

УДК 616.711-007.5:616-056.7:57.023

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ И ОБОСНОВАНИЕ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ИДИОПАТИЧЕСКОМУ СКОЛИОЗУ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Кузнецов С.Б., Михайловский М.В.

ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, Новосибирск, e-mail: sergei_kuznetsov@yahoo.com

Мутации в ДНК могут быть не только причинами определенных заболеваний, но и служить маркерами этих заболеваний. С целью создания тест-системы на основе ДНК-микрочипа для выявления предрасположенности к этому заболеванию был подобран ряд однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) в 16 генах в качестве маркеров идиопатического сколиоза. Проведен анализ литературных данных об ассоциации 30 полиморфных локусов с проявлениями и прогрессом идиопатического сколиоза, а также дано обоснование включения отобранных ОНП в качестве маркеров в разрабатываемый ДНК-микрочип. Представлены аргументы, позволившие считать проанализированные мутации не причинами, а маркерами идиопатического сколиоза. Объясняются причины некорректности использования данных по аллельным частотам выбранных полиморфизмов из базы «1000 геномов» в качестве группы сравнения при поиске маркеров идиопатического сколиоза в локальных популяциях.

Ключевые слова: идиопатический сколиоз, однонуклеотидный полиморфизм, ДНК-микрочип, генетический маркер

ANALYSIS OF GENETIC MARKERS AND THE RATIONALE FOR THEIR USE IN DETERMINING OF SUSCEPTIBILITY TO IDIOPATHIC SCOLIOSIS (REVIEW OF LITERATURE)

Kuznetsov S.B., Mikhaylovskiy M.V.

Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.L. Tsiyvan, Novosibirsk, e-mail: sergei_kuznetsov@yahoo.com

Mutations in DNA might serve as markers of illnesses rather than to only be the reasons of those diseases. We selected a set of SNPs in 16 genes to use them as markers of idiopathic scoliosis with the idea to develop a test-system on the base of DNA-microarray for revealing of predisposition to AIS. Here we offer an analysis of literature data about association of 30 SNPs and onset of scoliosis and its progression. We also provide a rationale for the inclusion of selected SNPs as markers in the developed DNA-microarray. We suggest the arguments that allowed considering the analyzed mutation not as causes but as markers of idiopathic scoliosis. We explain the reasons why it is incorrect to use the allelic frequencies of selected polymorphisms from the «1000 Genomes» database as a comparison group when searching for idiopathic scoliosis markers in local populations.

Keywords: idiopathic scoliosis, single nucleotide polymorphisms, DNA microarray, a genetic marker

В предлагаемом обзоре [1] представлены данные специализированной литературы о связи ряда генов и мутаций в них с развитием и протеканием сколиозов различной этиологии. Такие мутации являются молекулярными маркерами сколиоза, и это позволяет использовать их в разработке инструмента для выявления генетической предрасположенности к заболеванию. Набор молекулярных маркеров сколиоза оказался достаточно большим, что определило выбор ДНК-микрочиповой технологии, как наиболее подходящей для анализа геномов на носительство патогенных мутаций. Создание ДНК-микрочипа для выявления специфических мутаций позволит одновременно анализировать все помещенные на него маркеры и получать более полную информацию о генетическом бэкграунде пациента – имеющихся у него наследственных патогенных мутаций в генах, связанных

с развитием сколиоза. Такой анализ позволит выявлять детей с риском развития у них сколиоза, а в некоторых случаях определять характер протекания заболевания и прогнозировать результаты лечения. Такие дети должны попадать в группы пристального наблюдения и проходить частые медицинские освидетельствования для того, чтобы выявить прогресс в развитии заболевания и принять правильное и своевременное решение о выборе метода лечения – консервативного либо хирургического.

В НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна (Новосибирск) проводятся исследования по разработке ДНК-микрочипа, для этого был подобран набор однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) или SNP (single nucleotide polymorphism) для размещения на микрочипе. Создание этой тест-системы связано еще и с тем, что популяции из разных регионов характери-

зуются своими генетическими маркерами предрасположенности к сколиозам. Основное количество научных публикаций по выявлению генетических причин или генетических маркеров сколиозов основано на результатах, полученных на выборках пациентов из Юго-Восточной Азии: Китай, Корея, Япония. Небольшая часть публикаций приходится на регионы Западной Европы: Италия, Финляндия, Испания. Подобные исследования не проводились на территории России вообще, и в Сибирском регионе, в частности. Популяции россиян могут быть по своему уникальными, поскольку формировались и развивались в значительной степени изолировано от Юго-Востока Азии и от Западной Европы, а потому, в них могут быть свои специфические генетические маркеры, либо частоты известных маркеров в них могут быть отличными от других популяций.

Испытания созданного ДНК-микрочипа на выборке ННИИТО, в клинике которого проходят лечение пациенты Сибирского и Дальневосточного федеральных округов, а также среднеазиатские страны, позволит выявить валидность выбранных ОНП и корректно сформировать список наиболее часто встречающихся генетических маркеров сколиозов на территории Сибири. На основе набора верифицированных маркеров мы предполагаем создать тестовую систему для ранней диагностики генетической предрасположенности к развитию идиопатических сколиозов. Здесь мы представляем анализ некоторого количества отобранных маркеров с обоснованием причин отбора. Обозначения однонуклеотидных полиморфизмов приводятся в соответствии с общепринятыми обозначениями.

Результаты исследования и их обсуждение

Ген ESRI (Estrogen receptor 1): rs9340799 (XbaI site). Из 219 обследованных китайских пациентов, подвергшихся корсетотерапии [10], у 162 она дала положительный эффект, и у 57 эффекта не было или угол искривления позвоночника увеличился. В группе с положительным эффектом частоты аллелей А (норма) и G (мутант) были 88% и 12%, а в группе с отрицательным эффектом – 72,9% и 27,1%. Притом, что средние значения частот этих аллелей в азиатской популяции – 80,7% и 19,3% (<http://www.1000genomes.org/>). В этой выборке аллель G достоверно чаще встречается у пациентов, которым корсетотерапия не принесла ожидаемого эффекта. Средние частоты этих аллелей в европейской популяции равны 69,1% и 30,9%, и можно ожидать, что

пациентов европейского происхождения, для которых корсетотерапия окажется неэффективной, будет больше. **rs2234693** (PvuII site). В китайской выборке пациентов с идиопатическим сколиозом [28] аллель С (норма) встречался с частотой 30,6% и аллель Т (мутант) с частотой 69,4% в группе с двойной кривизной позвоночника против 44% (С) и 56% (Т) в контрольной группе. В целом по азиатской популяции эти аллели имеют частоты – 39,9% и 60,1%, а в популяции европейцев – 42,2% и 57,7%. Можно ожидать, что такая же корреляция Т аллели ОНП rs2234693 с развитием двойной кривизны позвоночника встречается в популяции Сибирского региона, поэтому мы внесли этот полиморфный локус в список маркеров для размещения на микрочипе.

Ген TPH1 (Tryptophan hydroxylase 1). В группе китайских пациентов с положительным эффектом корсетотерапии [24] частоты аллелей ОНП **rs10488682** были 90,4% для Т (норма) и 9,6% для А (мутант), а в группе с отрицательным эффектом – 83,8% и 16,7%. Средние значения частот этих аллелей в азиатской популяции – 86,7% и 13,3%, а в европейской – 74% и 26%, что оправдывает внесение ОНП rs10488682 в список маркеров. Аллель А этого полиморфного локуса статистически достоверно связана с устойчивостью пациентов с идиопатическим сколиозом к корсетотерапии.

Район семнадцатой хромосомы 17q24.3 возле генов SOX9 and KCNJ2: rs12946942. Репрезентативные выборки из японской и китайской популяций показали достоверную связь этого локуса со степенью выраженности сколиоза [2]. Частота мутантной аллели Т в выборке японских пациентов составила 27,4% против 20,3% в контроле, и в выборке китайских пациентов – 39,2% против 28,8% в контроле. Средняя частота аллели Т в азиатской популяции составляет 22,9% у мужчин, и 25,9 у женщин. Однако, в североамериканской выборке пациентов с европейским происхождением [18] не выявили связи rs12946942 со сколиозом, что вполне объяснимо, поскольку средняя частота аллели Т в европейских популяциях низка – 10,4% у мужчин и 8,3% у женщин. Можно предположить, что в сибирском регионе частота аллели Т будет достаточно высока из-за довольно значительной доли представителей народов Восточной Азии.

Ген CHD7 (Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7): rs4738824. Группа из Техасского Университета [22] проанализировала 52 семьи, в которых имеются случаи заболевания сколиозом, и выявила несколько однонуклеотидных полиморфизмов в гене CHD7, которые в той или иной степени

нарушают работу этого гена, что возможно ведет к развитию сколиозов у носителей мутантных аллелей. Для ОНП rs4738824 была выявлена неслучайная передача мутантной аллели А в поколениях обследованных семей, и показана достоверная связь этой мутации со сколиозом. Частота этой аллели в европейской популяции достаточно высока – 20,8% у мужчин, и 24,7% у женщин. В восточноазиатской популяции эта частота низкая – 5,7% у мужчин и 5,3% у женщин. Этот ОНП включен в список маркеров предрасположенности к сколиозу. **rs1038351**. Эта же группа показала высокую достоверность связи Т аллели ОНП rs1038351с проявлениями сколиоза в исследованных семьях. Средняя частота этой аллели в европейских популяциях 23,9%, в восточноазиатских популяциях – 6,2%, можно ожидать, что в сибирской популяции удастся выявить связь этого ОНП со сколиозом. **rs7843033**. Согласно результатам, полученным в том же исследовании, этот полиморфный локус также достоверно связан с проявлениями сколиоза при семейном анализе. И также, средняя частота мутантной аллели С в европейских популяциях существенно выше, чем в восточноазиатских: 23,9% против 6,9%. ОНП внесен в список маркеров. **rs7000766**. Для этого ОНП была выявлена неслучайная передача мутантной аллели G в поколениях обследованных семей, и показана достоверная связь этой мутации со сколиозом. Авторы высказывают гипотезу, что все эти мутации в гене CHD7 влияют на связывание с каудальным гомеобоксным фактором транскрипции, необходимым для предшествующих/последующих позиционных сигналов и соответствующего эмбрионального осевого развития в модельных организмах. Как и для предыдущих ОНП в этом гене, наибольшая частота мутантной аллели G – 23,4% выявлена в европейской популяции, а наименьшая – 6,5% в азиатской. Локус внесен в список маркеров.

Район третьей хромосомы 3p26.3 возле генов CHL1 и LOC642891. Еще одна группа ученых из Техасского Университета [20] в трех репликативных исследованиях изучили 419 семей, в которых встречались случаи заболевания сколиозом, и выявили несколько ОНП в непосредственной близости от генов CHL1 и LOC642891. Для этих ОНП была показана достоверная связь с проявлениями сколиозов у носителей мутантных аллелей в полиморфных локусах **rs10510181**, **rs1400180**, **rs9754850** и **rs9754552**. Согласно базе данных проекта «1000 геномов» средняя частота мутантной аллели А полиморфного локуса rs10510181 в европейской популяции составляет 34,3%, в азиатской –

50,9%, а средняя частота мутантной аллели G полиморфного локуса rs1400180 в европейской популяции составляет 42%, и в азиатской – 52,2%. Средняя частота мутантной аллели С локуса rs9754850 в европейских популяциях составляет 52,9%, в азиатских популяциях – 5,3%, средняя частота мутантной аллели G локуса rs9754552 в европейских популяциях составляет 52,8%, а в азиатских популяциях – 5,4%. В общей выборке североамериканских семей разница в частотах встречаемости мутантных аллелей этих локусов между контрольной группой и группой с диагностированным сколиозом, хотя и не большая, но статистически достоверная. Когда же в анализе оставили только семьи европейского происхождения, эта разница выросла. Все четыре полиморфных локуса включены в список маркеров предрасположенности к сколиозу.

Ген GPR126 (G protein-coupled receptor 126): японская исследовательская группа [8] выявила полиморфный локус **rs6570507** в интроне гена, про который известно, что его «выключение» вызывает задержку оссификации при развитии позвоночника, по крайней мере, у рыбок данио. Мутации в этом локусе статистически чаще встречаются в Японии у больных сколиозом, чем в контрольных выборках. Ассоциация аллели G с проявлениями сколиоза была также найдена в китайской [23] и европейской выборках. По данным проекта «1000 геномов» частота этой аллели в европейских популяциях в среднем составляет 68,2%, а в азиатских – 59,9%. Учитывая высокую частоту встречаемости этой аллели среди азиатов и европейцев, локус rs6570507 был включен в список маркеров предрасположенности к сколиозу. Группа ученых из Китая [23] провела молекулярно-генетический анализ большой выборки пациентов с диагностированным сколиозом, и выявила, что два полиморфных локуса rs7774095 и rs7755109, расположенных в интронах гена GPR126, статистически достоверно связаны с проявлениями сколиоза у носителей мутантных аллелей С и G, соответственно, этих локусов. Средняя частота встречаемости аллели С в европейских популяциях – 68,1%, в азиатских – 61,1%, а аллели G – 32,2% у европейцев, и 39,6% у азиатов. Авторы не обнаружили фактов влияния интронных полиморфных локусов в гене GPR126 на альтернативный сплайсинг его матричной РНК, однако, выявили строгую связь мутантной аллели G локуса rs7755109 с пониженными уровнями матричной РНК и белка. ОНП rs7774095 и rs7755109 были внесены в список маркеров, ассоциированных с развитием сколиоза.

Ген MTNR1B (Melatonin Receptor 1B). Исследователи из Гонконга [16] провели двухстадийное исследование репрезентативных выборок с целью поиска полиморфных локусов в гене MTNR1B, и обнаружили в его промоторной зоне ОНП **rs4753426**, чья аллель С достоверно связана с проявлениями сколиоза у носителей этой аллели. Другой полиморфный локус **rs741837**, находящийся рядом с промотором, также достоверно связан с проявлениями сколиоза. Аллель Т этого локуса чаще встречается в группе пациентов. Средняя частота аллели С локуса rs4753426 у европейцев равна 50,2%, у азиатов – 71%, частота аллели Т локуса rs741837 у европейцев равна 42,3%, у азиатов – 43%. Оба локуса были включены в список молекулярных маркеров сколиоза.

Ген NTF3 (Neurotrophin-3). Достоверная выборка китайских пациентов с диагностированным сколиозом и соответствующая контрольная группа были исследованы коллективом авторов [17], которые обнаружили в промоторном регионе гена NTF3 полиморфный локус **rs11063714**, который не был связан с появлением сколиоза, как такового, однако, у пациентов с генотипом АА средние значения максимального угла Кобба были ниже, чем у пациентов с генотипами АG и GG. Кроме того, пациенты с генотипом АА значительно лучше отзывались на корсетотерапию, чем пациенты с генотипом GG. Согласно базе данных «1000 геномов», частота аллели А в европейской популяции равна 1,4%, а в азиатской – 47,2%. Полиморфизм rs11063714 включен в список молекулярных маркеров.

Ген TIMP2 (Tissue inhibitor of metalloproteinase 2). Группа китайских исследователей [7] разделила пациенток с идиопатическим сколиозом на 2 группы по типу искривления позвоночника и проделала молекулярный анализ зоны промотора гена TIMP2 у этих пациенток и соответствующей группы контроля, и выявила, что полиморфный локус **rs8179090** из промоторной зоны гена TIMP2 не связан с возникновением идиопатического сколиоза, как такового, однако связан с тяжестью искривления грудного отдела позвоночника. Частота аллели С была значительно выше в группе пациенток, у которых угол искривления грудного отдела позвоночника (угол Кобба) был 40° и больше, чем в группе пациенток с углом Кобба меньше 40°. Хотя, в европейской популяции частота аллели С равна всего 0,5%, то в азиатской популяции она равна 15,1%. В Сибирском регионе проживает значительная часть представителей народов Центральной и Восточной

Азии, поэтому молекулярный маркер тяжести протекания сколиоза rs8179090 был включен в список маркеров для размещения на ДНК-микрочипе.

Ген IL-17RC (interleukin-17 receptor C). Группа китайских ученых [29] на выборке из 529 девочек с диагностированным сколиозом показала статистически достоверную связь G аллели полиморфного локуса **rs708567**, находящегося в интроне гена IL-17RC с проявлениями сколиоза. Кроме того, они показали, что частота аллели G и генотипа GG выше в той группе пациентов, у которых средний максимум угла Кобба выше. Сходные результаты были получены на группе европейских пациентов [5]. Нужно отметить, что средняя частота аллели G в популяциях юго-восточной Азии равна 90,7%, и в этом случае резоннее было бы говорить об ослабляющем эффекте аллели А, поскольку его частота в контрольной группе выше, чем у пациентов. В европейских популяциях средняя частота аллели G составляет 45,6%, и повышенная по сравнению с контролем частота этой аллели в группе пациентов, возможно, указывает на связь локуса rs708567 с возникновением и протеканием сколиоза. Этот полиморфный локус был внесен в список маркеров (на данном исследовательском периоде).

Ген TGFBI (Transforming growth factor beta 1). Коллектив российских ученых [19] на выборке в 300 пациентов с идиопатическим сколиозом из центральной России выявил связь полиморфного локуса **rs1800469** из промотора гена TGFBI (трансформирующий ростовой фактор бета 1) с возникновением и проявлением болезни. Наличие в геноме аллели Т или генотипа ТТ значительно увеличивает риск возникновения сколиоза, как у мальчиков, так и у девочек. Однако, в проявлении болезни, степени искривления позвоночника, выявлен половой диморфизм – у девочек наличие аллели Т приводит к более раннему появлению болезни и более тяжелому ее протеканию, чем у мальчиков. Группа китайских авторов [25] на большой выборке пациентов не нашла значимой разницы в частоте аллели Т у них и в контрольной группе. Однако, у пациентов с генотипом ТТ искривление позвоночника (угол Кобба) было значительно сильнее, чем у пациентов с генотипом СТ и СС. Среднепопуляционная частота аллели Т в Европе составляет 31,2%, а в юго-восточной Азии 54,7%. Возможно, эта разница и обуславливает различие в результатах, полученных на выборках из России и Китая. Полиморфный локус rs1800469 был включен в список маркеров возникновения и протекания идиопатического сколиоза.

Ген MATN1-AS1 (Matrilin 1 antisense RNA 1). Китайские ученые из Нанкинского университета [4] проанализировали геномы 419 пациентов, и обнаружили, что аллель G однонуклеотидного полиморфного локуса **rs1149048**, расположенного в промоторе гена матрилин-1, достоверно чаще встречается при диагностированном сколиозе, чем в контрольной группе. Индивидуумы с генотипом GG имеют более высокий риск возникновения сколиоза, чем с генотипами AG и AA. Кроме того, у пациентов с генотипом GG средний максимум угла Кобба был выше, чем у пациентов с генотипами AG и AA. Другая группа китайских ученых [27] провела мета-анализ результатов исследований геномов у пациентов с идиопатическим сколиозом, и сделала заключение, что аллель G полиморфного локуса rs1149048, и генотип GG статистически достоверно ассоциирован с риском развития сколиоза, особенно в азиатских популяциях. В европейских популяциях они такой связи не выявили. По данным «1000 геномов», средняя частота G аллели в восточноазиатских популяциях составляет 60,3%, а в европейских – 46,8%. Мы включили ОНП rs1149048 в список маркеров предрасположенности к сколиозу.

Ген MMP3 (matrix metalloproteinase-3). Итальянские исследователи [3] обнаружили, что генотип 5A/5A полиморфного локуса **rs3025058**, расположенного в промоторной зоне гена MMP3, почти в три раза чаще (30,2% против 11,2%) встречается у пациентов с идиопатическим сколиозом, чем в контрольной группе. Болгарские [15] и китайские [11] ученые такой связи не выявили. Частоты аллели 5A локуса rs3025058 в некоторых европейских популяциях мы нашли в базе данных «Alfred» (<https://alfred.med.yale.edu/>), и там для французской выборки указана частота этой аллели в 51,7%, а для испанской выборки – 47,6%, что значительно выше этого показателя для китайской популяции, указанного в той же базе, и равного 9,9%. Несмотря на такие расхождения в результатах исследований, полиморфный локус rs3025058 был внесен в список маркеров предрасположенности к сколиозу (на данном исследовательском этапе).

Ген IL-6 (Interleukin 6). Упомянутая выше болгарская группа [15] выявила статистически достоверную связь между полиморфным локусом **rs1800795** в промоторе гена IL-6 и предрасположенностью к сколиозу. Кроме этого, они обнаружили значимую ассоциацию этого локуса со степенью искривления позвоночника у носителей мутантной аллели G. Так же, упомянутая выше команда итальянских ученых [3] об-

наружила, что число носителей генотипа GG по локусу rs1800795 в группе пациентов с диагностированным сколиозом почти в 2 раза выше, чем в контрольной группе. Что касается исследования на китайской популяции [11], то в этом локусе полиморфизм отсутствовал, 100% участников из группы пациентов и группы контроля были носителями генотипа GG. Частота аллели G в европейской популяции составляет 58,5%, а в азиатской популяции 99,9%. Локус rs1800795 включен в список маркеров предрасположенности к сколиозу. Группа из Южной Кореи [9] на выборке девочек с идиопатическим сколиозом показала, что полиморфный локус **rs1800796** в промоторе гена IL-6 связан с минеральной плотностью костной ткани в поясничном отделе позвоночника. Этот полиморфизм обозначается, как -572G>C, то есть, в минус 572 позиции от старт-кодона гуанин заменяется на цитозин. Таким образом, аллель C является мутантной, но результаты этого исследования показали, что минеральная плотность кости в поясничном отделе у носителей генотипа CC выше, чем у носителей генотипов CG и GG. Китайские ученые [14] провели мета-анализ 13 источников, в которых исследовалась связь полиморфного локуса с минеральной плотностью костей, и подтвердили, что rs1800796 ассоциирован с минеральной плотностью дистальной отдела лучевой кости у восточных азиатов. Частота аллели C в азиатских популяциях равна 79,1%, а в европейских – 4,8%. Хотя, прямой связи этого локуса с предрасположенностью к сколиозу не показано, мы внесли его в список маркеров, по крайней мере, на исследовательский период.

Ген LAPTM4B (Lysosomal-associated transmembrane protein 4B): Группа южнокорейских авторов [13] изучали связь некоторых однонуклеотидных полиморфных локусов с предрасположенностью к сколиозу и тяжестью протекания заболевания. Они обнаружили, что аллель A полиморфного локуса **rs2449539**, расположенного в одном из интронов гена LAPTM4B вносит значительный вклад в предрасположенность к подростковому идиопатическому сколиозу, и что частоты генотипов этого локуса, существенно различаются между контрольной группой, группой пациентов с углом Кобба до 40°, и группой с углом Кобба более 40°. При сравнении трех групп в отдельности, AA генотип был наиболее распространенным в группе пациентов с углом Кобба более 40°, и его частота снижалась в группе пациентов с малым углом Кобба, и была самой низкой в контрольной группе. Соответственно, был сделан вывод, что полиморфный ло-

кус rs2449539 в гене LAPTM4B может иметь большое значение для выявления предрасположенности к сколиозу, и предсказания тяжести его протекания. Средняя частота аллели А в азиатских популяциях равна 64,7%, в европейских – 97,3%.

Ген IGF1 (Insulin-like growth factor 1). Эти же авторы обнаружили связь еще одного полиморфного локуса **rs5742612**, расположенного выше гена IGF1 с предрасположенностью к сколиозу и тяжестью протекания заболевания. Они показали, что частота генотипа AA наиболее низка в контрольной группе и повышается в группах с малым и большим углом Кобба, соответственно. Тем не менее, не было никаких существенных различий в частотах аллелей А и G во всех трех группах из Южной Кореи. Аналогичные результаты были получены китайскими учеными [26]. Однако, на выборке из Японии выявить какой либо связи этого полиморфного локуса с проявлением и тяжестью протекания сколиоза не удалось [21]. Средняя частота аллели А в азиатских популяциях равна 70,6%, в европейских – 95,6%. Мы внесли локусы rs2449539 и rs5742612 в список маркеров предрасположенности к сколиозу.

Ген TBX6 (T-box 6). Два полиморфных однонуклеотидных локуса, лежащих в экзоне 8 (**rs2289292**), и в 5'нетранслируемой области (**rs3809624**) гена TBX6 были проанализированы китайскими авторами [6]. Они обнаружили, что независимый анализ этих двух полиморфных локусов не выявил связи какого-либо из них с врожденным сколиозом. Более того, было выявлено, что оба локуса находятся в строгом неравновесном сцеплении в контрольной группе. Однако, глобальный анализ гаплотипов и индивидуальный анализ гаплотипов показал, что гаплотип SNP1/SNP2 имеет существенную связь с заболеванием, С/Т гаплотип чаще наблюдался в контрольной группе, чем у пациентов с врожденным сколиозом. Другими словами, комбинация rs2289292Т/rs3809624С – индикатор высокого риска врожденного сколиоза, комбинация rs2289292С/rs3809624Т – индикатор низкого риска врожденного сколиоза. Хотя выявленный эффект был обнаружен только в выборке из Китая, мы внесли оба полиморфных локуса в список маркеров.

Ген DOT1L (Disruptor of telomeric silencing 1-like). Группа китайских исследователей [12] на выборке из 500 пациентов с диагностированным сколиозом выявила статистически достоверную связь однонуклеотидного полиморфного локуса **rs12459350**, находящегося в интроне гена DOT1L, с предрасположенностью к под-

ростковому идиопатическому сколиозу. Эффект наличия аллели G этого полиморфного локуса заключается в ускоренном росте в подростковом периоде и, как следствие, частом искривлении позвоночника. Связи этой аллели со степенью кривизны позвоночника выявлено не было. Средняя частота аллели G, в азиатских популяциях составляет 44,3%, в европейских – 50,6%. Полиморфный локус rs12459350 внесен в список маркеров предрасположенности к сколиозу.

Таким образом, были проанализированы 30 генетических маркеров, статистически достоверно связанных с проявлениями сколиоза. Для некоторых из этих маркеров показана связь не столько с проявлением самого заболевания, сколько с его прогрессом. Нужно отметить, что практически все эти полиморфные локусы являются в чистом виде маркерами, а не причинами развития идиопатического сколиоза. За исключением rs4753426, rs11063714, rs8179090, rs1800469, rs3025058, rs1800795, rs1800796, rs5742612, полиморфных локусов, находящихся в регуляторных районах генов, а именно, в промоторах, остальные ОНП находятся либо в интронах, либо в межгенных промежутках. Только локус rs2289292 находится в экзоне гена TBX6, но замена нуклеотида в третьем положении не меняет аминокислоту, которую кодирует триплет. Из полиморфных локусов, находящихся в промоторах, только для rs3025058 показано, что его мутантный вариант 6Т снижает экспрессию гена MMP3. Таким образом, все перечисленные ОНП только маркируют заболевание, а вернее, являются признаками возможного риска развития сколиоза у носителей этих признаков.

Частоты встречаемости аллелей этих полиморфных локусов (проект «1000 геномов») достаточно сильно различаются в разных популяциях, что может быть «эффектом основателя» либо следствием отбора против одного из аллельных вариантов. Этот вопрос остается открытым. Однако данные по частотам встречаемости аллелей еще раз показывают, что все перечисленные полиморфные локусы являются маркерами сколиоза, а не его причиной. Например, аллель G в локусе rs1800795, находящемся в промоторе гена IL-6, достоверно чаще встречается в итальянской выборке больных идиопатическим сколиозом, при его частоте в европейской популяции 58,5%, и не показал никакой связи с заболеванием в китайской выборке, поскольку и группа пациентов, и группа контроля имели 100% частоту аллели G, при том, что частота встречаемости сколиоза среди китайцев не выше, чем в других макропопуляциях. Понятно, что

если бы разрабатывалась тест-система для китайской популяции, то этот маркер был бы исключен из списка. При привлечении данных «1000 геномов» в анализ нас интересовала возможность использования этой базы в качестве «контрольной группы» при популяционных исследованиях, поскольку было заявлено, что в выборку проекта попали участники без видимых внешних признаков каких-либо заболеваний, и которые заявили о себе, что они здоровы. Но при анализе данных по частотам аллелей полиморфных локусов, связанных с проявлением сколиоза, стало очевидным, что использовать их в качестве контроля некорректно. Для каждой локальной популяции характерны свои частоты встречаемости аллелей конкретных ОНП, и эти частоты могут сильно отличаться от соседних популяций. Население Сибирского и восточного Федеральных округов Российской Федерации характеризуется неоднородностью своего состава, в первую очередь, из-за различного происхождения популяций, составляющих это население. Наряду с автохтонными народами, в основном восточноазиатского и североазиатского происхождения, такими, как тувинцы, буряты, ханты, якуты, Сибирь населяют многочисленные выходцы славянского происхождения из южной, центральной и северной частей России, активно переселявшиеся сюда в последние 100-150 лет. Кроме этого, в Сибирских регионах длительное время (300 и более лет) проживают достаточно закрытые локальные популяции русских, происходящие от ограниченного числа родоначальников. В последние десятилетия в Сибирь мигрировали значительные количества выходцев из Центральной Азии, Китая, Кавказа и Западных регионов России и Украины. На территории Сибири сложилась своего рода уникальная ситуация из-за смешивания разных рас и народов, и мы можем исследовать результаты этого процесса при помощи разрабатываемого ДНК-микрочипа.

Заключение

В данном исследовании проанализировано 30 генетических маркеров, связанных с проявлениями идиопатического сколиоза, и обосновано включение их в список маркеров тест-системы на основе ДНК-микрочипа для выявления генетической предрасположенности к заболеванию. Данное исследование планируется продолжить и в отношении других потенциальных маркеров.

Список литературы

1. Кузнецов С.Б., Михайловский М.В., Садовой М.А., Корель А.В., Мамонова Е.В. Генетические маркеры идиопатического и врожденного сколиозов и диагноз предрасположенности к заболеванию // Хирургия позвоночника. – 2015 (г. 12). – № 1. – С. 27-35.

2. Atsushi Miyake, Ikuyo Kou, Yohei Takahashi, Todd A. Johnson, Yoji Ogura, Jin Dai, Xusheng Qiu, Atsushi Takahashi, Hua Jiang, Huang Yan, Katsuki Kono, Noriaki Kawakami, Koki Uno, Manabu Ito, Shohei Minami, Haruhisa Yanagida, Hiroshi Taneichi, Naoya Hosono, Taichi Tsuji, Teppei Suzuki, Hideki Sudo, Toshiaki Kotani, Ikuho Yonezawa, Michiaki Kubo, Tatsuhiko Tsunoda, Kota Watanabe, Kazuhiro Chiba, Yoshiaki Toyama, Yong Qiu, Morio Matsumoto, and Shiro Ikegawa. Identification of a Susceptibility Locus for Severe Adolescent Idiopathic Scoliosis on Chromosome 17q24.3. *PLoS One*. 2013; 8(9): e72802. Published online 2013 Sep 4. doi: 10.1371/journal.pone.0072802

3. Aulisa L., Papaleo P., Pola E., Angelini F., Aulisa A.G., Tamburrelli F.C., Pola P., Logroscino C.A. Association between IL-6 and MMP-3 gene polymorphisms and adolescent idiopathic scoliosis: a case-control study. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2007 Nov 15;32(24):2700-2.

4. Chen Z., Tang N.L., Cao X., Qiao D., Yi L., Cheng J.C., Qiu Y. Promoter polymorphism of matrilin-1 gene predisposes to adolescent idiopathic scoliosis in a Chinese population. *Eur J Hum Genet*. 2009 Apr;17(4):525-32. doi: 10.1038/ejhg.2008.203. Epub 2008 Nov 5.

5. Dormans J.P., Grant SFA, Rendon N., Mentch F.D., Kim C.E., Frackelton E.C., Bradfield J.P., Zhang H., Chiavacci R.M., Hakonarson H. A genome wide association study identifies an IL17RC missense mutation (S111 L) as an adolescent idiopathic scoliosis locus. 60th Am Soc Hum Genet Meet. Washington DC: Platform Session 51: Polygenic Traits: GWAS Methods and Results; 2010. p. 99. November 2.

6. Fei Q1., Wu Z., Wang H., Zhou X., Wang N., Ding Y., Wang Y., Qiu G. The association analysis of TBX6 polymorphism with susceptibility to congenital scoliosis in a Chinese Han population. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010 Apr 20;35(9):983-8. doi:10.1097/BRS.0b013e3181bc963c.

7. Jiang J., Qian B., Mao S., Zhao Q., Qiu X., Liu Z., Qiu Y. A promoter polymorphism of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 gene is associated with severity of thoracic adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2012 Jan 1;37(1):41-7. doi: 10.1097/BRS.0b013e31820e71e3.

8. Kou I., Takahashi Y., Johnson T.A., Takahashi A., Guo L., Dai J., Qiu X., Sharma S., Takimoto A., Ogura Y., Jiang H., Yan H., Kono K., Kawakami N., Uno K., Ito M., Minami S., Yanagida H., Taneichi H., Hosono N., Tsuji T., Suzuki T., Sudo H., Kotani T., Yonezawa I., Londono D., Gordon D., Herring J.A., Watanabe K., Chiba K., Kamatani N., Jiang Q., Hiraki Y., Kubo M., Toyama Y., Tsunoda T., Wise C.A., Qiu Y., Shukunami C., Matsumoto M., Ikegawa S. Genetic variants in GPR126 are associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Nat Genet*. 2013 Jun;45(6):676-9. doi: 10.1038/ng.2639. Epub 2013 May 12.

9. Lee J.S., Suh K.T., Eun I.S. Polymorphism in interleukin-6 gene is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Br*. 2010 Aug;92(8):1118-22. doi: 10.1302/0301-620X.92B8.23676.

10. Leilei Xu, Xusheng Qiu, Xu Sun, Saihu Mao, Zhen Liu, Jun Qiao, and Yong Qiu Potential genetic markers predicting the outcome of brace treatment in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J*. 2011 Oct; 20(10): 1757-1764. Published online 2011 Jun 21. doi: 10.1007/s00586-011-1874-7.

11. Liu Z., Tang N.L., Cao X.B., Liu W.J., Qiu X.S., Cheng J.C., Qiu Y. 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 (Phila Pa 1976)*. 2010 Aug 15;35(18):1701-5. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181c6ba13.

12. Mao S., Xu L., Zhu Z., Qian B., Qiao J., Yi L., Qiu Y. Association between genetic determinants of peak height velocity during puberty and predisposition to adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2013 May 20;38(12):1034-9. doi: 10.1097/BRS.0b013e318287fefd.

13. Moon ES1., Kim H.S., Sharma V., Park J.O., Lee H.M., Moon S.H., Chong H.S. Analysis of single nucleotide polymorphism in adolescent idiopathic scoliosis in Korea: for personalized treatment. *Yonsei Med J.* 2013 Mar 1;54(2):500-9. doi: 10.3349/ymj.2013.54.2.500.
14. Ni Y., Li H., Zhang Y., Zhang H., Pan Y., Ma J., Wang L. Association of IL-6 G-174C polymorphism with bone mineral density. *J Bone Miner Metab.* 2014 Mar; 32(2):167-73. doi: 10.1007/s00774-013-0477-2. Epub 2013 Jun 13.
15. Nikolova ST., Yablanski VT., Vlaev E.N., Stokov L.D., Savov A.S., Kremensky I.M., Loukanov A.R. Association Between IL-6 and MMP3 Common Genetic Polymorphisms and Idiopathic Scoliosis in Bulgarian Patients: A Case-control Study. *Spine (Phila Pa 1976).* 2016 May;41(9):785-91. doi: 10.1097/BRS.0000000000001360.
16. Qiu X.S., Tang N.L., Yeung H.Y., Lee K.M., Hung V.W., Ng B.K., Ma S.L., Kwok R.H., Qin L., Qiu Y., Cheng J.C. Melatonin receptor 1B (MTNR1B) gene polymorphism is associated with the occurrence of adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2007 Jul 15;32(16):1748-53.
17. Qiu Y., Mao S.H., Qian B.P., Jiang J., Qiu X.S., Zhao Q., Liu Z. A promoter polymorphism of neurotrophin 3 gene is associated with curve severity and bracing effectiveness in adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2012 Jan 15;37(2):127-33. doi: 10.1097/BRS.0b013e31823e5890.
18. Rakesh Chettier, Lesa Nelson, James W. Oglivie, Hans M. Albertsen, and Kenneth Ward Haplotypes at *LBX1* Have Distinct Inheritance Patterns with Opposite Effects in Adolescent Idiopathic Scoliosis. *PLoS One.* 2015; 10(2): e0117708. Published online 2015 Feb 12. doi: 10.1371/journal.pone.0117708.
19. Ryzhkov I.I., Borzilov E.E., Churnosov M.I., Ataman A.V., Dedkov A.A., Polonikov A.V. Transforming growth factor beta 1 is novel susceptibility gene for adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2013 May 20;38(12):E699-704. doi: 10.1097/BRS.0b013e31828de9e1.
20. Swarkar Sharma, Xiaochong Gao, Douglas Londono, Shonn E. Devroy, Kristen N. Mauldin, Jessica T. Frankel, January M. Brandon, Dongping Zhang, Quan-Zhen Li, Matthew B. Dobbs, Christina A. Gurnett, Struan F.A. Grant, Hakon Hakonarson, John P. Dormans, John A. Herring, Derek Gordon and Carol A. Wise. Genome-wide association studies of adolescent idiopathic scoliosis suggest candidate susceptibility genes. *Human Molecular Genetics, Volume 20, Issue 7, Pp. 1456-1466,* doi: 10.1093/hmg/ddq571
21. Takahashi Y., Matsumoto M., Karasugi T., Watanabe K., Chiba K., Kawakami N., Tsuji T., Uno K., Suzuki T., Ito M., Sudo H., Minami S., Kotani T., Kono K., Yanagida H., Taneichi H., Takahashi A., Toyama Y., Ikegawa S. Lack of association between adolescent idiopathic scoliosis and previously reported single nucleotide polymorphisms in *MATN1*, *MTNR1B*, *TPH1*, and *IGF1* in a Japanese population. *J Orthop Res.* 2011 Jul;29(7):1055-8. doi: 10.1002/jor.21347. Epub 2011 Feb 9.
22. Xiaochong Gao, Derek Gordon, Dongping Zhang, Richard Browne, Cynthia Helms, Joseph Gillum, Samuel Weber, Shonn Devroy, Saralove Swaney, Matthew Dobbs, Jose Morcuende, Val Sheffield, Michael Lovett, Anne Bowcock, John Herring, and Carol Wise *CHD7* Gene Polymorphisms Are Associated with Susceptibility to Idiopathic Scoliosis *Am J Hum Genet.* 2007 May; 80(5): 957-965. Published online 2007 Mar 12. doi: 10.1086/513571
23. Xu J.F., Yang G.H., Pan X.H., Zhang S.J., Zhao C., Qiu B.S., Gu H.F., Hong J.F., Cao L., Chen Y., Xia B., Bi Q., Wang Y.P. Association of GPR126 gene polymorphism with adolescent idiopathic scoliosis in Chinese populations. *Genomics.* 2015 Feb;105(2):101-7. doi: 10.1016/j.ygeno.2014.11.009. Epub 2014 Dec 2.
24. Xu L., Qiu X., Sun X., Mao S., Liu Z., Qiao J., Qiu Y. Potential genetic markers predicting the outcome of brace treatment in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J.* 2011;20:1757-1764.
25. Xu L., Sun W., Qin X., Qiu Y., Zhu Z. The *TGFB1* gene is associated with curve severity but not with the development of adolescent idiopathic scoliosis: a replication study in the Chinese population. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016 Jan 13;17:15. doi: 10.1186/s12891-016-0863-8.
26. Yeung HY1, Tang N.L., Lee K.M., Ng B.K., Hung V.W., Kwok R., Guo X., Qin L., Cheng J.C. 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.
27. Zhang H., Zhao S., Zhao Z., Tang L., Guo Q., Liu S., Chen L. The association of rs1149048 polymorphism in *matri-lin-1 (MATN1)* gene with adolescent idiopathic scoliosis susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2014;41(4):2543-9. doi: 10.1007/s11033-014-3112-y. Epub 2014 Jan 28.
28. Zhao D., Qiu G.X., Wang Y.P., Zhang J.G., Shen J.X., Wu Z.H. Association between adolescent idiopathic scoliosis with double curve and polymorphisms of *calmodulin1 gene/estrogen receptor- α* gene. *Orthop Surg.* 2009 Aug;1(3):222-30. doi: 10.1111/j.1757-7861.2009.00038.x.
29. Zhou S., Qiu X.S., Zhu Z.Z., Wu W.F., Liu Z., Qiu Y. A single-nucleotide polymorphism rs708567 in the *IL-17RC* gene is associated with a susceptibility to and the curve severity of adolescent idiopathic scoliosis in a Chinese Han population: a case-control study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012 Sep 21;13:181. doi: 10.1186/1471-2474-13-181.