за момичетата и 13.5 години за момчета по данни за България [14].

2. РЕЗУЛТАТИ ОТ АСОЦИАТИВНОТО ПРОУЧВАНЕ И ОБСЪЖДАНЕ

2.1. Селекция на клинични групи

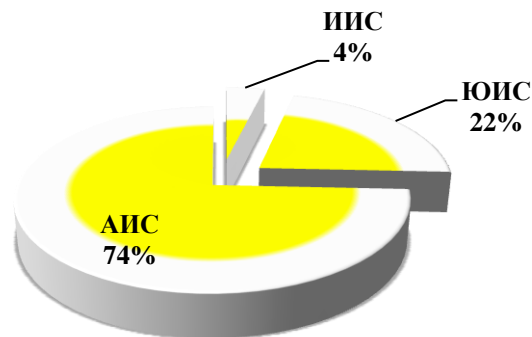
За целите на асоциативното проучване пациентите бяха групирани по следните 5 показателя: начало на идиопатичната сколиоза, прогресия, пол, фамилна история, тип на гръбначната крива. Групата на пациентите с прогресивна сколиоза беше разделена на 2 подгрупи в зависимост от проведеното корсетолечение. Контролната група беше разделена на 2 подгрупи - според пола на изследваните лица.

При проучване на връзката между полиморфизмите и началото, прогресията, фамилната история на заболяването и пола бяха сравнявани случаи с контроли (case-control study).

При проучване на връзката между полиморфизмите и типа на гръбначната крива и изхода от корсетолечението бяха сравнявани помежду им съответните подгрупи от пациенти (case-only study).

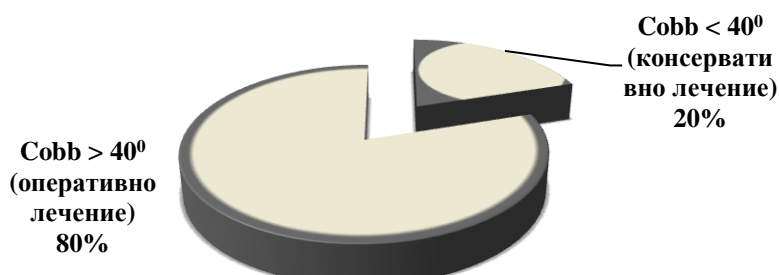
Асоциативно проучване случаи/контроли (case-control study)

- Начало на идиопатична сколиоза: 1) Инфантилна – ИИС (n=4); 2) Ювенилна - ЮИС (n=23); 3) Адоlescцентна – АИС (n=78); 4) Контролна група (n=210)



Фиг. 4.3. Разпределение на случаите според началото на заболяването

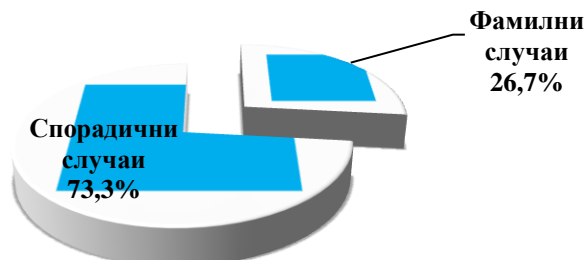
- Прогресия: 1) Непрогресивна или бавнопрогресивна сколиоза - ъгъл на Cobb до 40° (n=21); 2) Прогресивна сколиоза - ъгъл на Cobb над 40° (n=84); 3) Контролна група (n=210)



Фиг. 4.4. Разпределение на случаите според прогресията на заболяването

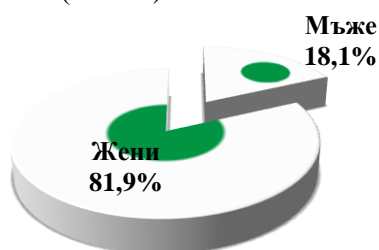
*Имаше двама оперирани пациенти с ъгъл на Cobb < 40° , които бяха включени към втората група

- Фамилна история на заболяването: 1) Фамилни случаи – с поне един болен родственик (n=28); 2) Спорадични случаи - с отрицателна фамилна анамнеза (n=77); 3) Контролна група (n=210)



Фиг. 4.5. Разпределение на случаите според фамилната история на заболяването

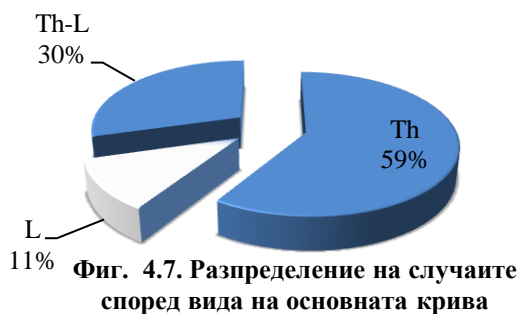
- Под: 1) Мъжки (n=19); 2) Женски пол (n=86); 3) Контролна група мъже (n=38); 4) Контролна група жени (n=172)



Фиг. 4.6. Разпределение по пол

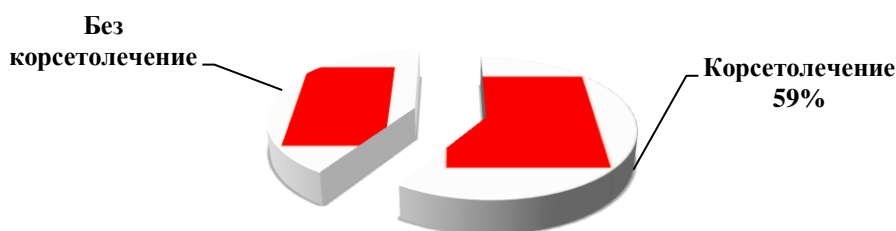
Асоциативно проучване между подгрупи от случаи (case-only study)

- Тип на гръбначната крива: 1) Торакална – Th (n=62); 2) Лумбална - L (n=12); 3) Торако-лумбална сколиоза - Th-L (n=31).

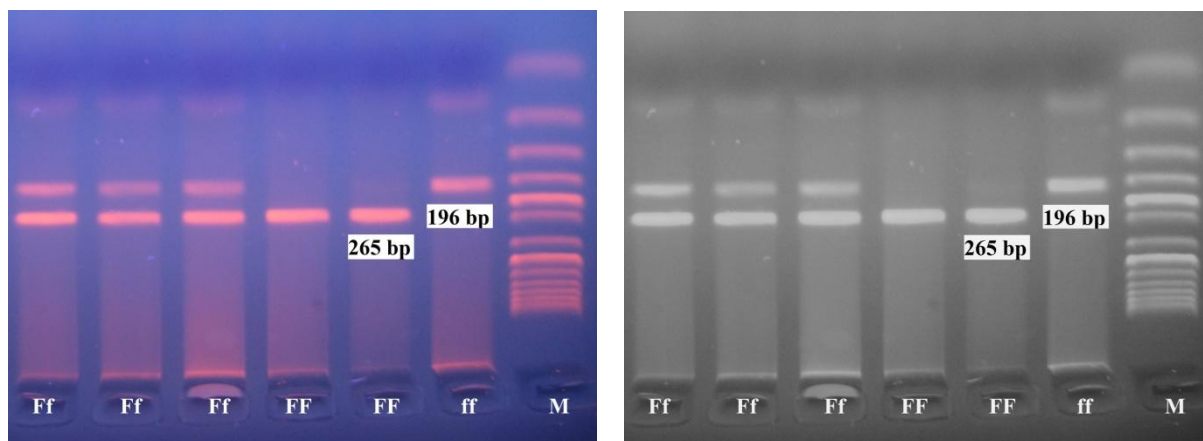


Фиг. 4.7. Разпределение на случаите според вида на основната крива

- Проведено корсетолечение в групата на прогресивната сколиоза: 1) Проведено корсетолечение (n=49); 2) Без предшестващо корсетолечение (n=34).



Фиг. 4.8. Разпределение на оперативните случаи в зависимост от проведеното корсетолечение



Фиг 4.11. Резултати от рестрикционния анализ: FF – хомозиготи (265 bp); Ff – хетерозиготи (265 + 196 + 69 bp); ff – хомозиготи (196 + 69 bp); M – маркер 50 bp; първа позиция (вляво) – секвенирана контрола.

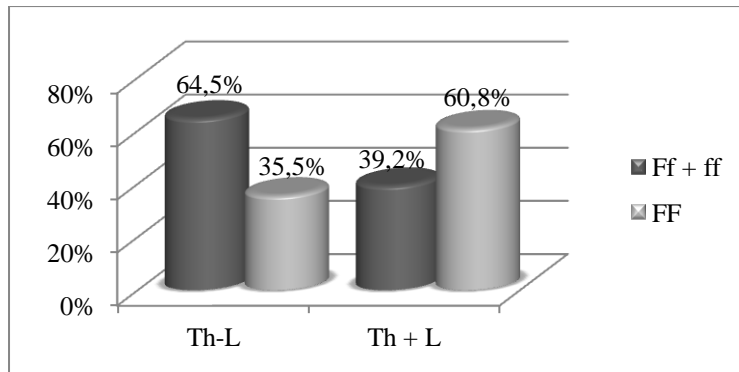
Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Общите генотипни и алелни честоти на *VDR* (rs2228570) бяха сравними при пациенти и контроли (FF vs. Ff vs. ff, $p = 0.86$; F vs. f, $p = 0.89$, χ^2 -тест). Поради ниската популационна честота на хомозиготния ff генотип и ниската му честота в изследваната извадка, хомозиготите по доминантния алел - FF бяха изследвани срещу сбора от хетерозиготите - Ff и хомозиготите по рецесивния алел – ff (доминантен модел) в отделните подгрупи.

Генотипните и алелните честоти на *VDR* (rs2228570) не се различаваха съществено при български пациенти с АИС и контроли (FF vs. Ff + ff, $p = 0.72$ и F vs. f, $p = 0.92$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между *VDR FokI* и АИС, докладвана от Suh et al (2010) при корейски пациенти [16].

При сравняване подгрупата от пациенти с тораколумбална сколиоза със сбора от останалите пациенти – с торакална и лумбална сколиоза беше установена статистически значима връзка с изследвания полиморфизъм (FF vs. Ff + ff, $p = 0.02$ при OR = 0.35 и 95% CI = 0.15-0.85). Възможно е полиморфизмът да корелира с типа на кривата. Odds ratios в отделните подгрупи са представени на таблица 4.3.

Таблица 4.3. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Ген	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Cobb >40°				
Корсетолечение/без корсетолечение (n ₁ =49, n ₂ =34)	<i>VDR</i> (rs2228570)	FF vs. Ff+ff F vs. f	0.42 0.39	0.70 [0.29-1.68] 0.73 [0.36-1.49]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива (n ₁ =62, n ₂ =43)	<i>VDR</i> (rs2228570)	FF vs. Ff+ff F vs. f	0.05 0.15	2.20 [0.99-4.86] 1.57 [0.84-2.92]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива (n ₁ =31, n ₂ =74)	<i>VDR</i> (rs2228570)	FF+ff vs. FF f vs. F	0.02 0.1	2.82 [1.18-6.74] 1.72 [0.90-3.29]
Лумбална/ тораколумбална+торакална първична крива (n ₁ =12, n ₂ =93)	<i>VDR</i> (rs2228570)	FF vs. Ff+ff F vs. f	0.71 0.89	1.26 [0.37-4.25] 1.07 [0.40-2.86]



Фигура 4.12. Доминантен модел на генно влияние (Ff+ff) / FF според типа на основната крива (Th-L – тораколумбална, Th - торакална, L - лумбална крива).

В заключение, този функционален полиморфен вариант няма предразполагащ или модифициращ ефект сред българските пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с начало на заболяването, пол, фамилна история и изход от корсетолечението. В същото време полиморфният алел, кореспондиращ с по-ниска активност на VDR [17, 18], се среща значително по-често при тораколумбален тип първична крива, характеризираща се с по-малък среден ъгъл на Cobb. Възможно е полиморфизмът да изпълнява ролата на второстепенен модифициращ фактор.

2.3.2. Инсулиноподобен растежен фактор 1 - IGF-1 (rs5742612, C/T)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg в контролните групи. В подгрупата на пациентите от мъжки пол, полиморфизмът показва отклонение, което може да бъде обяснено с малката извадка и с преобладаващия TT генотип и в този случай е допустимо.

Генотипните и алелните честоти на IGF-1 (rs5742612, C/T) не се различаваха съществено при пациенти и контроли (TT vs. CT vs. CC, $p = 0.93$ и T vs. C, $p = 0.73$, χ^2 -тест). Поради ниската честота на хомозиготния CC генотип в кавказката популация и в изследваната извадка, хомозиготите TT бяха изследвани срещу сбора от хетерозиготите - CT и хомозиготите CC (доминантен модел) в отделните подгрупи.

Генотипните и алелните честоти на IGF-1 (rs5742612) не се различаваха съществено при български пациенти с АИС и контроли (TT vs. CT + CC, $p = 0.84$ и T vs. C, $p = 0.79$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между IGF-1 (rs5742612) и началото на АИС, докладвана при китайски пациенти [19], където размерът на извадката и критериите за селекция на пациентите се доближават в най-голяма степен до настоящото проучване.

В подгрупата на прогресивната сколиоза, където ъгълът на Cobb е над 40° , генотипните и алелните честоти на IGF-1 (rs5742612) бяха сравними с тези на контролите (TT vs. CT + CC, $p = 1$; T vs. C, $p = 0.82$, χ^2 -тест). Следователно, този полиморфизъм не може да бъде обсъждан като самостоятелен фактор с модифициращо действие върху патологичния фенотип, асоцииран с бърза прогресия на деформацията сред българските пациенти. В японска популация Takahashi et al. (2006) не откриват връзка между генотипите на пациенти с прогресивна сколиоза и АИС ($p = 0.51$) [20]. В китайска популация Yeung et al. (2006) измерват средния ъгъл на Cobb и установяват, че той е по-голям при TT хомозиготи (TT vs CT vs CC: 38.1° vs 35.9° vs 33.2° ; $p=0.04$, OneWay ANOVA) [21]. При измерване средните стойности на ъгъла на сколиозата при различните генотипове, не бяха открити статистически значими различия при български пациенти (TT vs CT + CC: 54.2° vs 57.6° ; $p=0.64$ и T vs C: 54.6° vs 53.6° ;

$p=0.91$, T-test). Тези резултати могат да бъдат обяснени с големите популационни извадки, при които малките разлики от няколко градуса, се отчитат като сигнификантни. Не трябва да се забравя, че показателят среден ъгъл на сколиозата не е много точен за оценка на връзката между генотип и прогресия, тъй като средният ъгъл може да достигне значителни стойности при ненавременно и адекватно лечение, т.е. зависи и от външни фактори.

В заключение, промоторният полиморфизъм *IGF-1* (rs5742612) няма предразполагащ или модифициращ ефект сред българските пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с възраст на начало на заболяването, пол, фамилна история, тип на кривата и изход от корсетолечението. Тези резултати не изключват потенциалната роля на други полиморфизми на гена *IGF-1* в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза.

2.3.3. Аденозинмонофосфатдезаминаза 1 - *AMPD1* (rs17602729, C/T; C34T)

Асоциацията между *AMPD1* (rs17602729) и идиопатичната сколиоза не бе проучена до момента. Има данни, че индивидите, които експресират вариантния T алел (2% от кавказката популация са хомозиготи), са склонни към мускулна слабост, крампи, болки и преждевременна умора при физическа активност [22]. Много заболявания, които водят до мускулен дисбаланс и мускулна слабост, може да причинят сколиоза. Невромускулната сколиоза се среща при детска церебрална парализа, мускулни дистрофии, спинална мускулна атрофия, спина бифида, увреждания на гръбначния мозък [1]. Въпросът е дали функционалният полиморфизъм, водещ до мускулна слабост, повишава риска от сколиоза в отсъствие на невромускулно заболяване или травма.

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Нямаше статистически значими разлики между генотипните и алелните честоти при пациенти и контроли (CC vs. CT vs. TT, $p = 0.51$; C vs. T, $p = 0.4$, χ^2 -тест).

В заключение, този функционален полиморфен вариант на *AMPD1* няма предразполагащ или модифициращ ефект при български пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с начало на заболяването, пол, фамилна история, тип на кривата и изход от корсетолечението на този етап. Резултатите, наблюдавани при сравняване на спорадичните случаи с контролите (C vs. T, $p = 0.07$, χ^2 -тест), не изключват потенциалната роля на този полиморфизъм в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза и предполагат разширени популационни проучвания за потвърждаване на настоящите резултати.

2.3.4. Актинин 3 - *ACTN3* (rs1815739, C/T; R577X)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на *ACTN3* (R/X) не се различаваха съществено при пациенти и контроли (RR vs. RX vs. XX, $p = 0.34$ и R vs. X, $p = 0.28$, χ^2 -тест).

Асоциацията между *ACTN3* (R/X) и идиопатичната сколиоза до момента е проучена само в рамките на една бразилска фамилия от 25 души, 22-ма, от които имат определена степен на латерална девиация на гръбначния стълб над 5° , а 9-ма имат адолесцентна идиопатична сколиоза над 15° . Резултатите показват: 6 RR хомозиготи (24%), 11 RX хетерозиготи (44%) и 8 XX (32%) хомозиготи. Честотата на R алела е

46%, а на Х алела е 54%, т.е. близка до популационната [15]. До момента не са провеждани други проучвания.

Асоциацията в отделните подгрупи беше проучена при генотипен (кодоминантен, доминантен и рецесивен модел) и алелен модел на генно влияние.

В заключение, този функционален полиморфен вариант на *ACTN3* няма предразполагащ или модифициращ ефект при български пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с начало на заболяването, пол, фамилна история, тип на кривата и изход от корсетолечението. Резултатите, наблюдавани при сравняване на пациенти с АИС с контроли (RR vs. RX + XX, $p=0.07$, χ^2 -тест) и на пациенти с прогресивна сколиоза с контроли (RR vs. RX + XX, $p=0.08$, χ^2 -тест), при рецесивен модел на генно влияние, не изключват потенциалната роля на този полиморфизъм в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза и предполагат разширени популационни проучвания за потвърждаване на настоящите резултати.

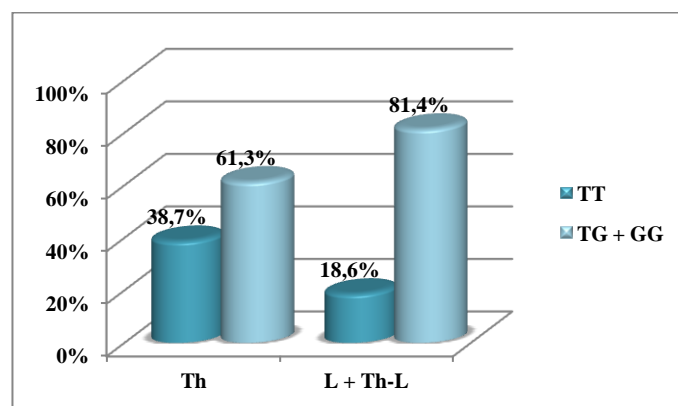
2.3.5. Костен морфогенен протеин-4 - *BMP4* (rs4898820, T/G)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на *BMP4* (rs4898820 T/G) не се различаваха съществено при пациенти и контроли (TT vs. TG vs. GG, $p = 0.6$ и T vs. G, $p = 0.5$, χ^2 -тест).

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *BMP4* (rs4898820 T/G) бяха сравними при български пациенти и контроли (TT vs. GG, $p = 0.6$ и T vs. G, $p = 0.5$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между *BMP4* (rs4898820 T/G) и АИС, докладвана от Morocz et al (2011) при унгарски пациенти [23].

В подгрупата на прогресивната сколиоза, където ъгълът на Cobb е над 40° , генотипните и алелните честоти на *BMP4* (rs4898820 T/G) бяха сравними с тези на контролите ($p > 0.05$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация, докладвана при унгарски пациенти с прогресивна сколиоза [23]. Следователно, този полиморфизъм не може да бъде обсъждан като самостоятелен фактор с модифициращо действие върху патологичния фенотип, асоцииран с бърза прогресия на деформацията сред българските пациенти.

При сравняване подгрупата от пациенти с торакална сколиоза със сбора от останалите пациенти – с торакална и лумбална сколиоза беше установена статистически значима връзка с изследвания полиморфизъм (TT vs. GT + GG, $p = 0.03$ при OR = 2.76 и 95% CI = 1.1-6.95). Възможно е полиморфизмът да корелира с типа на кривата.



Фигура 4.13. Доминантен модел на генно влияние TT/ (TG+GG) според типа на основната крива (Th-L – тораколумбална, Th - торакална, L - лумбална крива).

В заключение, този функционален полиморфен вариант няма предразполагащ или модифициращ ефект сред българските пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с начало на заболяването, пол, фамилна история и изход от корсетолечението. В същото време хомозиготният генотип TT се среща значително по-често при торакален тип първична крива и е потенциален второстепенен модифициращ фактор при веднъж отключена деформация.

2.3.6. *Лептин – Lep (rs7799039, G/A)*

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на *Lep* (rs7799039 G/A) не се различаваха съществено при пациенти и контроли (GG vs. GA vs. AA, $p = 0.54$ и G vs. A, $p = 0.28$, χ^2 -тест).

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *Lep* (rs7799039 G/A) бяха сравними при български пациенти и контроли (GG vs. AA, $p = 0.41$ и G vs. A, $p = 0.43$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между *Lep* (rs7799039) и АИС, докладвана от Morocz et al (2011) при унгарски пациенти [23].

В подгрупата на прогресивната сколиоза, генотипните и алелните честоти на *Lep* (rs7799039 G/A) бяха сравними с тези на контролите ($p > 0.05$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация, докладвана при унгарски пациенти с прогресивна сколиоза [23]. Следователно, този полиморфизъм не може да бъде обсъждан като самостоятелен фактор с модифициращо действие при българските пациенти.

В заключение, този функционален полиморфен вариант няма предразполагащ или модифициращ ефект сред българските пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с начало на заболяването, пол, фамилна история, тип на кривата и изход от корсетолечението. Тези резултати не изключват потенциалната роля на други полиморфизми на лептиновия ген и неговия рецептор в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза.

2.3.7. *Матрилин-1 - MATN1 (rs1149048, A/G)*

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. При сравняване на генотипните и алелните честоти на *MATN1* (rs1149048 A/G) между общата извадка от пациенти и контроли не се наблюдаваха статистически значими разлики (GG vs. AG vs. AA, $p = 0.43$ и G vs. A, $p = 0.17$, χ^2 -тест).

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *MATN1* (rs1149048 A/G) бяха сравними при български пациенти и контроли (GG vs. AA, $p = 0.43$ и G vs. A, $p = 0.46$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между *MATN1* (rs1149048 A/G) и АИС, докладвана от Yilmaz et al (2012) при турски пациенти [24].

В подгрупата на фамилните случаи, генотипните и алелните честоти на *MATN1* (rs1149048 A/G) се различаваха значително от тези на контролната група (GG vs. AA, $p = 0.01$ и G vs. A, $p = 0.006$, Fisher's Exact Test). Хомозиготният GG генотип се свързва с 1.9 пъти по-висок риск, а G алелът - с 1.5 пъти по-висок риск от идиопатична сколиоза при положителна фамилна анамнеза (GG vs. AG + AA, RR=1.92, 95% CI: 1.09-3.41; G vs. A, RR=1.49, 95% CI: 1.16-1.91). Следователно, полиморфизмът *MATN1* (rs1149048 A/G) може да бъде свързан с фамилната история на идиопатичната сколиоза. Такава връзка на гена за матрилин-1 с фамилната идиопатична сколиоза предполага и изследването на Montanaro et al (2006) в италианска популационна извадка [25].

В подгрупата на прогресивната сколиоза, където ъгълът на Cobb е над 40⁰, генотипните и алелните честоти на *MATN1* (rs1149048 A/G) бяха сравними с тези на контролите ($p > 0.05$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация, докладвана при турски пациенти с прогресивна сколиоза [24]. Следователно, този полиморфизъм не може да бъде обсъждан като фактор, асоцииран с бърза прогресия на деформацията сред българските пациенти.

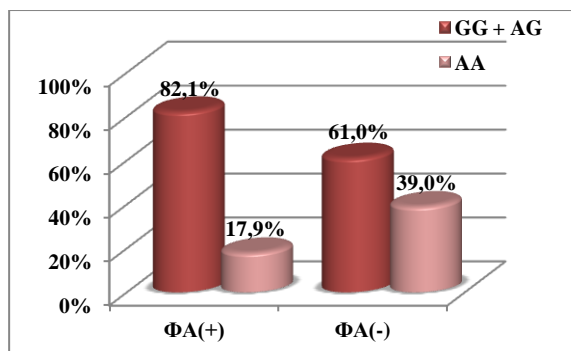
В подгрупата на непрогресивната и бавнопрогресивната сколиоза обаче, беше наблюдавана статистически значима асоциация с полиморфния вариант на *MATN1* по кододоминантен модел (GG vs. AA, $p = 0.02$ и G vs. A, $p = 0.01$, Fisher's Exact Test) и по рецесивен модел (GG vs. AG + AA, $p=0.01$, OR=3.29, 95% CI: 1.30-8.35). Хомозиготният GG генотип се свързва с 2.3 пъти по-висок риск, а полиморфният G алел – с 1.5 пъти по-висок риск от развитие на бавнопрогресивна и непрогресивна форма на идиопатична сколиоза (среден ъгъл на Cobb 22.1 ± 6.3^0) при българските пациенти (GG vs. AG + AA, $p=0.01$, RR=2.31, 95% CI: 1.31-4.08; G vs. A, $p=0.01$, RR=1.51, 95% CI: 1.14-1.98).

Асоциацията между *MATN1* (rs1149048 A/G) и фамилената и непрогресивна идиопатична сколиоза беше допълнително проучена. Фамилените случаи бяха сравнени със спорадичните случаи, прогресивните - с непрогресивните случаи, както и фамилените прогресивни - с фамилените непрогресивни случаи и непрогресивните фамиленни – с непрогресивните спорадични случаи (case-only study). Във всички тези случаи се наблюдаваха сигнификантни разлики ($p < 0.05$, Fisher's Exact Test).

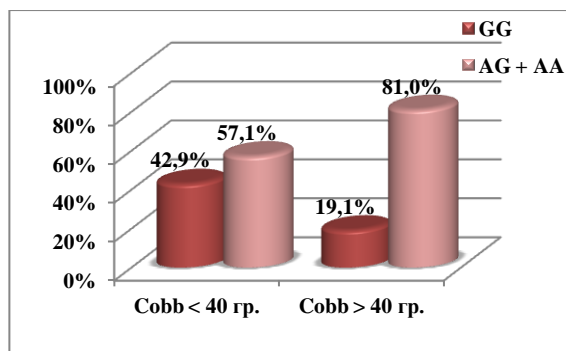
Освен това, фамилените непрогресивни случаи бяха сравнени с контролите (case-control study) и също беше отчетена статистически значима връзка между *MATN1* (rs1149048 A/G) и фамилената непрогресивна идиопатична сколиоза ($p < 0.05$, Fisher's Exact Test). Резултатите са представени на таблица 4.4.

Таблица 4.4. Проучване на асоциацията между *MATN1* (rs1149048 A/G) и фамилената непрогресивна идиопатична сколиоза.

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (Fisher's Exact Test)	OR [95% CI]
Фамиленни/Спорадични случаи ($n_1=28, n_2=77$)	Кододоминантен	GG vs. AA	0.03	4.00 [1.16-13.8]
	Доминантен	GG + AG vs. AA	0.04	2.94 [1.01-8.56]
	Рецесивен	GG vs. AG + AA	0.12	2.30 [0.88-5.98]
	Алелен	G vs. A	0.02	2.13 [1.14-3.97]
Прогресивни/непрогресивни случаи ($n_1=84, n_2=21$)	Кододоминантен	GG vs. AA	0.07	3.38 [0.97-11.78]
	Доминантен	GG + AG vs. AA	0.44	1.78 [0.59-5.33]
	Рецесивен	GG vs. AG + AA	0.04	3.19 [1.15-8.85]
	Алелен	G vs. A	0.04	2.06 [1.03-4.10]
Фамиленни непрогресивни/фамиленни прогресивни случаи ($n_1=14, n_2=14$)	Кододоминантен	GG vs. AA	0.03	Infinity
	Доминантен	GG + AG vs. AA	0.04	Infinity
	Рецесивен	GG vs. AG + AA	0.24	3.67 [0.7-19.12]
	Алелен	G vs. A	0.03	4.0 [1.28-12.47]
Непрогресивни фамиленни/непрогресивни спорадични случаи ($n_1=14, n_2=7$)	Кододоминантен	GG vs. AA	0.02	Infinity
	Доминантен	GG + AG vs. AA	0.001	Infinity
	Рецесивен	GG vs. AG + AA	0.64	2.5 [0.36-17.5]
	Алелен	G vs. A	0.007	7.5 [1.78-31.68]
Фамиленни непрогресивни случаи/контроли ($n_1=14, n_2=210$)	Кододоминантен	GG vs. AG	0.0005	Infinity
	Доминантен	GG + AG vs. AA	0.003	Infinity
	Рецесивен	GG vs. AG + AA	0.01	4.38 [1.45-13.22]
	Алелен	G vs. A	0.0003	4.59 [1.91-11.04]



Фигура 4.14. Доминантен модел на генно влияние (GG+AG)/AA според фамилната анамнеза (ФА).



Фигура 4.15. Рецесивен модел на генно влияние GG/(AG+AA) при непрогресивна сколиоза (Cobb <40⁰).

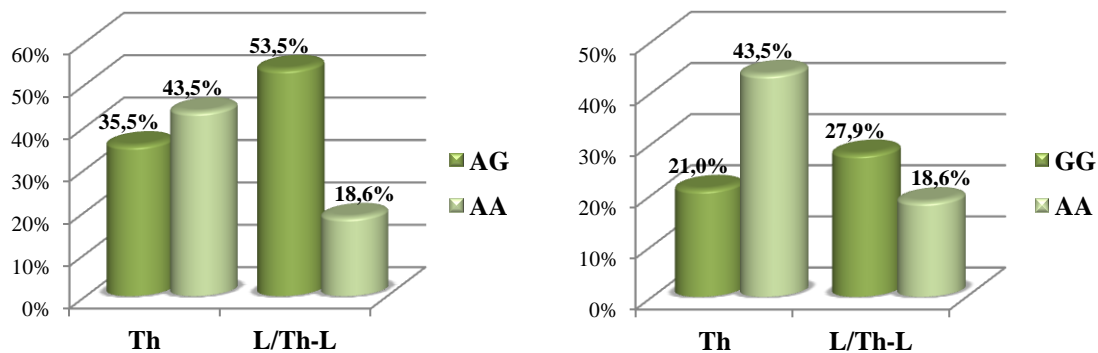
При сравняване на фамилните случаи със спорадичните случаи се вижда, че полиморфният G алел и GG генотип се срещат по-често при фамилна сколиоза (фиг. 4.14). Когато фамилните случаи се разделят на прогресивни и непрогресивни, се вижда, че няма статистически значима разлика между прогресивните фамилни случаи, прогресивните спорадични случаи и контролите. При сравняване на непрогресивните фамилни случаи с непрогресивните спорадични случаи и контролите, обаче, се открива че и в двата случая GG генотипът и G алелът се свързват с повишен риск от непрогресивна сколиоза при фамилни случаи. Това се вижда и от разликата между фамилни непрогресивни и фамилни прогресивни случаи (фиг. 4.15).

При сравняване подгрупата от пациенти с торакална сколиоза (n = 31) със сбора от останалите пациенти – с торакална и лумбална сколиоза (n = 74) беше установена статистически значима връзка с изследвания полиморфизъм, но в случая - с A алела и AA генотипа. Възможно е дивият тип AA да се свързва по-често с торакална първична крива при наличие на други отключващи фактори (AA vs. AG + GG, p = 0.01, RR = 2.34, 95% CI: 1.18-4.65). Odds ratios в отделните подгрупи са представени на таблица 4.5.

Таблица 4.5. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ ² -тест)	OR [95% CI]
Корсетолечение/без корсетолечение (n ₁ =49, n ₂ =34)	Кодоминантен	AA vs. GG	0.38	1.73 [0.51-5.91]
	Доминантен	AA vs. AG + GG	0.55	1.32 [0.53-3.32]
	Рецесивен	AA + AG vs. GG	0.41	1.58 [0.53-4.72]
	Алелен	A vs. G	0.38	1.32 [0.71-2.48]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива (n ₁ =62, n ₂ =43)	Кодоминантен	AA vs. GG	0.04*	3.12 [1.02-9.48]
	Доминантен	AA vs. AG + GG	0.01*	3.54 [1.32-9.42]
	Рецесивен	AA + AG vs. GG	0.49*	1.46 [0.59-3.60]
	Алелен	A vs. G	0.02*	1.91 [1.09-3.33]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива (n ₁ =31, n ₂ =74)	Кодоминантен	AA vs. GG	0.13*	0.37 [0.11-1.22]
	Доминантен	AA vs. AG + GG	0.07*	0.37 [0.14-1.02]
	Рецесивен	AA + AG vs. GG	0.46*	0.67 [0.26-1.75]
	Алелен	A vs. G	0.09*	0.58 [0.32-1.05]
Лумбална/ тораколумбална+торакална първична крива (n ₁ =12, n ₂ =93)	Кодоминантен	AA vs. GG	0.64*	2.25 [0.35-14.6]
	Доминантен	AA vs. AG + GG	0.33*	0.36 [0.08-1.76]
	Рецесивен	AA + AG vs. GG	1*	0.93 [0.23-3.74]
	Алелен	A vs. G	0.39*	0.67 [0.28-1.57]

*Fisher's Exact Test (two-tailed)



Фигура 4.16. Кодоминантен модел на генно влияние според типа на първичната крива (Th - торакална, Th-L – тораколумбална, L - лумбална крива).

В заключение, промоторният полиморфизъм *MATN1* (rs1149048 A/G) се свързва с фамилна непрогресивна сколиоза. Необходимо е разширено проучване за потвърждаване на резултатите. Идентифицирането на молекулни маркери за непрогресивна и бавнопрогресивна сколиоза би било полезно при оценка риска от прогресия на деформацията при засегнати индивиди с поне един болен родственик.

2.3.8. Матриксна металопроотеиназа-3 - *MMP3* (rs3025058; -1171 5A/6A)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на *MMP3* (-1171 5A/6A) не се различаваха съществено при пациенти и контроли (6A/6A vs. 5A/6A vs. 5A/5A, $p = 0.57$ и 6A vs. 5A, $p = 0.73$, χ^2 -тест).

Асоциативното проучване на Aulisa et al. (2007) е първото, търсещо връзка между функционалния полиморфизъм *MMP3* (-1171 5A/6A) и етиопатогенезата на АИС, в европейска популация. Авторите установяват, че промоторният полиморфизъм на *MMP3* е важен фактор в генетичното предразположение към АИС [26, 27].

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *MMP3* (-1171 5A/6A) бяха сравними при български пациенти и контроли (5A/5A vs. 6A/6A, $p = 0.55$ и 5A vs. 6A, $p = 0.64$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между *MMP3* (-1171 5A/6A) и АИС, докладвана от Morocz et al (2011) при унгарски пациенти [23] и от Liu et al (2010) при китайски пациенти [28]. Следователно, изследваният полиморфизъм не може да бъде свързан с възрастта на поява на идиопатичната сколиоза при българските пациенти.

Наблюдаваните различия спрямо изследването на Aulisa et al. (2007) може да се дължат на малката извадка от италиански пациенти, имаща характер по-скоро на предварително проучване, което по-късно не е валидирано в по-голяма популация.

В подгрупата на прогресивната сколиоза, където ъгълът на Cobb е над 40° , генотипните и алелните честоти на *MMP3* (-1171 5A/6A) също са сравними с тези на контролите ($p > 0.05$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на връзка с прогресията на идиопатичната сколиоза, докладвана в китайската популация [28]. Следователно, полиморфизмът не може да бъде обсъждан като модифициращ генетичен вариант за идиопатична сколиоза при българските пациенти.

В останалите подгрупи също не бяха наблюдавани значими разлики ($p > 0.05$). Следователно, промоторният полиморфизъм на *MMP3* не може да бъде свързан с пола и фамилната история на идиопатичната сколиоза при българските пациенти.

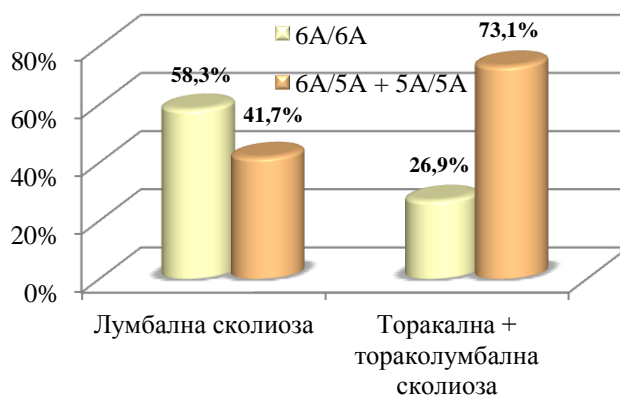
На таблица 4.6 са представени Odds Ratios, получени при сравняване на отделните подгрупи от пациенти.

Таблица 4.6. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Cobb >40° Корсетолечение/без корсетолечение (n ₁ =49, n ₂ =34)	Кодоминантен	5A/5A vs. 6A/6A	0.48	1.57 [0.45-5.53]
	Доминантен	5A/5A + 5A/6A vs. 6A/6A	0.71	1.20 [0.46-3.09]
	Рецесивен	5A/5A vs. 5A/6A + 6A/6A	0.46	1.51 [0.51-4.53]
	Алелен	5A vs. 6A	0.5	1.24 [0.66-2.31]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива (n ₁ =62, n ₂ =43)	Кодоминантен	5A/5A vs. 6A/6A	0.92	1.05 [0.37-2.98]
	Доминантен	5A/5A + 5A/6A vs. 6A/6A	0.09	2.05 [0.88-4.76]
	Рецесивен	5A/5A vs. 5A/6A + 6A/6A	0.2	0.55 [0.22-1.37]
	Алелен	5A vs. 6A	0.75	1.09 [0.63-1.90]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива (n ₁ =31, n ₂ =74)	Кодоминантен	5A/5A vs. 6A/6A	0.71	1.24 [0.41-3.74]
	Доминантен	5A/5A + 5A/6A vs. 6A/6A	0.79	0.89 [0.36-2.19]
	Рецесивен	5A/5A vs. 5A/6A + 6A/6A	0.42	1.48 [0.57-3.85]
	Алелен	5A vs. 6A	0.75	1.10 [0.61-2.00]
Лумбална/ тораколумбална+торакална първична крива (n ₁ =12, n ₂ =93)	Кодоминантен	6A/6A vs. 5A/5A	0.74*	1.47 [0.38-5.72]
	Доминантен	6A/6A vs. 6A/5A + 5A/5A	0.04*	3.81 [1.11-13.1]
	Рецесивен	6A/6A + 5A/6A vs. 5A/5A	0.47*	0.58 [0.16-2.13]
	Алелен	6A vs. 5A	0.39*	1.53 [0.64-3.67]

*Fisher's Exact Test (two-tailed)

При сравняване подгрупите от пациенти с различен тип на кривата беше установена статистически значима връзка с лумбалната сколиоза. Възможно е хомозиготният генотип 6A/6A, свързан със значително по-ниски нива на MMP3 в сравнение с 5A/5A [23], да е свързан с по-често развитие на лумбална първична крива при наличие на други отключващи фактори. Известно е, че средният ъгъл на лумбалната сколиоза е значително по-малък от този при торакална първична крива. Типът на първичната крива има важно значение при оценка на евентуална прогресия на деформацията. Необходимо е резултатът да бъде потвърден при по-голяма извадка от пациенти с лумбална сколиоза.



Фигура 4.17. Доминантен модел (6A/6A)/(6A/5A+5A/5A) при основните типове първични криви.

2.3.9. Интерлевкин-6 - IL-6 (rs1800795; -174G/C)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на IL-6 (-174G/C) се различаваха съществено при пациенти и контроли (GG vs. GC vs. CC, $p < .0001$ и G vs. C, $p < .0001$, χ^2 -тест). На базата на тези резултати функционалният полиморфизъм IL-6 (-174G/C) може да се разглежда като самостоятелен фактор, свързан с предразположението към идиопатична сколиоза.

Таблица 4.7. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти и контроли (case-control study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]	
Обща група (n ₁ =105, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. CC	<0.0001	4.13 [1.96-8.69]	
		GG vs. GC	0.008	2.01 [1.20-3.38]	
	Доминантен	GG vs. GC + CC	0.002	2.47 [1.52-4.01]	
	Рецесивен	GG + GC vs. CC	0.0002	2.88 [1.44-5.80]	
АИС (n ₁ =78, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.0002	4.42 [1.91-10.2]	
		GG vs. GC	0.01	2.24 [1.26-3.98]	
	Доминантен	GG vs. GC + CC	0.0002	2.72 [1.60-4.64]	
	Рецесивен	GG + GC vs. CC	0.01	2.95 [1.33-6.54]	
ЮИС (n ₁ =23, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.08	3.08 [0.82-11.6]	
		GG vs. GC	0.2	1.82 [0.71-4.65]	
	Доминантен	GG vs. GC + CC	0.08	2.14 [0.9-5.1]	
	Рецесивен	GG + GC vs. CC	0.2	2.25 [0.64-7.88]	
Алелен	G vs. C	<0.0001	1.88 [0.99-3.58]		
	Фамилни случаи (n ₁ =28, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.0007	15.14 [1.96-117.23]
			GG vs. GC	0.01	2.98 [1.26-7.06]
		Доминантен	GG vs. GC + CC	0.0003	4.2 [1.84-9.61]
Рецесивен		GG + GC vs. CC	0.01	9.11 [1.21-68.7]	
Алелен	G vs. C	<0.0001	4.18 [2.06-8.51]		
	Спорадични случаи (n ₁ =77, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.008	2.75 [1.28-5.93]
			GG vs. GC	0.048	1.79 [1.00-3.20]
		Доминантен	GG vs. GC + CC	0.008	2.05 [1.2-3.5]
Рецесивен		GG + GC vs. CC	0.048	2.03 [1.00-4.12]	
Алелен	G vs. C	0.003	1.78 [1.21-2.62]		
	Cobb >40° (n ₁ =84, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.0001	4.73 [2.05-10.92]
			GG vs. GC	0.006	2.17 [1.24-3.78]
		Доминантен	GG vs. GC + CC	0.0002	2.69 [1.60-4.53]
Рецесивен		GG + GC vs. CC	0.003	3.21 [1.45-7.08]	
Алелен	G vs. C	<0.0001	2.34 [1.59-3.45]		
	Cobb <40° (n ₁ =21, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.17	2.52 [0.65-9.80]
			GG vs. GC	0.42	1.49 [0.56-3.97]
		Доминантен	GG vs. GC + CC	0.23	1.75 [0.70-4.36]
Рецесивен		GG + GC vs. CC	0.26	2.03 [0.57-7.15]	
Алелен	G vs. C	0.14	1.64 [0.85-3.16]		
	Мъже (n ₁ =19, n ₂ =38)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.43*	2.31 [0.38-14.0]
			GG vs. GC	0.25*	2.09 [0.63-6.91]
		Доминантен	GG vs. GC + CC	0.25*	2.14 [0.70-6.57]
Рецесивен		GG + GC vs. CC	0.71*	1.59 [0.29-8.77]	
Алелен	G vs. C	0.3*	1.69 [0.73-3.91]		
	Жени (n ₁ =86, n ₂ =172)	Кодоминантен	GG vs. CC	0.0001	4.60 [2.02-10.4]
			GG vs. GC	0.02	2.00 [1.12-3.56]
		Доминантен	GG vs. GC + CC	0.0005	2.56 [1.50-4.37]
Рецесивен		GG + GC vs. CC	0.01	2.89 [1.35-6.16]	
Алелен	G vs. C	<0.0001	2.29 [1.55-3.38]		

*Fisher's Exact Test (two-tailed); n₁- брой пациенти, n₂- брой контроли.

Носителството на хомозиготния GG генотип се свързва с 1.7 пъти по-висок риск (GG vs. GC+CC, RR=1.71, 95% CI: 1.3-2.26), а на G алел – с 1.35 пъти по-висок риск (G vs. C, RR=1.35, 95% CI: 1.19-1.53) от развитие на идиопатична сколиоза при българи.

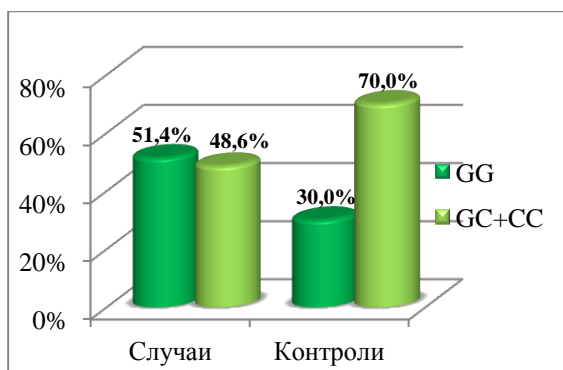
Носителството на хомозиготния GG генотип се свързва с 1.8 пъти по-висок риск от развитие на АИС (GG vs. GC+CC, RR=1.8, 95% CI: 1.34-2.4), а на G алел – с 1.37 пъти по-висок риск (G vs. C, RR=1.37, 95% CI: 1.2-1.57).

Тези резултати дават основание полиморфният алел да се разглежда като протективен фактор, а дивият тип G алел, свързан с повишена транскрипция на гена – като предразполагащ фактор за идиопатична и адолесцентна идиопатична сколиоза при български пациенти. Възможно е носителството на G алел или на GG генотип да повлиява цитокиновата експресия в отговор на гръбнака на механичен стрес (асиметрично натоварване) и да повишава податливостта към деформация и по-нататъшна прогресия на деформацията.

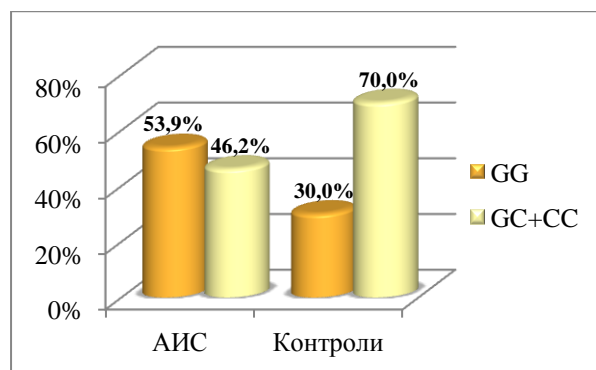
При сравнение с резултатите, наблюдавани при италиански пациенти [26, 27], може да се каже, че настоящото изследване потвърждава положителната асоциация между полиморфизма *IL-6* (-174G/C) и АИС, като нивото на значимост е сходно и при двете проучвания ($p < 0.001$), а разликите в стойностите на ORs се обясняват с размера на извадките и възможни различия в генотипните честоти при българска и италианска популация. Липсата на асоциация между *IL-6* (-174G/C) и АИС, докладвана при унгарски пациенти [23], би могла да се дължи на различия в генотипните и алелните честоти на този полиморфизъм между отделните популационни групи и различните критерии за селекция на пациенти - оперативни и неоперативни случаи.

При пациентите с прогресивна сколиоза, довела до необходимост от оперативно лечение, честотата на хомозиготния GG генотип и на G алела също беше по-висока в сравнение с контроли. Носителството на хомозиготния GG генотип се свързва с 1.8 пъти по-висок риск (GG vs. GC+CC, RR=1.79, 95% CI: 1.34-2.38), а на G алел – с 1.38 пъти по-висок риск от прогресия на деформацията (G vs. C, RR=1.38, 95% CI: 1.21-1.57). Тези резултати дават основание G алелът на *IL-6* (-174G/C) да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с тежка прогресия на кривата (ъгъл на Cobb $>40^{\circ}$).

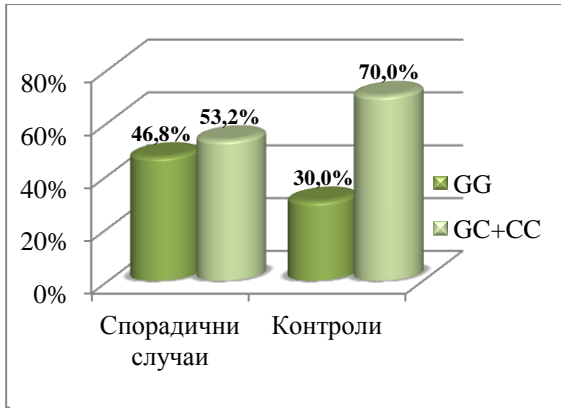
По-долу са представени графично доминантни модели на генно влияние в общата група и в подгрупите на АИС, фамилна, спорадична и прогресивна сколиоза и в групата на момичетата с идиопатична сколиоза (фиг. 4.18-4.23).



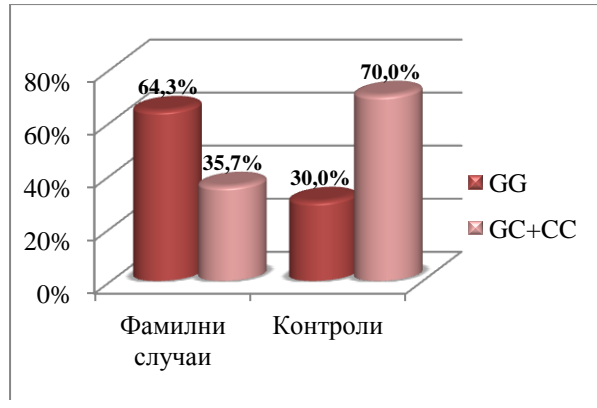
Фиг. 4. 18. Доминантен модел на генно влияние GG/(GC+CC) в общата група.



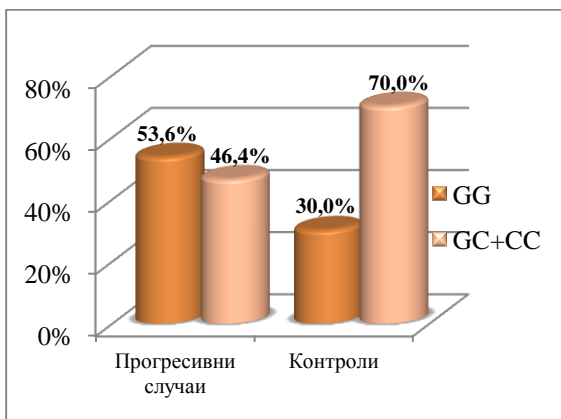
Фиг. 4. 19. Доминантен модел на генно влияние GG/(GC+CC) при АИС



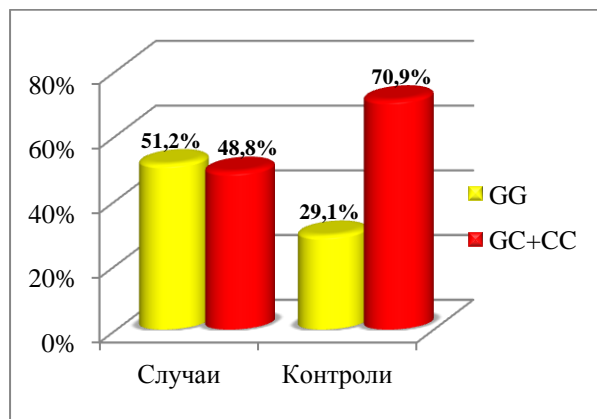
Фиг. 4. 20. Доминантен модел на генно влияние GG/(GC+CC) при спорадична идиопатична сколиоза.



Фиг. 4. 21. Доминантен модел на генно влияние GG/(GC+CC) при фамилна идиопатична сколиоза.

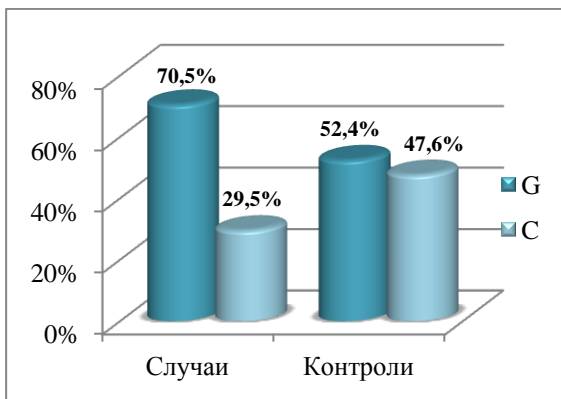


Фиг. 4. 22. Доминантен модел на генно влияние GG/(GC+CC) при прогресивна идиопатична сколиоза.

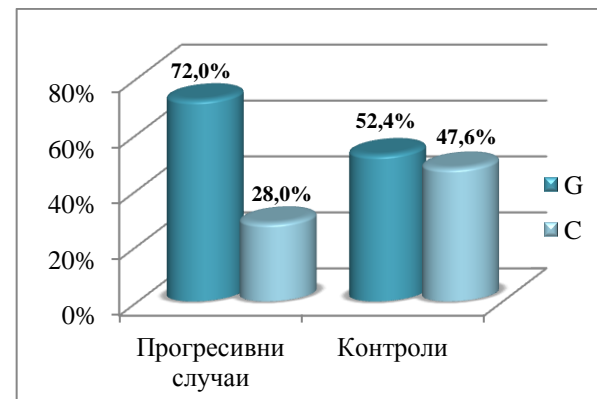


Фиг. 4. 23. Доминантен модел на генно влияние GG/(GC+CC) при идиопатична сколиоза сред лица от женски пол.

На фиг. 4.24 и фиг. 4.25 са представени алелни модели в общата група и в подгрупата на прогресивната сколиоза.



Фиг. 4. 24. Процентно разпределение на алелите G и C в общата група.



Фиг. 4. 25. Процентно разпределение на алелите G и C при прогресивна идиопатична сколиоза.

В заключение, получените резултати дават основание GG генотипът и G алелът на *IL-6* (-174G/C), които са асоциирани с повишени цитокинови нива [23], да се разглеждат като предразполагащ и модифициращ фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти. В допълнение се наблюдава корелация с началото на АИС, с фамилната и спорадичната форма, с женския пол и с торакалния тип крива. Съответно, полиморфният алел, свързан с по-ниски цитокинови нива, има протективен ефект.

Необходимо е разширено популационно проучване за потвърждаване на резултатите и изследване връзката на *IL-6* (-174G/C) с ЮИС и мъжкия пол. Идентифицирането на молекулни маркери за прогресивна сколиоза би било полезно при оценка на риска от бърза прогресия на деформацията, което ще позволи ранна терапия, включително минимално инвазивни хирургични интервенции.

2.3.10. Триптофанхидроксилаза-1 - *TPH1* (rs10488682, T/A)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на *TPH1* (rs10488682 T/A) не показаха статистически значими разлики между пациенти и контроли (AA vs. TA vs. TT, $p = 0.12$ и A vs. T, $p = 0.11$, χ^2 -тест), но при доминантен модел на генно влияние се наблюдаваше резултат, близък до статистически значима асоциация (TT + TA vs. AA, $p=0.05$, OR: 1.6, 95% CI: 0.99-2.57).

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *TPH1* (rs10488682 T/A) бяха сравними при български пациенти и контроли (TT + TA vs. AA, $p=0.08$, OR: 1.61, 95% CI: 0.95-2.72 и T vs. A, $p = 0.11$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между *TPH1* (rs10488682 T/A) и АИС, докладвана за кавказката популация [29] и за японската популация [20].

В останалите подгрупи също не се наблюдаваха статистически значими асоциации, в подгрупата на прогресивната сколиоза и на момичетата с идиопатична сколиоза се наблюдаваха стойности на $p < 0.1$.

В заключение, въз основа на представените резултати този промоторен полиморфен вариант няма предразполагащ или модифициращ ефект сред българските пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с началото на заболяването, пола, фамилната история, типа на кривата и изхода от корсетолечението. Въпреки това, поради ниската популационна честота на полиморфния алел, не е изключена потенциална роля на *TPH1* в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза при разширени проучвания или при други популационни групи.

2.3.11. Естрогенов рецептор тип 1 – *ESR1* (rs9340799 A/G; *XbaI*, X/x) и *ESR1* (rs2234693 C/T; *PvuII*, P/p)

Полиморфизмите показаха съответствие със закона на Hardy-Weinberg. При сравняване на генотипните и алелните честоти на общата група от пациенти с контролната се наблюдаваха сигнификантни разлики за *ESR1* (*PvuII*) полиморфизма (PP vs. Pp vs. pp, $p=0.032$ и P vs. p, $p=0.02$, χ^2 -тест). За другият полиморфизъм - *ESR1* (*XbaI*) не бяха отчетени сигнификантни разлики в общата извадка.

На базата на тези резултати, хомозиготният генотип PP на *ESR1* (*PvuII*) би могъл да се разглежда като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти.

На таблица 4.8 са представени ORs, получени при сравняване генотипните и алелните честоти на *ESR1* (*XbaI*) между отделните подгрупи от пациенти и контроли.

Таблица 4.8. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти и контроли (case-control study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Обща група (n ₁ =105, n ₂ =210)	Кодоминантен	XX vs. xx	0.17	1.65 [0.81-3.36]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.38	1.26 [0.75-2.12]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.19	1.50 [0.81-2.77]
	Алелен	X vs. x	0.21	1.24 [0.89-1.73]
АИС (n ₁ =78, n ₂ =210)	Кодоминантен	XX vs. xx	0.82	1.10 [0.49-2.49]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.92	1.03 [0.59-1.81]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.81	1.09 [0.53-2.25]
	Алелен	X vs. x	0.84	1.04 [0.71-1.50]
ЮИС (n ₁ =23, n ₂ =210)	Кодоминантен	XX vs. xx	0.02*	5.13 [1.24-21.2]
		Xx vs. xx	0.19*	2.43 [0.67-8.84]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.09*	3.06 [0.88-10.6]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.06*	2.63 [1.00-6.92]
Алелен		X vs. x	0.03*	2.01 [1.08-3.73]
	Кодоминантен	XX vs. xx	0.78*	1.20 [0.41-3.55]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.52*	0.71 [0.31-1.60]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.4*	1.64 [0.61-4.37]
Алелен		X vs. x	1*	0.99 [0.56-1.74]
	Кодоминантен	XX vs. xx	0.11	1.94 [0.86-4.40]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.12	1.62 [0.88-2.98]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.28	1.45 [0.73-2.88]
Алелен		X vs. x	0.12	1.34 [0.93-1.94]
	Кодоминантен	XX vs. xx	0.13	1.80 [0.84-3.84]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.38	1.29 [0.73-2.28]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.13	1.64 [0.86-3.13]
Алелен		X vs. x	0.17	1.29 [0.90-1.84]
	Кодоминантен	XX vs. xx	1*	1.10 [0.26-4.70]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	1*	1.15 [0.43-3.09]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	1*	1.00 [0.28-3.60]
Алелен		X vs. x	0.87*	1.06 [0.56-2.01]
	Кодоминантен	XX vs. xx	0.65*	0.44 [0.07-3.03]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.52*	0.58 [0.17-2.00]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.71*	0.63 [0.11-3.45]
Алелен		X vs. x	0.55*	0.72 [0.33-1.60]
	Кодоминантен	XX vs. xx	0.06	2.09 [0.96-4.54]
	Доминантен	XX + Xx vs. xx	0.18	1.48 [0.83-2.64]
	Рецесивен	XX vs. Xx + xx	0.1	1.75 [0.90-3.41]
Алелен		X vs. x	0.08	1.39 [0.96-2.01]

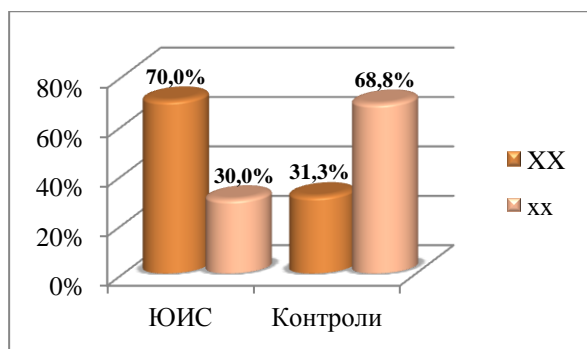
*Fisher's Exact Test (two-tailed); n₁- брой пациенти, n₂- брой контроли.

В общата извадка и в групата на АИС не се наблюдаваха статистически значими разлики между пациенти и контроли (p>0.05, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между полиморфен маркер *ESR1* (*XbaI*) и АИС, докладвана в най-големите проучвания в китайска [30] и в японска популация [31].

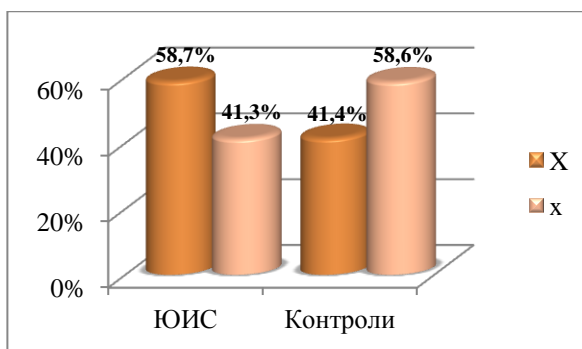
При сравняване на пациенти с ЮИС с контроли обаче, бяха отчетени сигнификантни разлики (XX vs xx, p=0.02, OR=5.13, 95% CI: 1.24-21.2 и X vs. x, p=0.03, OR=2.01, 95% CI: 1.08-3.73, Fisher's Exact Test). При разделяне групата на ЮИС на прогресивна и непрогресивна сколиоза бяха отчетени статистически значими разлики само между оперативните случаи и контролите (XX vs xx, p=0.04, OR=5.5, 95% CI: 1.01-30.0 и X vs. x, p=0.056, OR=2.12, 95% CI: 1.00-4.52, Fisher's Exact Test). При сравняване на групата от случаи с ранно начало до 6-годишна възраст (ИИС + ЮИС) с

контролите се наблюдава статистически значима асоциация (XX vs xx, $p=0.017$ и X vs x, $p=0.013$, Fisher's Exact Test). Възможно е през пубертета XX генотипът да се свързва с прогресия на деформациите, които имат ранно начало. Генотипът xx би могъл да има протективен ефект, респективно. Тези резултати изискват потвърждение при разширени и репликативни проучвания.

В групата на прогресивната сколиоза също не бяха отчетени статистически значими резултати. Следователно, *ESR1* (XbaI) не може да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с тежка прогресия на кривата (ъгъл на Cobb $>40^{\circ}$), водеща до необходимост от оперативно лечение, но *ESR1* би могъл да изпълнява ролята на ген-модификатор в късните етапи от патогенезата (през пубертета) при сколиозата с ранно начало. Тези резултати потвърждават получената от полски учени негативна асоциация между полиморфизма и прогресивната АИС при пациенти от двата пола [32].



Фиг. 4. 26. Кодоминантен модел на генно влияние GG/(GC+CC) при ЮИС.



Фиг. 4. 27. Процентно разпределение на алелите X и x при пациенти с ЮИС и контроли.

Таблица 4.9. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти и контроли (case-control study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Обща група ($n_1=105$, $n_2=210$)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.01	2.51 [1.22-5.16]
		Pp vs. pp	0.57	1.20 [0.63-2.27]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.08	1.70 [0.93-3.12]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.02	1.92 [1.12-3.30]
АИС ($n_1=78$, $n_2=210$)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.08	2.00 [0.90-4.42]
		PP + Pp vs. pp	0.22	1.50 [0.78-2.90]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.12	1.62 [0.88-2.97]
	Алелен	P vs. p	0.1	1.36 [0.94-1.96]
ЮИС ($n_1=23$, $n_2=210$)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.06*	4.00 [1.02-15.7]
		PP + Pp vs. pp	0.3*	2.19 [0.63-7.68]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.03*	2.82 [1.14-6.98]
	Алелен	P vs. p	0.04*	1.93 [1.03-3.62]
Фамилни случаи ($n_1=28$, $n_2=210$)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.04*	5.33 [1.07-26.5]
		Pp vs. pp	0.17*	3.28 [0.73-14.7]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.05*	4.28 [0.98-18.6]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.31*	1.75 [0.72-4.27]
Спорадични случаи ($n_1=77$, $n_2=210$)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.05	2.13 [0.99-4.59]
		Pp vs. pp	0.82	0.92 [0.47-1.83]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.35	1.36 [0.71-2.59]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.02	1.99 [1.10-3.60]
Алелен	P vs. p	0.06	1.43 [0.99-2.08]	

Cobb >40° (n ₁ =84, n ₂ =210)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.05	2.08 [0.98-4.42]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.29	1.40 [0.75-2.62]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.03	1.86 [1.04-3.33]
	Алелен	P vs. p	0.06	1.40 [0.98-2.01]
Cobb <40° (n ₁ =21, n ₂ =210)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.004*	Infinity**
		Pp vs. pp	0.03*	Infinity**
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.01*	Infinity**
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.15*	2.19 [0.83-5.79]
	Алелен	P vs. p	0.02*	2.26 [1.16-4.42]
Мъже (n ₁ =19, n ₂ =38)	Кодоминантен	PP vs. pp	1*	1.14 [0.21-6.37]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	1*	1.00 [0.26-3.86]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	1*	1.18 [0.30-4.67]
	Алелен	P vs. p	1*	1.05 [0.48-2.30]
Жени (n ₁ =86, n ₂ =172)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.01	2.96 [1.33-6.59]
		Pp vs. pp	0.51	1.27 [0.62-2.61]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.06	1.93 [0.98-3.82]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.01	2.11 [1.17-3.82]
	Алелен	P vs. p	0.01	1.64 [1.13-2.37]

*Fisher's Exact Test (two-tailed); n₁- брой пациенти, n₂- брой контроли.

**в подгрупата на непрогресивната сколиоза не се срещаха пациенти с генотип pp

В общата извадка честотата на PP генотипа и на P алела беше по-висока при пациенти в сравнение с контроли (PP vs. pp, p = 0.01, OR=2.51, 95% CI: 1.22-5.16 и P vs. p, p = 0.02, OR=1.51, 95% CI: 1.08-2.11, χ^2 -тест). Носителството на хомозиготния PP генотип се свързва с 1.6 пъти по-висок риск от развитие на идиопатична сколиоза по рецесивен модел на генно влияние (PP vs. Pp+pp, RR=1.64, 95% CI: 1.1-2.46), а на P алел – с 1.2 пъти по-висок риск (P vs. p, RR=1.22, 95% CI: 1.19-1.53).

Получените различия с изследването на Janusz et al. (2013) не могат да се обяснят с разлики в популационните честоти, тъй като генотипните и алелните честоти на изследваните полиморфни маркери в контролната група не се различават съществено при български и полски пациенти (PP vs. Pp vs. pp, p = 0.21, P vs. p, p = 0.35, χ^2 -тест). В същото време полските учени включват в проучването си само пациенти с АИС [32]. При анализ в различните възрастови групи, полиморфният вариант *ESR1* (PvuII) не показва асоциация с АИС, което съответства на предходните изследвания върху АИС [30, 32, 33], но показва статистически значима асоциация с ЮИС, отново по рецесивен модел (PP vs. Pp+pp, p = 0.03, OR = 2.82, 95% CI: 1.14-6.98, Fisher's Exact Test). Тези резултати отново навеждат на мисълта, че е възможно участие на различни генетични полиморфизми в етиопатогенезата на ранната и на адолесцентната идиопатична сколиоза. Във всеки случай са необходими разширени популационни проучвания и репликативни проучвания за валидиране на настоящите резултати и уточняване ролята на *ESR1* (PvuII) за късната прогресия на инфантилната и ювенилната (ранна) идиопатична сколиоза.

При пациентите с прогресивна сколиоза, довела до необходимост от оперативно лечение, честотата на хомозиготния PP генотип и на P алела също беше по-висока в сравнение с контроли (PP vs. Pp+pp, p = 0.03, OR = 1.86, 95% CI: 1.04-3.33, χ^2 -тест). Носителството на хомозиготния PP генотип се свързва с 1.6 пъти по-висок риск (PP vs. Pp+pp, RR=1.6, 95% CI: 1.04-2.47) от прогресия на деформацията при рецесивен модел на генно влияние в общата група. Тези резултати дават основание хомозиготният генотип PP на *ESR1* (PvuII) да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с прогресия на кривата (ъгъл на Cobb >40°). При разглеждане само на адолесцентната прогресивна сколиоза, такава зависимост не се наблюдаваше (PP vs. Pp+pp, p = 0.11, OR = 1.68, 95% CI: 0.88-

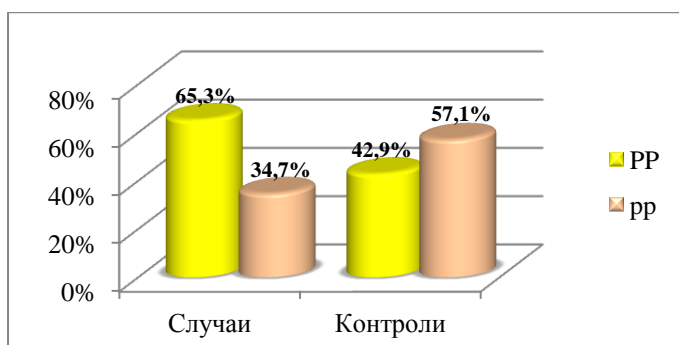
3.20, χ^2 -тест), а се наблюдаваше връзка с прогресивната ранна сколиоза (ИИС + ЮИС) (PP vs. Pp+pp, $p = 0.02$, OR = 3.19, 95% CI: 1.2-8.45, Fisher's Exact Test).

Корелационният анализ на Spearman показва връзка между възрастта към началото на сколиозата и достигнатият предоперативен ъгъл на кривата в групата на ЮИС ($R=0,605$; $p=0.002$). По литературни данни, прогнозата е по-лоша при начало на ЮИС до 6-годишна възраст, тази ранна сколиоза се характеризира със сериозен риск от прогресия [13]. Високи стойности на предоперативните ъгли бяха наблюдавани и при случаите с ИИС. Колкото по-малко е детето по време на поставяне на диагнозата, толкова по-голям е рискът от прогресия на деформацията и предоперативният ъгъл на Cobb е по-голям.

При сравняване на групата от случаи с ранно начало до 6-годишна възраст (ИИС + ЮИС) с контролите се наблюдава статистически значима асоциация (PP vs. pp, $p=0.004$ и P vs. p, $p=0.003$, Fisher's Exact Test).

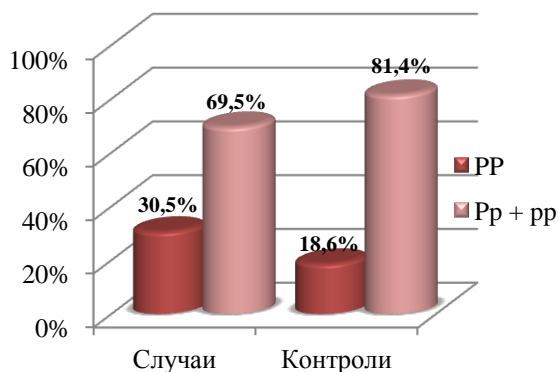
Тези резултати показват, че генотипът PP на *ESR1* (PvuII) може да е свързан с късните етапи от прогресията (през пубертета) най-вече на ранната (инфантилна и ювенилна идиопатична сколиоза с изява до 6-годишна възраст).

На фиг. 4.28 е представен кодоминантен модел на генно влияние в общата група.

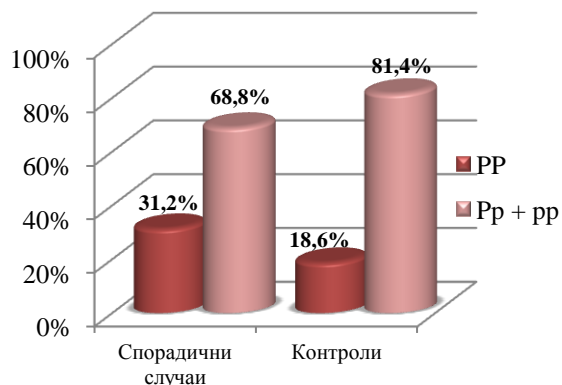


Фиг. 4. 28. Кодоминантен модел на генно влияние PP vs. pp в общата извадка.

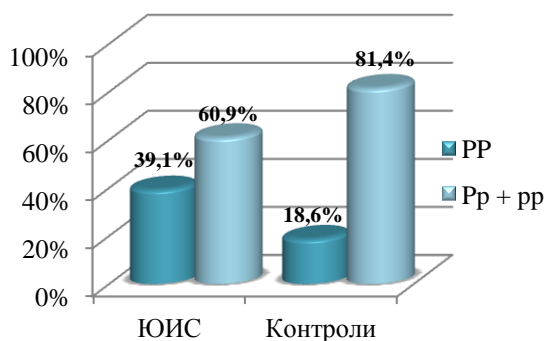
На фиг. 4.29-4.34 са представени графично рецесивни модели на генно влияние в общата група и в подгрупите.



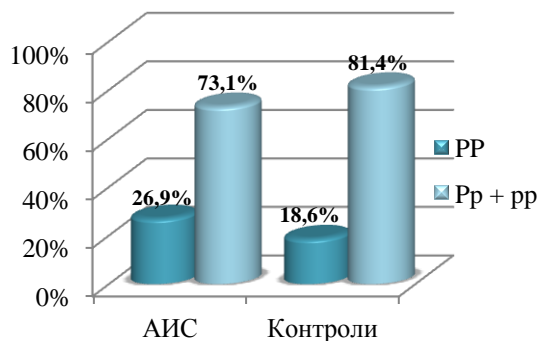
Фиг. 4. 29. Рецесивен модел на генно влияние PP/(Pp+pp) в общата извадка.



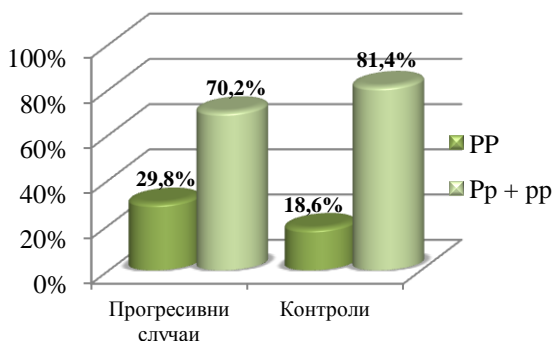
Фиг. 4. 30. Рецесивен модел на генно влияние PP/(Pp+pp) при спорадични случаи.



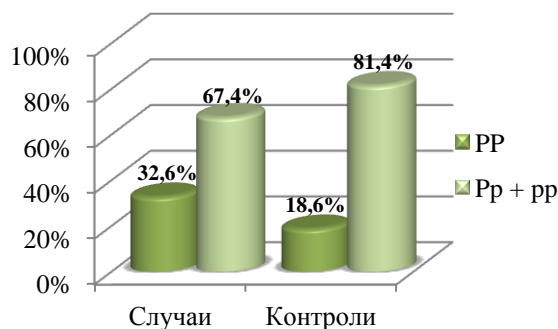
Фиг. 4. 31. Рecessивен модел на генно влияние PP/(Pp+pp) при ЮИС.



Фиг. 4. 32. Рecessивен модел на генно влияние PP/(Pp+pp) при АИС ($p > 0.05$).



Фиг. 4. 33. Рecessивен модел на генно влияние PP/(Pp+pp) при прогресивна сколиоза.



Фиг. 4. 34. Рecessивен модел на генно влияние PP/(Pp+pp) при лица от женски пол.

Пациентите с прогресивна сколиоза бяха разделени на две подгрупи според проведеното корсетолечение, като при сравняването им не беше открита статистически значима връзка между *ESR1* (XbaI) и прогресията на деформацията ($p > 0.05$, χ^2 -тест). По отношение на другия полиморфизъм - *ESR1* (PvuII) се наблюдаваха сигнификантни разлики между двете подгрупи от пациенти, с преобладаване на PP генотипа при пациентите с предшестващо корсетолечение (PP vs. Pp+pp, $p=0.04$, OR=2.94, 95% CI: 1.03-8.47, χ^2 -тест). Тези резултати още веднъж показват, че хомозиготният генотип PP на *ESR1* (PvuII) би могъл да бъде свързан с повишен риск от прогресия на деформацията. Odds ratios са дадени в таблица 4.10.

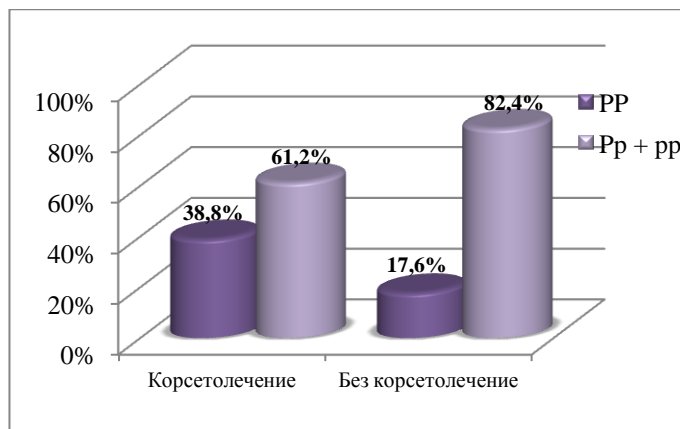
Таблица 4.10. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Ален	p-стойност (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Cobb >40 ⁰ Корсетолечение/без корсетолечение (n ₁ =49, n ₂ =34)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.09	3.17 [0.83-12.13]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.41	1.58 [0.53-4.72]
	Рecessивен	PP vs. Pp + pp	0.04	2.96 [1.03-8.47]
	Ален	P vs. p	0.07	1.78 [0.95-3.32]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива (n ₁ =62, n ₂ =43)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.21	2.15 [0.65-7.13]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.27	1.79 [0.63-5.08]
	Рecessивен	PP vs. Pp + pp	0.37	1.49 [0.63-3.53]
	Ален	P vs. p	0.24	1.39 [0.80-2.43]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива (n ₁ =31, n ₂ =74)	Кодоминантен	PP vs. pp	0.24	0.48 [0.14-1.67]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	0.25	0.54 [0.18-1.57]
	Рecessивен	PP vs. Pp + pp	0.5	0.72 [0.28-1.86]
	Ален	P vs. p	0.29	0.73 [0.40-1.32]

Лумбална/ тораколумбална+горакална първична крива (n ₁ =12, n ₂ =93)	Кодоминантен	PP vs. pp	1*	0.78 [0.12-5.16]
	Доминантен	PP + Pp vs. pp	1*	0.96 [0.19-4.84]
	Рецесивен	PP vs. Pp + pp	0.75*	0.74 [0.19-2.92]
	Алелен	P vs. p	0.83*	0.87 [0.37-2.05]

*Fisher's Exact Test (two-tailed)

На фиг. 4.35. е показан графично рецесивен модел на генно влияние в зависимост от проведеното корсетолечение.



Фиг. 4.35. Рецесивен модел на генно влияние PP/(Pp+pp) в зависимост от корсетолечението.

Анализ на комбинациите от генотипите на двата полиморфизма не показва статистически значими асоциации с началото или прогресията на идиопатичната сколиоза в общата извадка ($p > 0.05$, χ^2 -тест).

В заключение, полиморфизмът *ESRI* (XbaI) не показва връзка с предразположението към идиопатична сколиоза или с прогресията на кривата в общата извадка, но XX генотипът показва връзка с прогресивната ранна сколиоза.

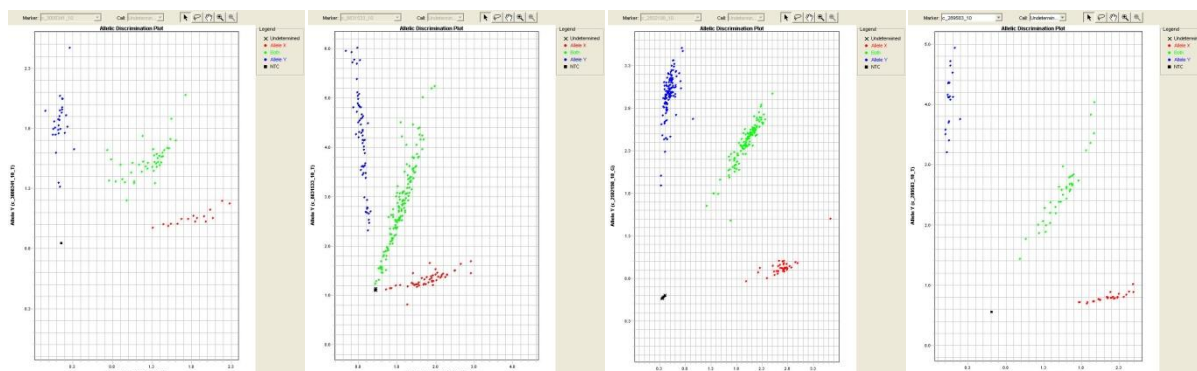
Рискът от прогресия е основната разлика между ювенилния и adolescentния тип сколиоза. Пациентите с ЮИС по-често развиват тежки деформации и според различни проучвания 27% до 80% от изследваните случаи с ЮИС се нуждаят от оперативно лечение, докато при АИС тежка прогресия се наблюдава само при 0,1% от пациентите [34]. Изследванията на Ward et al (2010) показват, че началото на АИС се унаследява независимо от типа на кривата и нейната тежест [35]. Изглежда, че генетичните маркери за АИС се различават от тези при ЮИС [36].

При *ESRI* (PvuII) се наблюдава асоциация с предразположението към сколиоза в общата извадка, както и при разделяне по пол, фамилна история и прогресия на заболяването, но не се наблюдава асоциация с adolescentната, а само с ранната форма на прогресивната сколиоза при групиране на случаите според началото на заболяването.

Следователно, *ESRI* (XbaI) и *ESRI* (PvuII) биха могли да имат връзка с прогресията в периода на пубертета на идиопатичната сколиоза с ранно начало (преди 10-годишна възраст) и не показват връзка с предразположението или прогресията на АИС при български пациенти.

2.4.Резултати от SNP генотипирането чрез TaqMan PCR в реално време

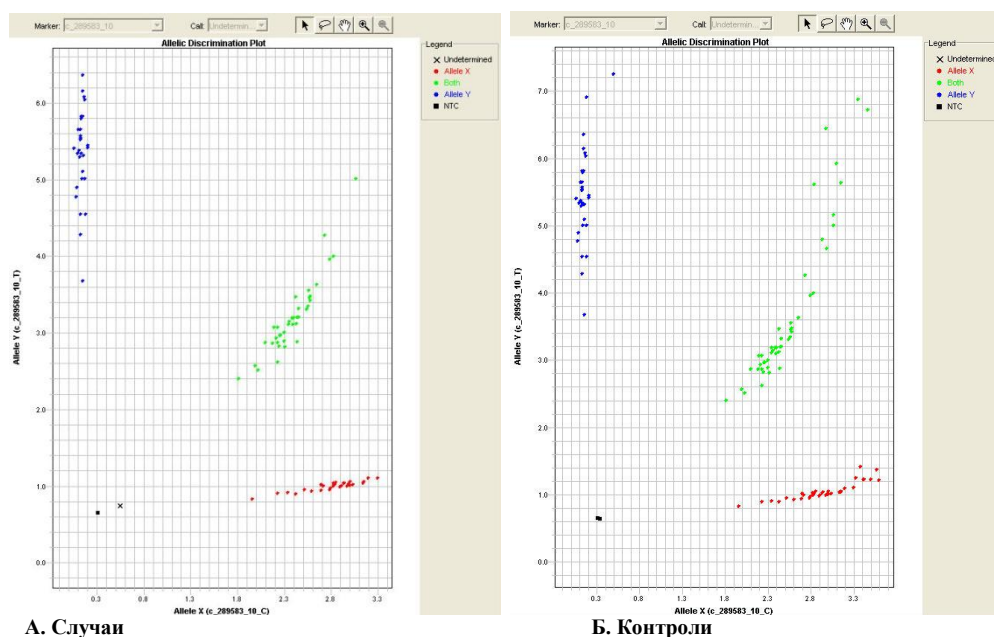
Чрез технологията TaqMan PCR в реално време бяха генотипирани общо 7 SNPs. На фиг. 4.36 са показани алел-дискриминационни плотове на част от тях.



А. *IL17RC* (rs708567 G/A) Б. *CHL1* (rs1400180 T/G) В. *GPR126* (rs6570507 A/G) Г. *MTNR1B* (rs4753426 T/C)
Фиг. 4.36. Алел-дискриминационни плотове от SNP генотипирането чрез TaqMan Real Time PCR.

2.4.1. Мелатонинов рецептор тип 1B - *MTNR1B* (rs4753426, T/C)

На фиг. 4.37 е показан алел-дискриминационен плот с резултати от генотипирането на *MTNR1B* (rs4753426 T/C) при случаи и контроли.



А. Случаи Б. Контроли
Фиг. 4.37. Алел-дискриминационен плот за *MTNR1B* (rs4753426 T/C) при случаи и контроли. Със син цвят са представени хомозиготите див тип (ТТ), с червен цвят са хомозиготите по вариантния алел (СС), а със зелен цвят са хетерозиготите (ТС).

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg при контролите. В общата група от пациенти се наблюдава допустимо отклонение, което може да се дължи на асоциация с патологичния фенотип.

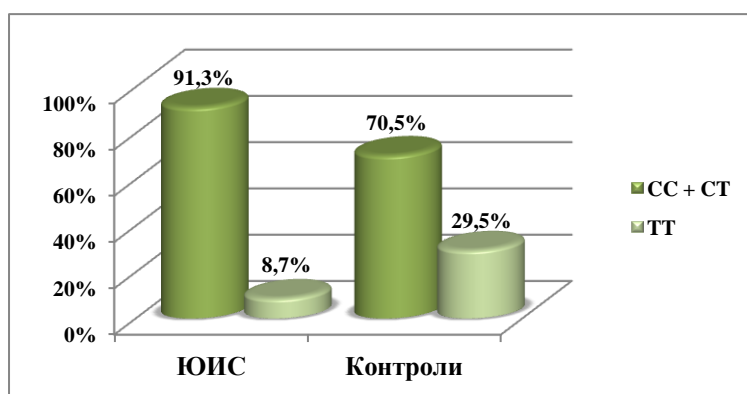
При сравняване на общите генотипни и алелни честоти на *MTNR1B* (rs4753426 T/C) между случаи и контроли не се наблюдаваха сигнификантни разлики (CC vs. TC vs. TT, $p=0.29$ и C vs. T, $p=0.24$, χ^2 -тест). На базата на тези резултати полиморфизмът *MTNR1B* (rs4753426 T/C) не може да се разглежда като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти.

В групата на АИС не се наблюдаваха статистически значими разлики между пациенти и контроли ($p>0.05$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между полиморфен маркер *MTNR1B* (rs4753426 T/C) и АИС, докладвана при

унгарски пациенти [23], американски пациенти [29, 37] и японски пациенти [20]. В подгрупата на ЮИС, обаче се наблюдаваше резултат, близък до статистическа значимост (CC + CT vs. TT, $p=0.047$, OR= 4.1, 95% CI: 0.93-18.05, Fisher's Exact Test). Необходими са разширени проучвания за установяване на връзката между *MTNR1B* (rs4753426 T/C) и ранната идиопатична сколиоза.

При пациентите с прогресивна сколиоза също не бяха отчетени статистически значими резултати ($p>0.05$, χ^2 -тест). Следователно, *MTNR1B* (rs4753426 T/C) не може да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с тежка прогресия на кривата (ъгъл на Cobb $>40^{\circ}$), водеща до необходимост от оперативно лечение. Тези резултати потвърждават наблюдаваната от унгарски учени единична негативна асоциация между полиморфизма и прогресивната идиопатична сколиоза [23].

На фиг. 4.38 е представен графично рецесивен генотипен модел при ЮИС.



Фиг. 4. 38. Рecessивен модел на генно влияние (CC + CT) / TT при сравняване на ЮИС и контроли ($p=0.047$, Fisher's Exact Test).

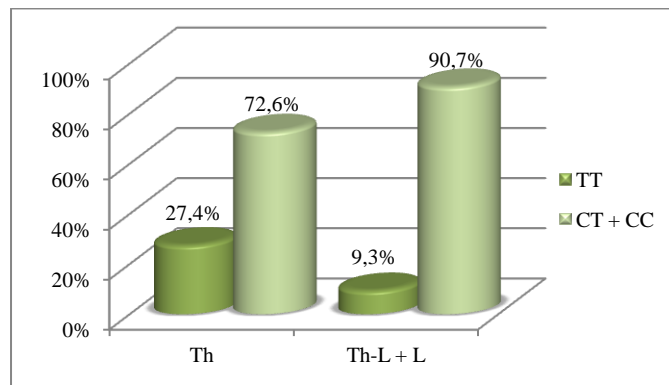
При сравняване подгрупите от пациенти с торакална, тораколумбална и лумбална сколиоза беше установена статистически значима връзка между изследвания полиморфизъм и торакалния модел крива (TT vs. CC, $p=0.03$, OR=3.75, 95% CI: 1.02-13.8 и TT vs. CT + CC, $p=0.02$, OR=3.68, 95% CI: 1.14-11.9, χ^2 -тест). Следователно, *MTNR1B* (rs4753426 T/C) корелира с типа на кривата. Генотипът TT е свързан с близо 3 пъти по-висок риск от засягане на торакалния отдел (RR=2.95, 95% CI: 1.07-8.15) в сравнение с другите отдели на гръбначния стълб без да е самостоятелно свързан с началото на сколиозата. Odds ratios в отделните подгрупи са дадени в таблица 4.11.

Таблица 4.11. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива ($n_1=62$, $n_2=43$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.03	3.75 [1.02-13.8]
		TT vs. CT	0.04	3.52 [1.04-11.9]
	Доминантен	TT + CT vs. CC	0.31	1.54 [0.66-3.59]
	Рецесивен	TT vs. CT + CC	0.02	3.68 [1.14-11.9]
	Алелен	T vs. C	0.05	1.74 [0.99-3.06]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива ($n_1=31$, $n_2=74$)	Кодоминантен	CC vs. TT	0.35	2.02 [0.54-7.61]
	Доминантен	CC vs. CT + TT	0.81	1.20 [0.49-2.98]
	Рецесивен	CC + CT vs. TT	0.29	2.01 [0.62-6.56]
	Алелен	C vs. T	0.35	1.33 [0.73-2.42]
Лумбална/ тораколумбална+торакална първична крива ($n_1=12$, $n_2=93$)	Кодоминантен	CC vs. TT	0.07*	Infinity
	Доминантен	CC vs. CT + TT	0.5*	1.84 [0.54-6.32]
	Рецесивен	CC + CT vs. TT	0.12*	Infinity
	Алелен	C vs. T	0.13*	2.18 [0.86-5.51]

*Fisher's Exact Test (two-tailed)

На фиг. 4.39 е представен графично рецесивен генотипен модел при сравняване на основните видове криви.

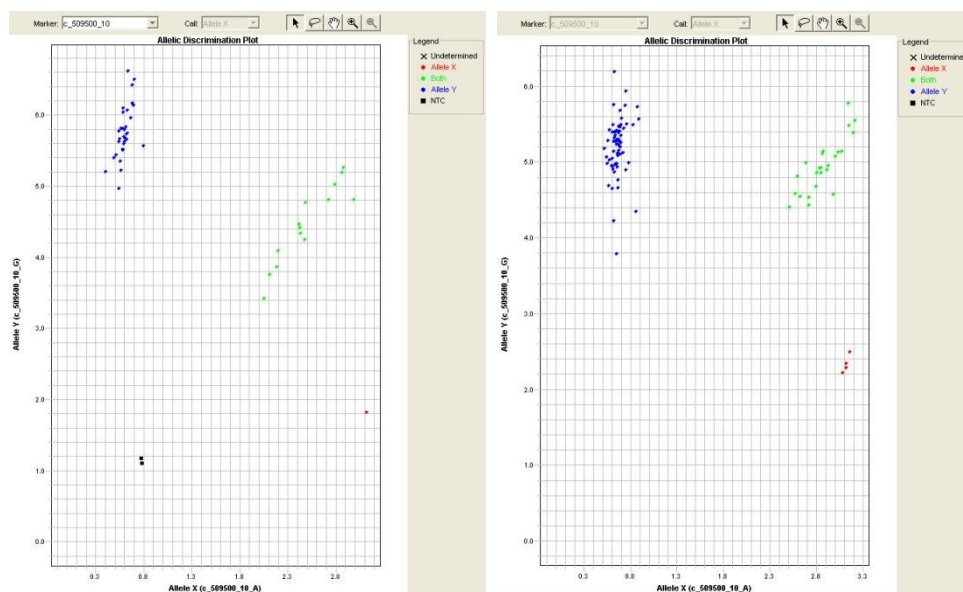


Фиг. 4. 39. Рecessивен модел на генно влияние TT / (CC + CT) при сравняване на торакалния (Th) тип крива със сбора от тораколумбалния (Th-L) и лумбалния (L) тип крива ($p=0.02$, χ^2 -тест).

В заключение, функционалният полиморфизъм *MTNR1B* (rs4753426 T/C) не може да бъде разглеждан като предразполагащ и модифициращ генетичен вариант за идиопатична сколиоза със самостоятелно значение. Резултатите за ЮИС налагат разширено проучване върху връзката му с ранната идиопатична сколиоза. Корелацията с торакалния тип крива предполага, че дивият тип алел може да има участие при прогресията на деформацията в комбинация с други алели, като такъв синергичен ефект на полиморфни варианти в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза е изследван и докладван [23].

2.4.2. Хромодомен хеликаза свързващ белтък-7 - *CHD7* (rs4738824, G/A)

На фиг. 4.40 е показан алел-дискриминационен плот с резултати от генотипирането на *CHD7* (rs4738824 G/A) при случаи и контроли.



Фиг. 4.40. Алел-дискриминационен плот за *CHD7* (rs4738824 G/A) при случаи (вляво) и контроли (вдясно). Със син цвят са представени хомозиготите див тип (GG), с червен цвят са хомозиготите по вариантния алел (AA), а със зелен цвят са хетерозиготите (GA).

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. При сравняване на общите генотипни и алелни честоти на *CHD7* (rs4738824 G/A) между случаи и контроли не се наблюдаваха сигнификантни разлики (GG vs. GA + AA, $p=0.68$ и G vs. A, $p=0.89$, χ^2 -тест). На базата на тези резултати полиморфизмът *CHD7* (rs4738824 G/A) не може да се разглежда като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти.

В групата на АИС не се наблюдаваха статистически значими разлики между български пациенти и контроли ($p>0.05$, χ^2 -тест). Тези резултати потвърждават липсата на асоциация между полиморфен маркер *CHD7* (rs4738824 G/A) и АИС, докладвана при полски пациенти [38].

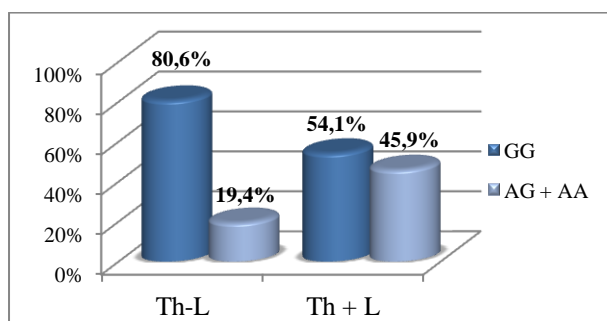
При сравняване подгрупите от пациенти с торакална, тораколумбална и лумбална сколиоза беше установена статистически значима връзка между изследвания полиморфизъм и тораколумбалния тип крива. Генотипът GG е свързан с близо 1.5 пъти по-висок риск от засягане на тораколумбалния отдел на гръбначния стълб (RR=1.49, 95% CI: 1.14-1.96). Odds ratios в отделните подгрупи от пациенти са дадени в табл. 4.12.

Таблица 4.12. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Ген	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Cobb >40° Корсетолечение/без корсетолечение (n ₁ =49, n ₂ =34)	<i>CHD7</i> (rs4738824)	GG vs. AG+AA	0.89	0.94 [0.38-2.34]
		G vs. A	0.78	0.89 [0.40-1.98]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива (n ₁ =62, n ₂ =43)	<i>CHD7</i> (rs4738824)	GG vs. AG+AA	0.07	0.47 [0.20-1.08]
		G vs. A	0.07	0.51 [0.24-1.06]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива (n ₁ =31, n ₂ =74)	<i>CHD7</i> (rs4738824)	GG vs. AG+AA	0.01	3.54 [1.30-9.64]
		G vs. A	0.02	3.00 [1.19-7.54]
Лумбална/ тораколумбална+торакална първична крива (n ₁ =12, n ₂ =93)	<i>CHD7</i> (rs4738824)	GG vs. AG+AA	0.53*	0.58 [0.17-1.93]
		G vs. A	0.59*	0.72 [0.27-1.94]

*Fisher's Exact Test (two-tailed)

На фиг. 4.41 е представен графично доминантен генотипен модел при сравняване на основните видове криви.

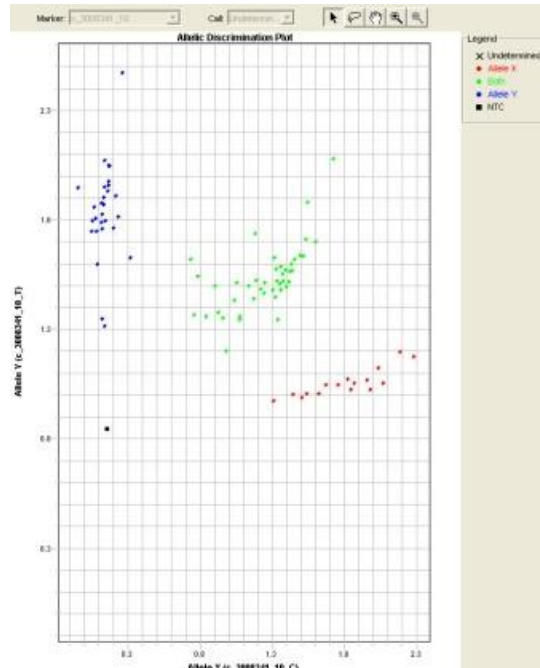


Фиг. 4. 41. Типове криви – доминантен модел

В заключение, полиморфизмът *CHD7* (rs4738824 G/A) не може да бъде разглеждан като предразполагащ и модифициращ генетичен вариант за идиопатична сколиоза със самостоятелно значение. Корелацията с тораколумбалния тип крива предполага, че дивият тип алел може да има участие при прогресията на деформацията в комбинация с други алели, такъв синергичен ефект в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза е изследван и докладван [23].

2.4.3. Рецептор за интерлевкин-17 – *IL17RC* (rs708567, G/A; *S111L*)

На фиг. 4.42 е показан алел-дискриминационен плот с резултати от генотипирането на *IL17RC* (rs708567 G/A) при случаи и контроли.



Фиг. 4.42. Алел-дискриминационен плот за *IL17RC* (rs708567 G/A). Със син цвят са представени хомозиготите див тип (GG), с червен цвят са хомозиготите по вариантния алел (AA), а със зелен цвят са хетерозиготите (GA).

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на *IL17RC* (rs708567 G/A) се различаваха съществено при пациенти и контроли (AA vs. GA vs. GG, $p < .0001$ и A vs. G, $p < .0001$, χ^2 -тест).

На базата на тези резултати функционалният полиморфизъм *IL17RC* (rs708567 G/A) може да се разглежда като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти.

На таблица 4.13 са представени ORs, получени при сравняване на отделните подгрупи от български пациенти и контроли.

Таблица 4.13. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти и контроли (case-control study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Обща група ($n_1=105$, $n_2=210$)	Кодоминантен	AA vs. GG	<0.0001	4.21 [2.14-8.26]
		AG vs. GG	0.04	1.84 [1.03-3.31]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.001	2.42 [1.40-4.17]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.0001	2.89 [1.65-5.04]
	Алелен	A vs. G	<0.0001	2.11 [1.50-2.95]
АИС ($n_1=78$, $n_2=210$)	Кодоминантен	AA vs. GG	<0.0001	5.90 [2.72-12.8]
		AG vs. GG	0.02	2.34 [1.16-4.71]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.0003	3.20 [1.66-6.18]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	<0.0001	3.42 [1.88-6.21]
	Алелен	A vs. G	<0.0001	2.49 [1.71-3.63]

ЮИС ($n_1=23, n_2=210$)	Кодоминантен	AA vs. GG AG vs. GG	0.52* 1*	1.65 [0.50-5.44] 1.06 [0.40-2.80]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.82*	1.20 [0.49-2.96]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.54*	1.60 [0.55-4.64]
	Алелен	A vs. G	0.52*	1.26 [0.68-2.34]
Фамилни случаи ($n_1=28, n_2=210$)	Кодоминантен	AA vs. GG AG vs. GG	0.0001 0.11	7.94 [2.38-26.5] 2.54 [0.79-8.16]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.01	3.84 [1.29-11.5]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.0003	4.33 [1.87-10.0]
	Алелен	A vs. G	0.0001	2.95 [1.65-5.28]
Спорадични случаи ($n_1=77, n_2=210$)	Кодоминантен	AA vs. GG AG vs. GG	0.001 0.1	3.38 [1.61-7.10] 1.69 [0.89-3.20]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.01	2.10 [1.16-3.81]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.004	2.46 [1.32-4.57]
	Алелен	A vs. G	0.0009	1.87 [1.29-2.71]
Cobb >40° ($n_1=84, n_2=210$)	Кодоминантен	AA vs. GG AG vs. GG	0.0001 0.12	3.90 [1.91-7.96] 1.65 [0.88-3.08]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.007	2.19 [1.23-3.92]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.0003	2.89 [1.60-5.22]
	Алелен	A vs. G	<0.0001	2.04 [1.42-2.92]
Cobb <40° ($n_1=21, n_2=210$)	Кодоминантен	AA vs. GG AG vs. GG	0.01* 0.1*	6.17 [1.5-25.39] 3.1 [0.83-11.49]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.03*	3.84 [1.1-13.46]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.04*	2.89 [1.08-7.72]
	Алелен	A vs. G	0.008*	2.41 [1.26-4.61]
Мъже ($n_1=19, n_2=38$)	Кодоминантен	AA vs. GG AG vs. GG	0.01* 0.02*	10.8 [1.64-70.9] 6.6 [1.26-34.54]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.008*	7.65 [1.55-37.8]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.15*	3.05 [0.79-11.7]
	Алелен	A vs. G	0.008*	3.13 [1.39-7.01]
Жени ($n_1=86, n_2=172$)	Кодоминантен	AA vs. GG AG vs. GG	0.0005 0.26	3.57 [1.72-7.40] 1.44 [0.77-2.72]
	Доминантен	AA + AG vs. GG	0.02	1.96 [1.09-3.52]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.0006	2.86 [1.55-5.27]
	Алелен	A vs. G	0.0004	1.93 [1.33-2.80]

*Fisher's Exact Test (two-tailed); n_1 - брой пациенти, n_2 - брой контроли.

Полиморфизмът *IL17RC* (rs708567, S111L) показва статистически значима асоциация с предразположението към АИС при американско проучване тип GWAS (137 случая/ 2126 контроли) [39]. Китайско репликативно проучване (648 случая/ 573 контроли) потвърждава връзката на *IL17RC* (rs708567) с възникването и прогресията на АИС [40].

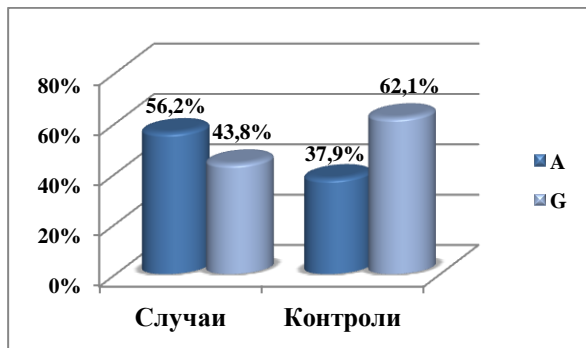
В общата извадка от български пациенти и контроли честотата на хомозиготния AA генотип и на А алела беше по-висока при пациентите (AA vs. GG, $p < .0001$, OR=4.21, 95% CI: 2.14-8.26 и A vs. G, $p < .0001$, OR=2.11, 95% CI: 1.50-2.95, χ^2 -тест). Носителството на хомозиготния AA генотип се свързва с 2.26 пъти по-висок риск (AA vs. GA+GG, RR=2.26, 95% CI: 1.48-3.45), а на А алел – с 1.48 пъти по-висок риск (A vs. G, RR=1.48, 95% CI: 1.25-1.76) от развитие на идиопатична сколиоза при българи.

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *IL17RC* (rs708567 G/A) също се различаваха при пациенти и контроли (AA vs. GG, $p < .0001$, OR=5.9, 95% CI: 2.72-12.8 и A vs. G, $p < .0001$, OR=2.49, 95% CI: 1.71-3.63, χ^2 -тест). Носителството на хомозиготния AA генотип се свързва с 2.52 пъти по-висок риск (AA vs. GA+GG, RR=2.52, 95% CI: 1.63-3.89), а на А алел – с 1.59 пъти по-висок риск (A vs. G, RR=1.59, 95% CI: 1.33-1.9) от развитие на АИС при българи.

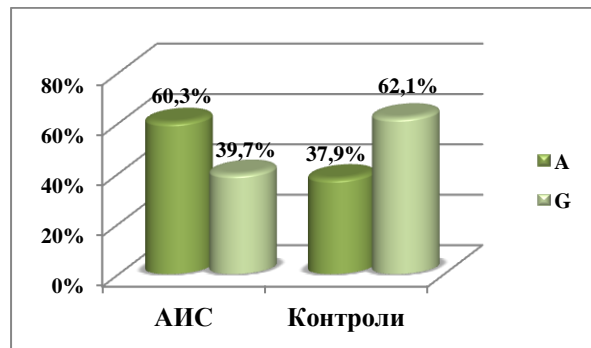
Тези резултати дават основание функционалният полиморфизъм *IL17RC* (rs708567 G/A) да се разглежда като предразполагащ генетичен фактор за идиопатична и адолесцентна идиопатична сколиоза при български пациенти. Възможно е носителството на полиморфния А алел или на АА генотип да повлиява експресията на цитокиновия рецептор и цитокиновата сигнализация при механичен стрес върху гръбнака (асиметрично натоварване) и да повишава податливостта към деформация и към по-нататъшна прогресия на деформацията.

При пациентите с прогресивна сколиоза, довела до необходимост от оперативно лечение, честотата на хомозиготния АА генотип и на А алела също беше по-висока в сравнение с контроли (АА vs. GG, $p = 0.0001$, OR=3.90, 95% CI: 1.91-7.96 и А vs. G, $p < .0001$, OR=2.04, 95% CI: 1.42-2.92, χ^2 -тест). Тези резултати дават основание функционалният полиморфизъм *IL17RC* (rs708567 G/A) да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с тежка прогресия на кривата (ъгъл на Cobb $>40^\circ$). Носителството на хомозиготния АА генотип се свързва с 2.26 пъти по-висок риск (АА vs. GA+GG, RR=2.26, 95% CI: 1.45-3.52), а на А алел – с 1.46 пъти по-висок риск (А vs. G, RR=1.46, 95% CI: 1.22-1.76) от прогресия на деформацията при български пациенти.

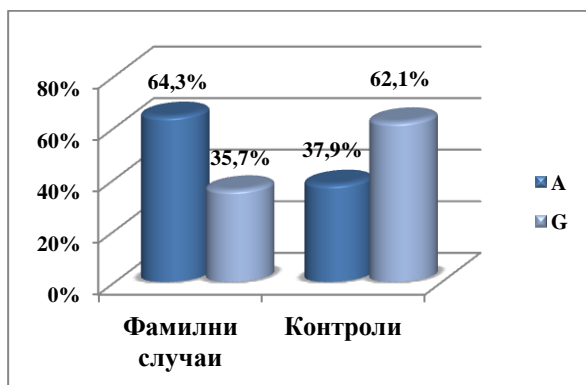
По-долу са представени графично алелни модели в общата група и в подгрупите на АИС, фамилна, спорадична, прогресивна, непрогресивна сколиоза и при всеки от двата пола (фиг. 4.43-4.50).



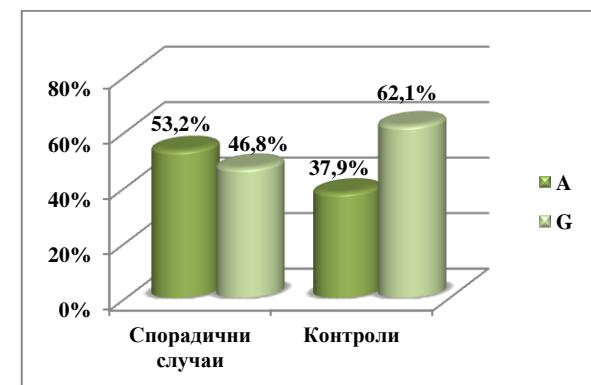
Фиг. 4. 43. Процентно разпределение на алелите А и G при пациенти и контроли в общата група.



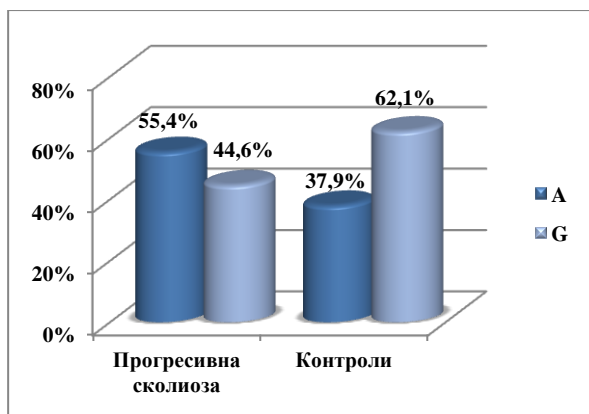
Фиг. 4. 44. Процентно разпределение на алелите А и G при пациенти с АИС и контроли.



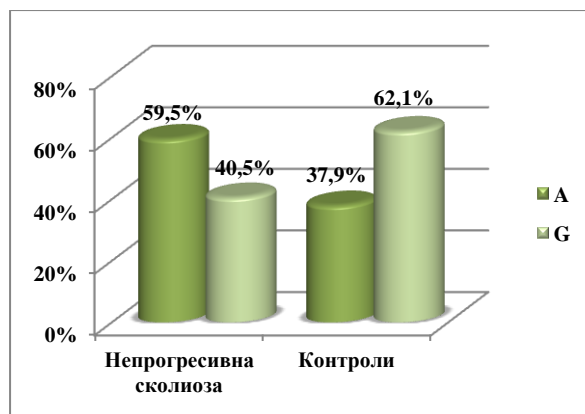
Фиг. 4. 45. Процентно разпределение на алелите А и G при случаи с положителна фамилна анамнеза и контроли.



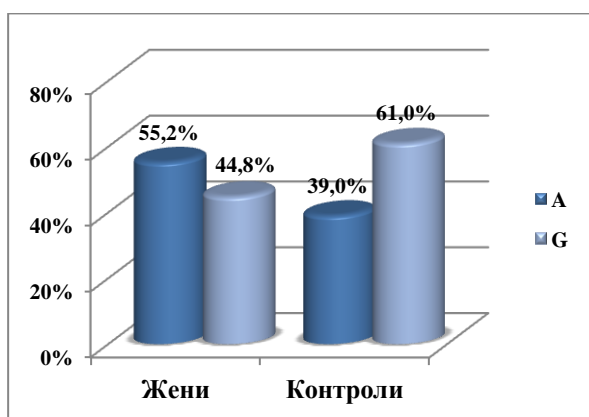
Фиг. 4. 46. Процентно разпределение на алелите А и G при случаи с отрицателна фамилна анамнеза и контроли.



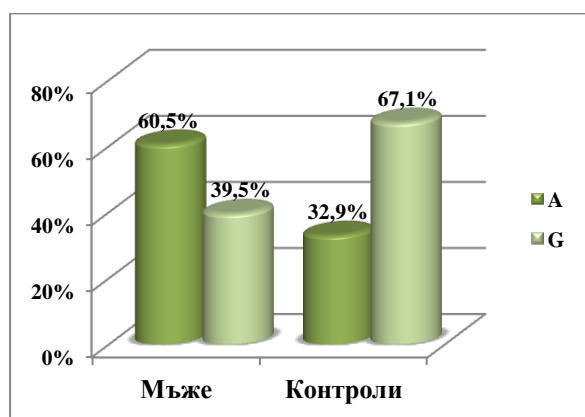
Фиг. 4. 47. Процентно разпределение на алелите А и G при случаи с прогресивна идиопатична сколиоза и контроли.



Фиг. 4. 48. Процентно разпределение на алелите А и G при случаи с непрогресивна идиопатична сколиоза и контроли.



Фиг. 4. 49. Процентно разпределение на алелите А и G при момичета с идиопатична сколиоза и контроли.



Фиг. 4. 50. Процентно разпределение на алелите А и G при момчета с идиопатична сколиоза и контроли.

Получените резултати дават основание функционалният полиморфизъм *IL17RC* (rs708567 G/A) да се разглежда като предразполагащ и модифициращ фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, свързан с началото и прогресията на заболяването, с АИС, с фамилни и нефамилни форми, с идиопатична сколиоза и при двата пола.

2.4.4. Клетъчна адхезионна молекула L1 подобен ген - *CHL1* (rs1400180, T/G)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. Генотипните и алелните честоти на *CHL1* (rs1400180 T/G) не се различаваха съществено при пациенти и контроли (TT vs. TG vs. GG, $p = 0.77$ и T vs. G, $p = 1$, χ^2 -тест), от което следва, че полиморфизмът не може да се разглежда като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти.

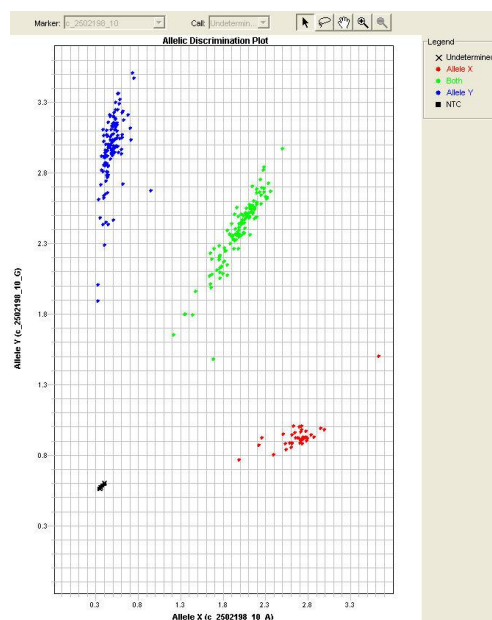
При първото проучване тип GWAS при идиопатична сколиоза (АИС) Sharma и сътрудниците му откриват най-значима асоциация между *CHL1* (rs1400180) и АИС ($P < 8 \times 10^{-8}$) [41], но тази асоциация не е потвърдена при независими изследвания.

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *CHL1* (rs1400180) бяха сравними при български пациенти и контроли ($p > 0.5$, χ^2 -тест). В останалите подгрупи също не бяха наблюдавани статистически значими разлики.

В заключение, този полиморфен вариант няма предразполагащ или модифициращ ефект сред българските пациенти с идиопатична сколиоза и не може да бъде свързан с начало на заболяването, пол, фамилна история, тип на кривата и изход от корсетолечението. Тези резултати не изключват потенциалната роля на други полиморфизми на гена *CHL1* в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза.

2.4.5. G-протеин свързан рецептор G6 - *GPR126* (rs6570507, A/G)

На фиг. 4.51 е показан алел-дискриминационен плот с резултати от генотипирането на *GPR126* (rs6570507 A/G) при случаи и контроли.



Фиг. 4.51. Алел-дискриминационен плот за *GPR126* (rs6570507 A/G). Със син цвят са представени хомозиготите по вариантният алел (GG), с червен цвят са хомозиготите див тип алел (AA), а със зелен цвят са хетерозиготите (AG).

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. В общата извадка от пациенти и контроли честотата на хомозиготния GG генотип и на полиморфния G алел на *GPR126* (rs6570507 A/G) беше по-висока при пациенти с идиопатична сколиоза в сравнение с контроли (GG vs. GA vs. AA, $p = 0.01$ и G vs. A, $p = 0.02$, χ^2 -тест) и на базата на тези резултати полиморфизмът *GPR126* (rs6570507 A/G) може да се разглежда като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти. Носителството на хомозиготния GG генотип се свързва с 1.46 пъти по-висок риск (GG vs. GA+AA, RR=1.46, 95% CI: 1.14-1.87), а на G алела – с 1.15 пъти по-висок риск (G vs. A, RR=1.15, 95% CI: 1.03-1.29) от развитие на идиопатична сколиоза при българи.

На таблица 4.14 са представени ORs, получени при сравняване на отделните подгрупи от пациенти и контроли.

Таблица 4.14. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти и контроли (case-control study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Обща група (n ₁ =105, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.19	1.62 [0.79-3.32]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.004	2.01 [1.25-3.23]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.73	1.13 [0.57-2.22]
	Алелен	G vs. A	0.02	1.51 [1.06-2.16]
АИС (n ₁ =78, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.15	1.79 [0.8-3.99]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.002	2.31 [1.36-3.92]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.67	1.18 [0.55-2.53]
	Алелен	G vs. A	0.01	1.67 [1.11-2.49]
ЮИС (n ₁ =23, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.76*	1.46 [0.38-5.58]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.37*	1.55 [0.65-3.68]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	1*	1.15 [0.32-4.12]
	Алелен	G vs. A	0.43*	1.31 [0.69-2.5]
Фамилни случаи (n ₁ =28, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.55*	1.72 [0.46-6.46]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.41*	1.47 [0.66-3.24]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.78*	1.44 [0.41-5.07]
	Алелен	G vs. A	0.38*	1.34 [0.74-2.43]
Спорадични случаи (n ₁ =77, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.24	1.59 [0.73-3.47]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.002	2.26 [1.33-3.84]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.92	1.04 [0.49-2.19]
	Алелен	G vs. A	0.02	1.59 [1.06-2.37]
Cobb >40° (n ₁ =84, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.18	1.7 [0.78-3.69]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.003	2.15 [1.29-3.59]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.71	1.15 [0.55-2.41]
	Алелен	G vs. A	0.02	1.59 [1.08-2.34]
Cobb <40° (n ₁ =21, n ₂ =210)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.76*	1.32 [0.34-5.14]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.48*	1.54 [0.62-3.79]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	1*	1.04 [0.29-3.74]
	Алелен	G vs. A	0.51*	1.27 [0.65-2.48]
Мъже (n ₁ =19, n ₂ =38)	Кодоминантен	GG vs. AA	1*	1.07 [0.25-4.46]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.56*	1.58 [0.5-4.92]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.74*	0.75 [0.21-2.7]
	Алелен	G vs. A	0.84*	1.11 [0.51-2.44]
Жени (n ₁ =86, n ₂ =172)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.14	1.9 [0.81-4.46]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.005	2.13 [1.26-3.6]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.5	1.32 [0.58-2.99]
	Алелен	G vs. A	0.01	1.64 [1.1-2.46]

*Fisher's Exact Test (two-tailed); n₁- брой пациенти, n₂- брой контроли.

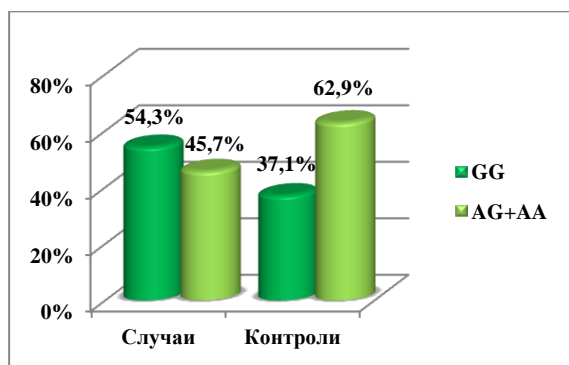
При предходни проучвания *GPR126* (rs6570507 A/G) показва статистически значима асоциация с предразположението към АИС при японци (GWAS, 1819 случая/ 25939 контроли) [42] и при китайци (352 случая/ 149 контроли) [43].

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *GPR126* (rs6570507 A/G) също се различаваха при български пациенти и контроли (GG vs. GA+AA, p = 0.002, OR=2.31, 95% CI: 1.36-3.92 и G vs. A, p = 0.01, OR=1.67, 95% CI: 1.11-2.49, χ^2 -тест). Носителството на хомозиготния GG генотип се свързва с 1.55 пъти по-висок риск (GG vs. GA+AA, RR=1.55, 95% CI: 1.2-2.01), а на G алел – с 1.18 пъти по-висок риск (G vs. A, RR=1.18, 95% CI: 1.05-1.34) от развитие на АИС.

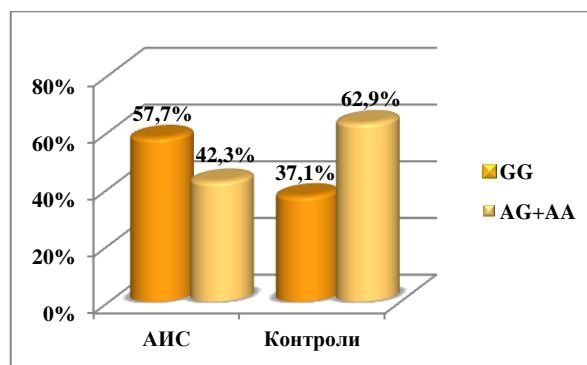
Тези резултати дават основание полиморфизмът *GPR126* (rs6570507 A/G) да се разглежда като предразполагащ генетичен фактор за идиопатична и адолесцентна идиопатична сколиоза при български пациенти. Известно е, че генът *GPR126* участва в растежа и развитието на гръбначния стълб в детска възраст. Възможно е определени генетични варианти да повишават податливостта към деформации в периода на растеж, но до момента няма данни за екзонни варианти на гена, свързани със сколиозата.

При пациентите с прогресивна сколиоза, довела до необходимост от оперативно лечение, честотата на хомозиготния GG генотип и на G алела също беше по-висока в сравнение с контроли (GG vs. GA+AA, $p = 0.003$, OR=2.15, 95% CI: 1.29-3.59 и G vs. A, $p = 0.02$, OR=1.59, 95% CI: 1.08-2.34, χ^2 -тест). Носителството на хомозиготния GG генотип се свързва с 1.5 пъти по-висок риск (GG vs. GA+AA, RR=1.51, 95% CI: 1.16-1.95), а на G алел – с 1.17 пъти по-висок риск от прогресия на деформацията (G vs. A, RR=1.17, 95% CI: 1.03-1.32). Следователно, *GPR126* (rs6570507 A/G) може да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с тежка прогресия на кривата (ъгъл на Cobb $>40^\circ$).

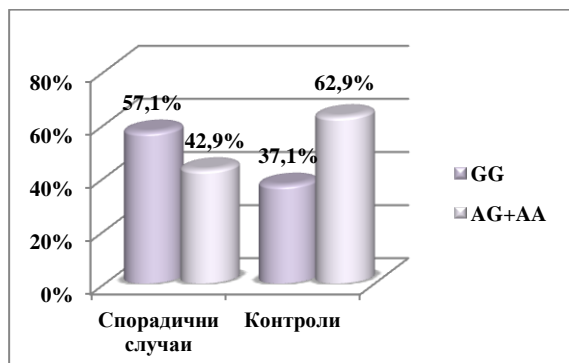
По-долу са представени графично доминантни модели на генно влияние в общата група и в подгрупите на АИС, спорадична и прогресивна сколиоза и при женския пол (фиг. 4.52-4.56).



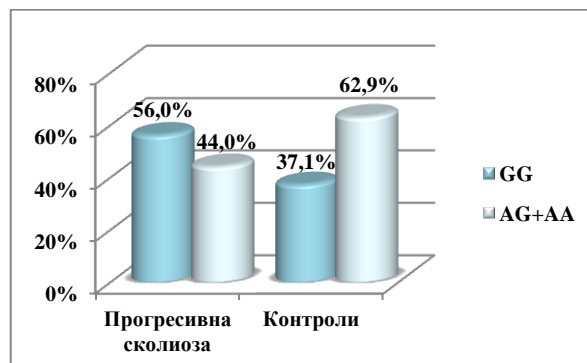
Фиг. 4.52. Доминантен модел на генно влияние GG / (GA+AA) в общата група.



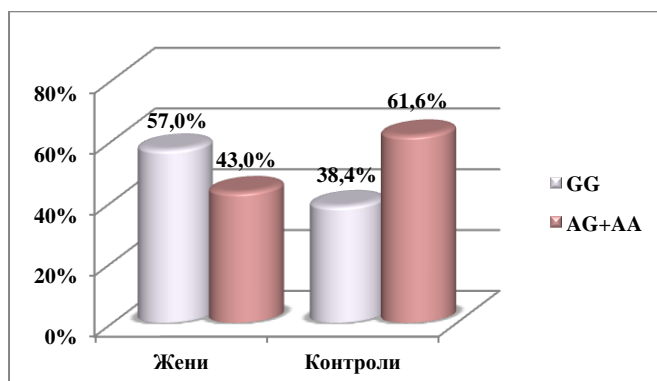
Фиг. 4.53. Доминантен модел на генно влияние GG / (GA+AA) при сравняване на АИС и контроли



Фиг. 4.54. Доминантен модел на генно влияние GG / (GA+AA) при сравняване на спорадични случаи и контроли



Фиг. 4.55. Доминантен модел на генно влияние GG / (GA+AA) при сравняване на прогресивни случаи и контроли



Фиг. 4.56. Доминантен модел на генно влияние GG / (GA+AA) при женски пол.

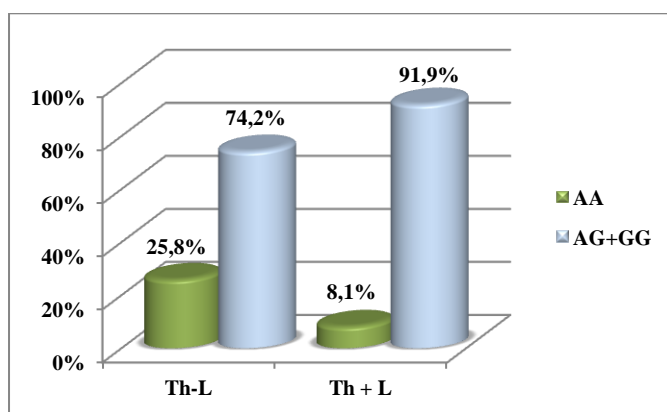
При сравняване подгрупите от пациенти с торакална, тораколумбална и лумбална сколиоза помежду им беше установена статистически значима асоциация между дивия тип алел и тораколумбалния тип крива (AA vs. GG, $p = 0.02$ и A vs. G, $p = 0.01$, Fisher's Exact Test), при която средният предоперативен ъгъл на сколиозата е по-малък. Между полиморфния алел и торакалния тип крива, при която средният предоперативен ъгъл на сколиозата е по-голям, се наблюдаваше тенденция към асоциация (G vs. A, $p=0.09$, Fisher's Exact Test).

Odds ratios в отделните подгрупи от пациенти са представени на таблица 4.15.

Таблица 4.15. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (Fisher's Exact Test)	OR [95% CI]
Cobb >40° Корсетолечение/без корсетолечение ($n_1=49, n_2=34$)	Кодоминантен	GG vs. AA	1	0.84 [0.22-3.28]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	1	1.05 [0.44-2.54]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	1	0.80 [0.21-2.98]
	Алелен	G vs. A	1	0.97 [0.49-1.93]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива ($n_1=62, n_2=43$)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.22	2.47 [0.75-8.11]
	Доминантен	GG vs. AG + AA	0.23	1.7 [0.78-3.73]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.25	2.13 [0.68-6.67]
	Алелен	G vs. A	0.09	1.69 [0.93-3.08]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива ($n_1=31, n_2=74$)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.02	0.22 [0.07-0.76]
	Доминантен	GG vs. AG	0.62	0.71 [0.27-1.86]
	Рецесивен	AA vs. AG + GG	0.03	3.94 [1.24-12.57]
	Алелен	A vs. G	0.01	2.25 [1.2-4.21]
Лумбална/ тораколумбална+торакална първична крива ($n_1=12, n_2=93$)	Кодоминантен	GG vs. AA	0.33	Infinity
	Доминантен	GG vs. AG + AA	1	1.2 [0.36-4.07]
	Рецесивен	GG + AG vs. AA	0.21	Infinity
	Алелен	G vs. A	0.36	1.68 [0.6-4.72]

На фиг. 4.57 е представен рецесивен модел на генно влияние при тораколумбален тип крива.



Фиг. 4.57. Рецесивен модел на генно влияние AA / (GA+GG) при тораколумбален тип крива.

В заключение, полиморфизмът *GPR126* (rs6570507 A/G) може да се разглежда като предразполагащ и модифициращ фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, свързан с началото и прогресията на заболяването, с АИС, спорадичната сколиоза и женския пол. Дивият тип алел А по-често се асоциира с тораколумбален тип крива.

2.4.6. Ladybird homeobox domain 1 - *LBX1* (rs11190870, T/C)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. В общата извадка от пациенти и контроли честотата на хомозиготния ТТ генотип и на дивия тип Т алел на *LBX1* (rs11190870 T/C) беше по-висока при пациенти с идиопатична сколиоза в сравнение с контроли (ТТ vs. ТC vs. СС, $p = 0.006$ и Т vs. С, $p = 0.0009$, χ^2 -тест) и на базата на тези резултати ТТ генотипът и Т алелът на *LBX1* (rs11190870 T/C) може да се разглеждат като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти. Носителството на хомозиготния ТТ генотип се свързва с 1.35 пъти по-висок риск (ТТ vs. ТC+СС, RR=1.35, 95% CI: 1.1-1.64), а на Т алела – с 1.19 пъти по-висок риск (Т vs. С, RR=1.19, 95% CI: 1.08-1.31) от развитие на идиопатична сколиоза при българи.

Таблица 4.16. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти и контроли (case-control study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Обща група (n ₁ =105, n ₂ =210)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.006	3.77 [1.39-10.2]
		ТТ vs. ТC	0.04	1.70 [1.02-2.84]
	Доминантен	ТТ vs. ТC + СС	0.005	1.98 [1.22-3.22]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.02	3.08 [1.15-8.22]
АИС (n ₁ =78, n ₂ =210)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.05	2.72 [0.99-7.47]
		ТТ vs. ТC + СС	0.03	1.82 [1.07-3.11]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.1	2.25 [0.84-6.04]
	Алелен	Т vs. С	0.01	1.74 [1.13-2.67]
ЮИС (n ₁ =23, n ₂ =210)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.08*	Infinity
		ТТ vs. ТC + СС	0.13*	2.02 [0.82-4.98]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.09*	Infinity
	Алелен	Т vs. С	0.04*	2.30 [1.04-5.06]
Фамилни случаи (n ₁ =28, n ₂ =210)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.03*	Infinity
		ТТ vs. ТC + СС	0.03*	2.70 [1.14-6.40]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.05*	Infinity
	Алелен	Т vs. С	0.005*	2.90 [1.34-6.31]
Спорадични случаи (n ₁ =77, n ₂ =210)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.05	2.66 [0.97-7.32]
		ТТ vs. ТC + СС	0.03	1.79 [1.05-3.05]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.11	2.22 [0.82-5.96]
	Алелен	Т vs. С	0.01	1.71 [1.11-2.63]
Cobb >40° (n ₁ =84, n ₂ =210)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.01	3.74 [1.25-11.23]
		ТТ vs. ТC	0.07	1.67 [0.96-2.89]
	Доминантен	ТТ vs. ТC + СС	0.01	1.94 [1.15-3.27]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.03	3.08 [1.04-9.06]
Cobb <40° (n ₁ =21, n ₂ =210)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.2*	3.88 [0.49-30.8]
		ТТ vs. ТC + СС	0.12*	2.16 [0.84-5.56]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.33*	3.08 [0.40-23.8]
	Алелен	Т vs. С	0.08*	2.06 [0.93-4.56]
Мъже (n ₁ =19, n ₂ =38)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.39*	3.33 [0.35-32.2]
		ТТ vs. ТC + СС	0.4*	1.90 [0.62-5.89]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.65*	2.73 [0.3-25.18]
	Алелен	Т vs. С	0.27*	1.84 [0.74-4.59]
Жени (n ₁ =86, n ₂ =172)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.01	3.88 [1.27-11.83]
		ТТ vs. ТC	0.06	1.71 [0.97-3.02]
	Доминантен	ТТ vs. ТC + СС	0.01	2.00 [1.17-3.42]
	Рецесивен	ТТ + ТC vs. СС	0.03	3.16 [1.06-9.46]
Алелен	Т vs. С	0.002	1.96 [1.26-3.04]	

*Fisher's Exact Test (two-tailed); n₁- брой пациенти, n₂- брой контроли.

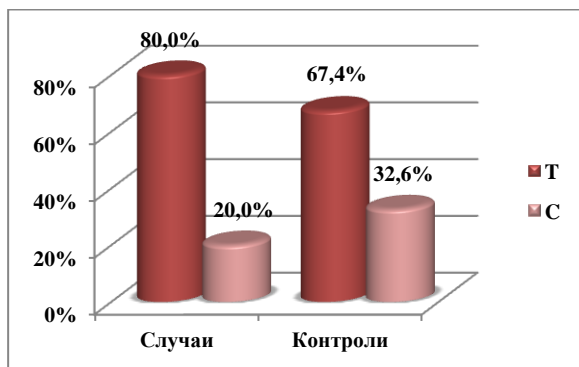
Първоначално, Takahashi и сътрудниците му (2011) докладват асоциация между АИС и rs11190870 при цялостно геномно проучване в японска популация (1376 случая/11297 контроли) [44], впоследствие 3 репликативни асоциативни проучвания в китайската популация [45-47] и 2 в кавказката популация - едно GWAS проучване [48] и цялостно екзомно секвениране [49] потвърждават асоциацията.

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на *LBX1* (rs11190870 T/C) също се различаваха при български пациенти и контроли. Носителството на хомозиготния ТТ генотип се свързва с 1.3 пъти по-висок риск от развитие на АИС (ТТ vs. ТC+СC, RR=1.31, 95% CI: 1.05-1.63), а на Т алел – с 1.16 пъти по-висок риск (Т vs. С, RR=1.16, 95% CI: 1.04-1.29) от развитие на АИС.

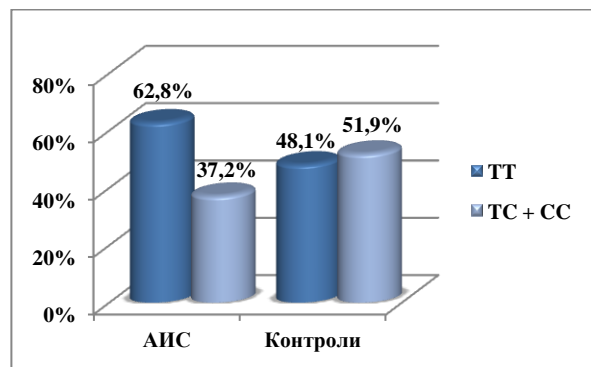
Тези резултати дават основание ТТ генотипът и Т алелът на *LBX1* (rs11190870 T/C) да се разглеждат като предразполагащ генетичен фактор за идиопатична и адолесцентна идиопатична сколиоза при български пациенти. Генът *LBX1* кодира транскрипционен фактор, необходим за развитието на задръжните интерневрони в задните рога на гръбначния мозък, както и за миграцията и по-нататъшното развитие на прекурсорите на мускулните клетки.

Изследванията върху животински модели след дорзална ризотомия показват по-висока честота на сколиозата и предполагат ролята на соматосензорната дисфункция в етиопатогенезата на сколиозата [50-53]. При клинични проучвания е установено, че подрастващи деца с функционални или органични нарушения на соматосензорните пътища са по-предразположени към сколиоза в сравнение със свои връстници [54]. При пациенти с АИС честотата на соматосензорни нарушения е по-голяма в сравнение с общата популация [55-57]. Генът *LBX1* се експресира в дорзалната част на гръбначния мозък и в задния мозък и е важен за оцеляването на сензорните неврони [58-63]. При мишки с делетиран ген (*Lbx1*^{-/-}) морфологията на невроните и невронните вериги в задните рога са аберантни, което предполага, че *LBX1* е критичен фактор за развитието на сензорните пътища в гръбначния мозък [60]. Възможно е абнормната експресия на *LBX1* да играе роля за развитието на АИС чрез сензорна дисфункция [44].

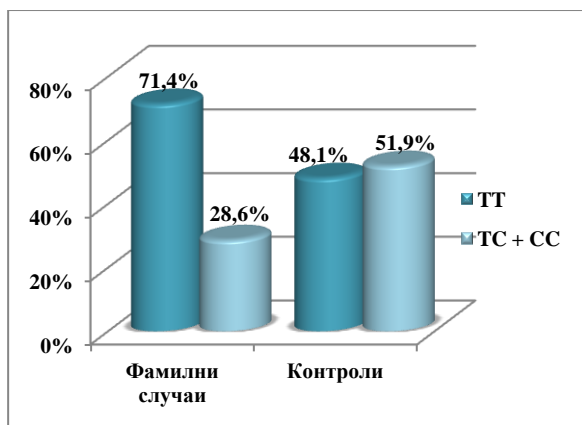
При пациентите с прогресивна сколиоза, довела до необходимост от оперативно лечение, честотата на хомозиготния ТТ генотип и на Т алела също беше по-висока в сравнение с контроли (табл. 4.16). Носителството на хомозиготния ТТ генотип се свързва с 1.34 пъти по-висок риск (ТТ vs. ТC+СC, RR=1.51, 95% CI: 1.16-1.95), а на Т алел – с 1.18 пъти по-висок риск от прогресия на деформацията (Т vs. С, RR=1.17, 95% CI: 1.03-1.32). Следователно, *LBX1* (rs11190870 T/C) може да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с тежка прогресия на кривата (ъгъл на Cobb >40°).



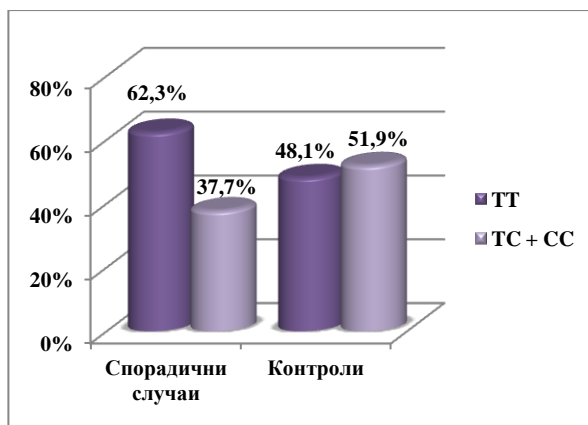
Фиг. 4.58. Процентно разпределение на алелите Т и С в общата извадка.



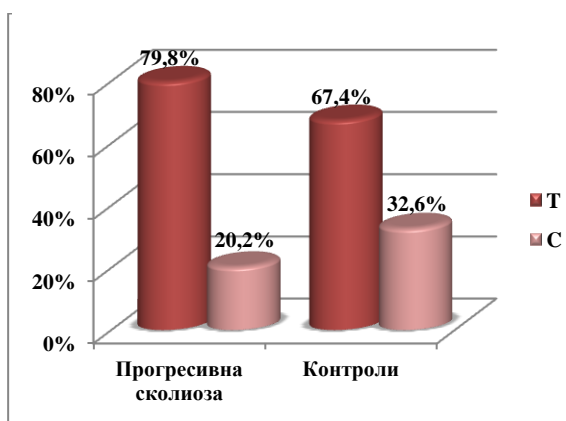
Фиг. 4.59. Доминантен модел на геново влияние ТТ / (ТC+СC) при АИС.



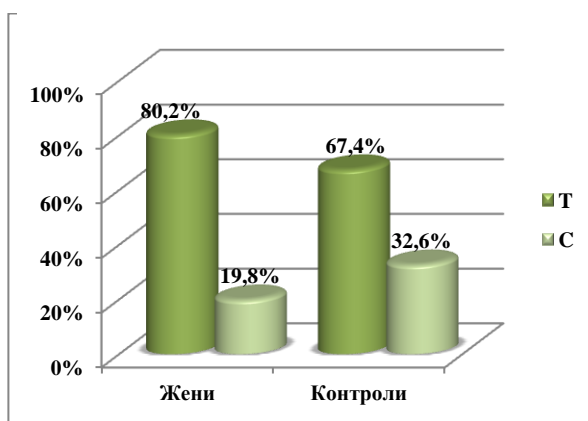
Фиг. 4.60. Доминантен модел на генно влияние ТТ / (ТС+СС) при положителна фамилна анамнеза.



Фиг. 4.61. Доминантен модел на генно влияние ТТ / (ТС+СС) при отрицателна фамилна анамнеза.



Фиг. 4.62. Процентно разпределение на алелите Т и С при прогресивна сколиоза.



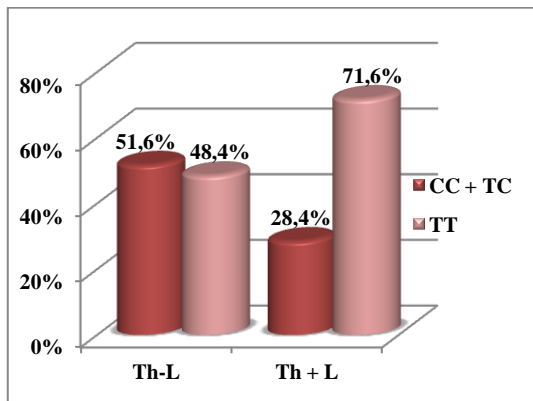
Фиг. 4.63. Процентно разпределение на алелите Т и С при женския пол.

При сравняване подгрупите от пациенти с торакална, тораколумбална и лумбална сколиоза помежду им беше установена статистически значима асоциация между полиморфизма и тораколумбалния тип крива (СС+ТС vs. ТТ, $p = 0.03$ и С vs. Т, $p = 0.01$, Fisher's Exact Test), при която средният предоперативен ъгъл на сколиозата е по-малък.

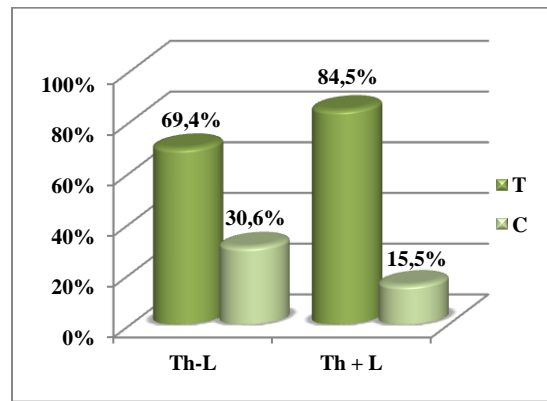
Таблица 4.17. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти (case-only study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (Fisher's Exact Test)	OR [95% CI]
Cobb >40 ⁰ Корсетолечение/без корсетолечение (n ₁ =49, n ₂ =34)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	1	1.35 [0.18-10.3]
	Доминантен	ТТ vs. ТС + СС	0.82	0.82 [0.33-2.07]
	Рецесивен	ТТ + ТС vs. СС	1	1.47 [0.20-11.0]
	Алелен	Т vs. С	1	0.92 [0.42-2.01]
Торакална/ тораколумбална+лумбална първична крива (n ₁ =62, n ₂ =43)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.38	2.42 [0.38-15.5]
	Доминантен	ТТ vs. ТС + СС	0.53	1.37 [0.61-3.09]
	Рецесивен	ТТ + ТС vs. СС	0.65	2.25 [0.36-14.1]
	Алелен	Т vs. С	0.38	1.41 [0.71-2.77]
Тораколумбална/ торакална+лумбална първична крива (n ₁ =31, n ₂ =74)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.09	0.19 [0.03-1.24]
	Доминантен	СС + ТС vs. ТТ	0.03	2.69 [1.13-6.41]
	Рецесивен	СС vs. ТС + ТТ	0.15	3.86 [0.61-24.3]
	Алелен	С vs. Т	0.01	2.40 [1.19-4.83]
Лумбална/ тораколумбална+торакална първична крива (n ₁ =12, n ₂ =93)	Кодоминантен	ТТ vs. СС	0.59	Infinity
	Доминантен	ТТ vs. ТС + СС	0.05	6.95 [0.86-56.1]
	Рецесивен	ТТ + ТС vs. СС	1	Infinity
	Алелен	Т vs. С	0.05	6.5 [0.85-49.61]

Резултатите са представени графично на фиг. 4.64 и 4.65.



Фиг. 4.64. Доминантен модел на генно влияние (CC+TC) / TT при тораколумбален тип крива.



Фиг. 4.65. Процентно разпределение на алелите С и Т при тораколумбален тип крива.

В заключение, TT генотипът и Т алелът на rs11190870 се свързват с началото и с прогресията на идиопатичната сколиоза, с АИС, с фамилната история и с женския пол, следователно полиморфният С алел и СС генотип имат протективен ефект. С алелът показва асоциация с тораколумбалния тип крива.

2.4.7. Трансформиращ растежен фактор тип В1 – *TGFBI* (*TGF-β1*) rs1800469 C/T (-509C>T)

Полиморфизмът показва съответствие със закона на Hardy-Weinberg. В общата извадка от пациенти и контроли честотата на хомозиготния TT генотип и на полиморфния Т алел на *TGFBI* (rs1800469 C/T) беше по-висока при пациенти с идиопатична сколиоза в сравнение с контроли (TT vs. TC vs. CC, $p = 0.005$ и T vs. C, $p = 0.001$, χ^2 -тест) и на базата на тези резултати *TGFBI* (rs1800469 C/T) може да се разглежда като самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти.

Носителството на хомозиготния TT генотип се свързва с 1.56 пъти по-висок риск (TT vs. TC+CC, RR=1.56, 95% CI: 1.19-2.05), а на Т алела – с 1.23 пъти по-висок риск (T vs. C, RR=1.23, 95% CI: 1.09-1.39) от развитие на идиопатична сколиоза при българи.

На таблица 4.18 са представени ORs, получени при сравняване на отделните подгрупи от пациенти и контроли.

Таблица 4.18. Odds Ratios в отделните подгрупи от пациенти и контроли (case-control study)

Подгрупа	Модел на генно влияние	Генотип, Алел	p (χ^2 -тест)	OR [95% CI]
Обща група (n ₁ =105, n ₂ =210)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.005	2.96 [1.35-6.49]
		TT vs. TC	0.01	1.93 [1.16-3.21]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.002	2.13 [1.32-3.44]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.05	2.1 [1.00-4.4]
	Алелен	T vs. C	0.001	1.79 [1.26-2.55]
АИС (n ₁ =78, n ₂ =210)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.007	3.54 [1.37-9.13]
		TT vs. TC	0.06	1.71 [0.98-2.98]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.01	1.98 [1.17-3.37]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.03	2.65 [1.07-6.55]
	Алелен	T vs. C	0.003	1.79 [1.21-2.66]

ЮИС ($n_1=23, n_2=210$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.26*	2.42 [0.65-9.03]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.02*	2.71 [1.13-6.50]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.59*	1.47 [0.42-5.21]
	Алелен	T vs. C	0.06*	1.90 [0.97-3.72]
Фамилни случаи ($n_1=28, n_2=210$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.03*	7.26 [0.91-57.71]
		TT vs. TC	0.41*	1.42 [0.63-3.21]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.20*	1.81 [0.82-4.02]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.06*	5.97 [0.79-45.27]
Спорадични случаи ($n_1=77, n_2=210$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.03	2.48 [1.09-5.67]
		TT vs. TC	0.007	2.18 [1.23-3.87]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.002	2.26 [1.33-3.84]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.19	1.67 [0.77-3.64]
Cobb >40° ($n_1=84, n_2=210$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.008	3.07 [1.31-7.2]
		TT vs. TC	0.007	2.1 [1.22-3.64]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.001	2.30 [1.37-3.85]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.07	2.10 [0.93-4.71]
Cobb <40° ($n_1=21, n_2=210$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.33*	2.51 [0.52-12.24]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.47*	1.57 [0.63-3.9]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.39*	2.1 [0.47-9.4]
	Алелен	T vs. C	0.25*	1.5 [0.77-2.93]
Мъже ($n_1=19, n_2=38$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.37*	4.00 [0.42-38.46]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.4*	1.7 [0.56-5.17]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.4*	3.38 [0.38-30.29]
	Алелен	T vs. C	0.3*	1.73 [0.73-4.07]
Жени ($n_1=86, n_2=172$)	Кодоминантен	TT vs. CC	0.01	2.88 [1.24-6.69]
		TT vs. TC	0.01	2.08 [1.18-3.65]
	Доминантен	TT vs. TC + CC	0.003	2.25 [1.32-3.82]
	Рецесивен	TT + TC vs. CC	0.09	1.96 [0.89-4.31]
	Алелен	T vs. C	0.003	1.81 [1.22-2.66]

*Fisher's Exact Test (two-tailed); n_1 - брой пациенти, n_2 - брой контроли.

Взаимодействието между различните клетъчни типове на нервната и мускулната тъкан са медиирани основно от дифундиращи фактори, много от които представляват растежни фактори като TGF- β s [64]. Промените в транскрипционния профил на TGF- β s и TGFBRs биха могли да повлияят регулацията на много сигнални пътища с потенциално участие в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза [65]. В същото време, участието на TGF- β сигнализацията може да е различно при ЮИС и АИС [34].

В подгрупата на АИС генотипните и алелните честоти на TGFBI (rs1800469 C/T) също се различаваха при български пациенти и контроли (TT vs. TC+CC, $p = 0.01$, OR = 1.98, 95% CI: 1.17-3.37 и T vs. C, $p = 0.003$, OR = 1.79, 95% CI: 1.21-2.66, χ^2 -тест). Носителството на хомозиготния TT генотип се свързва с 1.5 пъти по-висок риск от развитие на АИС (TT vs. TC+CC, RR=1.5, 95% CI: 1.11-2.03), а на T алел – с 1.23 пъти по-висок риск (T vs. C, RR=1.23, 95% CI: 1.08-1.41) от развитие на АИС.

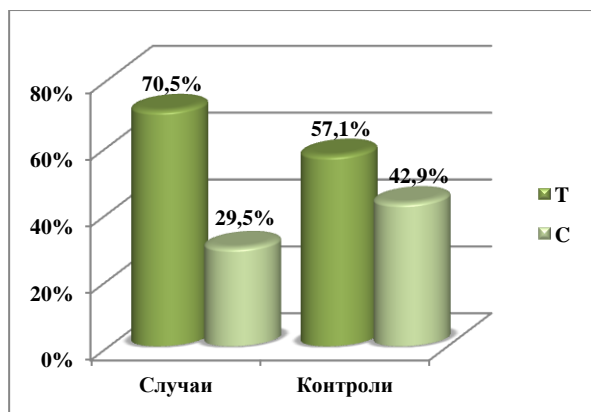
Тези резултати потвърждават наблюдаваните при руски пациенти с АИС асоциации [66] и дават основание TT генотипът и T алелът на TGFBI (rs1800469 C/T) да се разглеждат като предразполагащ генетичен фактор за АИС при български пациенти.

При пациентите с прогресивна сколиоза, довела до необходимост от оперативно лечение, честотата на хомозиготния TT генотип и на T алела също беше по-висока в сравнение с контроли. Носителството на хомозиготния TT генотип се свързва с 1.62 пъти по-висок риск (TT vs. TC+CC, RR=1.62, 95% CI: 1.22-2.15), а на T алел – с 1.25 пъти по-висок риск от прогресия на деформацията (T vs. C, RR=1.25, 95% CI: 1.1-1.42).

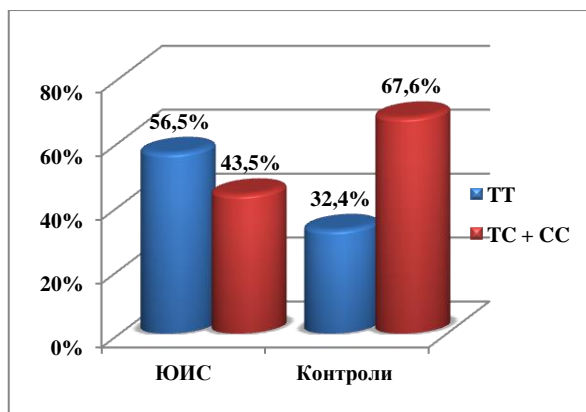
Следователно, *TGFBI* (rs1800469 C/T) може да се разглежда като модифициращ генетичен фактор за идиопатична сколиоза при български пациенти, асоцииран с тежка прогресия на кривата (ъгъл на Cobb >40°). Тези резултати потвърждават асоциацията с прогресията на сколиозата при руски пациенти [66].

В заключение, полиморфизмът *TGFBI* (rs1800469 C/T), асоцииран с повишена генна експресия [66], се свързва с началото и с прогресията на идиопатичната сколиоза, с АИС и ЮИС, с фамилните и нефамилните форми и с женския пол.

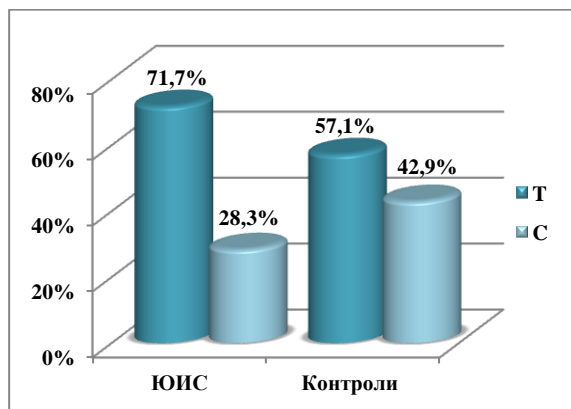
По-долу са представени графично модели на генно влияние в общата група и в подгрупите на АИС, ЮИС, прогресивната сколиоза и при женския пол (фиг. 4.66-4.71).



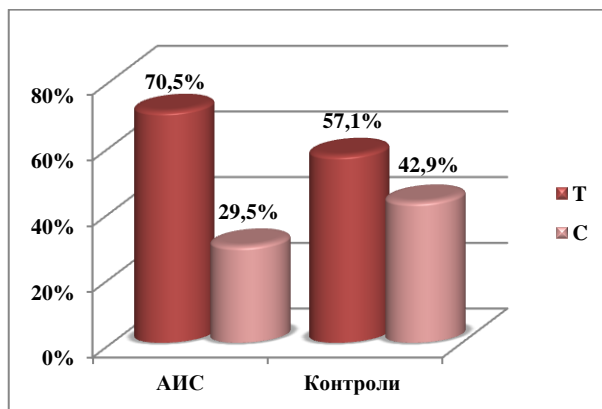
Фиг. 4.66. Процентно разпределение на алелите Т и С при пациенти и контроли.



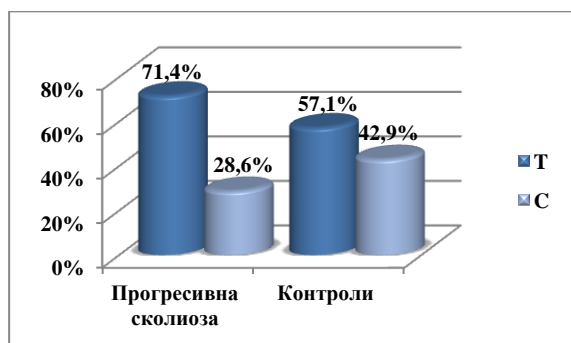
Фиг. 4.67. Доминантен модел на генно влияние TT / (TC+CC) при ЮИС.



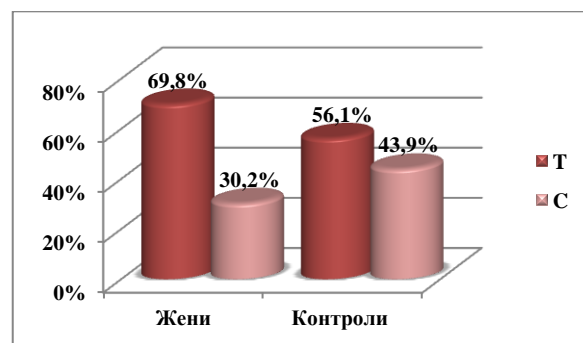
Фиг. 4.68. Процентно разпределение на алелите Т и С при ЮИС.



Фиг. 4.69. Процентно разпределение на алелите Т и С при АИС.



Фиг. 4.70. Процентно разпределение на алелите Т и С при прогресивна сколиоза.



Фиг. 4.71. Процентно разпределение на алелите Т и С при женски пол.

V. ОБОБЩЕНИЕ

При сравняване стойностите на клиничните показатели - средна възраст и среден ъгъл на сколиозата между отделните клинични подгрупи се наблюдават закономерни разлики и положителна корелация между тези два фактора. В групата на ювенилната идиопатична сколиоза (ЮИС) средният ъгъл най-общо намалява с възрастта, като пикът е на 6-годишна възраст. Колкото по-малко е детето по време на поставяне на диагнозата, толкова по-голям е рискът от прогресия на деформацията и предоперативният ъгъл на Cobb е по-голям. При adolescentната идиопатична сколиоза (АИС) се наблюдава тенденция към асоциация и при разделяне на случаите по пол се достига статистическа значимост в групата на момичетата. По-големите градуси на сколиозата съответстват на периодите на ускорен растеж, когато вероятността от поява или прогресия на съществуваща деформация е по-голяма.

Резултатите от молекулярно-генетичното проучване показват, че полиморфизмите: *ACE* (*rs1799752*), *VDR* (*rs2228570*), *IGF-1* (*rs5742612*), *AMPD1* (*rs17602729*), *ACTN3* (*rs1815739*), *BMP4* (*rs4898820*), *TPH1* (*rs10488682*), *Lep* (*rs7799039*), *MMP-3* (*rs3025058*), *MTNR1B* (*rs4753426*) и *CHD7* (*rs4738824*) и *CHL1* (*rs1400180*) нямат самостоятелен предразполагащ или модифициращ ефект при идиопатична сколиоза сред българските пациенти (табл. 4.19).

Табл. 4.19. Полиморфизми, показали липса на асоциация с предразположението и прогресията на идиопатичната сколиоза.

Ген	Полиморфизъм	P	Брой проучвания, показали позитивни резултати	Брой проучвания, показали негативни резултати
<i>MMP3</i>	<i>rs3025058</i>	NS	1	2
<i>BMP4</i>	<i>rs4898820</i>	NS	0	1
<i>Lep</i>	<i>rs7799039</i>	NS	0	1
<i>MTNR1B</i>	<i>rs4753426</i>	NS	1	3
<i>TPH1</i>	<i>rs10488682</i>	NS	1	1
<i>IGF-1</i>	<i>rs5742612</i>	NS	2	2
<i>VDR</i>	<i>rs2228570</i>	NS	0	1
<i>CHD7</i>	<i>rs4738824</i>	NS	1	1
<i>CHL1</i>	<i>rs1400180</i>	NS	1	0
<i>ACE</i>	<i>rs1799752</i>	NS	1	0
<i>ACTN3</i>	<i>rs1815739</i>	NS	0	1
<i>AMPD1</i>	<i>rs17602729</i>	NS	0	0

Някои от тези полиморфизми показват асоциация с типа на гръбначната крива (торакална, торако-лумбална, лумбална), което предполага тяхното значение като второстепенни модифициращи фактори при идиопатичната сколиоза.

Необходими са репликативни проучвания в различни популационни групи за изясняване на евентуалното участие на тези полиморфизми в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза, по специално за: *ACE* (*rs1799752*), *AMPD1* (*rs17602729*) и *ACTN3* (*rs1815739*), за които няма данни за други проучвания тип случаи/контроли. Предвид нивото на значимост при цялостните геномни проучвания тип GWAS ($p < 10^{-5}$), последните не са подходящи за детекция на чести генетични варианти с минорен или умерен ефект в етиопатогенезата на социално-значимите заболявания.

На табл. 4.20 са представени полиморфизмите, показали положителни асоциации с предразположението и/или прогресията на идиопатичната сколиоза.

Табл. 4.20. Полиморфизми, показали положителни асоциации с идиопатичната сколиоза.

Ген	SNP	P	Брой проучвания с позитивни резултати	Брой проучвания с негативни резултати
<i>TGFB1</i>	<i>rs1800469</i>	0.001* 0.001**	1	0
<i>GPR126</i>	<i>rs6570507</i>	0.004* 0.003**	3	0
<i>LBX1</i>	<i>rs11190870</i>	0.0009* 0.003**	6	0
<i>IL17RC</i>	<i>rs708567</i>	< 0.0001* < 0.0001**	2	0
<i>IL-6</i>	<i>rs180095</i>	< 0.0001* < 0.0001**	1	1
<i>ESR1</i>	<i>rs2234693</i>	0.01* 0.03**	1	2
<i>ESR1</i>	<i>rs9340799</i>	0.02*	2	3
<i>MATN1</i>	<i>rs1149048</i>	0.01**	1	2

*предразположение **прогресия

Общо, 7 полиморфизма са асоциирани с предразположението към идиопатична сколиоза: *IL-6* (*rs1800795*), *ESR1* (*rs9340799*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *TGFB1* (*rs1800469*), като *ESR1* (*rs9340799*) се свързва само с ЮИС. От тях 3 полиморфизма се явяват рискови фактори за развитието на идиопатична сколиоза: *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *TGFB1* (*rs1800469*), а останалите 4 полиморфизма имат протективен ефект. Полиморфизмите *ESR1* (*rs9340799*) и *ESR1* (*rs2234693*) се свързват с ранната сколиоза, останалите полиморфизми – с АИС, а *TGFB1* (*rs1800469*) – с АИС и с ЮИС.

Общо, 7 полиморфизма са асоциирани с прогресията на кривата: *TGFB1* (*rs1800469* C/T), *ESR1* (*rs2234693*), *MATN1* (*rs1149048*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL-6* (*rs1800795*). От тях 3 полиморфизма са модифициращи фактори при идиопатичната сколиоза: *TGFB1* (*rs1800469*), *GPR126* (*rs6570507*) и *IL17RC* (*rs708567*), 3 полиморфизма имат протективен ефект по отношение на прогресията: *IL-6* (*rs1800795*), *ESR1* (*rs2234693*), *LBX1* (*rs11190870*), а *MATN1* (*rs1149048*) се свързва само с бавнопрогресивна и непрогресивна сколиоза.

Общо, 6 полиморфизма са асоциирани с фамилната история на идиопатичната сколиоза: *MATN1* (*rs1149048*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL-6* (*rs1800795*), *TGFB1* (*rs1800469*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL17RC* (*rs708567*). От тях 3 полиморфизма се явяват рискови фактори за развитието на идиопатична сколиоза при положителна фамилна анамнеза: *MATN1* (*rs1149048*), *TGFB1* (*rs1800469*), *IL17RC* (*rs708567*), а останалите 3 полиморфизма имат протективен ефект.

Общо, 6 полиморфизма показват асоциация със спорадичната идиопатична сколиоза: *TGFB1* (*rs1800469*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL-6* (*rs708567*). От тях 3 полиморфизма се явяват рискови фактори за развитието на идиопатична сколиоза при отрицателна фамилна анамнеза: *TGFB1* (*rs1800469*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), а останалите 3 полиморфизма имат протективен ефект.

Общо, 6 полиморфизма са асоциирани с пола при идиопатична сколиоза: *TGFB1* (*rs1800469*), *GPR126* (*rs6570507*), *IL17RC* (*rs708567*), *IL-6* (*rs1800795*), *ESR1* (*rs2234693*), *LBX1* (*rs11190870*). От тях три полиморфизма са рискови фактори за развитие на деформацията при женския пол: *TGFB1* (*rs1800469*), *GPR126* (*rs6570507*), *IL17RC* (*rs708567*), а останалите 3 полиморфизма имат протективен ефект при женския пол. Полиморфизмът *IL17RC* (*rs708567*) се явява рисков фактор за развитие на идиопатична сколиоза и при мъжкия пол.

Общо, 8 полиморфизма са асоциирани с типа на кривата и е възможно да модифицират фенотипа при отключена деформация без да имат задължително самостоятелно значение на предразполагащ или модифициращ фактор: *VDR* (*rs2228570*), *BMP4* (*rs4898820*), *MATN1* (*rs1149048*), *MMP3* (*rs3025058*), *MTNR1B* (*rs4753426*), *CHD7* (*rs4738824*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*).

Един полиморфизъм - *ESR1* (*rs2234693*) се свързва с резистентност към корсетолечение.

Тези резултати показват значителна хетерогенност в генетичното предразположение към идиопатична сколиоза при българските пациенти и възможно участие на различни генетични варианти при ранната и късната сколиоза, при прогресивните и непрогресивните форми, при фамилните и спорадичните случаи и при двата пола. От една страна се наблюдават генетични варианти със самостоятелно значение на рискови фактори с предразполагащ и/или модифициращ ефект, а от друга страна има генетични маркери с второстепенно значение на модифициращи фактори.

Относителният риск (RR) от развитие и прогресия на идиопатична сколиоза при носителство на определени генотипове и алели с предразполагащ и модифициращ ефект е представен на табл. 4.21 и 4.22.

Табл. 4.21. Оценка на риска при носителство на генотипове и алели с предразполагащ ефект.

Ген	SNP	Генотип, Алел	RR
<i>IL17RC</i>	<i>rs708567</i> (G/A)	AA vs. GA+GG	2.26
		A vs. G	1.48
<i>IL-6</i>	<i>rs180095</i> (G/C)	GG vs. GC+CC	1.7
		G vs. C	1.35
<i>ESR1</i>	<i>rs2234693</i> (P/p)	PP vs. Pp+pp	1.6
		P vs. p	1.2
<i>TGFB1</i>	<i>rs1800469</i> (C/T)	TT vs. TC+CC	1.56
		T vs. C	1.23
<i>GPR126</i>	<i>rs6570507</i> (A/G)	GG vs. GA+AA	1.46
		G vs. A	1.15
<i>LBX1</i>	<i>rs11190870</i> (T/C)	TT vs. TC+CC	1.35
		T vs. C	1.19

Табл. 4.22. Оценка на риска при носителство на генотипове и алели с модифициращ ефект.

Ген	SNP	Генотип, Алел	RR
<i>IL17RC</i>	<i>rs708567</i> (G/A)	AA vs. GA+GG	2.26
		A vs. G	1.46
<i>IL-6</i>	<i>rs180095</i> (G/C)	GG vs. GC+CC	1.8
		G vs. C	1.38
<i>ESR1</i>	<i>rs2234693</i> (P/p)	PP vs. Pp+pp	1.6
		P vs. p	1.2
<i>TGFB1</i>	<i>rs1800469</i> (C/T)	TT vs. TC+CC	1.62
		T vs. C	1.25
<i>GPR126</i>	<i>rs6570507</i> (A/G)	GG vs. GA+AA	1.5
		G vs. A	1.17
<i>LBX1</i>	<i>rs11190870</i> (T/C)	TT vs. TC+CC	1.34
		T vs. C	1.18

Идентифицирането на молекулни маркери с диагностична и прогностична стойност ще бъде полезно в клиничната практика за ранна диагностика на предразположението към сколиоза при родственици и за по-точна прогноза на риска от бърза прогресия на деформацията при засегнати индивиди. Това ще позволи провеждане на профилактични мероприятия и ранна терапия.

VI. ИЗВОДИ

1. Възрастта на началните клинични прояви при идиопатична сколиоза е важен показател за степента на прогресия на гръбначната крива. При по-ранна възраст, рискът от прогресия на деформацията е повишен и предоперативния ъгъл е по-голям.
2. Съществува хетерогенност в генетичното предразположение към идиопатична сколиоза при българските пациенти. От една страна се наблюдават полиморфни варианти със самостоятелно значение на рискови фактори (с предразполагащ и/или модифициращ ефект) или с протективен ефект, а от друга страна има генетични маркери с второстепенно значение на модифициращи фактори.
3. Възможно е участие на различни генетични варианти при ранната и късната сколиоза, при прогресивните и непрогресивните форми, при фамилените и спорадичните случаи, комбинациите от тях, както и в зависимост от пола.
4. Потвърдените асоциации с кандидат-гени, както от предходни асоциативни проучвания, базирани на хипотези, така и от цялостни геномни асоциативни проучвания, предполагат участие на полиморфни варианти в различни кандидат-гени, при това с различно ниво на значимост, в етиопатогенезата на идиопатичната сколиоза при българските пациенти.
5. Отхвърлена е асоциация с неизследвания до момента за връзка с деформацията функционален полиморфизъм в гена за аденозинмонофосфатдезаминаза, което показва, че хомозиготният генотип, свързан с периоди на миалгии, мускулни крампи, слабост и преждевременна умора, не е самостоятелен предразполагащ фактор за идиопатична сколиоза при българските пациенти.
6. Проучването на генетични маркери би послужило за възможна оценка на риска от прогресия на сколиозата и/или възможна обвързаност с конкретен фенотип, което дава възможност за приложение в клиничната практика за индивидуална прогноза, профилактика или ранна терапия - с минимално инвазивни интервенции и икономически измерим ефект.

VII. СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ

Научно-теоретични приноси

1. Поставено е началото на молекулярно-генетичните проучвания върху идиопатичната сколиоза в България и възможности за включване на генетични изследвания в мащабни профилактични програми.
2. За първи път:
 - 2.1. в България е проучена честотата на 11 полиморфизма: *IGF-1* (*rs5742612*), *CHD7* (*rs4738824*), *MTNR1B* (*rs4753426*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *CHL1* (*rs1400180*), *TPH1* (*rs10488682*), *MATN1* (*rs1149048*), *BMP4* (*rs4898820*), *Lep* (*rs7799039*).
 - 2.2. в европейска популация е изследвана връзката между идиопатичната сколиоза и 5 полиморфизма: *IGF-1* (*rs5742612*), *TPH1* (*rs10488682*), *VDR* (*rs2228570*), *ACE* (*rs1799752*), *ACTN3* (*rs1815739*).
 - 2.3. е проучена връзката между идиопатичната сколиоза и функционален полиморфизъм *AMPD1* (*rs17602729*).

Методични приноси

1. Създадена е геномна банка за идиопатична сколиоза към Национална генетична лаборатория (Лаборатория по Клинична генетика на СБАЛИАГ „Майчин дом“).
2. Оптимизирани са методи за генотипиране на общо 20 полиморфизма в 19 гена.

Научно - приложни приноси

1. Разработен е алгоритъм за изследване на набор от генетични маркери с цел ранна диагностика на предразположението към сколиоза при родственици.
2. Разработен е алгоритъм за изследване на набор от генетични маркери с цел прогноза на риска от прогресия на сколиозата при засегнатите деца.

Приноси с потвърдителен характер

1. Потвърдена е връзката между предразположението към адолесцентна идиопатична сколиоза и полиморфизмите: *IL-6* (*rs1800795*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *TGFB1* (*rs1800469*).
2. Потвърдена е връзката между прогресията на идиопатичната сколиоза и полиморфизмите: *IL17RC* (*rs708567*) и *TGFB1* (*rs1800469*).

VIII. ЛИТЕРАТУРНА СПРАВКА

- [1]. Konieczny MR, Senyurt H., Krauspe R. Epidemiology of adolescent idiopathic scoliosis. *Journal of Children's Orthopaedics*. 2013;7(1):3-9.
- [2]. Altaf F. Adolescent Idiopathic Scoliosis. *BMJ*. 2013;346:f2508.
- [3]. Yee A., Song Y., Chan D., Cheung K. Understanding the Basis of Genetic Studies: Adolescent Idiopathic Scoliosis as an Example. *Spine Deformity, Basic Science*. 2013;2:1-9.
- [4]. Weiss H-R, Moramarco M. Indication for surgical treatment in patients with adolescent Idiopathic Scoliosis – a critical appraisal. *Patient Safety in Surgery*. 2013;7:17.
- [5]. Weiss HR, Moramarco M. Scoliosis—treatment indications according to current evidence. *OA Musculoskeletal Med*. 2013;1(1):1.
- [6]. Suh SW, Modi HN, Yang JH, Hong JY. Idiopathic scoliosis in Korean schoolchildren: a prospective screening study of over 1 million children. *Eur Spine J*. 2011;20(7):1087–94.
- [7]. Doi T, Harimaya K, Mitsuyasu H, Matsumoto Y, Masuda K, Kobayakawa K, et al. Right thoracic curvature in the normal spine. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2011 Jan 14;6:4.
- [8]. Lenke LG, Betz RR, Harms J, Bridwell KH, Clements DH, Lowe TG, et al. Adolescent idiopathic scoliosis: a new classification to determine extent of spinal arthrodesis. *J Bone Joint Surg Am*. 2001;83-A(8):1169-81.
- [9]. Mummaneni PV, Ondra SL, Sasso RC. Thoracolumbar deformity advances: Operative treatment of thoracolumbar deformity. In: Haid RW, Subach BR, Rodts GE, eds. *Advances in Spinal Stabilization*. Prog Neurol Surg. Basel, Karger, 2003;16:225-39.
- [10]. Waller T., Nowak R., Tkacz M., Zapart D., Mazurek U. Familial or Sporadic Idiopathic Scoliosis – classification based on artificial neural network and GAPDH and ACTB transcription profile. *BioMedical Engineering OnLine*. 2013;12:1.
- [11]. Donzelli S., Zaina F., Lusini M., Minnella S., Negrini S. In favour of the definition "adolescents with idiopathic scoliosis": juvenile and adolescent idiopathic scoliosis braced after ten years of age, do not show different end results. *Scoliosis*. 2014 Jun 27;9:7.
- [12]. Yong, M., Izatt, M.T., Adam, C.J., Labrom, R.D., Askin, G.N. Secondary Curve Behavior in Lenke Type 1C Adolescent Idiopathic Scoliosis after Thoracoscopic Selective Anterior Thoracic Fusion. *Spine*. 2012;3(23):1965–74.
- [13]. Van Goethem J, Van Campenthout A. Scoliosis. In: Van Goethem J, van den Hauwe L, Parizel PM, eds. *Spinal Imaging*. Springer. Heidelberg, 2007.
- [14]. Попов Б., Хигиена, хранене и професионални болести. Изд. Везни-4, София, 2010.
- [15]. Wajchenberg M, Luciano R de P, Araújo RC, Martins DE, Puertas EB, Almeida SS. Polymorphism of the ace gene and the α -actinin-3 gene in adolescent idiopathic scoliosis. *Acta Ortopedica Brasileira*. 2013;21(3):170-4.
- [16]. Suh K.T., I.S. Eun, J.S. Lee. Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J*. 2010;19:1545–50.
- [17]. Arai H., K.-I. Miyamoto, Y. Taketani, H. Yamamoto, Y. Iemori, K. Morita, et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1997;12(6):915–21.
- [18]. Jurutka PW, L. S. Remus, G. K. Whitfield, P. D. Thompson, J. C. Hsieh, H. Zitzer, et al. The polymorphic N terminus in human vitamin D receptor isoforms influences transcriptional activity by modulating interaction with transcription factor IIB. *Molecular Endocrinology*. 2000;14(3):401–20.
- [19]. Yang Y, Z. Wu, T. Zhao, H. Wang, D. Zhao, J. Zhang, et al. Adolescent idiopathic scoliosis and the single-nucleotide polymorphism of the growth hormone receptor and IGF-1 genes. *Orthopedics*. 2009;32(6):411.
- [20]. Takahashi Y., M. Matsumoto, T. Karasugi, K. Watanabe, K. Chiba, N. Kawakami, et al. Lack of association between adolescent idiopathic scoliosis and previously reported single nucleotide polymorphisms in MATN-1, MTNR1B, TPH1, and IGF1 in a Japanese population. *J Orthop Res*. 2011;29(7):1055–8.
- [21]. Yeung H.Y., N.L. Tang, K.M. Lee, B.K. Ng, V.W. Hung, R. Kwok, et al. Genetic association study of insulin-like growth factor-I (IGF-I) gene with curve severity and osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis. *Stud Health Technol Inform*. 2006;123:18-24.
- [22]. Ginevičienė V, A. Jakaitienė, A. Pranculis, K. Milašius, L. Tubelis and A. Utkus. *AMPD1* rs17602729 is associated with physical performance of sprint and power in elite Lithuanian athletes. *BMC Genetics*. 2014;15:58.
- [23]. Morocz M, Czibula A, Grozer ZB, Szecsenyi A, Almos PZ, Rasko I, et al. Association study of BMP4, IL6, Leptin, MMP3, and MTNR1B gene promoter polymorphisms and adolescent idiopathic scoliosis. *Spine*. 2011;36(2):E123–E130.

- [24]. Yilmaz H., C. Zateri, A. Uludag, C. Bakar, S. Kosar, O. Ozdemir. Single-nucleotide polymorphism in Turkish patients with adolescent idiopathic scoliosis: curve progression is not related with MATN-1, LCT C/T-13910, and VDR BsmI. *J Orthop Res.* 2012; 30(9):1459-63.
- [25]. Montanaro L, Parisini P, Greggi T, Di Silvestre M, Campoccia D, Rizzi S, et al. Evidence of a linkage between *matrilin-1* gene (*MATN1*) and idiopathic scoliosis. *Scoliosis.* 2006;1:21.
- [26]. Aulisa L, Papaleo P, Pola E, Angelini F, Aulisa AG, Tamburrelli FS, et al. Association between IL-6 and MMP-3 gene polymorphisms and adolescent idiopathic scoliosis: a case-control study. *Spine.* 2007;32(24):2700-2.
- [27]. Aulisa A, Pola E, Papaleo P, Galli M, Aulisa L. The association between IL-6 and MMP-3 gene polymorphisms and adolescent idiopathic scoliosis: a case-control study. *Scoliosis.* 2009;4(1):O1
- [28]. Liu Z, Tang NL, Cao XB, Liu WJ, Qiu XS, Cheng JC, et al. Lack of association between the promoter polymorphisms of MMP-3 and IL-6 genes and adolescent idiopathic scoliosis: a case control study in a Chinese Han population. *Spine.* 2010;35(18):1701-5.
- [29]. Nelson LM, Ward K, Ogilvie JW. Genetic variants in melatonin synthesis and signaling pathway are not associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2011 Jan 1;36(1):37-40.
- [30]. Tang NL, Yeung HY, Lee KM, Hung VW, Cheung CS, Ng BK, et al. A relook into the association of the estrogen receptor [alpha] gene (PvuII, XbaI) and adolescent idiopathic scoliosis: a study of 540 Chinese cases. *Spine (Phila Pa 1976).* 2006; 31(21):2463-8.
- [31]. Takahashi Y, Matsumoto M, Karasugi T, Watanabe K, Chiba K, Kawakami N, et al. Replication study of the association between adolescent idiopathic scoliosis and two estrogen receptor genes. *J Orthop Res.* 2010;29(6):834-7.
- [32]. Janusz P, Kotwicki T, Andrusiewicz M, Kotwicka M. XbaI and PvuII Polymorphisms of Estrogen Receptor 1 Gene in Females with Idiopathic Scoliosis: No Association with Occurrence or Clinical Form. Gonzalez-Alegre P, ed. *PLoS ONE.* 2013;8(10):e76806.
- [33]. Wu J, Qiu Y, Zhang L, Sun Q, Qiu X, He Y. Association of estrogen receptor gene polymorphisms with susceptibility to adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2006;31(10):1131-6.
- [34]. Nowak R, Kwiecien M, Tkacz M, and Mazurek U. Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) Signaling in Paravertebral Muscles in Juvenile and Adolescent Idiopathic Scoliosis. *BioMed Research International.* 2014;2014: 594287
- [35]. Ward K, Ogilvie J, Argyle V, Nelson L, Meade M, Braun J, et al. Polygenic inheritance of adolescent idiopathic scoliosis: a study of extended families in Utah. *The American Journal of Medical Genetics A.* 2010 May;152A(5):1178-88.
- [36]. Ogilvie JW. Update on prognostic genetic testing in adolescent idiopathic scoliosis (AIS). *Journal of Pediatric Orthopaedics.* 2011;31:S46-S48.
- [37]. Shyy W, Wang K, Gurnett CA, Dobbs MB, Miller NH, Wise C, et al. Evaluation of GPR50, hMel-1B, and ROR-alpha melatonin-related receptors and the etiology of adolescent idiopathic scoliosis. *J Pediatr Orthop.* 2010;30(6):539-43.
- [38]. Janusz, T. Kotwicki, M. Kotwicka, M. Andrusiewicz. Association of CHD7 Polymorphism with Susceptibility to and Severity of Idiopathic Scoliosis in Central European Population: Preliminary Study. *Studies in Health Technology and Informatics.* 2012;176(8):448.
- [39]. Dormans JP, Grant SF, Sampson P, Rendon N, Chiavacci R, Hakonarson H. A Genome Wide Association Study Identifies IL17RC as an Adolescent Idiopathic Scoliosis Locus. *Spine: Affiliated Society Meeting abstracts.* 2011; 2011:96, Podium Presentations Abstracts.
- [40]. Zhou S, Zhu Z, Qiu X, Wu W, Wang W, Liu Z, et al. Association study of IL-17RC, CHL1, DSCAM and CNTNAP2 genes polymorphisms with adolescent idiopathic scoliosis susceptibility in a Chinese Han population. *Stud Health Technol Inform.* 2012;176:47-51.
- [41]. Sharma S, Gao X, Londono D, Devroy SE, Mauldin KN, Frankel JT, et al. Genome-wide association studies of adolescent idiopathic scoliosis suggest candidate susceptibility genes. *Human Molecular Genetics.* 2011;20(7):1456-66.
- [42]. Kou I, Takahashi Y, Johnson TA, Takahashi A, Guo L, Dai J, et al. Genetic variants in GPR126 are associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Nat Genet.* 2013 Jun;45(6):676-9.
- [43]. Xu JF, Yang GH, Pan XH, Zhang SJ, Zhao C, Qiu BS, et al. Association of GPR126 gene polymorphism with adolescent idiopathic scoliosis in Chinese populations. *Genomics.* 2015 Feb;105(2):101-7.
- [44]. Takahashi Y, Kou I, Takahashi A, Johnson TA, Kono K, Kawakami N, et al. A genome-wide association study identifies common variants near LBX1 associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Nature Genetics.* 2011 Oct 23;43(12):1237-40.

- [45]. Fan YH, Song YQ, Chan D, Takahashi Y, Ikegawa S, Matsumoto M, et al. SNP rs11190870 near *LBX1* is associated with adolescent idiopathic scoliosis in southern Chinese. *Journal of Human Genetics*. 2012 Apr;57(4):244–6.
- [46]. Gao W, Peng Y, Liang G, Liang A, Ye W, Zhang L, et al. Association between common variants near *LBX1* and adolescent idiopathic scoliosis replication in the Chinese Han population. *PLoS ONE*. 2013;8(1):e53234.
- [47]. Jiang H, Qiu X, Dai J, Yan H, Zhu Z, Qian B, et al. Association of rs11190870 near *LBX1* with adolescent idiopathic scoliosis susceptibility in a Han Chinese population. *European Spine Journal*. 2013 Feb;22(2):282–6.
- [48]. Chettier R, Nelson L, Ogilvie JW, Albertsen HM, Ward K. Haplotypes at *LBX1* Have Distinct Inheritance Patterns with Opposite Effects in Adolescent Idiopathic Scoliosis. Fang S, ed. *PLoS ONE*. 2015;10(2):e0117708.
- [49]. Grauers A, Wang J, Einarsdottir E, Simony A, Danielsson A, Åkesson K, et al. Candidate gene analysis and exome sequencing confirm *LBX1* as a susceptibility gene for idiopathic scoliosis. *Spine J*. 2015 Oct 1;15(10):2239–46.
- [50]. Pincott JR, Taffs LF. Experimental scoliosis in primates: a neurological cause. *J Bone Joint Surg Br*. 1982;64:503–7.
- [51]. Pincott JR, Davies JS, Taffs LF. Scoliosis caused by section of dorsal spinal nerve roots. *J Bone Joint Surg Br*. 1984;66:27–9.
- [52]. Barrios C, Tunon MT, De Salis JA, Beguiristain JL, Canadell J. Scoliosis induced by medullary damage: an experimental study in rabbits. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1987;12:433–9.
- [53]. Suk SI, Song HS, Lee CK. Scoliosis induced by anterior and posterior rhizotomy. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1989;14:692–7.
- [54]. Kouwenhoven JM, Castelein RM. The Pathogenesis of Adolescent Idiopathic Scoliosis: A Review of the Literature. *Spine*. 2008;33:2898–908.
- [55]. Cheng JC, Guo X, Sher AH. Posterior tibial nerve somatosensory cortical evoked potentials in adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1998;23:332–7.
- [56]. Cheng JC, Guo X, Sher AH, Chan YL, Metreweli C. Correlation between curve severity, somatosensory evoked potentials, and magnetic resonance imaging in adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1999;24:1679–84.
- [57]. Guo X, Chau WW, Hui-Chan CW, Cheung CS, Tsang WW and Cheng JC. Balance control in adolescents with idiopathic scoliosis and disturbed somatosensory function. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2006 Jun 15;31(14):E437–40.
- [58]. Huang M, Huang T, Xiang Y, Xie Z, Chen Y, Yan R, et al. *Ptf1a*, *Lbx1* and *Pax2* coordinate glycinergic and peptidergic transmitter phenotypes in dorsal spinal inhibitory neurons. *Dev Biol*. 2008 Oct 15;322(2):394–405.
- [59]. Gross MK, Dottori M, Goulding M. *Lbx1* specifies somatosensory association interneurons in the dorsal spinal cord. *Neuron*. 2002;34:535–49.
- [60]. Muller T, Brohmann H, Pierani A, Heppenstall PA, Lewin GR, Jessell TM, et al. The homeodomain factor *lbx1* distinguishes two major programs of neuronal differentiation in the dorsal spinal cord. *Neuron*. 2002 May 16;34(4):551–62.
- [61]. Cheng L, Samad OA, Xu Y, Mizuguchi R, Luo P, et al. *Lbx1* and *Tlx3* are opposing switches in determining GABAergic versus glutamatergic transmitter phenotypes. *Nat Neurosci*. 2005;8:1510–5.
- [62]. Sieber MA, Storm R, Martinez-de-la-Torre M, Muller T, Wende H, et al. *Lbx1* acts as a selector gene in the fate determination of somatosensory and viscerosensory relay neurons in the hindbrain. *J Neurosci*. 2007;27:4902–9.
- [63]. Jagla K, Dolle P, Mattei MG, Jagla T, Schuhbauer B, Dretzen G, et al. Mouse *Lbx1* and human *LBX1* define a novel mammalian homeobox gene family related to the *Drosophila* lady bird genes. *Mech Dev*. 1995 Nov;53(3):345–56.
- [64]. McLennan IS and K. Koishi. The transforming growth factor-betas: multifaceted regulators of the development and maintenance of skeletal muscles, motoneurons and Schwann cells. *International Journal of Developmental Biology*. 2002;46(4):559–67.
- [65]. Massagué J. How cells read TGF- β signals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2000;1(3):169–78.
- [66]. Ryzhkov I.I., Borzilov E.E., Churnosov M.I., Ataman A.V., Dedkov A.A., Polonikov A.V. Transforming Growth Factor Beta 1 is a Novel Susceptibility Gene for Adolescent Idiopathic Scoliosis. *Spine*. 2013; 38(12):E699-704.

Цитирани сайтове

1. <http://www.orthopediatrics.com/>

СПРАВКА ЗА ПУБЛИКАЦИИ И ДОКЛАДИ

ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Nikolova S**, Dikova M, Dikov D, Djerov A, Dzhebir G, Atanasov V, Savov A, Kremensky I. Role of the IL-6 Gene in the Etiopathogenesis of Idiopathic Scoliosis. *Analytical Cellular Pathology*, vol. 2015, Article ID 621893, 2015 (**IF 2015 = 1.76**)
2. **Nikolova S**, Yablanski V, Vlaev E, Stokov L, Savov A, Kremensky I. Association between Estrogen Receptor Alpha Gene Polymorphisms and Susceptibility to Idiopathic Scoliosis in Bulgarian Patients: A Case-Control Study. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, vol. 3, no. 2, p. 278-282, 2015 (**IF 2015 = 1.09**)
3. **Nikolova S**, Dikova M, Savov A, Kremensky I. Genetics of Idiopathic Scoliosis. *Pediatriya*, vol. 52, no. 4, pp. 16–19, 2012

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ

1. **Николова С.**, Яблански В., Влаев Е., Савов А., Кременски И. Проучване на асоциацията между идиопатична сколиоза и полиморфни варианти на гените *MTNR1B* и *CHD7* при български пациенти. Представен доклад на XXV-тата традиционна Международна научна конференция, 4-5.06.2015 г., хотел «Марица изток» - Старозагорски минерални бани, България.
2. **Nikolova S**, Yablanski V, Vlaev E, Stokov L, Savov A, Kremensky I. Association between Estrogen Receptor 1 Gene and Idiopathic Scoliosis. Poster. Oral presentation. 16th Congress of the European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology (EFORT), 26-29 May 2015, Prague, Czech Republic
3. **Nikolova S**, Dikova M, Dikov D, Djerov A, Lashkov D, Savov A, Kremensky I, Tanchev P. Association Between IL-6 Promoter Polymorphism And Susceptibility To Idiopathic Scoliosis: A Case-Control Study. Poster. 15th Congress of the European Federation of National Associations of Orthopaedics and Traumatology (EFORT), 4-6 June 2014, London, UK.
4. Dourmishev L, Kamenarska Z, Hristova M, Vinkov A, **Nikolova S**, Kaneva R, Miteva L, Savov A, Mitev V. Investigation of TNF-alpha, IL-10, IL-6, IL-RN and MBL2 gene polymorphisms in patients with dermatomyositis. Poster. 23rd EADV Congress, 08-12 October 2014, Amsterdam, The Netherlands.
5. **Николова С.**, Дикова М., Диков Д., Джеров А., Лашков Д., Савов А., Кременски И., Бенкин М., Танчев П. Проучване на асоциацията между 8 генетични варианта и идиопатична сколиоза при български пациенти. Представен доклад на XII-ти Национален конгрес на Българската ортопедична и травматологична асоциация (БОТА) с международно участие, 9-12.10.2013 г., Златни Пясъци, България.
6. **Nikolova S**, Dikova M, Dikov D, Djerov A, Lashkov D, Savov A, Kremensky I, Tanchev P. Association between Matrix Metalloproteinase-3 Genetic Polymorphism and Susceptibility to Idiopathic Scoliosis. Представен доклад на 2nd Budapest Spine Conference – combined meeting of the Hungarian Spine Society and Spine Experts Group, 29th and 30th November 2013, Budapest, Hungary.

7. Hristova M, Kamenarska Z, **Nikolova S**, Kaneva R, Dourmishev L. IL-6 Promoter Polymorphism (-174G/C) in patients with Dermatomyositis. Poster. 22nd EADV Congress, 2-6 October 2013, Istanbul, Turkey.
8. **Nikolova S**, Dikova M, Dikov D, Dzherov A, Lashkov D, Tanchev P. Association between CHD7 and IL-6 gene polymorphisms and idiopathic scoliosis in Bulgarians: A pilot study. Annual Spine experts group meeting and Slovenia 2012 Spine symposium. Ljubljana, Slovenia, Nov. 29th and 30th, 2012. Abstract. Page 66.
9. Дикова М., Димитрова А., Кехайов Р. **Николова С.** Профилактика на тромбоемболични усложнения при ортопедична операция на дете след исхемичен инсулт. Постер от IV-та Национална конференция по трансфузионна терапия – алтернативи на хемотрансфузията в клиничната практика с международно участие, 21-22.10.2011 г., гр. София, България

УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЕКТИ

1. „Проучване на асоциацията между полиморфизми в 6 кандидат-гена: IL17RC, GPR126, VDR, BMP4, Lrp, TGFB1 и предразположението към идиопатична сколиоза”, Водещ изследовател: Светла Николова, МУ-София, 2014
2. „Изследване на асоциацията между полиморфизми в 8 кандидат-гена и етиологията и прогресията на идиопатична сколиоза при български пациенти”, Водещ изследовател: Доц. Алексей Савов, дб, МУ-София, 2012
3. “Genome-wide Screening for CNVs in Mental Retardation”, Водещ изследовател: Проф. Д-р Венета Божинова, дм, ФНИ, 2009
4. «Микроструктурни небалансирани геномни промени при пациенти с идиопатично умствено изоставане», Водещ изследовател: Доц. Алексей Савов, дб, МУ-София, 2009
5. „Изследване на генетични и епигенетични промени на FMR1 при български пациенти с клиничен фенотип на синдром на чуплива X хромозома”, Водещ изследовател: ст. ас. Д-р Радослава Въжарова, МУ-София, 2009
6. “Анализ на големи геномни делеции, инсерции и пренареждания в BRCA1 и BRCA2 гените при български пациенти с наследствен карцином на гърдата”, Водещ изследовател: гл. ас. Атанаска Миткова, дб, МУ-София, 2009
7. ”Национален университетски комплекс за биомедицински и приложни изследвания”, Водещ изследовател: Проф. Д-р Ваньо Митев, дм, дбн, ФНИ, 2009

НАУЧНИ НАГРАДИ

1. Първа награда за постер от IV-та Национална конференция по хематология и трансфузионна терапия – алтернативи на хемотрансфузията в клиничната практика с международно участие, 21-22.10.2011 г., гр. София, България.
2. Номинация за най-добър постер от 16th EFORT Congress, 26-29 May 2015, Prague, Czech Republic.

РЕЗЮМЕ

Сколиозата е най-често срещаната гръбначна деформация с начало в детска възраст. При ненавременно и неправилно проведено лечение сколиозата може да доведе до трайни последици, влошаващи сериозно качеството на живот, като: хронична болка, дегенеративни изменения на гръбначния стълб, затрудняване функцията на дихателната, сърдечно-съдовата и гастроинтестиналната система. В най-малко 75% от случаите деформацията има неясен произход и се означава като идиопатична сколиоза. Съвременната концепция разглежда идиопатичната сколиоза като мултифакторно заболяване с участие на генетични и негенетични фактори при възникването и прогресията на изкривяването.

Цел на настоящия дисертационен труд е изследване на асоциацията между единични нуклеотидни полиморфизми в кандидат-гени и идиопатичната сколиоза при български пациенти.

Общо, 7 полиморфизма са асоциирани с предразположението към идиопатична сколиоза: *IL-6* (*rs1800795*), *ESR1* (*rs9340799*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *TGFB1* (*rs1800469*), като *ESR1* (*rs9340799*) и *ESR1* (*rs2234693*) се свързват само с ранната сколиоза, останалите полиморфизми – с късната сколиоза, а *TGFB1* (*rs1800469*) – с ранната и с късната идиопатична сколиоза.

Общо, 7 полиморфизма са асоциирани с прогресията на кривата: *TGFB1* (*rs1800469 C/T*), *ESR1* (*rs2234693*), *MATN1* (*rs1149048*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL-6* (*rs1800795*), като *MATN1* (*rs1149048*) се свързва само с бавнопрогресивна и непрогресивна сколиоза.

Общо, 6 полиморфизма са асоциирани с фамилната история на идиопатичната сколиоза: *MATN1* (*rs1149048*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL-6* (*rs1800795*), *TGFB1* (*rs1800469*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL17RC* (*rs708567*).

Общо, 6 полиморфизма показват асоциация със спорадичната идиопатична сколиоза: *TGFB1* (*rs1800469*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL-6* (*rs708567*).

Общо, 6 полиморфизма са асоциирани с пола при идиопатична сколиоза: *TGFB1* (*rs1800469*), *GPR126* (*rs6570507*), *IL17RC* (*rs708567*), *IL-6* (*rs1800795*), *ESR1* (*rs2234693*), *LBX1* (*rs11190870*).

Общо, 8 полиморфизма са асоциирани с типа на кривата и е възможно да модифицират фенотипа при отключена деформация без да имат задължително самостоятелно значение на предразполагащ или модифициращ фактор: *VDR* (*rs2228570*), *BMP4* (*rs4898820*), *MATN1* (*rs1149048*), *MMP3* (*rs3025058*), *MTNR1B* (*rs4753426*), *CHD7* (*rs4738824*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*).

Полиморфизъм *ESR1* (*rs2234693*) се свързва с резистентност към корсетолечение.

Тези резултати показват значителна хетерогенност в генетичното предразположение към идиопатична сколиоза при българските пациенти и възможно участие на различни генетични варианти при ранната и късната сколиоза, при прогресивните и непрогресивните форми, при фамилните и спорадичните случаи и при двата пола. От една страна се наблюдават генетични варианти със самостоятелно значение на рискови фактори с предразполагащ и/или модифициращ ефект, а от друга страна има генетични маркери с второстепенно значение на модифициращи фактори.

Идентифицирането на молекулни маркери с диагностична и прогностична стойност ще бъде полезно в клиничната практика за ранна диагностика на предразположението към сколиоза при родственици и за по-точна прогноза на риска от бърза прогресия на деформацията при засегнати индивиди. Това ще позволи провеждане на профилактични мероприятия и ранна терапия.

SUMMARY

Scoliosis is the most common spine deformity with onset in childhood. In case of untimely and improper treatment scoliosis can lead to lasting consequences, seriously impairing quality of life, such as chronic pain, degenerative changes of the spine, hindering the function of the respiratory, cardiovascular and gastrointestinal system. At least 75% of deformation is of unknown origin and is referred to as idiopathic scoliosis. The current concept of idiopathic scoliosis consists of a multifactorial disease involving genetic and non-genetic factors in the occurrence and progression of curvature.

The purpose of this dissertation is an association study between single nucleotide polymorphisms in candidate genes and idiopathic scoliosis in Bulgarian patients.

A total of 7 polymorphisms were associated with susceptibility to idiopathic scoliosis: *IL-6* (*rs1800795*), *ESR1* (*rs9340799*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *TGFBI* (*rs1800469*), including *ESR1* (*rs9340799*) and *ESR1* (*rs2234693*) were associated only with early onset scoliosis, other polymorphisms – with late onset scoliosis, and *TGFBI* (*rs1800469*) with two forms of scoliosis.

A total of 7 polymorphisms were associated with curve progression: *TGFBI* (*rs1800469* C/T), *ESR1* (*rs2234693*), *MATN1* (*rs1149048*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL-6* (*rs1800795*), including *MATN1* (*rs1149048*) was associated only with non-progressive and slow progressive scoliosis.

A total of 6 polymorphisms were associated with familial history of idiopathic scoliosis: *MATN1* (*rs1149048*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL-6* (*rs1800795*), *TGFBI* (*rs1800469*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL17RC* (*rs708567*).

A total of 6 polymorphisms were associated with sporadic idiopathic scoliosis: *TGFBI* (*rs1800469*), *ESR1* (*rs2234693*), *IL17RC* (*rs708567*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*), *IL-6* (*rs708567*).

A total of 6 polymorphisms were associated with gender: *TGFBI* (*rs1800469*), *GPR126* (*rs6570507*), *IL17RC* (*rs708567*), *IL-6* (*rs1800795*), *ESR1* (*rs2234693*), *LBX1* (*rs11190870*).

A total of 8 polymorphisms were associated with curve pattern and it is possible to modify the phenotype when deformation is unlocked, without having the necessarily independent role of modifying or predisposing factor: *VDR* (*rs2228570*), *BMP4* (*rs4898820*), *MATN1* (*rs1149048*), *MMP3* (*rs3025058*), *MTNR1B* (*rs4753426*), *CHD7* (*rs4738824*), *GPR126* (*rs6570507*), *LBX1* (*rs11190870*).

The polymorphism *ESR1* (*rs2234693*) was associated with resistance to bracing therapy.

These results show substantial heterogeneity in genetic predisposition to idiopathic scoliosis in Bulgarian patients and the possible participation of different genetic variants in the early and late onset scoliosis, in progressive and non-progressive forms, in family and sporadic cases, in both genders. First, there are genetic variants that are independent predisposing and/or modifying factors, second there are genetic markers of minor modifying effect.

The identification of molecular markers with diagnostic and prognostic value will be useful in clinical practice for early diagnosis of scoliosis among relatives and for more accurate prognosis of the risk of rapid progression of the deformity among affected individuals. That will permit prophylaxis and early treatment.

БЛАГОДАРНОСТИ

Изказвам своите искрени благодарности на научните си ръководители Доц. Алексей Савов и Проф. Д-р Иво Кременски и на ръководителя на Катедра по акушерство и гинекология към МУ-София - Проф. Д-р Асен Николов за предоставената ми възможност да изготвя настоящия дисертационен труд в Национална генетична лаборатория и за неоценимата подкрепа през годините.

Специални благодарности на д-р Васил Яблански, без чиято експертна подкрепа осъществяването на настоящия дисертационен труд не би било възможно.

Благодарности на колегите от Токуда Болница София и УСБАЛО „Проф. Бойчо Бойчев”, които помогнаха при набирането на пациентите.

Благодарности на всички пациенти и техните семейства за безценното им участие в проектите върху генетиката на заболяването.

Благодарности на моето семейство за дългогодишната подкрепа и разбиране!

СЪДЪРЖАНИЕ

ГЛАВА I. ВЪВЕДЕНИЕ.....	2
ГЛАВА II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	3
ГЛАВА III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	4
МАТЕРИАЛИ.....	4
1. Клиничен материал.....	4
2. Биологичен материал.....	5
МЕТОДИ.....	6
ГЛАВА IV. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ.....	7
1. РЕЗУЛТАТИ ОТ КЛИНИЧНАТА ИЗВАДКА И ОБСЪЖДАНЕ.....	7
2. РЕЗУЛТАТИ ОТ АСОЦИАТИВНОТО ПРОУЧВАНЕ И ОБСЪЖДАНЕ.....	11
2.1. Селекция на клинични групи.....	11
2.2. Резултати от SNP генотипирането чрез директна амплификация.....	13
2.2.1. <i>Ангиотензин конвертиращ ензим – ACE (rs1799752, -/G; I/D)</i>	13
2.3. Резултати от SNP генотипирането чрез амплификация-рестрикция.....	13
2.3.1. <i>Витамин D рецептор – VDR (rs2228570, C/T; FokI, F/f)</i>	13
2.3.2. <i>Инсулиноподобен растежен фактор 1 - IGF-1 (rs5742612, C/T)</i>	15
2.3.3. <i>Аденозинмонофосфатдезаминаза 1 - AMPD1 (rs17602729, C/T; C34T)</i>	16
2.3.4. <i>Актинин 3 - ACTN3 (rs1815739, C/T; R577X)</i>	16
2.3.5. <i>Костен морфогенен протеин-4 - BMP4 (rs4898820, T/G)</i>	17
2.3.6. <i>Лептин – Lep (rs7799039, G/A)</i>	18
2.3.7. <i>Матрилин-1 - MATN1 (rs1149048, A/G)</i>	18
2.3.8. <i>Матриксна металопротеиназа-3 - MMP3 (rs3025058; -1171 5A/6A)</i>	21
2.3.9. <i>Интерлевкин-6 - IL-6 (rs1800795; -174G/C)</i>	23
2.3.10. <i>Триптофанхидроксилаза-1 - TPH1 (rs10488682, T/A)</i>	26
2.3.11. <i>Естрогенов рецептор тип 1 – ESR1 (rs9340799, A/G; XbaI, X/x) и ESR1 (rs2234693, C/T; PvuII, P/p)</i>	26
2.4. Резултати от SNP генотипирането чрез TaqMan PCR в реално време...	32
2.4.1. <i>Мелатонинов рецептор тип 1B - MTNR1B (rs4753426, T/C)</i>	33
2.4.2. <i>Хромодомен хеликаза свързващ белтък-7 - CHD7 (rs4738824, G/A)</i>	35
2.4.3. <i>Рецептор за интерлевкин-17 – IL17RC (rs708567, G/A; S111L)</i>	37
2.4.4. <i>Клетъчна адхезионна молекула L1 подобен ген - CHL1 (rs1400180, T/G)</i>	40
2.4.5. <i>G-протеин свързан рецептор G6 - GPR126 (rs6570507, A/G)</i>	41
2.4.6. <i>Ladybird homeobox domain 1 - LBX1 (rs11190870, T/C)</i>	45
2.4.7. <i>Трансформиращ растежен фактор тип B1 – TGFB1 (TGF-β1) rs1800469 C/T (-509C > T)</i>	48
ГЛАВА V. ОБОБЩЕНИЕ.....	51
ГЛАВА VI. ИЗВОДИ.....	54
ГЛАВА VII. СПРАВКА ЗА ПРИНОСИТЕ.....	55
ГЛАВА VIII. ЛИТЕРАТУРНА СПРАВКА.....	56
СПРАВКА ЗА ПУБЛИКАЦИИ И ДОКЛАДИ.....	59
РЕЗЮМЕ.....	61
СЪДЪРЖАНИЕ.....	64