

## **Wstęp**

Skolioza idiopatyczna (SI) jest deformacją kręgosłupa, która pojawia u osób zdrowych bez uchwytnej przyczyny, w okresie szybkiego wzrostu. Dotyczy 2-3% populacji młodzieńczej. U pacjentów nie występują zmiany wrodzone kręgow, zaburzenia nerwowo-mięśniowe, ani inne choroby. SI charakteryzuje się różnorodnością przebiegu dotyczącego: wielkości, liczby i lokalizacji skrzywień. SI przebiega w dwóch zasadniczo różnych formach: (1) stabilnej, niewymagającej leczenia oraz (2) progresywnej, skutkującej rozwojem dużych zniekształceń upośledzających funkcję organizmu i prowadzących do skrócenia czasu życia oraz obniżenia jego jakości. Różnicowanie między formami SI nie może być w pewny sposób przeprowadzone na gruncie obecnie stosowanych badań. SI znacznie częściej pogarszają się u dziewcząt niż u chłopców; dysproporcja zwiększa się ze wzrostem wielkości skrzywienia i dla kąta powyżej 30° wynosi 7:1. Z dotychczasowej wiedzy wynika, że czynniki związane z dojrzewaniem i dymorfizmem płciowym odgrywają istotną rolę w patogenezie SI.

Choroba uwarunkowana jest wieloczynnikowo z podłożem genetycznym i środowiskowym. Opisano wiele genów, których polimorfizmy wykazujących związek z SI. Wśród analizowanych były receptory estrogenowe typu 1 i typu 2 (*ESR1* i *ESR2*). Geny te są odpowiedzialne za regulację ekspresji wielu genów związanych z rozwojem, dojrzewaniem i dymorfizmem płciowym. Pomimo, iż badania dotyczące związku ich polimorfizmów z predyspozycją do SI są niejednoznaczne, mogą mieć funkcję modyfikującą przebieg schorzenia. Innym genem, którego polimorfizmy wykazują związek z SI jest *ladybird homeobox 1 (LBX1)*. Gen został odkryty w badaniu GWAS i potwierdzony w badaniach replikacyjnych. Jest on związany z migracją prekursorów komórek mięśniowych i rozwojem rdzenia kręgowego.

W ostatnim czasie pojawiły się sugestie, że do takich czynników modyfikujących w przypadku SI mogą należeć czynniki epigenetyczne. Czynniki epigenetyczne nie są związane z sekwencją gDNA jednakże wpływają na ekspresję genów. Pomimo opisanych hipotez sugerujących związek czynników epigenetycznych z SI takie badania nie zostały jeszcze przeprowadzone.

## **Cel**

Celem projektu jest analiza wpływu czynników epigenetycznych w postaci globalnej metylacji gDNA oraz lokalnej metylacji wysp CpG genów *ESR1*, *ESR2* oraz *LBX1* na predyspozycję do występowania oraz na postać kliniczną skoliozy idiopatycznej.

## **Metodyka**

Badanie będzie składać się z dwóch części: klinicznej (badanie kliniczne, radiologiczne i pobieranie próbek) i molekularnej (metylacji globalnej DNA oraz metylacji lokalnej i ekspresji genów *ESR1*, *ESR2* oraz *LBX1*). Grupę badaną będą stanowiły pacjentki leczone operacyjnie z powodu SI w Klinice Chorób Kręgosłupa i Ortopedii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Grupę kontrolną stanowić będą kobiety poddane leczeniu operacyjnemu kręgosłupa z powodów innych niż SI. Po uzyskaniu pisemnej zgody, w trakcie operacji, pobrane zostaną próbki krwi obwodowej oraz fragmentów mięśni przykręgosłupowych z obu stron skrzywienia z warstwy głębokiej i powierzchniowej. Następnie z próbek krwi obwodowej zostanie wyizolowane DNA, z próbek mięśni wyizolowane zostanie DNA, RNA. Oceniona zostanie globalna metylacja DNA w próbkach mięśni i krwi a następnie poziom metylacji wysp CpG genów *ESR1*, *ESR2* i *LBX1* za pomocą reakcji pirosekwencjonowania. Oznaczona zostanie ekspresja badanych genów w mięśniach przykręgosłupowych. Analiza ta umożliwi ocenę wpływu metylacji lokalnej na ekspresję genów. Porównanie poziomu globalnej metylacji u pacjentów z SI pomiędzy jej poziomem we krwi a mięśniach przykręgosłupowych oraz różnymi warstwami mięśni przykręgosłupowych, pozwoli określić czy czynniki epigenetyczne mają charakter ogólnoustrojowy (wpływ w trakcie embriogenezy) czy lokalny (wpływ stresu mechanicznego). W dalszym etapie porównana zostanie globalna metylacja w grupie badanej i kontrolnej, oraz w podgrupach różnych form klinicznych SI. Następnie wykonane zostanie ocena różnic w poziomie metylacji wysp CpG badanych genów pomiędzy grupą badaną i grupą kontrolną, jak również pomiędzy podgrupami pacjentów z różną postacią kliniczną skoliozy. Na końcu zostanie zbadany wpływ metylacji na ekspresję badanych genów.

## **Powody podjęcia tematu**

Biorąc pod uwagę częstość występowania SI w populacji, stanowi ona problem zarówno medyczny jak i społeczny. Brak dostatecznej wiedzy na temat podłoża SI i jej przebiegu powoduje, że leczenie jest objawowe (operacje kręgosłupa, gorsety korekcyjne). Bez poszerzenia wiedzy na temat patogenety choroby niemożliwe jest zastosowanie wczesnych interwencji, skutecznych w skoliozach o małych wartościach kątowych. Sprawdzenie przedstawionych hipotez wyjaśni nieanalizowany dotąd problem i znacząco rozszerzy wiedzę dotyczącą etiopatogenezy SI. W przypadku pozytywnego potwierdzenia hipotez nie tylko wzbogaci się wiedza na temat etiologii choroby, ale też szlaku patogenetycznego SI. Powyższe badanie będzie pierwszym analizującym wpływ czynników epigenetycznych w SI.