

Ministério da Saúde
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE TRAUMATOLOGIA E ORTOPEDIA JAMIL HADDAD

Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético

AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE PAX-1 NO DESENVOLVIMENTO DA
ESCOLIOSE IDIOPÁTICA DO ADOLESCENTE

Antonio Eulalio Pedrosa Araujo Junior

Rio de Janeiro
2019

MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE TRAUMATOLOGIA E ORTOPEDIA JAMIL HADDAD

Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético

AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE PAX-1 NO DESENVOLVIMENTO DA
ESCOLIOSE IDIOPÁTICA DO ADOLESCENTE

Antonio Eulalio Pedrosa Araujo Junior

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Jamila Alessandra Perini

Rio de Janeiro
Junho
2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
INTO/BIBLIOTECA SÉRGIO EDUARDO VIANNA

A659a Araújo Junior, Antonio Eulálio Pedrosa.
Avaliação de polimorfismos no gene PAX-1 no desenvolvimento da
escoliose idiopática do adolescente / Antonio Eulálio Pedrosa Araújo
Junior. — 2019.
92f.

Orientadora: Jamila Alessandra Perini Machado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema
Musculoesquelético) — Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia
Jamil Haddad, Rio de Janeiro, 2019.

1. Escoliose idiopática. 2. Lenke 1 e 2. 3. Polimorfismos. 4. PAX-1.
5. Ortopedia. I. Machado, Jamila Alessandra Perini; orient. II. Título.

NLM WE 727

ATA DA COMISSÃO EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS AO SISTEMA
MUSCULOESQUELÉTICO APRESENTADA E DEFENDIDA POR ANTONIO
EULALIO PEDROSA ARAUJO JUNIOR

No décimo nono dia do mês de junho de dois mil e dezenove, às doze horas, reuniu-se no Auditório do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, a Comissão Examinadora da dissertação de Mestrado Profissional apresentada e defendida por Antonio Eulalio Pedrosa Araujo Junior, intitulada “Avaliação dos Polimorfismos no Gene Pax-1 no Desenvolvimento da Escoliose Idiopática do Adolescente”. A Comissão Examinadora foi organizada obedecendo ao disposto no Regulamento do Curso de Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, área de concentração em Morfologia, estando constituída pelos Professores: João Antonio Matheus Guimarães, docente do corpo permanente do Mestrado, sendo designado, conforme o regulamento, Presidente da Banca; Helton Luiz Aparecido Defino da Universidade de São Paulo; Marcello Henrique Nogueira Barbosa da Universidade de São Paulo e Jamila Alessandra Perini Machado como orientadora, sem direito a voto. Após haver o candidato apresentado os resultados de sua dissertação, obedecendo ao prazo regimental, foi dada a palavra aos examinadores para arguição na seguinte ordem: Helton Luiz Aparecido Defino, Marcello Henrique Nogueira Barbosa e João Antonio Matheus Guimarães, tendo o candidato respondido as perguntas formuladas. Logo após reuniu-se a Comissão Examinadora para proceder ao julgamento, tendo decidido... **APROVADO**... o candidato para receber o Grau de **Mestre** em Ciências. Nada mais havendo a tratar, o Presidente da Comissão deu por encerrado os trabalhos e foi lavrada a presente Ata que vai devidamente assinada pelos Examinadores, pela orientadora e pelo aluno.

Rio de Janeiro, 19 de junho de 2019.

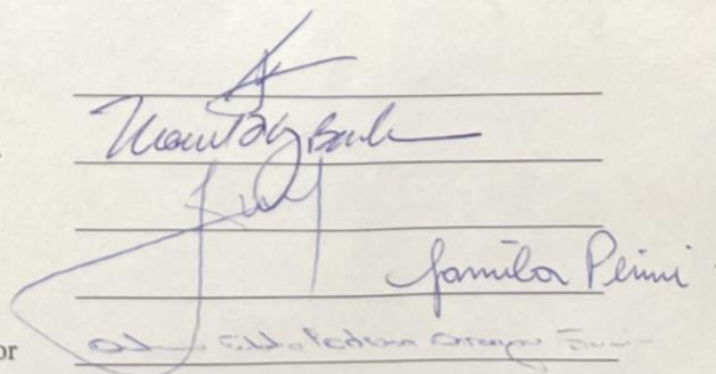
Helton Luiz Aparecido Defino

Marcello Henrique Nogueira Barbosa

João Antonio Matheus Guimarães

Jamila Alessandra Perini Machado

Antonio Eulalio Pedrosa Araujo Junior



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE TRAUMATOLOGIA E ORTOPEDIA JAMIL HADDAD

Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético

AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NO GENE PAX-1 NO DESENVOLVIMENTO DA
ESCOLIOSE IDIOPÁTICA DO ADOLESCENTE

Antonio Eulalio Pedrosa Araujo Junior

Banca examinadora:

Prof. Dr Helton Luiz Aparecido Defino (USP/RP)

Prof. Dr. Marcello Henrique Nogueira-Barbosa (USP/RP)

Prof. Dr. João Antonio Matheus Guimarães (INTO)

Profa. Dra. Maria Eugenia Leite Duarte (Revisora/Suplente)

Rio de Janeiro
Junho
2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus por minha vida. Agradeço meus pais pelo exemplo de diário e minha formação com estímulo aos estudos.

Agradeço a todos os mestres que em minha jornada transmitiram conhecimento de estudos e técnicas para meu aperfeiçoamento. Agradeço ao Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia, pela minha formação em coluna vertebral, sendo em especial aos funcionários do arquivo médico e a assistente social Mariana pelo acolhimento aos pacientes que participaram da pesquisa.

Enfim, quero agradecer todos que lutaram pela construção do curso de mestrado no Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia e aos professores do centro de pesquisa em especial minha orientadora, a Doutora Professora Jamila Perini, pela paciência, esforço durante execução desta tese e pela confiança no meu trabalho durante a execução desta tese de mestrado, sendo incentivado a sempre prosseguir. Menciono também os nomes dos estagiários envolvidos na coleta, Ana Carolina Leocadio de Souza, Andressa Pereira Cabral, Camili Gomes Pereira, Jade Pires do Nascimento e Victor Soares Wainchtock. Não poderia deixar de agradecer a revisora deste trabalho, Dra Maria Eugenia Leite Duarte, por toda a dedicação e colaboração. Meu muito obrigado a todos.

**“Para ser um bom observador é preciso ser
um bom teórico”**

Charles Darwin

RESUMO

ARAUJO-JUNIOR, Antonio Eulalio Pedrosa. Avaliação de polimorfismos no gene *PAX-1* no desenvolvimento da escoliose idiopática do adolescente. Rio de Janeiro, 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas ao Sistema Musculoesquelético) - Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad, Ministério da Saúde, 2019.

A escoliose idiopática do adolescente corresponde a 90% dos casos e pode acometer até 5% da população. A progressão da curva escoliótica depende de diversos fatores como a idade esquelética, o gênero do paciente, a magnitude e do tipo da curva. O papel da herança genética no desenvolvimento e na evolução da escoliose já está bem estabelecido. Alguns genes candidatos associados ao desenvolvimento da escoliose idiopática do adolescente como o gene *PAX-1* já foram associados com o desenvolvimento da doença. *PAX-1* é um gene polimórfico, essencial para o desenvolvimento embrionário do esqueleto pelo seu papel na determinação da segmentação da coluna vertebral. Diversos polimorfismos do gene *PAX-1* foram descritos em associação com a expressão alterada da proteína. O objetivo deste estudo observacional analítico do tipo caso-controle foi avaliar a magnitude de associação de polimorfismos no gene *PAX-1* e o desenvolvimento da escoliose idiopática do adolescente classificadas como Lenke 1 e 2. Participaram do estudo 59 pacientes com escoliose idiopática Lenke 1 e 2, recrutados pelo Centro de Cirurgia da Coluna do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad no período de julho de 2018 a janeiro de 2019. O grupo controle foi constituído por 119 indivíduos, sem doença na coluna vertebral. Os fenótipos da doença foram definidos utilizando a classificação de Lenke. A genotipagem dos polimorfismos do gene *PAX-1* foi realizada pela técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real utilizando o sistema *rhAmp*. O valor médio das medidas do ângulo de Cobb da curva torácica proximal foi 30,8° (14,6° no teste de inclinação); 58,7° para a curva torácica principal (40,7° no teste de inclinação) e 30,4° para a curva lombar (11° no teste de inclinação). Todos os pacientes foram diagnosticados com escoliose Lenke 1 (89,8%) ou Lenke 2 (10,2%). Na análise genotípica foi observada diferença significativa na frequência dos alelos ($p < 0,0001$) e genótipos ($p = 0,009$) do polimorfismo rs169311 e dos alelos do rs6137473 ($p = 0,04$) comparando os pacientes com escoliose com os controles. Ambos os polimorfismos do gene *PAX-1* foram associados com o risco aumentado de desenvolvimento da escoliose (rs6137473: OR=1,6; IC95%=1,01–2,49 e rs169311: OR=1,8; IC95%=1,15–2,81). O polimorfismo rs6137473 foi associado com o fenótipo grave de escoliose Lenke 1 e 2, com modificador lombar B e C comparado ao A (OR=2,29; IC 95% =1,04 – 5,04). Apesar da etiologia da escoliose idiopática ainda permanecer indefinida acreditamos ter contribuído para a definição da sua arquitetura genética ao confirmar a observação de outros estudos em populações com diferentes características ancestrais, da associação entre polimorfismos de *PAX-1* rs6137473 e rs169311 com a maior frequência e a maior gravidade da doença. A utilização desses SNPs como marcadores clínicos para o diagnóstico precoce de escoliose poderá vir a ser implantado no INTO, visando nortear o tratamento clínico e cirúrgico dos pacientes com escoliose idiopática.

Palavras-chave: Escoliose idiopática, Lenke 1 e 2, Polimorfismos, *PAX-1*.

ABSTRACT

ARAUJO-JUNIOR, Antonio Eulalio Pedrosa. Evaluation of polymorphisms in the *PAX-1* gene on the development of adolescent idiopathic scoliosis. Rio de Janeiro, 2019. Master Thesis. (Master's Degree in Applied Sciences to the Musculoskeletal System) - National Institute of Traumatology and Orthopedics Jamil Haddad, Ministry of Health, ano.

Adolescent idiopathic scoliosis accounts for 90% of cases and can affect up to 5% of the population. The progression of the scoliotic curve depends on several factors such as skeletal age, patient's gender, magnitude and type of curve. The role of genetic inheritance in the development and evolution of scoliosis is well established. Some candidate genes associated with the development of adolescent idiopathic scoliosis such as the *PAX-1* gene have already been associated with the development of the disease. *PAX-1* is a polymorphic gene, essential for the embryonic development of the skeleton for its role in determining spinal segmentation. Several *PAX-1* gene polymorphisms have been described in association with altered expression of the protein. The objective of this observational, case-control, analytical study was to evaluate the magnitude of association of polymorphisms in the *PAX-1* gene and the development of idiopathic adolescent scoliosis classified as Lenke 1 and 2. The Center of Column Surgery of the National Institute of Traumatology and Orthopedics Jamil Haddad from July 2018 to January 2019 recruited 59 patients with idiopathic scoliosis classified as Lenke 1 and 2. The control group consisted of 119 individuals, without spine diseases. The disease phenotypes were defined using the Lenke classification. Genotyping of *PAX-1* gene polymorphisms was performed using the real-time polymerase chain reaction technique using the rhAmp system. The mean value of the Cobb angle measurements of the proximal thoracic curve was 30.8° (14.6° in the tilt test); 58.7° for the main thoracic curve (40.7° in the tilt test) and 30.4° for the lumbar curve (11° in the tilt test). All patients were diagnosed with either Lenke 1 (89.8%) or Lenke 2 (10.2%) scoliosis. In the genotype analysis, a significant difference was observed in the frequency of the alleles ($p < 0.0001$) and genotypes ($p = 0.009$) of the rs169311 polymorphism and the alleles of rs6137473 ($p = 0.04$) comparing the patients with scoliosis with the controls. Both *PAX-1* gene polymorphisms were associated with increased risk of developing scoliosis (rs6137473: OR=1.6; 95% CI=1.01-2.49 and rs169311: OR=1.8; 95% CI=1,15-2,81). The rs6137473 polymorphism was associated with the severe phenotype of Lenke 1 and 2 scoliosis, with lumbar modifier B and C compared to A (OR=2.29; 95% CI=1.04 - 5.04). Although the etiology of idiopathic scoliosis remains unknown, we believe that we contributed to the definition of its genetic architecture by confirming the observation of other studies in populations with different ancestry, the association between polymorphisms of *PAX-1* rs6137473 and rs169311 with increased frequency and greater severity of the disease. The use of these SNPs as clinical markers for the early diagnosis of scoliosis may be implemented at INTO, aiming to guide the clinical and surgical treatment of patients with idiopathic scoliosis.

Key words: Idiopathic Scoliosis, Lenke 1 and 2, Polymorphisms, *PAX-1*.

SUMÁRIO

RESUMO.....	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE QUADROS E TABELAS	XII
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE.....	43
3 OBJETIVOS	44
4 METODOLOGIA.....	45
5 RESULTADOS	57
6 DISCUSSÃO.....	74
7 CONCLUSÃO.....	80
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA	81
ANEXO A. APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP/INTO)	89
APÊNDICE A. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	90
APÊNDICE B. INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	91

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AP	Anteroposterior
BAPX1	<i>Bagpipe homeobox homolog 1</i> (ou NK3 homeobox 2)
BMD	<i>Bone mineral density</i> (Índice de densidade mineral óssea)
BNC2	<i>Basonuclin 2</i>
C	Cervical
C7PL	Linha de prumo de C7
CAAE	Certificado de apresentação para apreciação ética
CDH13	<i>Cadherin 13</i>
CSVL	Linha centro sacral vertical
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido Desoxirribonucleico)
DP	Desvio padrão
EV	<i>End vertebra</i> (Vértebra final da curva)
GWAS	<i>Genome-wide association study</i> (Estudo de associação ampla do genoma)
IC	Intervalo de confiança
IMC	Índice de massa corporal
INTO	Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia
L	Lombar
LBX1	<i>Ladybird homeobox 1</i>
LVSC	Linha vertical sacral central
mRNA	RNA mensageiro
mm	Milímetro
MT	Torácia principal
N	Normal
NKX3-1	<i>NK3 homeobox 1</i>
NKX3-2	<i>NK3 homeobox 2</i>
NV	Vértebra neutra
OR	<i>Odds ratio</i> (Razão de chance)
PAX	<i>Paired box</i>
PAX-1	<i>Paired box 1</i>
PAX-9	<i>Paired box 9</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reação em cadeia da polimerase)
PSVL	Linha vertebral sacral posterior
PUMC	<i>Peking Union Medical College</i>
RASO	<i>Relative anterior spinal overgrowth</i> (Supercrescimento espinhal anterior relativo)
S	Sacral
Shh	<i>Sonic hedgehog signaling molecule</i>
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> (Polimorfismo de nucleotídeo único)
SRS	<i>Scoliosis Research Society</i> (Sociedade de Pesquisa em Escoliose)
SV	Vértebra estável
SVA	Eixo vertical sagital
T	Torácica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TL/L	Tóraco-lombar/lombar
TP	Torácica proximal
χ^2	Teste Qui-quadrado de Pearson

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vértebra da coluna vertebral em um corte sagital e em um corte axial..	13
Figura 2 - Anatomia e curvas fisiológicas da coluna vertebral..	14
Figura 3 - Peças anatômicas de coluna com escoliose.	16
Figura 4 - Exemplo de paciente com escoliose..	18
Figura 5 - Radiografia panorâmica de coluna vertebral em anteroposterior e em ortostatismo para definição do ângulo de Cobb.	19
Figura 6 - Radiografia panorâmica anteroposterior de paciente com escoliose.	21
Figura 7 - Método de Nash-Moe para medir a rotação vertebral.	22
Figura 8 - Método de Risser para avaliação da maturidade esquelética.	23
Figura 9 – Avaliação da maturidade esquelética em radiografia do quadril em anteroposterior.	24
Figura 10 – Parâmetros para a medida do equilíbrio coronal.	25
Figura 11 - Técnica de identificação do centro vertebral ou discal.	26
Figura 12 – Vértebra referencial da curva escoliótica..	27
Figura 13 - Radiografia panorâmica de coluna vertebral em anteroposterior para avaliação do ângulo da última vértebra..	28
Figura 14 - Classificação de King utilizada para selecionar a área de artrodese.	29
Figura 15 - Diagrama da classificação de Lenke para escoliose.	30
Figura 16 - Cascata multifatorial sobre a etiopatogenia da escoliose idiopática..	33
Figura 17 - Modelo para as vias regulatórias envolvidas na diferenciação do esclerótomo.	38
Figura 18 - Polimorfismo de um único nucleotídeo.	40
Figura 19 – Parâmetros radiográficos da classificação de Lenke para a escoliose idiopática.	46
Figura 20 – Teste de flexibilidade da curvas escolióticas.	47
Figura 21 - Avaliação da maturidade esquelética pelo método de Risser.	48
Figura 22 – Avaliação do ápice da curva torácica e do grau de rotação.	49
Figura 23 - Avaliação da maturidade esquelética pelo método de Risser.	50
Figura 24 - Magnificação da região lombar da radiografia panorâmica de coluna.	51
Figura 25 - Método de avaliação do modificador lombar pelo critério de Lenke.	52
Figura 26 - Radiografia panorâmica de coluna vertebral em perfil para avaliação dos parâmetros sagitais.	53
Figura 27 - Representação esquemática da metodologia rhAmp® para genotipagem de polimorfismos.	54

Figura 28 - Determinação dos diferentes genótipos dos polimorfismos do gene <i>PAX-1</i> utilizando a técnica de genotipagem por PCR em tempo real.	55
Figura 29 - Fluxograma de recrutamento do estudo.....	57
Figura 30 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a curva torácica principal (extensão).....	60
Figura 31 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a maturidade esquelética definida pelo método de Risser.....	62
Figura 32 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra do ápice da curva lombar.....	62
Figura 33 - Distribuição dos 59 pacientes segundo o grau de rotação da vértebra apical torácica.....	63
Figura 34 - Distribuição dos 59 pacientes segundo o grau de rotação da vértebra apical da curva lombar compensatória.....	63
Figura 35 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra do ápice da curva torácica principal.....	64
Figura 36 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra neutra.....	65
Figura 37- Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra final da curva utilizada para medir o ângulo de Cobb.	66
Figura 38 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra sagital estável.....	66
Figura 39 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a classificação final da escoliose.....	68
Figura 40 - Distribuição da frequência dos genótipos e alelos dos polimorfismos do gene <i>PAX-1</i> nos casos de escoliose (n = 59) e no grupo controle (n = 119).	69

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 - Características das escolioses idiopáticas e não idiopáticas.....	17
Tabela 2 - Demografia dos participantes do estudo (n = 178).....	59
Tabela 3 – Distribuição dos 59 pacientes segundo os ângulos das curvas torácica proximal, torácica principal e lombar e os respectivos ângulos de inclinação.	61
Tabela 4 - Dados radiográficos coronais adicionais dos casos de escoliose idiopática.....	64
Tabela 5 - Parâmetros da radiografia em perfil para avaliação de cifose segmentar, global e lordose.....	67
Tabela 6 - Análise de associação dos polimorfismos do gene PAX-1 com o desenvolvimento da escoliose (n = 178).	70
Tabela 7 - Análise de associação dos polimorfismos do gene PAX-1 com a gravidade da escoliose Lenke 1 e 2, considerando o modificador lombar (n = 59).	71
Tabela 8 - Distribuição dos polimorfismos do gene PAX-1 de acordo com a gravidade da escoliose Lenke 1 e 2, considerando a gravidade da cifose torácica (n = 58).	72
Tabela 9 - Distribuição dos polimorfismos do gene PAX-1 de acordo com a gravidade da escoliose Lenke 1 e 2, considerando o ângulo da curva toracolombar (n = 59).	73

1.1 Anatomia da coluna vertebral

A coluna vertebral faz parte do esqueleto axial, correspondendo ao conjunto de sete vértebras cervicais, doze torácicas, cinco lombares e cinco vértebras sacrais. Uma vértebra típica é composta por um corpo vertebral, dois processos transversos, dois pedículos e duas lâminas, sendo que estas estruturas ósseas formam o canal vertebral, que protege a medula espinhal e seus nervos. Além disso, as vértebras apresentam um processo espinhoso, que corresponde a porção óssea mais proeminente da coluna. As vértebras típicas possuem dois pares de processos articulares superiores e dois pares de processos articulares inferiores, que permitem a mobilidade segmentar da coluna vertebral (**Figura 1**). O disco intervertebral é uma estrutura cartilágnea, que une os corpos vertebrais adjacentes a partir de C2, que tem como função amortecer as cargas axiais (CRAMER, 2017).

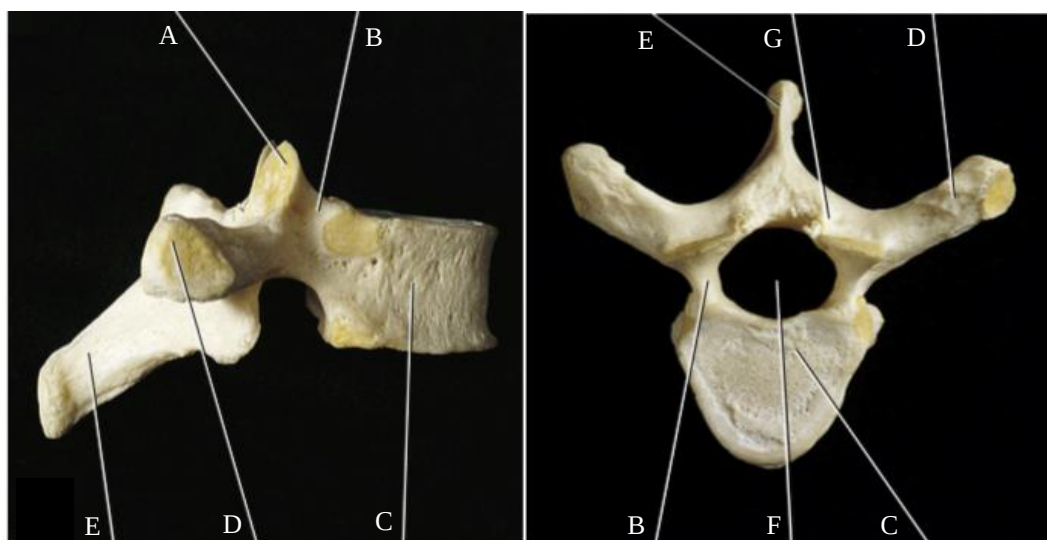


Figura 1 - Vértebra da coluna vertebral em um corte sagital (figura da esquerda) e em um corte axial (figura à direita). As estruturas indicadas na vértebra são: processos articulares superiores (A), pedículo vertebral (B), corpo vertebral (C), processo transvers (D), processo espinhoso (E), canal vertebral (F) e lâmina (G) (Adaptado de CRAMER, 2017).

No plano sagital, em condição fisiológica, a coluna vertebral apresenta duas curvas primárias, que estão presentes desde o período fetal. Estas duas curvas são a cifose torácica e a cifose sacral, assim como as curvas secundárias que se desenvolvem conforme a criança adquire a posição ereta, que constituem as curvas da lordose cervical e lombar (**Figura 2**). A harmonia entre estas curvas no plano sagital permite o alinhamento vertical fisiológico entre a cabeça, o tronco e a pelve, sendo fundamental para o funcionamento biomecânico da coluna vertebral. No eixo coronal da coluna vertebral não existe nenhuma curva fisiológica e, qualquer desvio neste plano, constitui a base anatômica da escoliose (CRAMER, 2017).

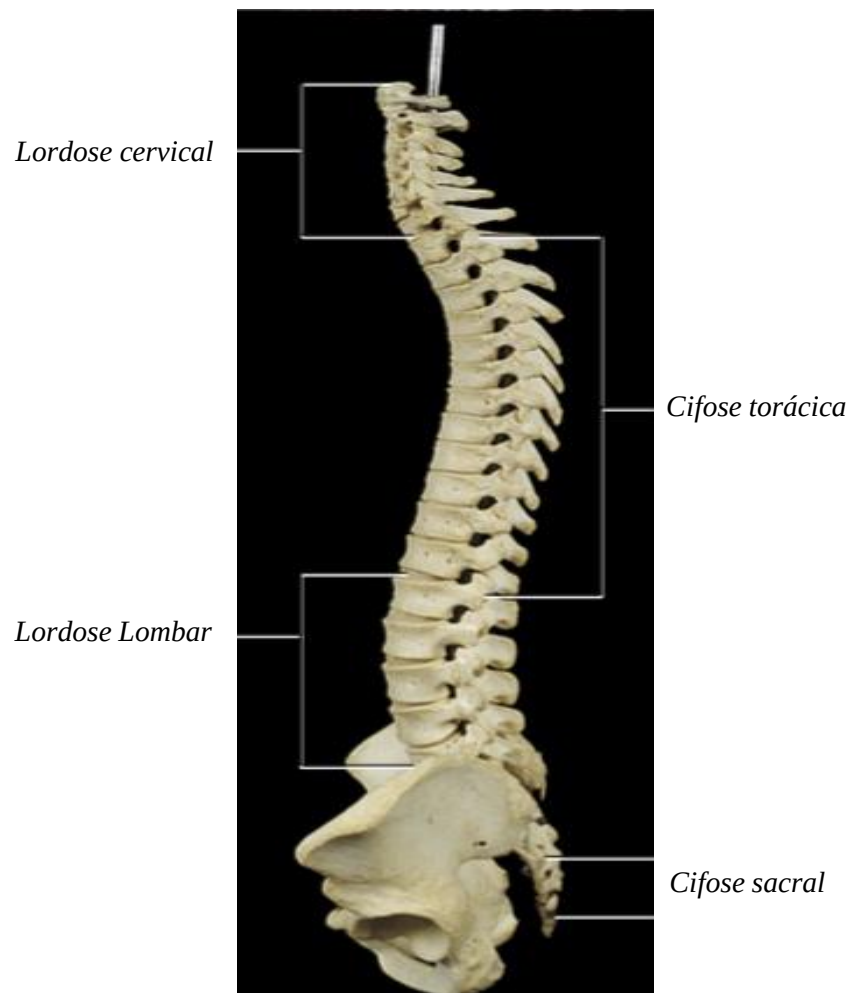


Figura 2 - Anatomia e curvas fisiológicas da coluna vertebral. Indicação das curvas: cifose torácica, lordose lombar e cifose sacral (Adaptado de CRAMER, 2017).

1.2 Escoliose: histórico e fisiopatologia

As curvas fisiológicas e o termo escoliose são originários da língua grega, inicialmente descritos na Grécia antiga. Em seu tratado, Hipócrates, considerado o pai da deformidade da coluna, classificou em cinco grupos as patologias da coluna, utilizando a palavra escoliose para descrever todos os tipos de deformidade da coluna, incluindo a forma traumática com luxação. A descrição da deformidade da escoliose, nos termos contemporâneos da patologia, foi descrita por seu discípulo Galeno. Além disso, ambos os médicos gregos desenvolveram métodos de tratamento conservador da escoliose (VASILIADIS et al., 2009).

A escoliose pode ser classificada como não estrutural (secundária) ou estrutural (primária). A escoliose estrutural é uma deformidade tridimensional da coluna vertebral, incluindo o plano coronal, plano sagital e axial, sendo que a aparência clínica se deve a curva lateral no plano coronal e a giba costal formada pela rotação axial das costelas. A escoliose classificada não estrutural é uma curva secundária à uma discrepância de comprimento de membros, inclinação pélvica ou antálgica (EL-HAWARY e CHUKWUNYERENWA, 2014).

As estruturas anatômicas vertebrais são modificadas na coluna vertebral com a escoliose e as alterações são associadas ao grau de deformidade, sendo mais observada na vértebra apical (**Figura 3**). O corpo vertebral sofre rotação no plano axial em direção à convexidade da curva e o processo transversal roda para o lado concavidade. O corpo vertebral adquire forma de cunha, sendo a altura do corpo menor na concavidade e maior na convexidade. O canal vertebral também fica distorcido na escoliose, acompanhando um pedículo curto mais fino no lado da concavidade. Estas alterações da anatomia resultam do crescimento assimétrico da coluna vertebral (LILJENQVIST et al., 2000; HERRING, 2013).

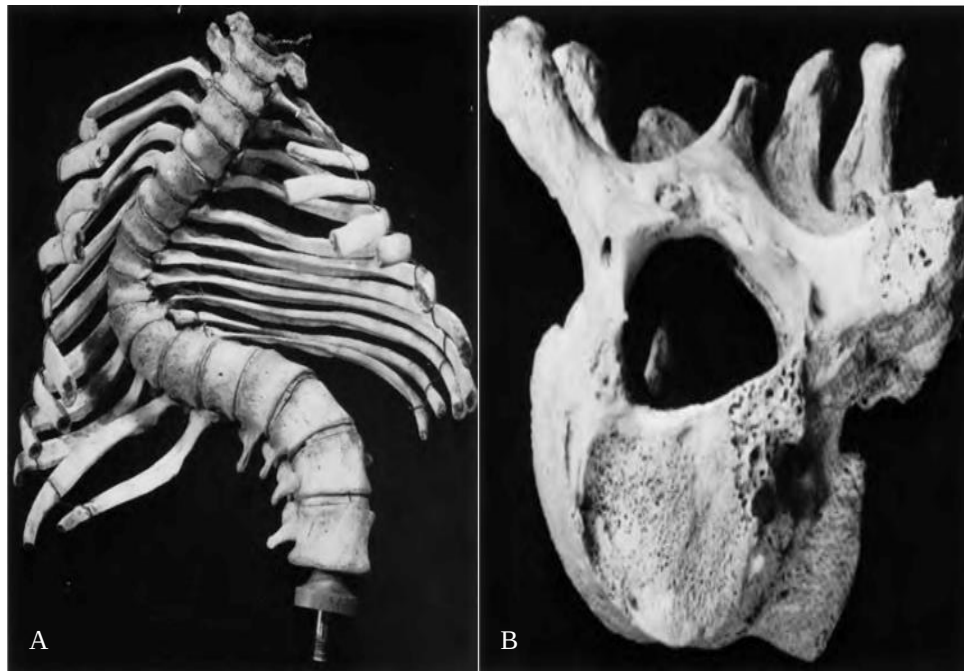


Figura 3 - Peças anatômicas de coluna com escoliose. (A) Escoliose torácica grave a direita, com alterações do corpo vertebral (forma trapezoidal) e rotação tridimensional. (B) Corte axial da vértebra com pedículo mais fino e mais curto do lado côncavo da curva (Adaptado de HERRING, 2013).

Constituem os dois maiores grupos de escoliose as formas idiopáticas, consideradas como diagnóstico de exclusão e as formas não idiopáticas, como a escoliose congênita, que tem como causa uma malformação da vértebra no período embrionário; as escolioses síndrômicas, relacionadas com doenças do tecido conectivo, como a síndrome de Marfan; e as escolioses neuromusculares, causadas por desequilíbrio muscular paravertebral secundário à doenças como paralisia cerebral, poliomielite e atrofia muscular espinhal. As características das escolioses idiopáticas e não idiopáticas estão descritas na **Tabela 1** (EL-HAWARY e CHUKWUNYERENWA, 2014). A escoliose idiopática também é classificada pela idade do surgimento, sendo o tipo infantil originado entre 0 a 3 anos, o juvenil de 3 a 10 anos e o tipo adolescente de 11 a 18 anos e do adulto a partir de 18 anos (NEGRINI et al., 2018).

Tabela 1 - Características das escolioses idiopáticas e não idiopáticas.

Idiopáticas	Não idiopáticas
Infantil (0-3 anos)	Neuromuscular (neuropáticas e miopáticas)
Juvenil (4-10 anos)	Mesenquimais (Síndrome de Marfan, Mucopolissacaridoses)
Adolescente (11-18 anos)	Congênita (Defeito de formação ou de segmentação e mista)
Adulto (mais 18 anos)	Miscelânea (Neurofibromatose, Tecido conectivo, Osteocondrodistrofias, Metabólico)

Adaptado de EL-HAWARY e CHUKWUNYERENWA (2014).

1.3 Epidemiologia da escoliose idiopática

Atualmente, o termo escoliose idiopática, segundo a Sociedade de Pesquisa em Escoliose (*Scoliosis Research Society* - SRS), é definido para as curvas laterais sem etiologia conhecida cuja medida determinada pelo método de Cobb em radiografias panorâmicas simples de coluna vertebral em anteroposterior (AP) em ortostatismo for superior a 10° (NEGRINI et al., 2018). Utilizando como critério o método de Cobb, a prevalência da escoliose apresentou variação entre 0,5 a 5,2% e foi mais frequente no gênero feminino (1,4- 2:1 homem) (KONIECZNY et al., 2013). Nas curvas com valor superior a 40° pelo método de Cobb a prevalência da escoliose diminui para 0,1% mas permanece prevalente no gênero feminino (7,2:1 homem) (ROGALA et al., 1978; KONIECZNY et al., 2013).

Considerando as escolioses idiopáticas, o tipo infantil apresenta uma prevalência de 1%, e a juvenil varia entre 10 a 15%. A forma idiopática do adolescente é o tipo mais comum, responsável por 90% dos casos de escoliose. Neste grupo de pacientes a progressão da curva depende de diversos fatores como idade esquelética, gênero, magnitude e tipo da(s) curva(s) (EL-HAWARY e CHUKWUNYERENWA, 2014). Em relação ao gênero, observa-se que o

risco de deformidade progressiva da coluna é cinco vezes maior nas mulheres (KAROL et al., 1993).

1.4 Diagnóstico da escoliose

O paciente com escoliose geralmente não apresenta muitas queixas associadas a deformidade, sendo que 23 à 85% possui algum grau de dor nas costas (THÉROUX et al., 2017a, 2017b).

O diagnóstico de escoliose estrutural é feito pelo exame físico para excluir as causas específicas para escoliose, sendo que a escoliose idiopática do adolescente é um diagnóstico de exclusão. Ao exame físico de inspeção é importante identificar a presença de manchas na pele, tufo piloso, que são sinais de escoliose que podem estar associados com patologias específicas. Além disso, percebe-se assimetria dos ombros e perda do triângulo de talhe (**Figura 4A**). O teste de Adams, que é uma manobra simples realizada para identificar deformidades estruturais da coluna, faz parte da investigação durante o exame físico (**Figura 4B**). Os pacientes deambuladores ao realizarem a flexão ativa do tronco, mantendo os joelhos esticados, apresentam giba que resulta da rotação vertebral para o lado da convexidade (LINKER, 2012).

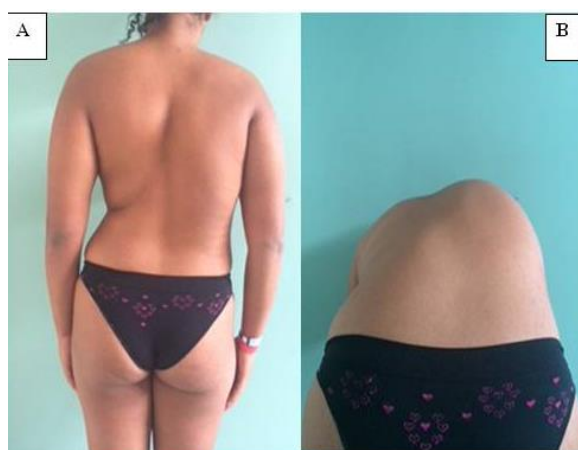


Figura 4 - Exemplo de paciente com escoliose. Foto de paciente com 16 anos, do gênero feminino, com assimetria dos ombros. (A) Descompensação do tronco e ausência do triângulo de Talhe. (B) Postura para o teste de Adams, ilustrando a presença de escoliose devido a presença da giba costal a direita (Arquivo pessoal).

1.4.1 Avaliação radiográfica da escoliose idiopática

O método de imagem mais comum no diagnóstico da escoliose idiopática é a radiografia panorâmica da coluna vertebral em anteroposterior e perfil ortostática, incluindo a coluna cervical e a pelve, com visualização das cabeças femorais. Este exame é realizado utilizando um cassete radiográfico (14 x 36 polegadas) ou radiografias por programas digitais. Pela realização deste exame é possível medir o grau da curva, o acompanhamento da progressão de sua magnitude, a maturidade esquelética, classificar o tipo de curva e o grau de correção do tratamento nos planos coronal e sagital (GSTOETTNER et al., 2007; WANG et al., 2018).

O método descrito por Cobb é universalmente utilizado para medir o grau da curva. O ângulo de Cobb é calculado após a identificação das vértebras das extremidades da curva, traçando duas linhas perpendiculares ao platô superior destas vértebras e medindo o ângulo formado pelo cruzamento destas duas linhas (**Figura 5**). Este ângulo é medido em todas as curvas coronais e sagitais e, mesmo para curvas fisiológicas sagitais, o método de Cobb é indicado (PRUIJS et al., 1994; LANGENSIEPEN et al., 2013).

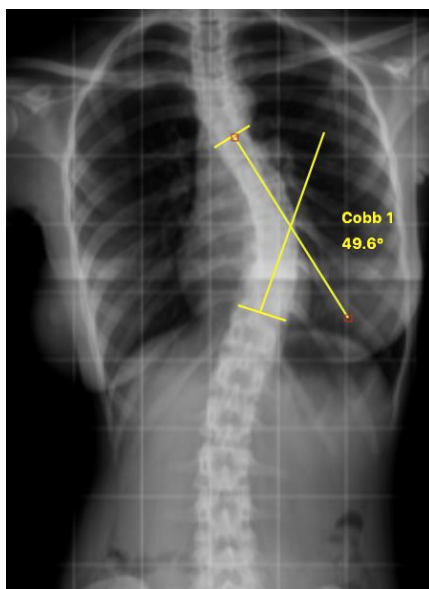


Figura 5 - Radiografia panorâmica de coluna vertebral em anteroposterior e em ortostatismo para definição do ângulo de Cobb. Após a identificação das vértebras das extremidades da curva são traçadas duas linhas perpendiculares ao platô superior dessas duas vértebras. O ângulo formado pelo encontro das duas linhas é o Ângulo de Cobb (49,6° no exemplo) (Imagem gerada pelo Software Surgimap, arquivo pessoal).

Outro parâmetro a ser incluído na avaliação clínica da escoliose é a medida da flexibilidade da curva (teste de flexibilidade da curva). Já foram descritos diversos métodos para esta avaliação, tais como radiografia em tração e radiografia com inclinação lateral com fulcro (LIU et al., 2010). As radiografias de inclinação lateral são realizadas com o paciente em posição supina, fazendo esforço máximo de inclinação lateral da curva durante a realização da radiografia. Este teste de inclinação lateral é essencial para a classificação das curvas estrutural e não estrutural (PUNO et al. 2003).

O equilíbrio coronal é definido pela distância entre a linha vertical perpendicular ao solo que passa no centro da vértebra de C7 ou linha de prumo de C7 (C7PL) e a linha perpendicular ao solo que passa no centro de S1 ou linha centro sacral vertical (CSVL). No paciente com escoliose descompensada com desequilíbrio coronal, a distância entre estas duas linhas é superior a dois centímetros (**Figura 6**). O equilíbrio sagital é avaliado nas radiografias em perfil pela distância entre a linha que passa no centro da vértebra C7 e o ponto na superfície do corno pósterio-superior do sacro. Esta distância é denominada de eixo vertical sagital (SVA), é medido em centímetros e pode ser positivo, se for anterior ao corno pósterio superior do sacro, ou negativo, se for posterior (NEWTON et al., 2010).

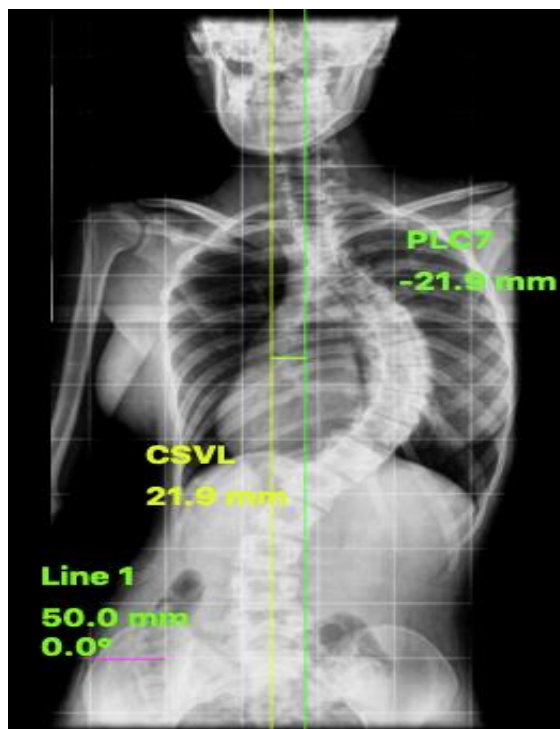


Figura 6 - Radiografia panorâmica anteroposterior de paciente com escoliose. Indicação da medida do equilíbrio coronal. C7PL: linha de prumo do centro de C7 coronal e sagital; CSVL: linha centro sacral vertical. Distância em milímetros entre C7PL coronal e a CSVL sendo 21.9mm, evidenciando descompensação coronal (Arquivo pessoal).

A rotação vertebral, avaliada na radiografia no plano coronal, é sempre voltada para o lado da convexidade da curva. Esta rotação é graduada de zero a quatro pelo do método de Nash-Moe e consiste na avaliação da posição do pedículo da vértebra do lado da convexidade da curva (**Figura 7**). Como referência para o cálculo da rotação e da gravidade da escoliose, a metade lateral da vértebra é dividida por linhas imaginárias em três segmentos. A posição do pedículo da convexidade equidistante ao da concavidade, determina uma vértebra grau 0 pelo método de Nash Moe; grau 1 quando pelo menos a metade do pedículo está no primeiro segmento; grau 2, quando o pedículo está no segundo segmento; grau 3, quando o pedículo da convexidade atinge o terceiro segmento (metade da vértebra) e grau 4, quando o pedículo se encontra medialmente ao terceiro segmento da vértebra, ultrapassando a linha média (NASH e MOE, 1969).

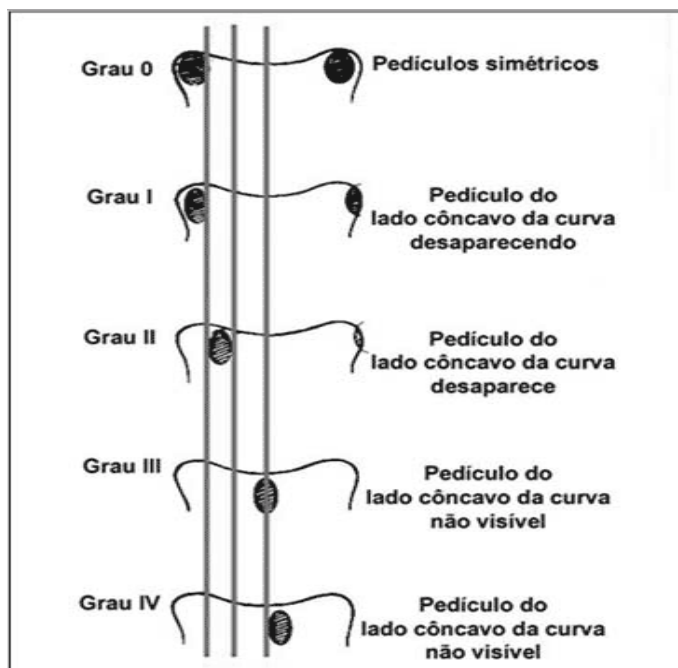


Figura 7 - Método de Nash-Moe para medir a rotação vertebral. A graduação da rotação varia entre zero a quatro (DEFINO e ARAÚJO, 2004).

Para a avaliação da maturidade esquelética, parâmetro radiográfico que avalia o risco de progressão da curva da escoliose, são utilizados os centros de ossificação da mão, da apófise do osso ilíaco e a cartilagem trirradiada. O método descrito por RISSER consiste na avaliação gradual, de antero-lateral para pósterio-lateral da ossificação da apófise da crista ilíaca (RISSER, 2010) (**Figura 8**). O método estabelece cinco estágios: zero quando não há ossificação; estágio 1, quando a ossificação atinge 25% do quadrante lateral da apófise ilíaca; estágio 2, a ossificação atinge 50% da crista ilíaca; estágio 3, a ossificação atinge 75% da crista ilíaca; estágio 4, quando 100% da crista ilíaca é coberta pela ossificação e estágio 5, quando há fusão completa da apófise ao osso ilíaco (RISSER, 1958; RISSER, 2010).

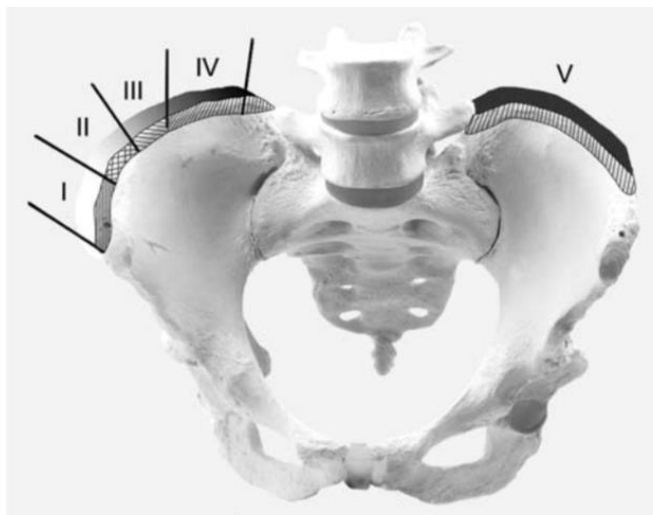


Figura 8 - Método de Risser para avaliação da maturidade esquelética. Utiliza-se o percentual de ossificação da linha da apófise de crescimento em relação à superfície do osso ilíaco para definir os graus de zero a cinco (THALER et al., 2008).

Outro parâmetro utilizado na avaliação da maturidade esquelética é a presença da cartilagem trirradiada, que consiste na cartilagem que forma o acetábulo, é formada pela intersecção dos ossos ilíaco, púbico e ísquio e pode ser visualizada nas radiografias panorâmicas de coluna (**Figura 9**). Embora não possa ser graduada quanto ao padrão de ossificação, a cartilagem trirradiada aberta é um sinal fidedigno do estado pré-puberal (THALER et al 2008).

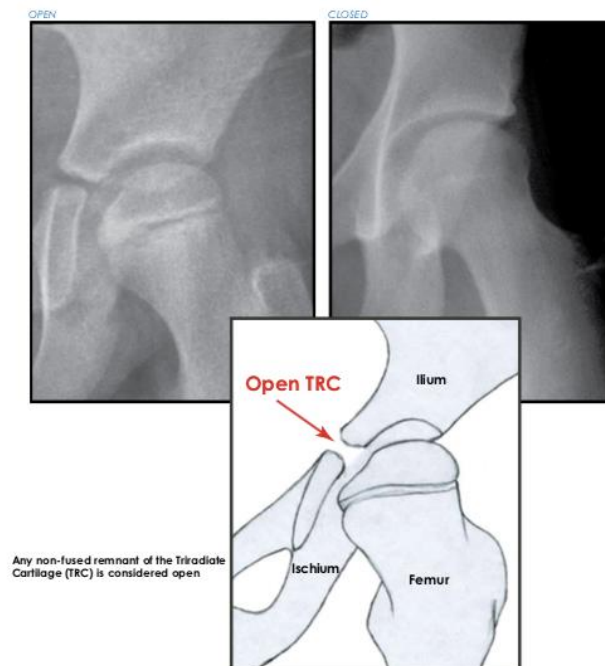


Figura 9 – Avaliação da maturidade esquelética em radiografia do quadril em anteroposterior. (A) Cartilagem aberta e (B) fechada. O esquema ilustra a cartilagem trirradiada formada pela intersecção dos ossos ilíaco, púbico e ísquio (O'BRIEN et al., 2008).

O ápice da curva pode ser um disco ou uma vértebra e sua determinação define se a curva é torácica proximal, torácica principal, toracolumbar ou lombar. A vértebra ápice torácica é a que mais se distancia horizontalmente da linha de C7PL e a vértebra ápice lombar é a que mais se distancia horizontalmente da linha CSVL (O'BRIEN et al., 2008) (**Figura 10**).

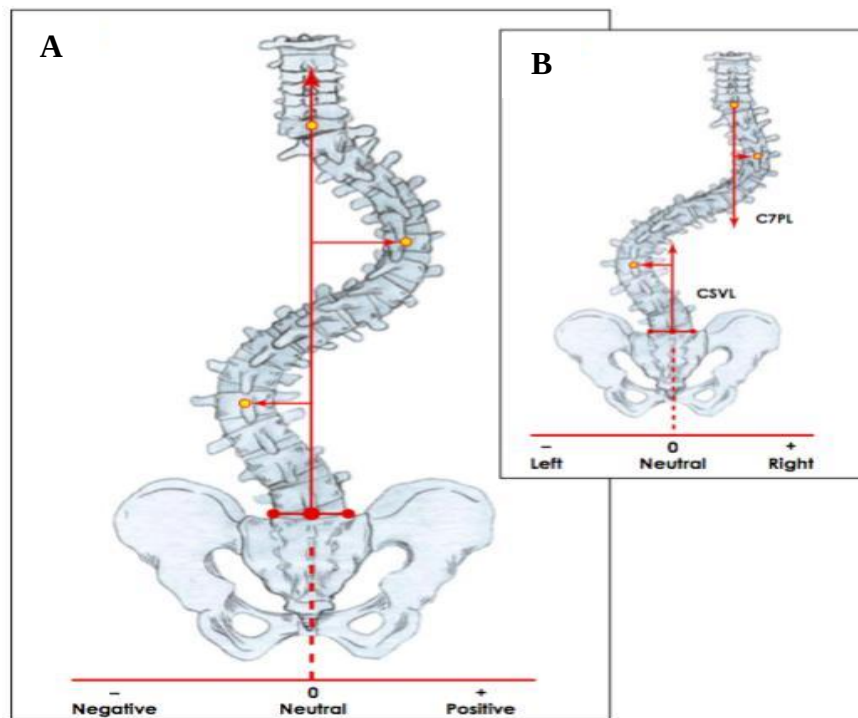


Figura 10 – Parâmetros para a medida do equilíbrio coronal. (A) Medidas de translação do ápice torácico e lombar em relação a linha de prumo central de CSVL e C7PL. (B) Medidas de translação do ápice torácico em relação a linha C7PL e ápice lombar em relação CSVL. C7PL: linha prumo central de C7; CSVL: linha centro sacral vertical (O'BRIEN et al., 2008).

Após o reconhecimento das vértebras apicais, é importante definir o centroide destas vértebras, que é determinado pela técnica em X, que une o ponto médio das extremidades opostas (O'BRIEN et al., 2008) (**Figura 11**). O ponto centroide é utilizado como referência para medir a distância coronal do ápice da curva torácica até a linha C7PL e o ápice da curva lombar até a linha CSVL. Alguns autores utilizam a relação destas duas distâncias translacionais entre os ápices torácico e lombar para determinar a extensão da instrumentação no tratamento cirúrgico (STEPHENS RICHARDS et al., 2010).

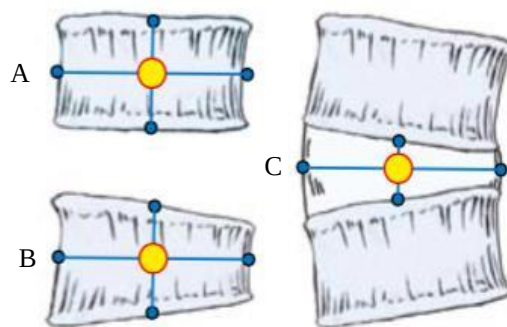


Figura 11 - Técnica de identificação do centro vertebral ou discal. (A) O ponto amarelo representa o centro de uma vértebra retangular, calculado pela interseção das linhas em azul que unem os pontos em azul que, por sua vez, marcam a metade de cada borda da vértebra. (B) O centro de uma vértebra trapezoidal, representado pelo ponto amarelo, calculado pela interseção das linhas em azul que unem os pontos em azul que, por sua vez marcam a metade de cada borda da vértebra. (C) O ponto amarelo representa o centro do disco, calculado pela interseção das linhas em azul que une os pontos em azul que, por sua vez, marcam a metade de cada borda de cada disco vertebral (O'BRIEN et al., 2008).

A vértebra final da curva (*end vertebra* ou EV) é a última vértebra a inclinar para a concavidade da curva. A vértebra estável (SV), considerada a mais cefálica imediatamente abaixo da vértebra final da curva estrutural principal, é bissectada pela linha CSVL. A vértebra neutra (NV) é a mais cefálica abaixo do ápice da curva onde os pedículos estão simetricamente localizados na radiografia AP em ortostatismo. A identificação de todas essas vértebras é essencial para o planejamento da área de artrodeose (**Figura 12**) (O'BRIEN et al., 2008).

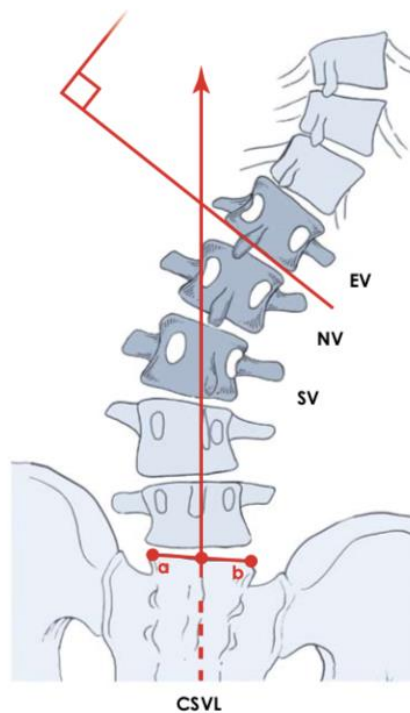


Figura 12 – Vértebras referenciais da curva escoliótica. A vértebra final (EV) é a vértebra inferior da curva, incluída no ângulo de Cobb. Na vértebra neutra (NV) os pedículos são equidistantes. A vértebra estável (SV) é a mais cefálica, bissectada pela linha vermelha centro sacral vertical (CSVL), traçada verticalmente pelo centro da vértebra sacral (O'BRIEN et al., 2008).

O ângulo da última vértebra da curva é o ângulo formado por uma linha paralela ao platô inferior da última vértebra com uma linha horizontal paralela ao solo (**Figura 13**). A medida deste ângulo é utilizada como parâmetro para definir o grau de correção pós-operatória (WANG et al. 2018).



Figura 13 - Radiografia panorâmica de coluna vertebral em anteroposterior para avaliação do ângulo da última vértebra. Ângulo de 24° da última vértebra da curva (CHO et al. 2012).

1.4.2 Classificação radiográfica da escoliose idiopática para o tratamento cirúrgico

Na era da instrumentação de Harrington, predominava a classificação proposta em 1983 por King e colaboradores que era utilizada para avaliar o nível de artrodese (KING et al., 1983) (**Figura 14**). Nesta classificação, os cinco tipos de curvas associados a escoliose idiopática são avaliados em radiografias panorâmicas em AP da coluna e definidos segundo os critérios:

Tipo 1 – Duas curvas em forma de “S” (coronais torácica e lombar) que cruzam a linha média, presente em 12% dos pacientes;

Tipo 2 – Uma curva em “S” (torácica de maior magnitude e lombar mais flexível) que cruza a linha média, presente em 32% dos pacientes;

Tipo 3 – Curva torácica predominante sendo que a curva lombar não cruza a linha média, presente em 32,8 % dos pacientes;

Tipo 4 – Curva torácica longa com a vértebra L4 inclinada na direção da curva, presente em 9,2% dos pacientes;

Tipo 5 – Duas curvas torácicas, com a vértebra T1 inclinada para convexidade da curva presente em 11,6% dos pacientes.

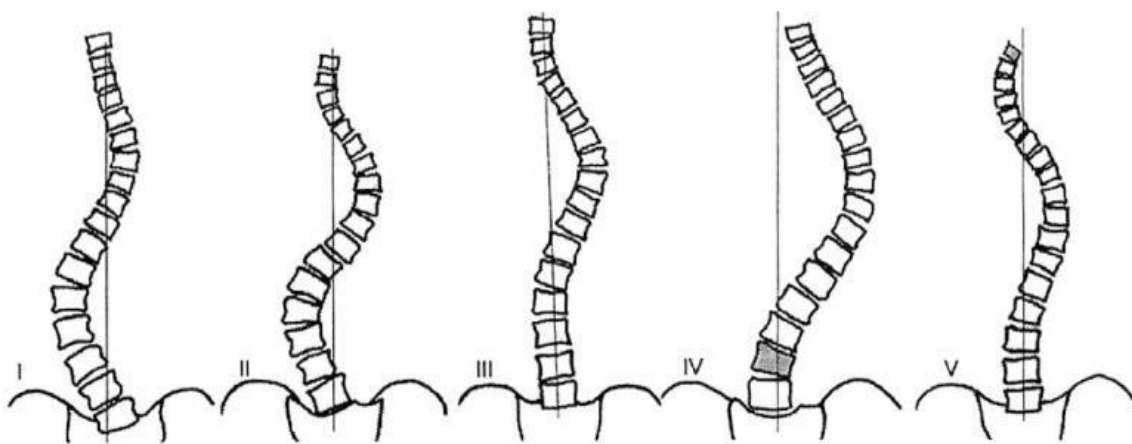


Figura 14 - Classificação de King utilizada para selecionar a área de artrodese. Classificação de KING para os cinco tipos de curvas da escoliose idiopática (KING et al., 1983).

A baixa reprodutibilidade da classificação de King levou na modificação da classificação da escoliose idiopática do adolescente para classificação descrita por Lenke (LENKE et al., 1998; LENKE et al., 2001). Nesta classificação são associados os parâmetros em AP com parâmetros da radiografia panorâmica sagital (LENKE et al., 2001; OGON et al., 2002; LENKE, 2005).

A classificação de Lenke define seis tipos de curvas no plano coronal, sendo de 1 a 6 três modificadores lombares, descritos com A, B e C; e três modificadores sagitais, segundo o ângulo de cifose torácica medida de T5-T12, descrito pelos sinais positivo (+), quando a cifose é maior que 40° e negativo (-) quando é menor do que 10° e normal (N), quando a cifose está entre 11° a 40° (LENKE et al., 2001). A curva também é classificada segundo a localização em

torácica proximal (TP), torácica principal (MT) e tóraco-lombar / lombar TL/L) e ainda em estrutural ou não estrutural. A maior curva sempre é considerada estrutural, mesmo sendo flexível (LENKE et al., 2001) (**Figura 15**).

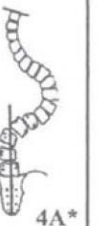
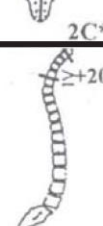
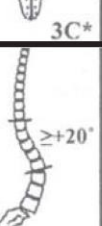
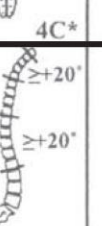
CURVA TIPO (1-6)						
Modificador lombar	Tipo 1 (torácica principal)	Tipo 2 (dupla torácica)	Tipo 3 (dupla principal)	Tipo 4 (tripla principal)	Tipo 5 (TL/L)	Tipo 6 (TL/L-TP)
A (nenhuma ou mínima curva)	 1A*	 2A*	 3A*	 4A*		
B (curva moderada)	 1B*	 2B*	 3B*	 4B*		
C (curva grande)	 1C*	 2C*	 3C*	 4C*	 5C*	 6C*
CrITÉRIOS estruturais sagitais possíveis para determinação do tipo de curva	 Normal	 Cifose torácica proximal	 Cifose toracolumbar	 Cifose TP + TL	* Modificador do alinhamento sagital T%-T12 - : <10° N : 10 - 40° + : > 40°	

Figura 15 - Diagrama da classificação de Lenke para escoliose. Os seis tipos de curvas são definidos pelos modificadores lombar e pelos critérios estruturais sagitais. TL: toracolumbar; L: lombar; TP: torácica proximal (RISSO-NETO et al., 2006).

Os critérios de Lenke para uma curva ser considerada estruturada são definidos em radiografias com inclinação lateral em supino e em radiografia panorâmica da coluna em perfil. As radiografias de inclinação lateral em supino são fundamentais na classificação de Lenke, pois se o ângulo de Cobb permanece superior a 25° no teste de inclinação a curva é considerada estruturada. Nas radiografias panorâmicas em perfil as curvas com cifose regional superior a 20° (medidas no segmento T2-T5 para curva TP e no segmento T10-L2 para curvas TL/L), são consideradas estruturais (LENKE et al., 2001).

A escoliose Lenke tipo 1 é a mais frequente nos pacientes com escoliose cirúrgica, seguida pelo tipo 2. Um estudo multicêntrico retrospectivo envolvendo cinco centros de escoliose no Estados Unidos avaliou 606 pacientes e diagnosticou escoliose Lenke tipo 1 e 2 respectivamente em 51% e 20% dos pacientes (LENKE et al., 2002).

1.5 Tratamento cirúrgico da escoliose

Em 1911, Russell Hibbs foi pioneiro na utilização da fusão óssea, através da artrodese da coluna vertebral. A técnica se baseava na utilizando de tração no pré-operatório e uso de coletes no pós-operatório, que resultavam na interrupção da progressão da deformidade após a fusão óssea. Porém, pela falta de técnicas de fixação da coluna vertebral, as taxas de pseudartrose variavam de 29 a 39% (HIBBS, 2007; KOSTUIK, 2015).

A introdução de novas técnicas de fusão como a artrodese interfacetária preconizada por John Moe, acarretou na diminuição dos índices de pseudartrose após a correção das deformidades. Este autor foi o primeiro a se preocupar com a escolha da última vértebra a ser incluída na área de artrodese, utilizando a vértebra neutra sem rotação como critério de escolha (MOE, 1958).

O surgimento da fixação interna após a artrodese vertebral, reduziu drasticamente a perda de correção da escoliose e as taxas de pseudoartrose (HARRINGTON, 1962). A

referência para definir o último nível de instrumentação era a vértebra que se encontrava na zona estável descrita por Harrington (TAMBORNINO et al., 1964; DICKSON et al., 1990). A incapacidade do instrumental de Harrington em preservar a lordose lombar fisiológica gerou a necessidade de evolução do instrumental. Assim, o instrumental conhecido como de terceira geração formado por ganchos e parafusos que permitia a fixação por segmento vertebral e a preservação da lordose fisiológica foi popularizado na década dos anos 80 (RICHARDS, 1992; DESAI et al. 2013).

O tratamento cirúrgico está indicado para as curvas torácicas $>50^\circ$ e para as curvas lombares $> 40^\circ$, mesmo após a maturidade esquelética (AGABEGI et al., 2015). As curvas classificadas como Lenke 1 e 2 e os seus subtipos tem indicação para instrumentação por artrodese seletiva que exclui a curva lombar da área de artrodese. Esta estratégia se baseia no fato de que a curva lombar flexível terá correção espontânea, secundária à correção da curva torácica principal (Lenke 1) ou dupla torácica (Lenke 2) (PUNO et al., 2003).

1.6 Etiopatogenia da escoliose

Apesar da etiologia da escoliose idiopática ser ainda desconhecida, existem algumas teorias que tentam explicar o surgimento da doença, como os erros metabólicos, a disfunção do sistema nervoso, as alterações biomecânicas, a alteração do crescimento ósseo e as alterações genéticas. Atualmente, o conceito da cascata multifatorial é o mais aceito para tentar explicar a etiopatogenia da escoliose idiopática (**Figura 16**) (BURWELL et al., 2016).

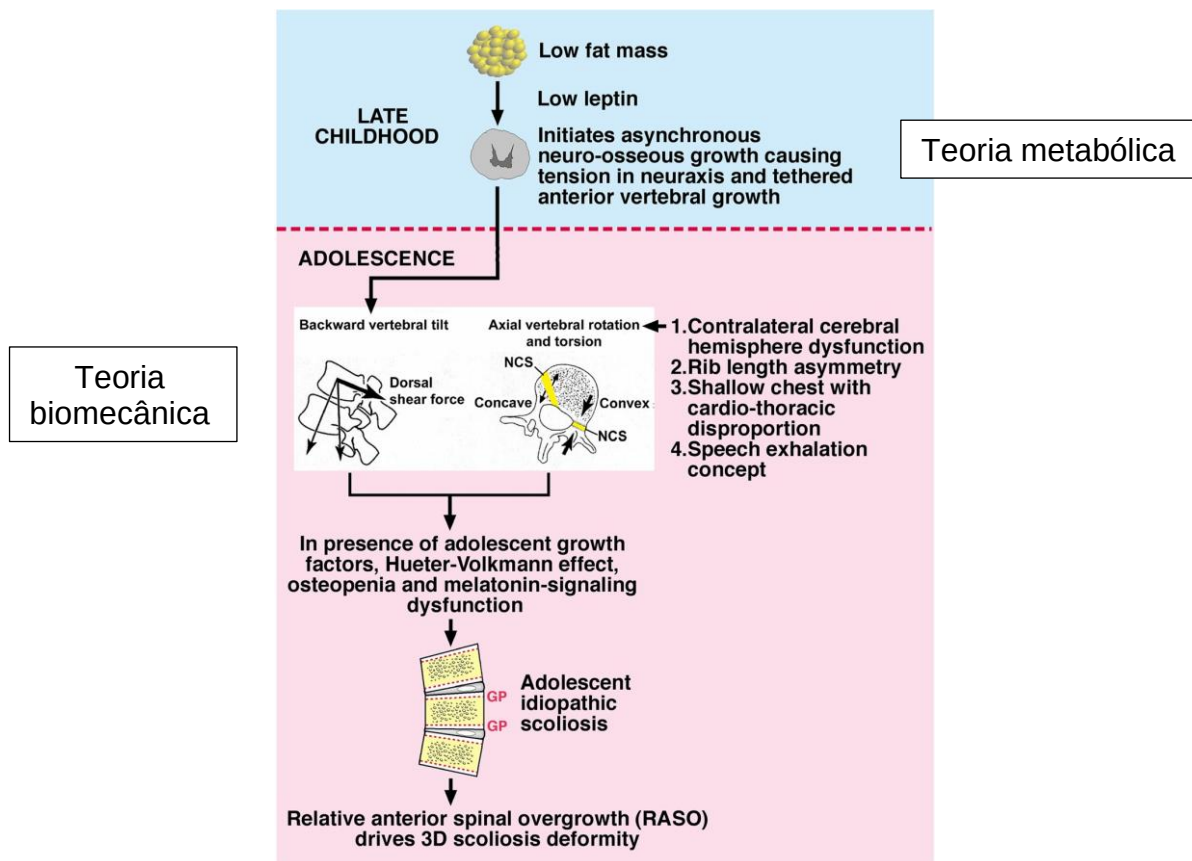


Figura 16 - Cascata multifatorial sobre a etiopatogenia da escoliose idiopática. O início da deformidade ocorre na pré-adolescência, na presença de uma baixa massa corporal de gordura, acarretando na redução dos níveis de leptina (teoria metabólica). Durante a adolescência, há uma alteração biomecânica, impactando na lordotização do ápice com uma força de cisalhamento, provocando uma rotação vertebral (teoria biomecânica). Os efeitos metabólicos como osteopenia e disfunção do estímulo da melatonina provocam crescimento assimétrico anterior (RASO - *relative anterior spinal overgrowth*) (BURWELL et al., 2016).

1.6.1 Teoria metabólica

Esta teoria se baseia em estudos prospectivos que mostram associação entre a diminuição da massa corporal magra e de gordura e maior risco de desenvolvimento de escoliose (CLARK et al., 2014). A leptina, secretada pelas células adiposas e relacionada com sistema pituitário hipotalâmico e com o metabolismo energético, está envolvida com o maior risco de escoliose e sua progressão (WU et al., 2015; BURWELL et al., 2016). Além disso, os níveis plasmáticos de leptina tem relação direta com os índices de massa corporal (IMC), com os índices de densidade óssea (BMD) e com os parâmetros de crescimento ósseo (QIU et al., 2007). A baixa densidade óssea ou osteopenia densitométrica ($Z\text{-score} < -1$ desvio padrão)

também está relacionada com risco de escoliose (CHEUNG et al., 2006). A associação entre deficiência de vitamina D e baixo índice de gordura corporal também mostra associação com o desenvolvimento e risco de progressão da escoliose idiopática em adolescentes (NG et al., 2018).

1.6.2 Teoria neurológica

As alterações neurológicas observadas nos adolescentes com escoliose idiopática envolvem o sistema visual de percepção, o sistema vestibular, proprioceptivo e de controle postural, o envolvimento do tronco cerebral incluindo a integração dos hemisférios cerebrais e o corpo caloso. A espessura do córtex cerebral avaliada por ressonância magnética difere nos pacientes com escoliose idiopática do adolescente e indivíduos sem escoliose. Contudo, existem dúvidas na literatura se estas alterações são primárias ou secundárias à deformidade da coluna (WANG et al., 2012).

Os pacientes com escoliose idiopática do adolescente possuem razão reduzida de comprimento da medula espinhal em relação ao crescimento do corpo vertebral. Esta alteração resulta em uma medula ancorada funcional, que reforça a teoria do assincronismo do crescimento neuro-ósseo (CHU et al., 2008). Outro achado neurológico nesses pacientes é a assimetria entre o sistema vestibular direito e esquerdo e a conexão anormal entre os canais semi-circulares do ouvido interno (CHENG et al., 2015).

1.6.3 Teoria biomecânica

Esta teoria foi descrita a partir do estudo das forças biomecânicas que agem durante a fase de crescimento da coluna vertebral, obedecendo a força gravitacional. Na postura bípede dos humanos, a posição sagital do corpo vertebral determina a força de cisalhamento posterior que, por sua vez, reduz a estabilidade rotacional da vértebra. Durante o desenvolvimento normal

da coluna vertebral existe uma força de conversão rotacional da esquerda para direita. Esta rotação preexistente pode ter sua magnitude influenciada pela posição da coluna em relação à força de gravidade. Nas meninas é observada uma área da coluna mais inclinada posteriormente mais instável pela ação da gravidade e que constitui fator adicional para explicar o acometimento maior da escoliose em meninas (DICKSON et al., 1994; BURWELL et al., 2016).

A teoria mecanicista explicada pela lei de Huert-Volkmann define que a maior força de compressão retarda o crescimento no lado côncavo da curvatura e a sua diminuição aumenta o crescimento do lado convexo. Este ciclo vicioso descrito por Stokes resulta em uma vértebra em cunha identificada principalmente no ápice da curva (FADZAN e BETTANY-SALTIKOV, 2017).

1.6.4 Teoria genética

A herança genética da escoliose foi descrita por Garland, em 1934, que descreveu em uma mesma família a presença de escoliose ao longo de cinco gerações (GRAUERS et al., 2016). Em 1973, Wynne-Davis evidenciou prevalência significativamente maior de escoliose, quando comparada a população geral, entre as famílias que apresentavam um parente de primeiro grau afetado com a doença (7%), reduzindo para 3,9% em famílias que apresentavam um parente de segundo grau com escoliose e 1,5% em famílias com parentes de terceiro grau afetados (WYNNE-DAVIES, 1973). Esta mesma observação foi descrita por Ward e colaboradores, em 2010, sugerindo a importância dos fatores hereditários no desenvolvimento da doença, já que parentes de indivíduos com escoliose idiopática apresentaram maior prevalência da doença do que a população em geral (WARD et al., 2010).

Estudos anteriores envolvendo gêmeos com escoliose idiopática relataram maior frequência da doença entre gêmeos monozigóticos comparados aos dizigóticos (KESLING e

REINKER, 1997; INOUE et al., 1998; ANDERSEN et al., 2007). Em 2012, Grauers e colaboradores estimaram a hereditariedade da escoliose entre 64.578 gêmeos suecos, e descreveram que 38% do risco de desenvolver escoliose é em função de fatores genéticos e 62% devido a fatores ambientais (GRAUERS et al., 2012). Os estudos realizados com gêmeos são extremamente importantes para determinar os fatores hereditários e ambientais envolvidos com o desenvolvimento de doenças já que os gêmeos monozigóticos compartilham 100% do genoma (ANDERSEN et al., 2007).

Em 2010, um estudo envolvendo 69 famílias americanas, com histórico de escoliose idiopática do adolescente, após avaliar quatro gerações, confirmou o diagnóstico da doença em 247 indivíduos. Além disso, estimou um risco para o desenvolvimento da escoliose de até 29% quando o indivíduo possui pelo menos um dos genitores afetados, assumindo um padrão de herança autossômica dominante. O risco de desenvolvimento da escoliose diminui à medida que o parentesco se torna mais distante. Contudo, o menor risco de recorrência calculado, para parentes de terceiro grau, foi de 9%, muito acima do risco da população geral. Além disso, foi sugerido que a localização da curva escoliótica significativamente associada à hereditariedade genética, independentemente da gravidade ou do padrão de curva da coluna (WARD et al., 2010).

Os estudos de associação que avaliam amplamente todo o genoma (GWAS - *genome-wide association study*) e que fazem o mapeamento genético de indivíduos, constituem uma ferramenta altamente relevante para identificar regiões do genoma e processos biológicos associados as doenças (ALTSHULER et al., 2008). Uma meta-análise envolvendo estudos de GWAS avaliou 7.956 casos de escoliose e 88.459 controles. Após analisar seis estudos foram identificados 18 *locus* associados com o desenvolvimento da escoliose idiopática do adolescente, sendo quatro dentro ou próximo aos genes *GPR126* (*adhesion G protein-coupled receptor G6*) no cromossomo 6, *BNC2* (*basonuclin 2*) no cromossomo 9, *LBX1* (*ladybird*

homeobox 1) no cromossomo 10 e *PAX-1* (*paired box 1*) no cromossomo 20 (KHANSHOUR et al., 2018). Esses mesmos genes já haviam sido associados com a escoliose idiopática do adolescente em quatro estudos anteriores (TAKAHASHI et al., 2011; KOU et al., 2013; OGURA et al., 2015; SHARMA et al., 2015). Na meta-análise realizada apenas com o grupo do gênero feminino, que correspondia a 90,7% dos casos, os genes *LBX1*, *GPR126* e *PAX-1* mantiveram-se significativamente associados com a escoliose idiopática do adolescente. Contudo, o gene *CDH13* (*cadherin 13*), no cromossomo 16, tornou-se significativamente associado com a doença entre as mulheres, ao invés do gene *BNC2*, que havia sido observado na análise incluindo os indivíduos do sexo masculino (KHANSHOUR et al., 2018).

Diversos genes candidatos associados ao desenvolvimento da escoliose idiopática do adolescente participam na formação do disco intervertebral (WALLIN et al., 1994; HENRY et al., 2012; DY et al., 2012; KARNER et al., 2015), dentre eles o gene *PAX-1* (WALLIN et al., 1994; HENRY et al., 2012; KARNER et al., 2015; SHARMA et al., 2015).

1.7 *PAX-1* no desenvolvimento da coluna vertebral

Durante a embriogênese, a coluna vertebral, é formada pelos somitos, que são estruturas oriundas do tecido mesodérmico. Os somitos inicialmente possuem um aspecto epitelial, mas as células ventrais se transformam em células mesenquimais, formando o esclerótomo. As células dorsais formam uma bainha epitelial ou dermatomiótomo, que originará a pele e os músculos do dorso. A expressão do *PAX-1* nas células ventrais dos somitos são estimuladas por mediadores produzidos pela notocorda e pela placa neural, tornando esta molécula um marcador da somitogênese (ADHAM et al., 2005; SCAAL, 2016). A presença do *PAX-1* é crucial para a formação dos corpos vertebrais e regula a transformação da notocorda no núcleo pulposos do disco intervertebral (WALLIN et al., 1994).

Em torno da notocorda, os esclerótomos se organizam frouxamente em sentido cefálico e densamente em sentido caudal. Das células organizadas densamente, algumas migram em direção cefálica dando origem ao disco intervertebral, e as remanescentes se fundem nas células frouxamente dispostas do esclerótomo imediatamente caudal para formar o centro mênisco da vértebra, sendo que cada vértebra é formada a partir de dois esclerótomos (SCAAL, 2016).

A diferenciação do esclerótomo é controlada por um número de moléculas e vias de sinalização, conforme modelo proposto por Rodrigo e colaboradores em 2003 (**Figura 17**). Depois que os somitos são formados, o Shh (*sonic hedgehog signaling molecule*), localizado no cromossomo 7, desempenha um papel essencial na indução, diferenciação e sobrevivência de células do esclerótomo, ativando fatores de transcrição, incluindo os genes *PAX-1*, *PAX-9*, *NKX3-1* (*NK3 homeobox 1*) e *BAPX1* (também conhecido como *NKX3-2 - NK3 homeobox 2*), que desempenham um importante papel no desenvolvimento do esqueleto.

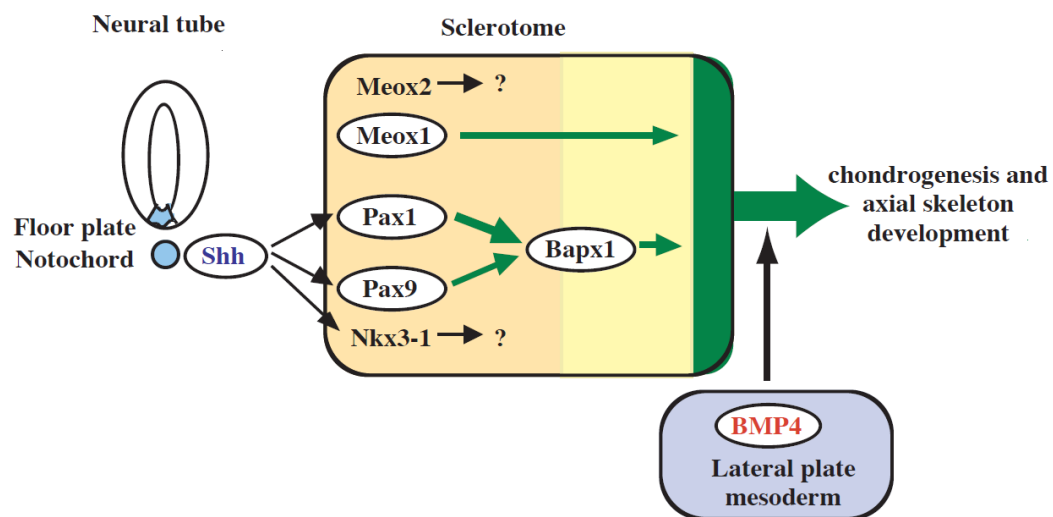


Figura 17 - Modelo para as vias regulatórias envolvidas na diferenciação do esclerótomo. O tubo neural e base da placa notocordial são regulados pelas moléculas mediadoras da expressão do gene *PAX-1* nos esclerótomos, estimulando a condrogênese e o desenvolvimento axial do esqueleto. Os genes *PAX-1* e *PAX-9* regulam sinergicamente o desenvolvimento da coluna vertebral (RODRIGO et al., 2003).

1.8 Gene *PAX-1*

O gene *PAX-1* pertence à família PAX (*paired box*), formado por nove membros em mamíferos, caracterizados pela presença de um domínio conservado de ligação ao DNA. É um fator de transcrição, localizado no cromossomo 20p11, possuindo cinco éxons e 12.828 pares de bases de comprimento (UNDERHILL, 2000).

A expressão do *PAX-1* é observada predominantemente na região dos corpos vertebrais e discos intervertebrais (NEUBÜSER et al., 1995), sendo crucial para a formação adequada de estruturas da coluna vertebral (WILM et al., 1998). Diversos estudos já demonstraram um importante papel do gene *PAX-1* na esqueletogênese axial, incluindo a condrogênese (WALLIN et al., 1994), no desenvolvimento do corpo vertebral derivado do esclerótomo, no desenvolvimento do disco intervertebral (NEUBÜSER et al., 1995) e na maturação condrocítica (TAKIMOTO et al., 2013).

Estudos em modelos experimentais já mostraram haver relação do gene *PAX-1* com a malformação vertebral em camundongos, impactando na ausência de corpos vertebrais e discos intervertebrais (WALLIN et al., 1994; ADHAM et al., 2005). As mutações que levam a deficiência de *PAX-1* estão associadas a presença de doenças que envolvem as malformações vertebrais, incluindo a escoliose (BANNYKH et al., 2003; MCGAUGHRAN et al., 2003; GIAMPIETRO et al., 2005).

1.8.1 Polimorfismos no gene *PAX-1* e o desenvolvimento da escoliose

O polimorfismo genético é caracterizado pela substituição, deleção ou inserção de nucleotídeos na fita de DNA. Quando ocorre a troca de um único nucleotídeo é denominado SNP (*single nucleotide polymorphism*). Um alelo é considerado um polimorfismo quando ocorre em mais de 1% da população e o alelo mais frequente é considerado selvagem (**Figura 18**). As combinações possíveis de dois alelos que caracterizam um SNP podem formar três

possibilidades de genótipos (homozigoto selvagem, heterozigoto e homozigoto variante), que podem ou não diferir em fenótipos. As variações alélicas podem resultar em alteração da expressão ou da funcionalidade dos produtos gênicos (ALTSHULER et al., 2008).

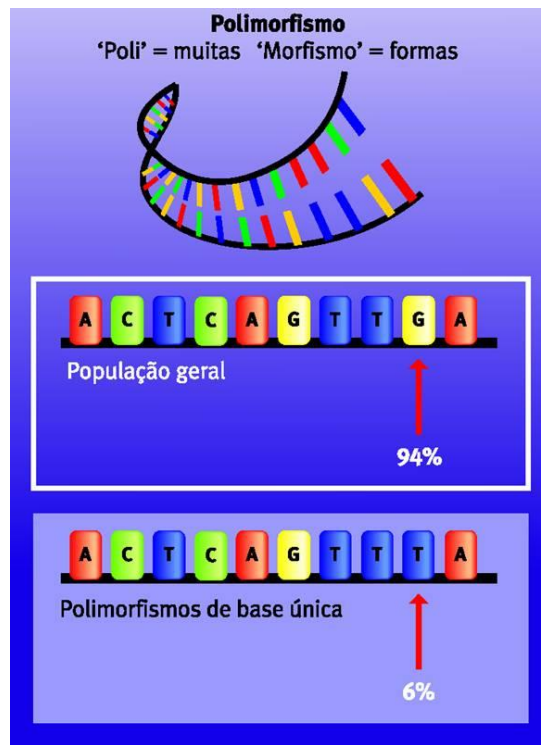


Figura 18 - Polimorfismo de um único nucleotídeo. Exemplo da troca do nucleotídeo guanina (G), que ocorre em 94% da população, considerado selvagem, pelo nucleotídeo timina (T), considerado o polimorfismo variante, que ocorre em 6% da população (RODRIGO, 2003).

Considerando os polimorfismos descritos no gene *PAX-1*, que já foram associados ao desenvolvimento da escoliose, destacam-se os SNPs rs6137473 e rs169311, que já foram analisados em estudos anteriores e/ou que afetam a expressão do *PAX-1* (SHARMA et al., 2015; XU et al., 2018; LIU et al., 2019).

O SNP rs6137473 é caracterizado pela troca de uma guanina por uma alanina (G>A), localizado *downstream* do gene *PAX-1*, e que está em desequilíbrio de ligação com outros SNPs nesta região (SHARMA et al., 2015). O SNP rs6137473 G foi associado com o risco aumentado para o desenvolvimento da escoliose idiopática em mulheres japonesas, americanas (SHARMA

et al., 2015) e chinesas (XU et al., 2018; LIU et al., 2019). Além disso, utilizando a classificação do *Peking Union Medical College* (PUMC), que estratifica em três grupos de fenótipos escolióticos - tipo I, curva única; tipo II, dupla curva; e tipo III curva tripla (QIU et al., 2008), foi observado que o SNP rs6137473 G aumenta o risco do desenvolvimento da escoliose idiopática tipo II de PUMC. Este estudo foi o primeiro a associar polimorfismos do gene *PAX-1* com o fenótipo do tipo de curva (LIU et al., 2019), porém a classificação de PUMC é pouco utilizada na prática clínica (LENKE et al., 2005). A presença do SNP rs6137473 não influenciou na diferença de expressão de *PAX-1* entre os três grupos genotípicos (GG, GA e AA), após análise do mRNA extraídos dos músculos paravertebrais bilaterais (lado côncavo e convexo do ápice) de 84 pacientes com curva torácica principal durante a intervenção cirúrgica para tratamento da escoliose (XU et al., 2018).

O SNP rs169311 é caracterizado pela troca de uma alanina por uma citosina na posição 591 (591A>C) do gene *PAX-1*. Estudos anteriores sugerem que a presença do SNP pode abolir o sítio ativo de *enhancer*, afetando a ligação dos fatores de transcrição e, consequentemente, influenciando significativamente na expressão de *PAX-1* (WARD et al., 2010; SHARMA et al., 2015; XU et al., 2018). Além disso, já foi descrito que indivíduos com o genótipo rs169311 AA apresentam redução significativa da expressão de *PAX-1* em relação aos pacientes com genótipo rs169311 CC, após análise do mRNA de 84 pacientes com escoliose idiopática do adolescente (XU et al., 2018). O SNP rs169311 A também foi associado com o risco aumentado para o desenvolvimento da escoliose idiopática em mulheres chinesas, após analisar 2.914 pacientes com escoliose com variação de magnitude da curva de 21.2° à 62.7° de ângulo de Cobb e 3.924 controles (XU et al., 2018).

A literatura sugere que ambos os polimorfismos do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) podem influenciar no desenvolvimento da escoliose (SHARMA et al., 2015; XU et al., 2018; LIU et al., 2019). Nesse contexto, torna-se relevante investigar a etiologia das escolioses

idiopáticas do adolescente na população brasileira, com o intuito de formular políticas de prevenção, diagnóstico e tratamento da doença.

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

O Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad (INTO/MS) é um órgão do Ministério da Saúde, referência na assistência de pacientes com afecções de alta complexidade. O Centro de Atendimento Especializado (CAES) da Cirurgia da Coluna Vertebral do INTO é especializado no tratamento de deformidades estruturais da coluna, onde são tratados anualmente um número elevado de adolescentes com escoliose idiopática.

Embora a etiologia da escoliose idiopática do adolescente seja desconhecida, diversos fatores extrínsecos e intrínsecos foram apontados como estando associados ao seu desenvolvimento. Dentre os fatores intrínsecos destaca-se o componente hereditário, já que parentes de indivíduos com escoliose idiopática apresentaram maior prevalência da doença do que a população em geral. Diversos genes que participam do controle do desenvolvimento da coluna vertebral já foram associados com a escoliose, dentre eles o fator transcricional *PAX-1*. O gene *PAX-1* apresenta polimorfismos que afetam o nível de expressão da proteína, podendo influenciar no desenvolvimento da escoliose. Apenas três estudos avaliaram a influência de polimorfismos no gene *PAX-1* com o desenvolvimento da escoliose, entretanto não existem dados que avaliaram pacientes brasileiros ou que replicaram esta associação com a gravidade da doença.

Nossa hipótese é de que exista associação entre alguns polimorfismos genéticos e os diferentes fenótipos da escoliose idiopática. Assim, acreditamos que a nossa investigação poderá contribuir (i) na avaliação da influência do componente genético no desenvolvimento e na gravidade da doença, (ii) para desvendar possíveis mecanismos etiológicos e (iii) para sugerir políticas de prevenção, diagnóstico e tratamento das escolioses idiopáticas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Principal

Descrever o perfil radiográfico dos pacientes com escoliose idiopática do adolescente, classificada como Lenke 1 e 2 e avaliar a possibilidade de associação dos polimorfismos do gene *PAX-1* com o desenvolvimento e com a gravidade da doença.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar os parâmetros radiográficos para classificação da escoliose idiopática do adolescente em Lenke 1 e 2;
- Descrever os dados demográficos e clínicos de pacientes com escoliose idiopática do adolescente com indicação de tratamento cirúrgico;
- Determinar a frequência alélica e genotípica dos polimorfismos rs6137473 e rs169311 do gene *PAX-1* em pacientes com escoliose idiopática e em indivíduos sem doença na coluna vertebral;
- Avaliar a magnitude de associação dos polimorfismos estudados e o desenvolvimento da escoliose idiopática e dos diferentes fenótipos da doença.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo e aspectos éticos

Trata-se de um estudo analítico retrospectivo do tipo caso controle, que avaliou a associação de polimorfismos no gene *PAX-1* com o desenvolvimento e o fenótipo classificados como Lenke 1 e 2 da escoliose idiopática do adolescente.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad (INTO), em 12 de julho de 2018 (CAAE: 73527617.4.0000.5273, Anexo A). Todos os indivíduos convidados para participar do estudo receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e concordaram em participar do estudo mediante assinatura do termo (Apêndice A).

4.2 Participantes

Foi realizada uma busca no registro de pacientes atendidos pelo Centro de Doenças da Coluna Vertebral do INTO no período de janeiro de 2010 a janeiro de 2019 para identificação dos pacientes com diagnóstico de escoliose e indicação para tratamento cirúrgico. Foram identificados 235 pacientes que já haviam realizado o procedimento cirúrgico e 261 pacientes que aguardavam a realização da cirurgia.

Foram considerados para inclusão no estudo pacientes com idade acima de 10 anos e diagnóstico clínico de escoliose idiopática do adolescente classificadas como Lenke 1 e 2 com ângulo de Cobb $>40^\circ$ e descompensação coronal. Não foram incluídos pacientes com qualquer doença de base que pudesse justificar um quadro de escoliose não idiopática, tais como alterações neurológicas, doenças neuromusculares e sindrômica, pacientes com dados radiográficos incompletos e impossibilidade de coleta e/ou análise genética das amostras. No grupo controle foram incluídos voluntários saudáveis e sem doença na coluna vertebral,

recrutados no banco de doadores de sangue do INTO (HEMOINTO). Os participantes do grupo controle foram pareados por gênero com o grupo de pacientes.

Após assinatura do TCLE as amostras foram coletadas com auxílio de um *swab* estéril para posterior análise genética (extração DNA genômico e análise dos polimorfismos do gene *PAX-1*). Após a coleta o material era encaminhado para o Laboratório de Biologia Molecular do INTO, onde foram realizados os ensaios para genotipagem dos polimorfismos de interesse.

4.3 Metodologia para coleta de dados clínicos e radiográficos

A coleta de dados demográficos (sexo, idade, peso e altura) e clínicos (Apêndice B) foi realizada por busca ativa nos prontuários. Uma vez confirmado o diagnóstico de escoliose idiopática do adolescente era realizada uma avaliação de radiografias panorâmicas da coluna vertebral em AP (**Figura 19A**), perfil (**Figura 19B**) e testes de inclinação em supino (**Figura 20**) para definir o ângulo de Cobb e identificar os pacientes classificados como Lenke 1 e 2. Esta seleção teve como intuito homogeneizar o fenótipo da escoliose uma vez que ambas as formas possuem curva lombar flexível.

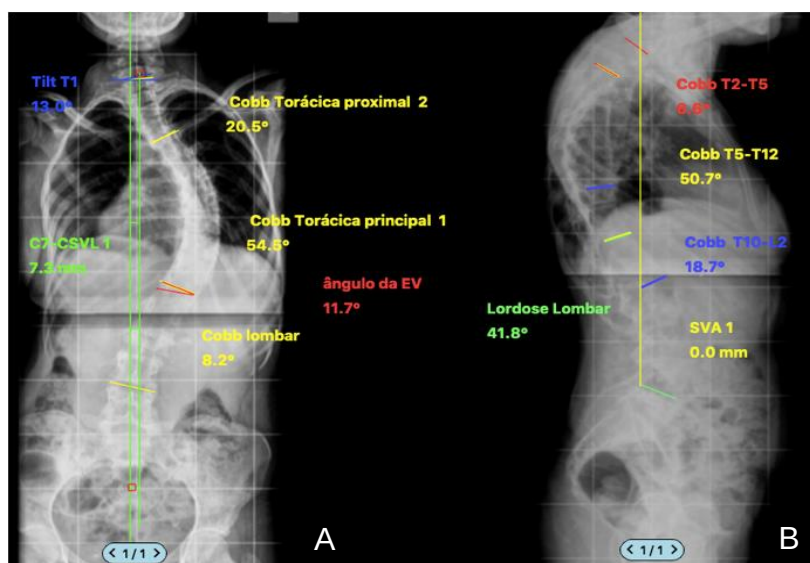


Figura 19 – Parâmetros radiográficos da classificação de Lenke para a escoliose idiopática. (A) Radiografia panorâmica de coluna vertebral em incidência antero-posterior com o valor do ângulo de Cobb das curvas torácica proximal, torácica principal e lombar. (B) Radiografia panorâmica em incidência em perfil com as medidas pelo método de Cobb da cifose regional T2- T5 (vermelho), cifose torácica global T5-T12 (amarelo) e cifose regional T10-L2 (azul) (Arquivo pessoal).

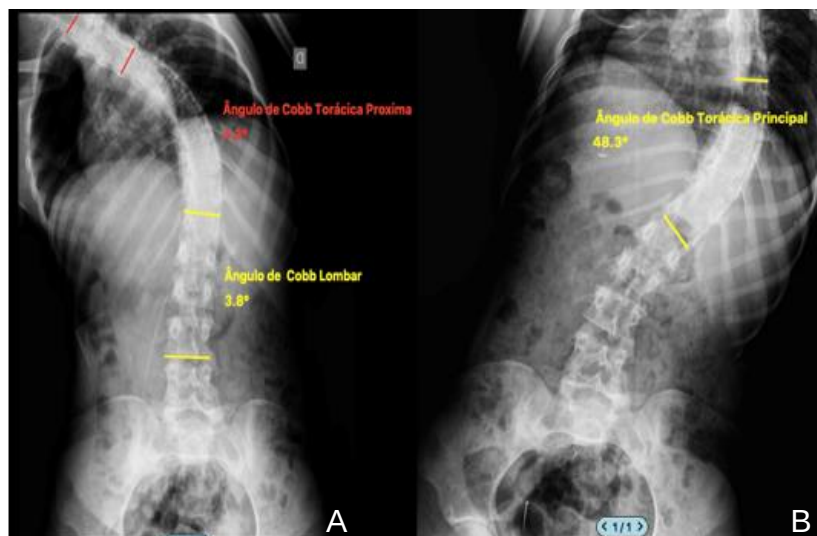


Figura 20 – Teste de flexibilidade da curvas escolióticas. (A) Radiografia panorâmica de coluna vertebral em incidência antero-posterior em supino com inclinação esquerda, mostrando a flexibilidade da curva torácica proximal pelo método de Cobb (vermelho) e flexibilidade da curva lombar (amarelo). **(B)** Radiografia panorâmica em incidência antero-posterior em supino com inclinação direita com medida da flexibilidade da curva torácica principal pelo método de Cobb (amarelo). (Arquivo pessoal).

4.4 Análise radiográfica

A avaliação das radiografias panorâmicas de coluna vertebral foi realizada utilizando o software Surgimap Spine (Nemaris Inc. New York, USA), versão 2.2.15.5. A análise dos dados compreendeu a avaliação da extensão da curva, a definição do ângulo de Cobb, a maturidade esquelética, a determinação da vértebra apical torácica e lombar e o grau de rotação, o equilíbrio coronal, a identificação da última vértebra da curva, da vértebra neutra e da vértebra estável e o ângulo da última vértebra da curva. As curvas lombares foram classificadas de acordo com os modificadores lombares e os parâmetros sagitais foram definidos em radiografias panorâmicas em perfil. A classificação de Lenke foi utilizada para definir o padrão da curva em todos os pacientes.

4.4.1 Ângulo de Cobb e extensão da curva

O ângulo de Cobb foi calculado em radiografias panorâmicas da coluna vertebral em anteroposterior utilizando como referência a vértebra final superior e a vértebra inferior da

curva. O ângulo de Cobb é definido pelo ângulo formado pelo cruzamento de uma linha perpendicular à placa vertebral da vértebra superior da curva com uma linha perpendicular à placa vertebral da vértebra inferior da curva. As vértebras superior e inferior da curva delimitam a sua extensão.

4.4.2 Maturidade esquelética

A avaliação da maturidade esquelética foi feita pelo método de Risser (RISSER, 2010), através da visualização da apófise do íliaco em radiografia panorâmica de coluna em AP (**Figura 21**). O método classifica a idade óssea em cinco tipos, de zero a 5, sendo os tipos 4 e 5 indicativos de maturidade esquelética.

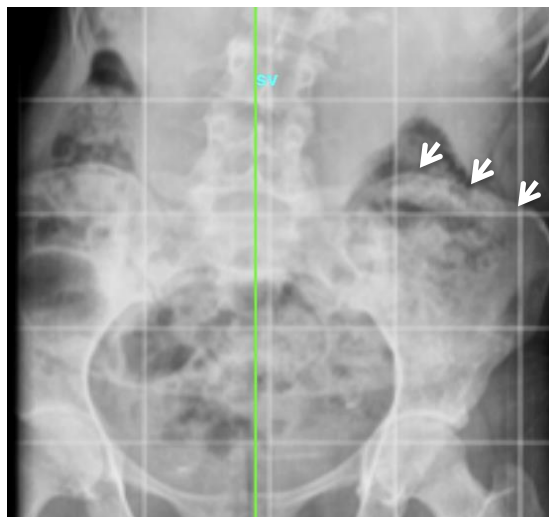


Figura 21 - Avaliação da maturidade esquelética pelo método de Risser. No exemplo toda a extensão da apófise do íliaco está ossificada (Risser IV) (Arquivo pessoal). SV=vértebra estável.

4.4.3 Determinação do ápice da curva e do grau de rotação

A definição da vértebra ou disco ápice da curva torácica e lombar mais transladado em relação à linha centro sacral vertical (CSVL) foi realizada em radiografia panorâmica de coluna em AP (**Figura 22**) (O'BRIEN, 2008). O grau de rotação (de zero a 4) foi avaliado pelo método de Nash-Moe (NASH e MOE, 1969).

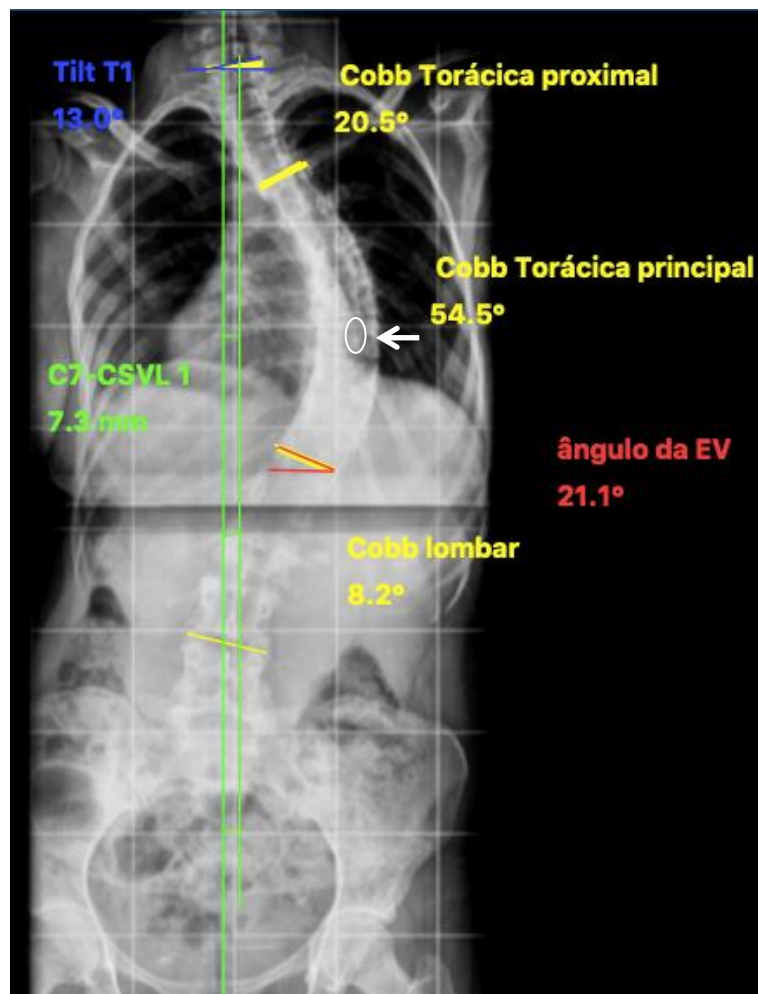


Figura 22 – Avaliação do ápice da curva torácica e do grau de rotação. Radiografia panorâmica de coluna vertebral em incidência antero-posterior com localização da vértebra ápice em T9 (seta branca) e medida do grau de rotação pelo método de Nash-Moe, utilizando posicionamento do pedículo da convexidade da vértebra em T9 (círculo branco). A medida do desvio coronal de 7,3 mm é obtida pela distância da linha centro sacral vertical a linha de prumo de C7 (verde). A linha vermelha define a medida do ângulo de inclinação da *end vertebra* (EV). (Arquivo pessoal).

4.4.4 Equilíbrio coronal

O equilíbrio coronal foi definido em milímetros pela medida da distância entre as linhas centro sacral vertical e linha centro da sétima vertebra de C7 (C7PL).

4.4.5 Última vértebra da curva, vértebra neutra e vértebra estável.

A última vértebra da curva (EV) foi definida como a vértebra mais caudal da curva; a vértebra neutra (NV) como a mais cefálica situada inferiormente ao ápice e que apresenta os pedículos simétricos. A vértebra estável (SV) foi definida como a vértebra inferior ao ápice da

curva bissectada pela linha centro sacral vertical. Estas vértebras foram identificadas em radiografias panorâmicas da coluna vertebral em AP (O'BRIEN, 2008).

4.4.6 Vértebra sagital estável

Foi considerada a vértebra estável a vértebra mais superior, tocada pela linha vertical sacral posterior (PSVL) (CHO et al., 2009) (**Figura 23**).



Figura 23 - Método de escolha da vértebra sagital estável. A vértebra estável sagital foi considerada L2, a vértebra mais superior tocada pela linha sacral vertical posterior (LSVP) em verde (Arquivo pessoal).

4.4.7 Ângulo da última vértebra da curva

Em radiografias panorâmicas da coluna vertebral foram realizadas medidas do ângulo da última vértebra da curva (EV), definido pelo ângulo formado pela linha paralela à placa inferior da EV com uma linha horizontal (**Figura 24**).

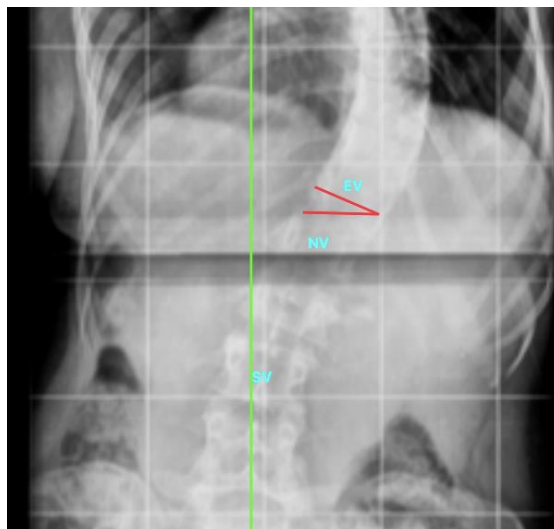


Figura 24 – Magnificação da região lombar da radiografia panorâmica de coluna. Em verde a linha centro sacral vertical, a vértebra superior (L3) mais estável (SV), a vértebra neutra (NV) em L1 e a *end* vértebra (EV). Em vermelho a medida do ângulo de inclinação da última vértebra da curva (EV) (Arquivo pessoal).

4.4.8 Avaliação dos modificadores lombares

Os modificadores lombares foram classificados conforme os critérios de Lenke, em tipo A, quando a linha centro sacral vertical está entre os pedículos da curva lombar; tipo B quando a LCSV toca no pedículo da vértebra ápice da curva lombar; e tipo C quando o ápice da curva lombar está transladado, com a LCSV sem contato com pedículo vertebral (**Figura 25**).

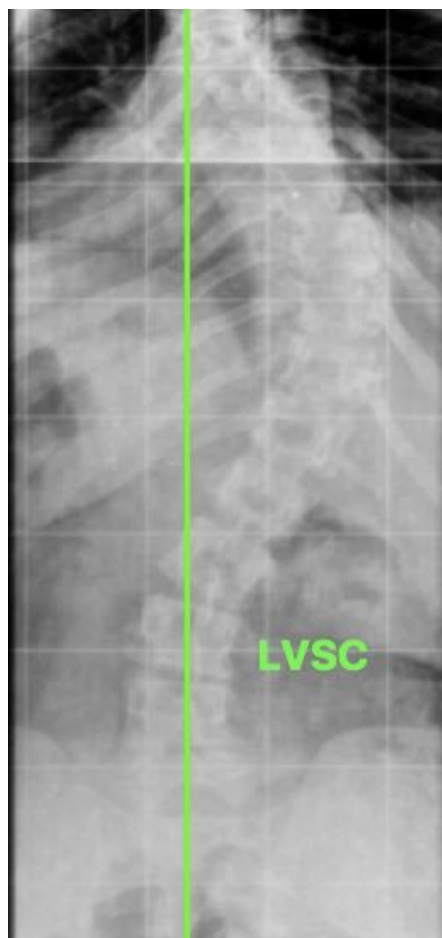


Figura 25 - Método de avaliação do modificador lombar pelo critério de Lenke. O critério utilizado foi à relação da vértebra apical lombar com a linha vertical sacral central (LVSC) em verde. Exemplo de radiografia de um paciente classificado com o tipo de modificador lombar A, segundo critério de Lenke (Arquivo pessoal).

4.4.9 Parâmetros radiográficos sagitais

Foram realizadas medidas radiográficas do ângulo de cifose nos segmentos T2-T5, T5-T12 e T10-L2, fundamentais para classificação de Lenke. A lordose lombar foi medida utilizando o platô superior de T12 e o platô superior em S1 pelo método de Cobb (**Figura 26**).

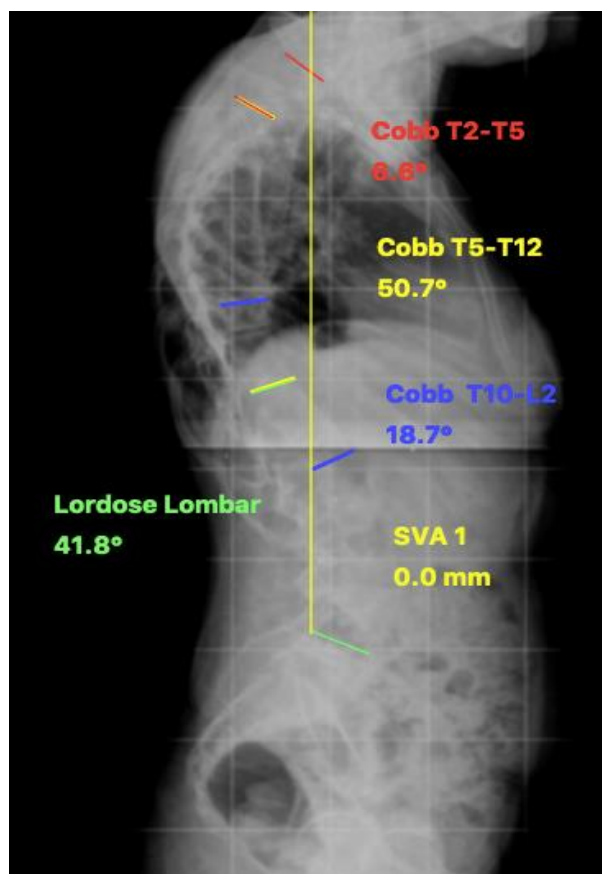


Figura 26 - Radiografia panorâmica de coluna vertebral em perfil para avaliação dos parâmetros sagitais. Método de Cobb para medir a cifose torácica T5-T12 (amarelo) e lordose lombar T12-S1 (verde) (Arquivo Pessoal).

4.5 Análise dos polimorfismos de *PAX-1*

O DNA genômico foi extraído de uma amostra de mucosa oral, coletada com *swab* estéril, utilizando o kit de extração DNA *Invisorb® Spin* (Qiagen, Alemanha), conforme procedimentos recomendados pelo fabricante. Em resumo, a extração de DNA foi realizada pela lise das células, juntamente com a incubação com Proteinase K. Foram utilizados colunas e tampões específicos para purificação e isolamento do DNA. Após as lavagens e centrifugações necessárias, o DNA foi isolado com um tampão de eluição. A quantidade e a pureza do DNA foram determinadas em espectrofotômetro Nanodrop® (Thermo Scientific, Wilmington, EUA), nos comprimentos de onda de 230, 260 e 280nm.

A análise dos polimorfismos do gene *PAX-1* rs6137473 e rs169311 foi realizada pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real utilizando o sistema rhAmp, (**Figura 27**). A especificidade dos ensaios de genotipagem rhAmp se baseia no uso de iniciadores (*primers*) ativados por RNase-H2, com controle enzimático.

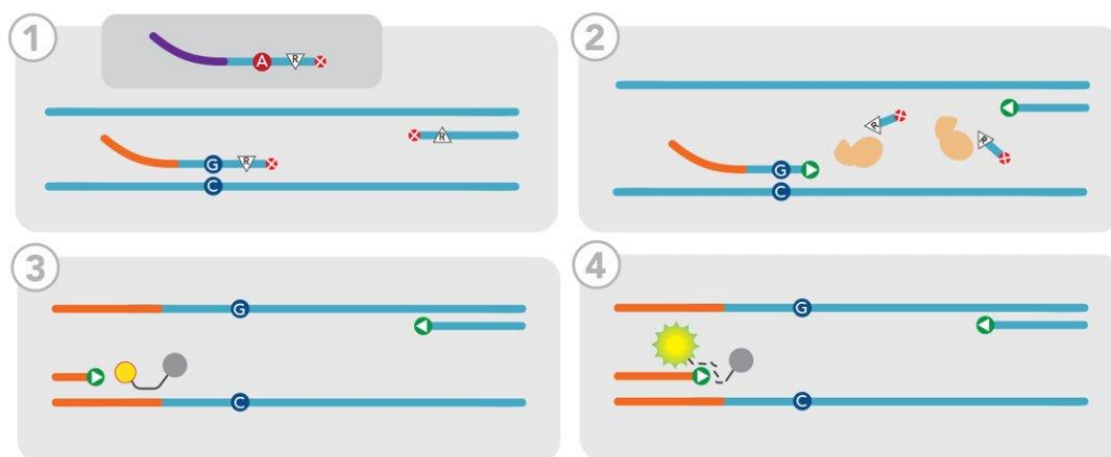


Figura 27 - Representação esquemática da metodologia rhAmp® para genotipagem de polimorfismos. (1) Os iniciadores específicos se anelam a sequência correspondente no local do polimorfismo. (2) A enzima RNase H2 cliva os iniciadores que estão anelados à sequência alvo, permitindo que a enzima Taq Polimerase faça a extensão da fita de DNA. (3) Durante os 2 primeiros ciclos de amplificação, uma cauda é incorporada ao fragmento de interesse amplificado, para que seja reconhecido por um sistema universal baseado em sondas marcadas com fluorescência. (4) Durante a extensão da fita de DNA a enzima Taq Polimerase degrada a sonda permitindo que o sinal de fluorescência emitido seja capturado pelo sistema óptico (Qiagen).

As reações de PCR para genotipagem dos polimorfismos de interesse foram realizadas em um volume final de 10 µL, com 10 ng de DNA, RhAmp Master Mix de genotipagem e o rhAmp Reporter Mix (Integrated DNA Technologies, Iowa, EUA), além do ensaio específico rhAmp SNP de oligonucleotídeo e sonda (Integrated DNA Technologies, Iowa, EUA), com H₂O q.s.p. As condições da PCR foram: 95°C por 10 minutos para ativação enzimática, acompanhados de 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 10 segundos, anelamento a 60°C por 30 segundos e extensão a 68°C por 20 segundos. A detecção dos genótipos foi realizada no aparelho 7500 Real-Time System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) (**Figura 28**).

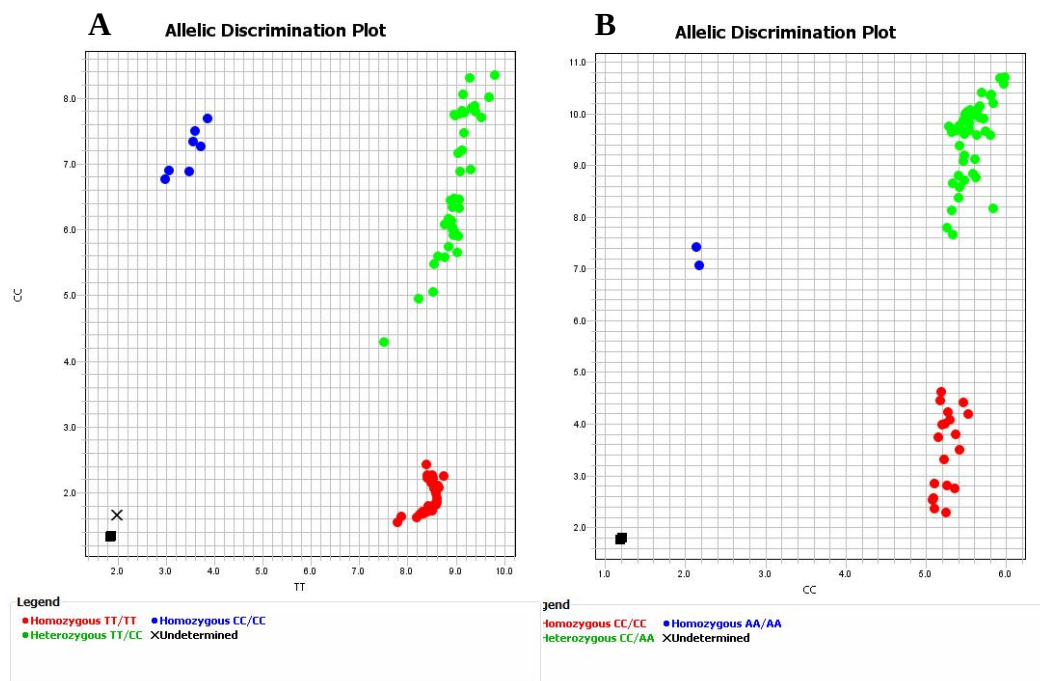


Figura 28 - Determinação dos diferentes genótipos dos polimorfismos do gene *PAX-1* utilizando a técnica de genotipagem por PCR em tempo real. (A) Exemplo da análise do polimorfismo rs6137473 e (B) rs169311. O quadrado em preto representa o controle negativo e o X indica a amostra que não amplificou. Os círculos em vermelho são os genótipos homozigotos selvagem; em azul os homozigotos variantes e, em verde, os indivíduos com genótipo heterozigoto (Arquivo pessoal).

4.6 Análise estatística

Todas as informações utilizadas no estudo foram extraídas dos questionários e tiveram entrada dupla no banco de dados (Excel). Foi realizada avaliação qualitativa da coleta das informações e revisão criteriosa de todas as informações importadas dos respectivos questionários.

As variáveis contínuas foram apresentadas como média $\pm$ desvio padrão (DP) e as diferenças entre as médias foram avaliadas utilizando o teste *t* de Student. Os dados categóricos foram expressos em porcentagem e avaliados pelo teste Qui-quadrado de Person (X^2) ou teste exato de Fisher, quando necessário.

A frequência alélica e genotípica dos polimorfismos do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) foi determinada por contagem direta dos alelos, e foi calculado o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). As frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos estudados entre os

grupos (casos de escoliose e controles, assim como entre os subgrupos de escoliose, de acordo com a gravidade/fenótipo da doença), foram comparadas pelo teste χ^2 ou, quando fosse o caso, pelo teste exato de Fisher. Para avaliar a magnitude de associação entre a exposição de interesse (polimorfismos do gene *PAX-1*) e o desenvolvimento da escoliose foi realizada uma análise univariada, sendo obtidas razões de chance (*odds ratio* - OR) e seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote estatístico SPSS, versão 20.0 e um valor de P menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

5.1 Demografia da população de estudo

No período de janeiro de 2010 a janeiro de 2019 foram atendidos no INTO 496 pacientes com diagnóstico de escoliose, com indicação para tratamento cirúrgico. Deste total, 180 foram diagnosticados com escoliose idiopática do adolescente Lenke 1 e 2. Dos 180, 60 (33,3%) retornaram ao contato da pesquisa e aceitaram participar do presente estudo. Entretanto, uma paciente foi excluída por ausência dos exames radiográficos. Assim, a amostra do grupo com escoliose idiopática do adolescente foi constituída de 59 indivíduos com indicação cirúrgica . O grupo controle, sem doença na coluna vertebral, foi constituído por 119 voluntários saudáveis (Figura 29).

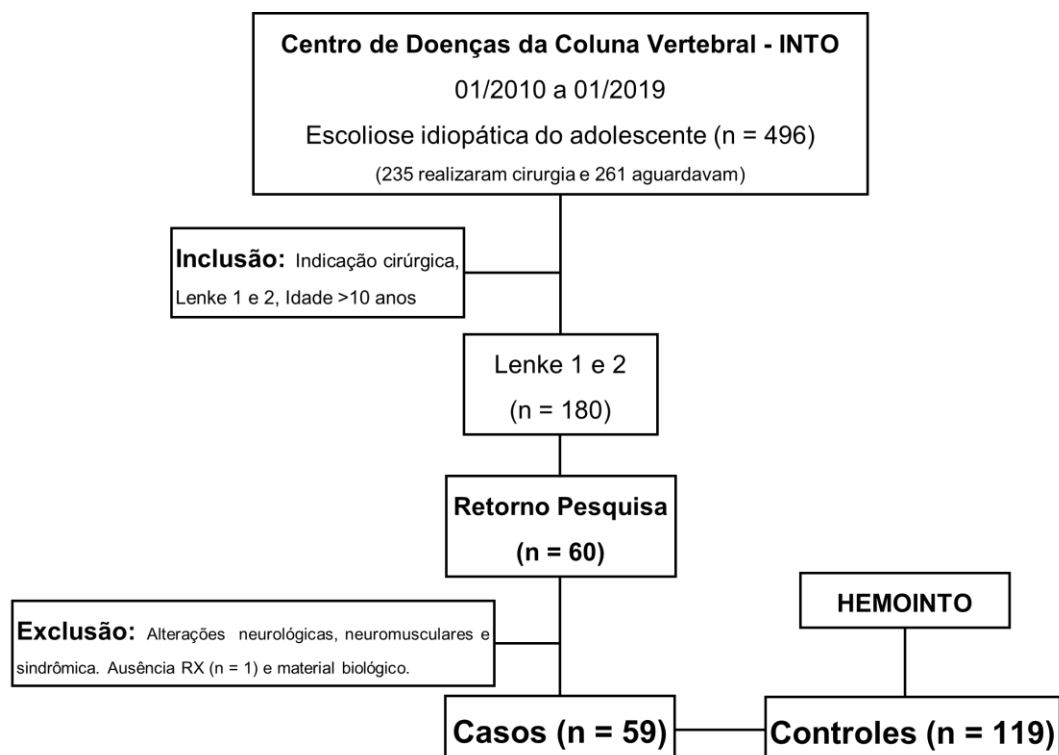


Figura 29 - Fluxograma de recrutamento do estudo.

Os dados demográficos dos 178 indivíduos incluídos no estudo estão reunidos na **Tabela 2**. A média de idade do grupo controle (29 ± 7 anos) foi significativamente maior que dos casos de escoliose, com maior concentração de indivíduos acima dos 21 anos (87%), já que os voluntários foram recrutados no banco de doadores de sangue do INTO (HEMOINTO). No grupo de pacientes com escoliose idiopática, a média de idade no momento do recrutamento foi de 23 ± 6 anos, com maior concentração (85%) na faixa etária entre 16 a 30 anos. Aproximadamente 90% dos casos e dos controles são do gênero feminino. A média do IMC foi significativamente diferente entre os casos e os controles ($P < 0,0001$). Cerca de 80% dos casos de escoliose apresentaram baixo peso ou IMC normal, enquanto que no grupo controle houve um predomínio (84%) de sobrepeso e de peso normal.

Tabela 2 - Demografia dos participantes do estudo (n = 178).

Variáveis	Controles (n = 119)	Escoliose (n = 59)	P-valor
Média ± DP (faixa)			
Idade média (anos)	28,6 ± 6,6 (18-40)	22,8 ± 5,7 (12-40)	<0,0001 ^a
IMC	25,7 ± 4,4 (18,4-43,3)	21,5 ± 5,2 (14-39,9)	<0,0001 ^a
Idade (anos)	N (%)		
10 – 15	0 (0)	4 (6,8)	0,0004 ^b
16 – 20	16 (13,4)	21 (35,6)	
21 – 25	28 (23,5)	19 (32,2)	
26 – 30	29 (24,4)	10 (16,9)	
31 – 35	20 (16,8)	3 (5,1)	
36 – 40	26 (21,9)	2 (3,4)	
Sexo			
Feminino	108 (90,8)	53 (89,8)	0,794 ^b
Masculino	11 (9,2)	6 (10,2)	
IMC			
<18,5	2 (1,7)	15 (25,4)	<0,0001 ^b
18,5 ≤ BMI ≤ 24,9	59 (49,6)	32 (54,2)	
25 ≤ BMI ≤ 29,9	41 (34,5)	8 (13,6)	
30 ≤ BMI < 40	16 (13,4)	4 (6,8)	
≥ 40	1 (0,8)	0 (0)	

^aTeste *t* de Student. ^bTeste Qui-quadrado de Pearson (X^2) ou teste exato de Fisher, quando necessário. DP: desvio padrão. Faixa: valor mínimo e máximo. Idade expressa em anos. IMC: índice de massa corporal, expresso em kg/m².

5.2 Avaliação da extensão das curvas torácica principal

A curva principal torácica apresentou extensão de segmentos com a seguinte distribuição: T6-T12 em 22,0% (n=13), T5-T11 em 18,6% (n=11), T5-T12 em 11,9% (n=7), T6-T11 em 11,9% (n=7), T5-T10 e T6-L1 em 6,8% (n=4) cada e T4-T11 em 5,0% (n=3). Os segmentos T4-T12, T6-L2 e T6-T10 foram observados em 3,4% (n=2) dos casos. Em 1,7% (n=1) dos casos apresentaram os segmentos T4-T10, T7-T11, T7-T12 e T8-L2 (**Figura 30**).

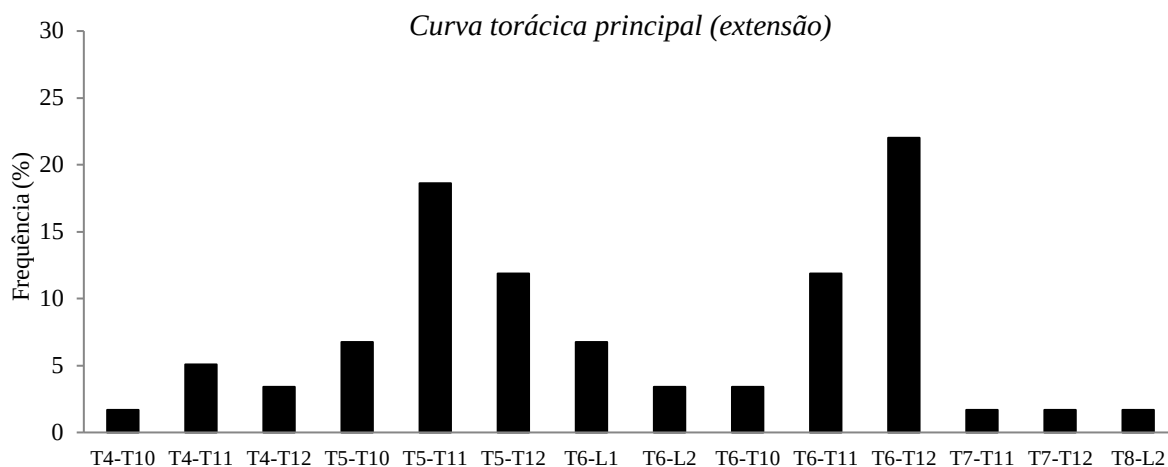


Figura 30 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a curva torácica principal (extensão).

5.3 Medidas do ângulo de Cobb

Os resultados das medidas do ângulo de Cobb nas curvas torácica proximal, torácica principal e lombar e os respectivos ângulos do teste de inclinação estão apresentados na **Tabela 3**.

O valor angular médio da curva torácica proximal foi 30,8° (variação 13,4° - 52°) e 14,6° (variação 0° - 41,7°) no teste de inclinação. Para a curva torácica principal o valor médio do ângulo de Cobb foi 58,7° (variação 40° - 92°) e 40,7° no teste de inclinação (variação 16,9° - 75°). O valor angular médio da curva lombar foi 30,4° (variação 2,3° - 54,2°) e 11° no teste de inclinação (variação 0° - 24,8°).

Tabela 3 – Distribuição dos 59 pacientes segundo os ângulos das curvas torácica proximal, torácica principal e lombar e os respectivos ângulos de inclinação.

Variáveis das curvas	Escoliose (n = 59)	
	Média ± DP	Faixa
Torácica proximal		
Ângulo Cobb	30,8 ± 9,2	13,4 a 52
Ângulo de inclinação	14,6 ± 10,2	0 a 41,7
Torácica principal		
Ângulo Cobb	58,7 ± 10,3	40 a 92,9
Ângulo de inclinação	40,7 ± 13,5	16,9 a 75
Lombar		
Ângulo Cobb	30,4 ± 12,6	2,3 a 54,2
Ângulo de inclinação	11,0 ± 8,0	0 a 24,8

DP: desvio padrão. Faixa: valor mínimo e máximo.

5.4 Avaliação da maturidade esquelética

Todos os 59 pacientes apresentavam a cartilagem trirradiada fechada. Considerando o método descrito por Risser, que utiliza como parâmetro para avaliar a maturidade esquelética a avaliação gradual, de anterolateral para póstero-lateral da ossificação da apófise da crista ilíaca, 78,0% (n=46) dos pacientes foram classificados no estágio 5 (quando há fusão completa da apófise ao osso ilíaco), 20,3% (n=12) no estágio 4 (quando 100% da crista ilíaca está coberta pela ossificação) e 1,7% (n=1) no estágio 3, (quando a ossificação atinge 75% da crista ilíaca) (Figura 31).

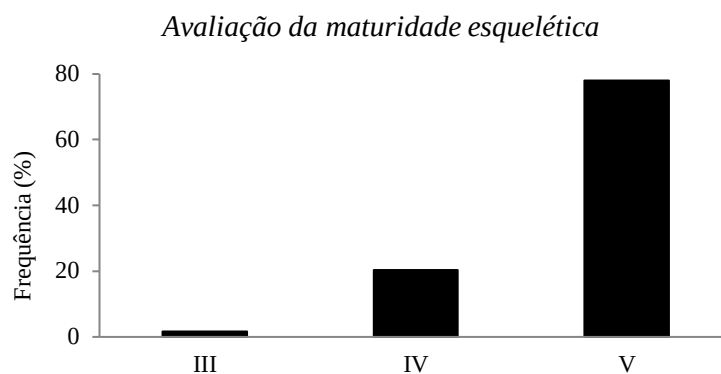


Figura 31 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a maturidade esquelética definida pelo método de Risser.

5.5 Avaliação da vértebra do ápice da curva lombar

A vértebra do ápice da curva lombar mais frequente foi L3 (n=29 ou 49,2%), seguida do disco L2-L3 (n=17 ou 28,8%) e da vértebra L2 (n=6 ou 10,2%). Os discos L1-L2 e L3-L4 corresponderam, respectivamente, a 5,1% (n=3) e 6,7% (n=4) dos casos (**Figura 32**).



Figura 32 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra do ápice da curva lombar.

5.6 Avaliação do grau de rotação da vértebra do ápice da curva torácica

Segundo o método de Nash-Moe, 76,3% (n=45) dos pacientes apresentaram rotação da vértebra apical torácica grau II, 13,5% (n=8) grau I e 10,2% (n=6) grau III (**Figura 33**).



Figura 33 - Distribuição dos 59 pacientes segundo o grau de rotação da vértebra apical torácica.

Também de acordo com os critérios de Nash-Moe, na curva lombar compensatória o grau de rotação da vértebra apical foi zero em 37,3% (n=22), I em 42,4% (n=25), II em 18,6% (n=11) e III em um caso (1,7%) (**Figura 34**).

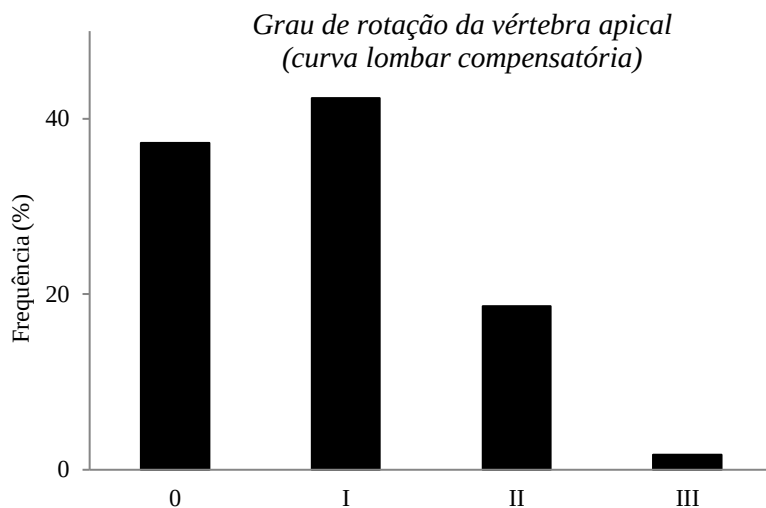


Figura 34 - Distribuição dos 59 pacientes segundo o grau de rotação da vértebra apical da curva lombar compensatória.

Em 30,5% (n=18) dos pacientes a vértebra T9 foi a vértebra localizada no ápice da curva torácica principal. As vértebras T8-T9 corresponderam a 18,6% (n=11), T9-T10 a 16,9% (n=10),

T8 a 13,6% (n=8), T10 a 11,9% (n=7), T7-T8 a 5,1% (n=3), 1,7% (n=1) para a localização do disco T7 e 1,7% (n=1) para T1 (**Figura 35**).

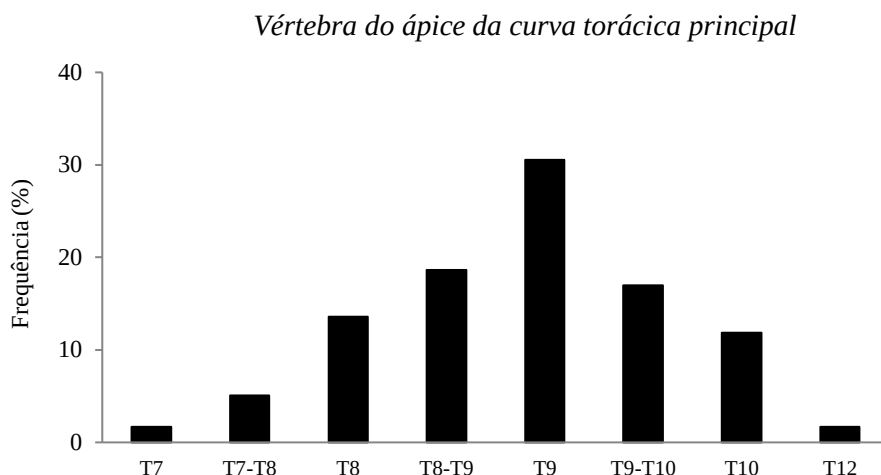


Figura 35 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra do ápice da curva torácica principal.

5.7 Avaliação do grau de descompensação coronal

Os resultados da descompensação coronal medida pela distância da linha vertical do centro de C7 e da linha centro sacal vertical foi de 13,6 mm, variando entre zero e 50,7mm. O ângulo médio da última vértebra da curva foi de 27°, com uma variação entre 13 e 50° (**Tabela 4**).

Tabela 4 - Dados radiográficos coronais adicionais dos casos de escoliose idiopática.

Variáveis	Escoliose (n = 59)	
	Média ± DP	Faixa
Desvio coronal C7 – LVSC (mm)	13,6 ± 10,1	0 a 50,7
Ângulo última vertebra da curva	27 ± 6,4	13 a 50

DP: desvio padrão. Faixa: valor mínimo e máximo. C7 = centro da sétima vértebra cervical; LVSC = linha vertical sacral central.

5.8 Avaliação da vértebra neutra

Segundo o método de Nash-Moe, 42,4% (n=25) dos pacientes apresentaram a vértebra neutra em T12, 20,3% (n=12) em L1, 11,8% (n=7) em L2, 10,2% (n=6) em T11 e 8,5% (n=5) em L4. As vértebras L3 e T10 corresponderam a 5,1% (n=3) e 1,7% (n=1) dos casos, respectivamente (**Figura 36**).

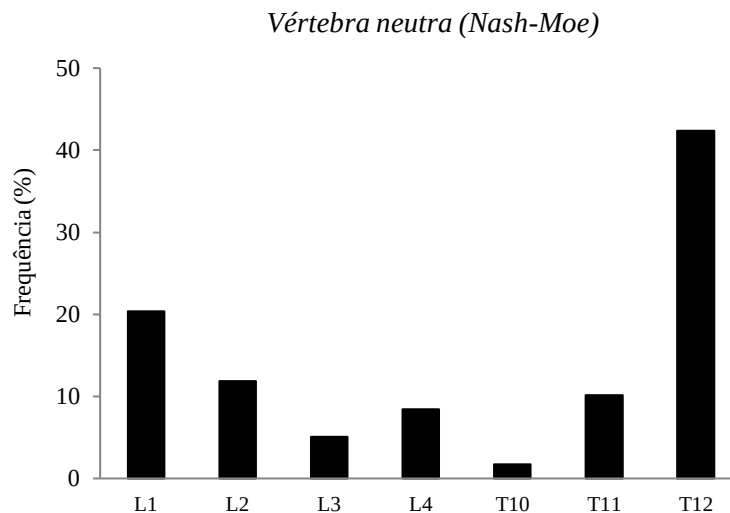


Figura 36 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra neutra.

5.9 Avaliação da vértebra final da curva

Em 40,7% (n=24) dos pacientes a vértebra T12 foi a vértebra final da curva (*end-vertebra*) para medir o ângulo de Cobb, seguida em 38,9% (n=23) dos pacientes por T11. As vértebras T10, L1 e L2 corresponderam, respectivamente, a 6,8% (n=4), 8,5% (n=5) e 5,1% (n=3) dos casos (**Figura 37**).

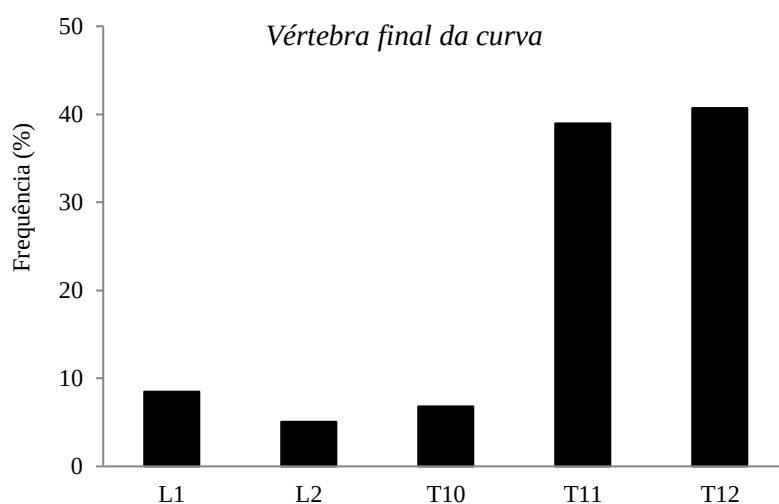


Figura 37 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra final da curva utilizada para medir o ângulo de Cobb.

5.10 Avaliação da vértebra sagital estável

L1 foi a vértebra sagital estável em 54,2% (n=32) dos pacientes, L2 em 28,8% (n=17) e L3 em 3,4% (n=2). A vértebra T12 foi observada em 13,6% (n=8) dos casos (**Figura 38**).

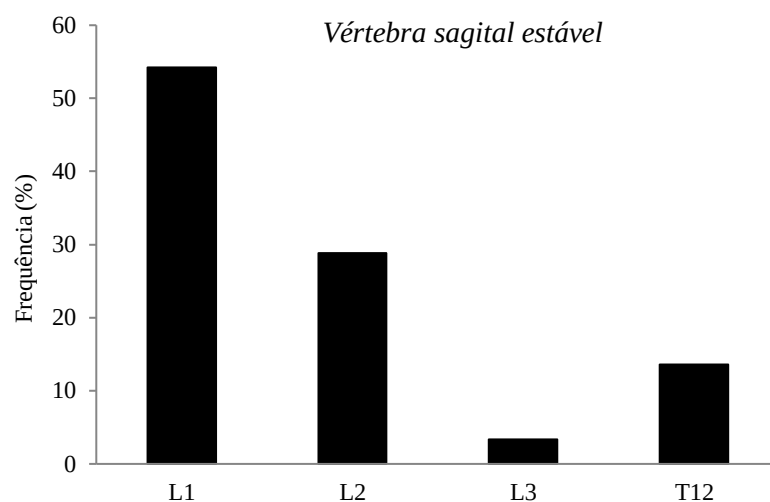


Figura 38 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a vértebra sagital estável.

Os ângulos sagitais obtidos nas radiografias em perfil na avaliação da cifose segmentar, global e lordose dos 59 pacientes estão discriminados na **Tabela 5**.

Tabela 5 - Parâmetros da radiografia em perfil para avaliação de cifose segmentar, global e lordose.

Ângulos sagitais	Escoliose (n = 59)	
	Média ± DP	Faixa
T2-T5 (segmentar)	5,7 ± 4,4	0,5 a 17,6
T5-T12 (global)	34 ± 14,8	7,8 a 70,1
T10-L12 (segmentar)	8,2 ± 6,0	0 a 28,8
T12-S1 (lordose lombar)	-54,8 ± 11,5	-90,2 a -30,4

DP: desvio padrão. Faixa: valor mínimo e máximo.

Dos 59 pacientes, 89,8% (n=53) foram diagnosticados com escoliose Lenke 1 e 10,2% (n=6) como Lenke 2. O modificador lombar A foi observado em 67,8% (n=40) dos pacientes, seguido pelos modificadores B (n= 6, 27 ou 1%) e C (n=3 ou 5,1%). Para o modificador sagital houve predomínio do tipo normal (n=44 ou 74,6%) com valores da cifose entre 10,1° a 40°. Cifose $\leq 10^\circ$ (hipo ou negativo) e $\geq 40^\circ$ (hiper ou positivo) foi identificada respectivamente em 1,7% (n=1) e 23,7% (n=14) dos casos. Considerando o modificador lombar e sagital (T5-T12) a forma mais frequente de escoliose foi do tipo Lenke 1A normal (n=25 ou 42,4%), seguido de Lenke 1B normal (n=13 ou 22%) e Lenke 1A positivo (n=8 ou 13,5%). Apenas um paciente (1,7%) teve o diagnóstico de escoliose Lenke 1A negativo e outro Lenke 1C positivo (n=1 ou 1,7%). Três pacientes (5,1%) foram classificados como Lenke 1B positivo e outros dois (3,4%) como 1C normal. Dos casos Lenke 2, quatro pacientes (6,8%) foram classificados como A (normal) e dois (3,4%) como A positivo.

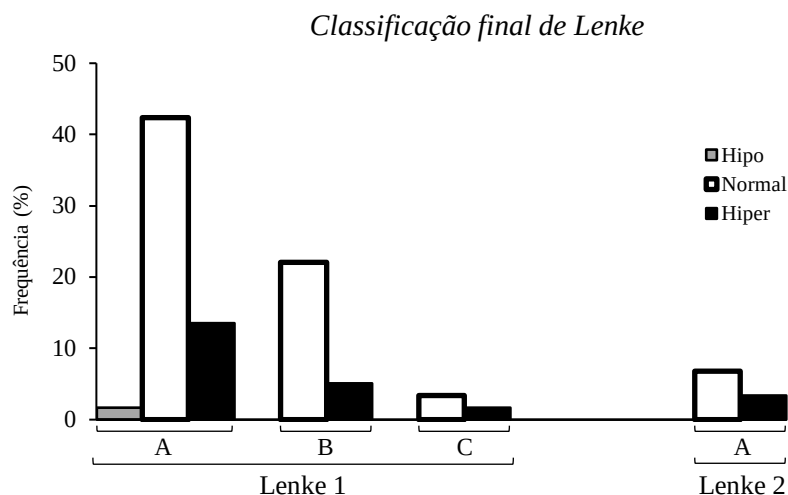


Figura 39 - Distribuição dos 59 pacientes segundo a classificação final da escoliose.

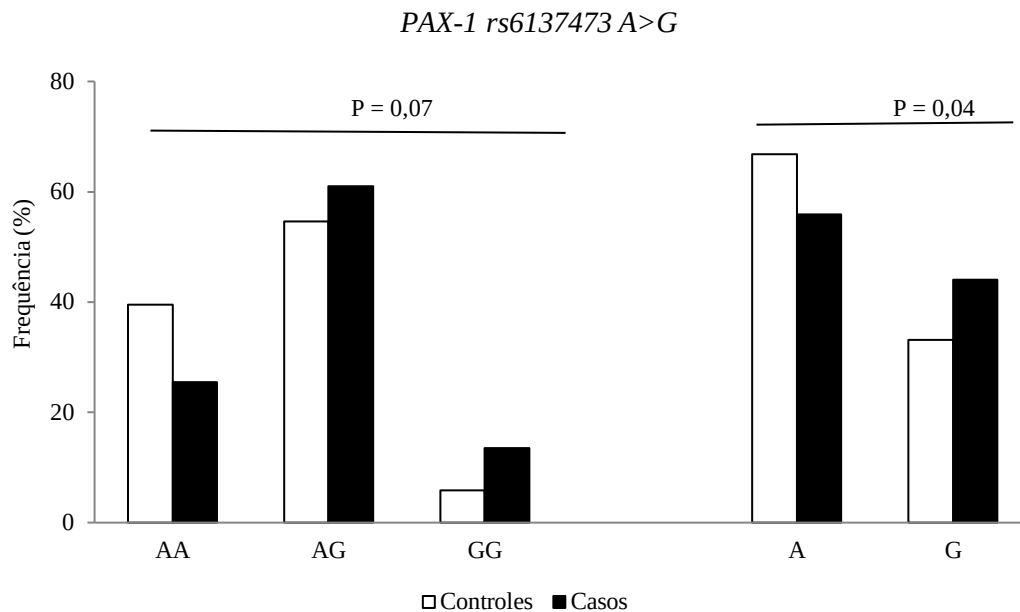
5.11 Polimorfismos do gene *PAX-1*

A frequência dos polimorfismos *PAX-1* rs6137473 e rs169311 nos casos de escoliose estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A distribuição da frequência alélica e genotípica de ambos os polimorfismos na população estudada (casos de escoliose e no grupo controle) está descrita na **Figura 40**. Os alelos variantes dos polimorfismos rs6137473 G e rs169311 A de *PAX-1* estão presentes, respectivamente, em 44,1% (n=52) e 50,8% (n=60) dos pacientes. Já no grupo controle a frequência foi de 33,2% (n =79) para o alelo G (rs6137473) e 36,6% (n=87) para o alelo A (rs169311). Foi observada diferença significativa na frequência dos alelos e genótipos do polimorfismo rs169311 e dos alelos do rs6137473 comparando os casos de escoliose e os controles (**Figura 40**).

Após análise univariada foi observada associação positiva com o desenvolvimento da escoliose na presença de ambos os polimorfismos do gene *PAX-1*, considerando os alelos (rs6137473 G e rs169311 A) e genótipos homozigotos variantes (rs6137473 GG e rs169311 AA), conforme descrito na **Tabela 6**. O genótipo *PAX-1* rs6137473 GG confere risco aumentado de aproximadamente 3,6 vezes de desenvolver a doença comparada aos indivíduos com genótipo rs6137473 AA. Considerando o polimorfismo rs169311, nenhum indivíduo do grupo

controle apresentou o genótipo rs169311 AA, conferindo risco de até 70 vezes do desenvolvimento da escoliose, comparado aos indivíduos que apresentam o genótipo rs169311 CC.

A



B

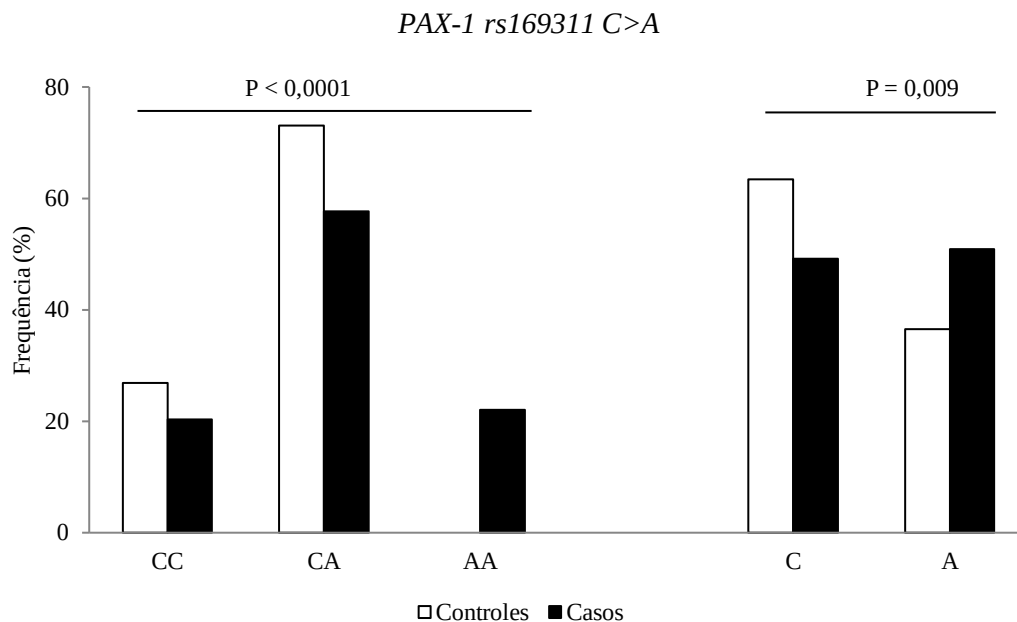


Figura 40 - Distribuição da frequência dos genótipos e alelos dos polimorfismos do gene *PAX-1* nos casos de escoliose (n = 59) e no grupo controle (n = 119). (A) Polimorfismo *PAX-1* rs6137473. (B) Polimorfismo *PAX-1* rs169311. Valor de P após teste Qui-quadrado de Pearson (χ^2) ou teste exato de Fisher.

Tabela 6 - Análise de associação dos polimorfismos do gene PAX-1 com o desenvolvimento da escoliose (n = 178).

SNPs <i>PAX-1</i>	Controles (n = 119)	Escoliose (n = 59)	P ^a	OR (IC 95%)
N (%)				
rs6137473 (A>G)				
AA	47 (39,5)	15 (25,4)		1 ^b
AG	65 (54,6)	36 (61,0)	0,126	1,74 (0,85 – 3,53)
GG	7 (5,9)	8 (13,6)	0,027	3,58 (1,11 – 11,5)
A	159 (66,8)	66 (55,9)		1 ^b
G	79 (33,2)	52 (44,1)	0,045	1,59 (1,01 – 2,49)
rs169311 (C>A)				
CC	32 (26,9)	12 (20,4)		1 ^b
CA	87 (73,1)	34 (57,6)	0,917	1,04 (0,48 – 2,26)
AA	0 (0,0)	13 (22,0)	<0,0001	70,2 (3,87 – 1273)
C	151 (63,4)	58 (49,2)		1 ^b
A	87 (36,6)	60 (50,8)	0,009	1,80 (1,15 - 2,81)

^aTeste Qui-quadrado de Pearson (X^2) ou teste exato de Fisher, quando necessário. ^bGrupo de referência. OR = *odds ratio*; IC = intervalo de confiança 95%.

A presença dos polimorfismos do gene *PAX-1* também foi avaliada quanto à gravidade da escoliose atribuída pelo modificador lombar e sagital e pelo valor do ângulo da curva e (Tabelas 7 a 9). Considerando que o modificador lombar B e C são fenótipos mais grave do que o fenótipo com modificador lombar A, foi realizada comparação entre os dois grupos (A versus B+C). Devido ao número reduzido de pacientes estratificados nos grupos a comparação foi feita entre pacientes com a forma clínica mais agressiva (B+C) e os pacientes com a forma menos grave (A). Na comparação foi observado que na presença do alelo variante rs6137473 G há um risco aumentado de cerca de duas vezes para o fenótipo mais grave de escoliose Lenke 1 e 2 com modificador lombar B e C (OR=2,29; IC 95% =1,04 – 5,04) em relação aos indivíduos que apresentam o alelo rs6137473 A (Tabela 7).

Tabela 7 - Análise de associação dos polimorfismos do gene PAX-1 com a gravidade da escoliose Lenke 1 e 2, considerando o modificador lombar (n = 59).

SNPs <i>PAX-1</i>	Modificador lombar		P ^a
	A (n = 40)	B e C (n = 19)	
	N (%)		
rs6137473 (A>G)			
AA	14 (35,0)	1 (5,3)	0,041
AG	22 (55,0)	14 (73,7)	
GG	4 (10,0)	4 (21,0)	
A	50 (62,5)	16 (42,1)	0,047 ^b
G	30 (37,5)	22 (57,9)	
rs169311 (C>A)			
CC	11 (27,5)	1 (5,3)	0,141
CA	21 (52,5)	13 (68,4)	
AA	8 (20,0)	5 (26,3)	
C	43 (53,8)	15 (39,5)	0,171
A	37 (46,2)	23 (60,5)	

^aTeste Qui-quadrado de Pearson (X^2) ou teste exato de Fisher, quando necessário. ^bOR = 2,29 (IC 95% = 1,04 – 5,04).

Considerando a gravidade da escoliose idiopática Lenke 1 e 2, segundo a gravidade da cifose torácica medida de T5-T12, não foi observada diferença significativa na presença de ambos os polimorfismos do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) entre os casos de escoliose que apresentaram modificador sagital normal (ângulo da cifose entre 10,1° à 40°) comparado aos que apresentaram cifose maior que 40° (**Tabela 8**). Apenas um caso de escoliose apresentou o ângulo da cifose torácica menor ou igual a 10° (hipo ou negativo) não permitindo a comparação entre os subgrupos.

Tabela 8 - Distribuição dos polimorfismos do gene PAX-1 de acordo com a gravidade da escoliose Lenke 1 e 2, considerando a gravidade da cifose torácica (n = 58).

Modificador sagital T5-T12			
SNPs <i>PAX-1</i>	Normal (n = 44)	Positivo (n = 14)	P ^a
N (%)			
rs6137473 (A>G)			
AA	11 (25,0)	4 (28,6)	0,561
AG	28 (63,6)	7 (50,0)	
GG	5 (11,4)	3 (21,4)	
A	50 (56,8)	15 (53,6)	0,829
G	38 (43,2)	13 (46,4)	
rs169311 (C>A)			
CC	9 (20,5)	3 (21,4)	0,994
CA	25 (56,8)	8 (57,2)	
AA	10 (22,7)	3 (21,4)	
C	43 (48,9)	14 (50,0)	0,999
A	45 (51,1)	14 (50,0)	

^aTeste Qui-quadrado de Pearson (X^2) ou teste exato de Fisher, quando necessário. Normal = ao ângulo da cifose entre 10,1° à 40°. Positivo = ao ângulo da cifose maior que 40° (hiper).

Por fim, não foi observada diferença significativa entre a distribuição dos polimorfismos do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) entre os casos de escoliose que apresentaram ângulo da curva torocolombar menor e maior de 40° (**Tabela 9**).

Tabela 9 - Distribuição dos polimorfismos do gene PAX-1 de acordo com a gravidade da escoliose Lenke 1 e 2, considerando o ângulo da curva toracolumbar (n = 59).

SNPs <i>PAX-1</i>	Ângulo da curva toracolumbar		P ^a
	0-39 (n = 45)	>40 (n = 14)	
	N (%)		
rs6137473 (A>G)			
AA	11 (24,4)	4 (28,6)	0,529
AG	29 (64,5)	7 (50,0)	
GG	5 (11,1)	3 (21,4)	
A	51 (56,7)	15 (53,6)	0,829
G	39 (43,3)	13 (46,4)	
rs169311 (C>A)			
CC	10 (22,2)	2 (14,3)	0,487
CA	24 (53,3)	10 (71,4)	
AA	11 (24,5)	2 (14,3)	
C	44 (48,9)	14 (50,0)	0,999
A	46 (51,1)	14 (50,0)	

A escoliose, em particular as formas decorrentes de distúrbios hereditários do desenvolvimento neuromuscular e do tecido conjuntivo, em geral se associa a diversas comorbidades clínicas. Já a forma isolada da doença ou escoliose idiopática tem origem indeterminada, correspondendo a mais de 80% dos casos diagnosticados e atinge aproximadamente 3% das crianças e 2% dos adolescentes (HRESKO, 2013; EL-HAWARY e CHUKWUNYERENWA, 2014). As formas mais raras e mais graves da escoliose idiopática do adolescente, caracterizadas por curvas com ângulo de Cobb maior do que 40°, apresentam uma prevalência de 0,1% (KONIECZNY et al., 2013).

De uma forma geral, o diagnóstico clínico da escoliose idiopática é feito com base no exame físico e pelos achados de imagem em radiografias panorâmicas da coluna vertebral. As radiografias realizadas nas incidências em anteroposterior e em perfil ortostático, incluindo a coluna cervical e a pelve com visualização das cabeças femorais, permitem definir as características das curvas escolióticas (WANG et al., 2018). Nesse contexto, a classificação proposta por Lenke e colaboradores (2001), que inclui a avaliação das curvas nos planos coronal e sagital, permitiu um melhor planejamento cirúrgico com superior reprodutibilidade comparado com as classificações anteriores (SLATTERY & VERMA, 2018).

Em 2002, Lenke e colaboradores realizaram um estudo com 606 pacientes com escoliose idiopática do adolescente e observaram que 71% dos casos correspondiam aos tipos Lenke 1 (51%) e 2 (20%). Para a definição dos tipos 1 e 2 foi adotado o sistema de classificação em tríade que contempla o tipo de curva, os modificadores lombares e o modificador sagital torácico. Na avaliação da nossa casuística, utilizando o mesmo critério, identificamos que 36,3% de todos os pacientes diagnosticados com escoliose idiopática no INTO, no período de janeiro de 2010 a janeiro de 2019, foram classificados como Lenke 1 e 2. Da mesma forma

que Lenke e colaboradores (2002) confirmamos a prevalência do tipo 1 sobre o tipo 2 e observamos que os tipos 1 e 2 predominaram nos pacientes com indicação de tratamento cirúrgico.

A nossa casuística, constituída por 90,8% de pacientes do gênero feminino está de acordo com os relatos da literatura que confirmam a alta prevalência da doença em mulheres (KAROL et al., 1993; KONIECZNY, SENYURT & KRAUSPE, 2013; HRESKO, 2013). Elas são afetadas na proporção de 7,2:1 (KONIECZNY, SENYURT & KRAUSPE, 2013), tem risco cinco vezes maior do que os homens de evoluir com deformidade progressiva e risco dez vezes maior de desenvolver as formas mais graves da doença (KAROL et al., 1993, RAGGIO, 2006).

Em relação à gravidade da curva é possível que nossa amostra tenha um viés de seleção pelas características assistenciais do INTO. O perfil clássico do paciente com escoliose idiopática encaminhado para tratamento na instituição, em geral, tem curvas com ângulo de Cobb $>40^\circ$ e descompensação do equilíbrio coronal. Além disso, considerando que a curva escoliótica tem uma dinâmica própria de progressão que depende diretamente de fatores como a idade esquelética, da magnitude e do tipo da curva (KAROL et al., 1993; KONIECZNY, SENYURT & KRAUSPE, 2013; KIKANLOO, TARPADA & CHO, 2019).

Alguns relatos da literatura indicam que 27-38% das meninas com escoliose são osteopênicas (CHUNG e GUO, 1997; ROACH, 1999; CHENG et al., 2000; CHEUNG et al, 2006) e que a osteopenia pode, inclusive, ser utilizada como fator prognóstico de progressão da curva (HUNG et al., 2005). O baixo índice de IMC é outro fator de risco já bem estabelecido para osteopenia ou osteoporose, inclusive em homens (SHORR et al., 2019). Embora não tenha sido objeto do nosso estudo avaliar o perfil densitométrico dos pacientes, observamos na avaliação nutricional através do IMC, que 80% dos pacientes tinham baixo peso ou peso corporal normal. À semelhança das alterações do metabolismo ósseo presentes na escoliose também são relatadas alterações no metabolismo energético, particularmente da leptina. Os

níveis séricos desta proteína além de ter relação direta com o IMC estão constitutivamente reduzidos na escoliose idiopática (QIU et al., 2007). Assim, se considerarmos a possibilidade de que o paciente com escoliose tenha o risco para desenvolver osteopenia potencializado pela etiologia nutricional e/ou metabólica, ele deve ser acompanhado durante a vida adulta pelo maior risco em potencial para desenvolver fraturas por fragilidade óssea.

Como o nosso estudo teve como principal objetivo avaliar a associação entre características genéticas e o fenótipo da escoliose idiopática com valores angulares graves, utilizamos a classificação de Lenke como forma de homogeneizar o grupo dos casos de escoliose. Utilizamos como parâmetros de referência nas imagens radiográficas o ápice da curva, o grau de correção no teste de flexibilidade e posição do ápice lombar em relação à linha centro sacral vertical e os parâmetros de cifose torácica. Outros parâmetros radiográficos, classicamente utilizados para individualizar o tipo de curva tais como extensão das curvas proximais, principal e lombar, identificação da vértebra neutra, vértebra estável e vértebra final da curva e ângulo de inclinação também foram medidos. Contudo, ao classificar as curvas aplicando esses parâmetros a amostra ficou estratificada em diversos pequenos grupos dificultando, sob o ponto de vista estatístico, a avaliação da associação dos polimorfismos do gene *PAX-1* e as diferentes formas de expressão fenotípica da escoliose. Assim, optamos por estratificar nossos pacientes em grupos segundo a classificação de Lenke 1 e 2, curva torácica principal direita, tendo como critério comum uma curva lombar flexível no teste de inclinação. Esta decisão levou em consideração o fato de que estas curvas são mais comuns nos pacientes com indicação para tratamento cirúrgico (LENKE et al., 1998), como é o caso do perfil do paciente da nossa casuística.

Apesar da etiologia da escoliose ainda ser desconhecida, na literatura já existe unanimidade sobre a sua origem multifatorial envolvendo fatores extrínsecos e intrínsecos (BURWELL et al., 2016). Os fatores genéticos em particular influenciam significativamente

na determinação das características clínicas, anatômicas e biomecânicas da escoliose (GRAUERS et al., 2016; KIKANLOO et al., 2019). Além disso, o componente genético pode ser confirmado através da observação de que os parentes de indivíduos com escoliose idiopática têm maior prevalência da doença do que a população em geral (WARD et al., 2010; GRAUERS et al., 2016).

Os estudos com foco na definição da arquitetura genética das doenças são cada vez mais frequentes na literatura médica e, dentre as doenças hereditárias do sistema musculoesquelético, a escoliose tem posição de destaque. Dentre os fatores genéticos, destacam-se os polimorfismos no gene *PAX-1*, descritos em uma meta-análise envolvendo estudos de GWAS que avaliou 7.956 casos de escoliose e 88.459 controles (KHANSHOUR et al., 2018). Os polimorfismos rs6137473 e rs169311 do gene *PAX-1* já foram analisados em três estudos anteriores e mostraram associação com o desenvolvimento da escoliose em geral (XU et al., 2018; LIU et al., 2019) e com maior susceptibilidade em mulheres (SHARMA et al., 2015).

Na nossa casuística observamos maior frequência dos polimorfismos rs6137473 G e rs169311 A de *PAX-1* nos pacientes com escoliose e associação positiva do genótipo *PAX-1* rs6137473 GG com risco 3,6 maior de desenvolver a doença. Um resultado adicional da nossa investigação foi a identificação de que a presença do alelo rs169311 AA confere um risco aumentado em até 70 vezes para desenvolver escoliose. Resultados semelhantes foram descritos em dois estudos realizados com pacientes chineses. No primeiro estudo XU e colaboradores (2017) avaliaram a expressão tecidual (músculo paraespinal) dos mesmos polimorfismos do gene *PAX-1* investigados no nosso estudo e confirmaram a sua associação com escoliose idiopática. Pouco depois LIU e colaboradores (2019) confirmaram, também em uma população chinesa, a associação entre o polimorfismo rs6137473 e a escoliose. Apesar da diversidade ancestral, nossos resultados replicaram os resultados obtidos em pacientes chineses, o que

reforça a hipótese de que indivíduos com as características genéticas descritas nos três estudos são mais susceptíveis para desenvolver escoliose.

Para avaliar a associação dos polimorfismos com os diferentes fenótipos da doença estratificamos os casos de escoliose segundo (i) a gravidade da escoliose atribuída pelo modificador lombar e sagital e pelo valor do ângulo da curva; (ii) pela gravidade da cifose torácica medida de T5-T12 e (iii) pelo ângulo da curva torocolombar. Observamos que a presença do alelo variante rs6137473 G aumenta em duas vezes o risco para o fenótipo mais grave (Lenke 1 e 2 com modificadores lombar B e C) da doença em relação aos indivíduos com o alelo rs6137473 A. Embora utilizando um sistema de avaliação de gravidade da curva diferente do que foi adotado no nosso estudo, LIU e colaboradores (2019), confirmaram a associação entre o SNP *PAX-1* rs6137473 G com o fenótipo mais grave da doença (tipo II de PUMC). A distribuição dos dois polimorfismos estudados do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) não foi significativamente diferente entre os outros dois fenótipos definidos na nossa casuística pela gravidade da cifose torácica e pelo ângulo da curva toracolombar.

Identificamos como limitações do nosso estudo o pequeno tamanho amostral que não permitiu avaliar a associação dos polimorfismos com as diferentes formas de expressão fenotípica da doença e o fato do grupo controle não ter sido pareado por idade, já que foram recrutados indivíduos do banco de sangue do INTO, sem doença na coluna vertebral, com idade superior a 18 anos. Em estudos futuros, com um maior número de pacientes com curvas menos graves, será possível avaliar a influência de polimorfismos no gene *PAX-1* na evolução da doença.

Apesar da etiologia da escoliose idiopática ainda permanecer indefinida e em grande parte desconhecida, acreditamos ter contribuído com os resultados do presente estudo para a definição da sua arquitetura genética ao mostrar a associação entre polimorfismos do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) com o desenvolvimento e gravidade da escoliose idiopática. A

utilização desses SNPs como marcadores clínicos para o diagnóstico precoce de escoliose pode ser aplicada no INTO, visando nortear o tratamento clínico e cirúrgico dos pacientes.

- Apesar da uniformidade da amostra foi observado predomínio da classificação Lenke 1 em relação ao Lenke tipo 2.
- Os parâmetros radiográficos determinados estão de acordo com o descrito na literatura e podem ser utilizados para subdividir os fenótipos de escoliose na classificação de Lenke.
- Os pacientes com escoliose idiopática do adolescente, com indicação de tratamento cirúrgico, são em sua maioria mulheres e com baixo IMC.
- A frequência alélica e genotípica dos polimorfismos do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) foi significativamente maior em pacientes com escoliose idiopática do que em indivíduos sem doença na coluna vertebral;
- Os polimorfismos do gene *PAX-1* (rs6137473 e rs169311) foram associados com maior risco de desenvolvimento da escoliose idiopática do adolescente classificados como Lenke 1 e 2, e com o modificador lombar mais grave da doença.

- ADHAM IM, GILLE M, GAMEL AJ, REIS A, DRESSEL R, STEDING G, BRAND-SABERI B, ENGEL W. The scoliosis (*sco*) mouse: a new allele of *Pax1*. Cytogenetic and Genome Research. 2005;111(1):16–26.
- AGABEGI SS, KAZEMI N, STURM PF, MEHLMAN CT. Natural history of adolescent idiopathic scoliosis in skeletally mature patients: a critical review. J Am Acad Orthop Surg. 2015;23(12):714-23.
- ALTSHULER D, DALY MJ, LANDER ES. Genetic mapping in human disease. Science. 2008;322(5903):881-8.
- ANDERSEN MO, THOMSEN K, KYVIK KO. Adolescent idiopathic scoliosis in twins: a population-based survey. Spine (Phila Pa 1976). 2007;32(8):927–30.
- BANNYKH SI, EMERY SC, GERBER JK, JONES KL, BENIRSCHKE K, MASLIAH E. Aberrant Pax1 and Pax9 expression in Jarcho-Levin syndrome: report of two Caucasian siblings and literature review. Am J Med Genet A. 2003;120A(2):241-6.
- BURWELL RG, CLARK EM, DANGERFIELD PH, MOULTON A. Adolescent idiopathic scoliosis (AIS): a multifactorial cascade concept for pathogenesis and embryonic origin. Scoliosis Spinal Disord. 2016;11:8.
- CHENG JC, QIN L, CHEUNG CS, SHER AH, LEE KM, NG SW, GUO X. Generalized low areal and volumetric bone mineral density in adolescent idiopathic scoliosis. J Bone Miner Res. 2000;15:1587-95.
- CHENG JC, CASTELEIN RM, CHU WC, DANIELSSON AJ, DOBBS MB, GRIVAS TB, GURNETT CA, LUK KD, MOREAU A, NEWTON PO, STOKES IA, WEINSTEIN SL, BURNEL RG. Adolescent idiopathic scoliosis. Nat Rev Dis Primers. 2015;1:15030.
- CHEUNG CS, LEE WT, TSE YK, LEE KM, GUO X, QIN L, CHENG JC. Generalized osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis—association with abnormal pubertal growth, bone turnover, and calcium intake? Spine (Phila Pa 1976). 2006;31(3):330–8.
- CHO KJ, LENKE LG, BRIDWELL KH, KAMIYA M, SIDES B. Selection of the optimal distal fusion level in posterior instrumentation and fusion for thoracic hyperkyphosis: the sagittal stable vertebra concept. Spine (Phila Pa 1976). 2009;34(8):765–70.
- CHO RH, YASZAY B, BARTLEY CE, BASTROM TP, NEWTON PO. Which Lenke 1A curves are at the greatest risk for adding-on... and why? Spine (Phila Pa 1976). 2012;37(16):1384-90.
- CHU WC, LAM WM, NG BK, TZE-PING L, LEE KM, GUO X, CHENG JC, BURWELL RG, DANGERFIELD PH, JASPAN T. Relative shortening and functional tethering of spinal cord in adolescent scoliosis – Result of asynchronous neuro-osseous growth, summary of an electronic focus group debate of the IBSE. Scoliosis. 2008;3:8.

CHUNG JCY, GUO X. Osteopenia in adolescent idiopathic scoliosis – a primary problem or secondary to the spinal deformity? *Spine*. 1997;22:1716-21.

CLARK EM, TAYLOR HJ, HARDING I, HUTCHINSON J, NELSON I, DEANFIELD JE, NESS AR, TOBIAS JH. Association between components of body composition and scoliosis: a prospective cohort study reporting differences identifiable before the onset of scoliosis. *J Bone Miner Res*. 2014;29(8):1729-36.

CRAMER GD (2017). General Characteristics of the Spine. In: GD Cramer & SA Darby (Ed.), *Basic and Clinical Anatomy of the Spine, Spinal Cord and ANS* (Chapter 2). St. Louis, MI: Elsevier Mosby.

DEFINO HLA, ARAUJO PHM. Estudo comparativo da medida da rotação vertebral pelos métodos de Nash & Moe e método de Raimondi. *Acta Ortop Bras*. 2004;12(3):167-73.

DESAI SK, BRAYTON A, CHUA VB, LUERSSEN TG, JEA A. The lasting legacy of Paul Randall Harrington to pediatric spine surgery: historical vignette. *J Neurosurg Spine*. 2013;18(2):170-7.

DICKSON RA, LAWTON JO, ARCHER IA, BUTT WP. The pathogenesis of idiopathic scoliosis. Biplanar spinal asymmetry. *J Bone Joint Surg Br*. 1984;66(1):8–15.

DICKSON JH, ERWIN WD, ROSSI D. Harrington instrumentation and arthrodesis for idiopathic scoliosis. A twenty-one-year follow-up. *J Bone Joint Surg Am*. 1990;72(5):678-83.

DY P, WANG W, BHATTARAM P, WANG Q, WANG L, BALLOCK RT, LEFEBVRE V. Sox9 directs hypertrophic maturation and blocks osteoblast differentiation of growth plate chondrocytes. *Dev Cell*. 2012;22(3):597-609.

EL-HAWARY R, CHUKWUNYERENWA C. Update on evaluation and treatment of scoliosis. *Pediatr Clin North Am*. 2014;61(6):1233-41.

FADZAN M, BETTANY-SALTIKOV J. Etiological theories of adolescent idiopathic scoliosis: past and present. *Open Orthop J*. 2017;11:1466-1489.

GARLAND HG. Hereditary scoliosis. *Br Med J*. 1934;1(3816):328.

GIAMPIETRO P, RAGGIO CL, REYNOLDS CE, SHUKLA SK, MCPHERSON E, GHEBRANIOUS N, JACOBSEN FS, KUMAR V, FACISZEWSKI T, PAULI RM, RASMUSSEN K, BURMESTER JK, ZALESKI C, MERCHANT S, DAVID D, WEBER JL, GLURICH I, BLANK RD. An analysis of *PAX1* in the development of vertebral malformations: *PAX1* and vertebral malformations. *Clin Genet*. 2005;68(5):448-53.

GRAUERS A, EINARSDOTTIR E, GERDHEM P. Genetics and pathogenesis of idiopathic scoliosis. *Scoliosis Spinal Disord*. 2016;11:45.

GRAUERS A, RAHMAN I, GERDHEM P. Heritability of scoliosis. *Eur Spine J*. 2012;21(6):1069-74.

GSTOETTNER M, SEKYRA K, WALOCHNIK N, WINTER P, WACHTER R, BACH CM. Inter- and intraobserver reliability assessment of the Cobb angle: manual versus digital measurement tools. *Eur Spine J*. 2007;16(10):1587-92.

HARRINGTON PR. Treatment of scoliosis: correction and internal fixation by spine instrumentation. June 1962. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84(2):316.

HENRY SP, LIANG S, AKDEMIR KC, DE CROMBRUGGHE B. The postnatal role of Sox9 in cartilage. *J Bone Miner Res*. 2012;27(12):2511-25.

HERRING, JA (2013). Scoliosis. In: JA Herring (Ed.), *Tachdjian's pediatric orthopaedics e-book: from the Texas Scottish Rite Hospital for Children*. St. Louis, MI: Elsevier Mosby.

HIBBS RA. An operation for progressive spinal deformities: a preliminary report of three cases from the Service of the Orthopaedic Hospital. 1911. *Clin Orthop Res*. 2007;460:17-20.

HRESKO MA. Idiopathic scoliosis in adolescents. *N Engl J Med*. 2013;368:834-41.

HUNG VWY, CHEUNG CSK, LAM TP, NG BKW, TSE YK, GUO X, LEE KM, CHENG JC. Osteopenia: a new prognostic factor of curve progression in adolescent idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg*. 2005;87-A(12):2709-2716.

INOUE M, MINAMI S, KITAHARA H, OTSUKA Y, NAKATA Y, TAKASO M, MORIYA H. Idiopathic scoliosis in twins studied by DNA fingerprinting: the incidence and type of scoliosis. *J Bone Joint Surg Br*. 1998;80(2):212-7.

KARNER CM, LONG F, SOLNICA-KREZEL L, MONK KR, GRAY RS. Gpr126/Adgrg6 deletion in cartilage models idiopathic scoliosis and pectus excavatum in mice. *Hum Mol Genet*. 2015;24(15):4365-73.

KAROL LA, JOHNSTON CE, BROWNE RH, MADISON M. Progression of the curve in boys who have idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Am*. 1993;75(12):1804-10.

KESLING KL, REINKER KA. Scoliosis in twins. A meta-analysis of the literature and report of six cases. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1997;22(17):2009-14.

KHANSHOUR AM, KOU I, FAN Y, EINARSDOTTIR E, MAKKI N, KIDANE YH, KERE J, GRAUERS A, JOHNSON TA, PARIA N, PATEL C, SINGHANIA R, KAMIYA N, TAKEDA K, OTOMO N, WATANABE K, LUK KDK, CHEUNG KMC, HERRING JA, RIOS JJ, AHITUV N, GERDHEM P, GURNETT CA, SONG YQ, IKEGAWA S, WISE CA. Genome-wide meta-analysis and replication studies in multiple ethnicities identify novel adolescent idiopathic scoliosis susceptibility loci. *Hum Mol Genet*. 2018;27(22):3986-3998.

KIKANLOO SR, TARPADA SP, CHO W. Etiology of adolescent idiopathic scoliosis: a literature review. *Asian Spine J*. 2019;doi: 10.31616/asj.2018.0096.

KING HA, MOE JH, BRADFORD DS, WINTER RB. The selection of fusion levels in thoracic idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Am*. 1983;65(9):1302-13.

KONIECZNY MR, SENYURT H, KRAUSPE R. Epidemiology of adolescent idiopathic scoliosis. *J Child Orthop*. 2013;7(1):3-9.

KOSTUIK JP. The history of apinal deformity. *Spine Deform*. 2015;3(5):417-425.

KOU I, TAKAHASHI Y, JOHNSON TA, 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 JA, WATANABE K, CHIBA K, KAMATANI N, JIANG Q, HIRAKI Y, KUBO M, TOYAMA Y, TSUNODA T, WISE CA, QIU Y, SHUKUNAMI C, MATSUMOTO M, IKEGAWA S. Genetic variants in GPR126 are associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Nat Genet*. 2013;45(6):676-9.

LANGENSIEPEN S, SEMLER O, SOBOTTKE R, FRICKE O, FRANKLIN J, SCHÖNAU E, EVSEL P. Measuring procedures to determine the Cobb angle in idiopathic scoliosis: a systematic review. *Eur Spine J*. 2013;22(11):2360-71

LENKE LG, BETZ RR, BRIDWELL KH, CLEMENTS DH, HARMS J, LOWE TG, SHUFFLEBARGER HL. Intraobserver and interobserver reliability of the classification of thoracic adolescent idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Am*. 1998;80(8):1097-106.

LENKE LG, BETZ RR, HARMS J, BRIDWELL KH, CLEMENTS DH, LOWETG, BLANKEK. Adolescent idiopathic scoliosis: a new classification to determine extent of spinal arthrodesis. *J Bone Joint Surg Am*. 2001;83:1169–1181.

LENKE LG, BETZ RR, CLEMENTS D, MEROLA A, HAHER T, LOWE T, NEWTON P, BRIDWELL KH, BLANKE K. Curve prevalence of a new classification of operative adolescent idiopathic scoliosis: does classification correlate with treatment? *Spine (Phila Pa 1976)*. 2002; 27(6):604-11.

LENKE LG. Lenke classification system of adolescent idiopathic scoliosis: treatment recommendations. *Instr Course Lect*. 2005;54:537-42

LILJENQVIST UR, LINK TM, HALM HF. Morphometric analysis of thoracic and lumbar vertebrae in idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2000;25(10):1247-53.

LINKER B. A dangerous curve: the role of history in America's scoliosis screening programs. *Am J Public Health*. 2012;102(4):606-16.

LIU RW, TENG AL, ARMSTRONG DG, POE-KOCHERT C, SON-HING JP, THOMPSON GH. Comparison of supine bending, push-prone, and traction under general anesthesia radiographs in predicting curve flexibility and postoperative correction in adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010;35(4):416-22.

LIU G, LIU S, LI X, CHEN J, CHEN W, ZUO Y, LIU J, NIU Y, LIN M, ZHAO S, LONG B, ZHAO Y, YE Y, ZHANG J, SHEN J, QIU G, WU Z, WU N. Genetic polymorphisms of *PAX1* are functionally associated with different PUMC types of adolescent idiopathic scoliosis in a northern Chinese Han population. *Gene*. 2019;688:215-220.

MCGAUGHRAN JM, OATES A, DONNAI D, READ AP, TASSABEHJI M. Mutations in

- PAX1 may be associated with Klippel–Feil syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2003;11(6):468-74.
- MOE JH. A critical analysis of methods of fusion for scoliosis; an evaluation in two hundred and sixty-six patients. *J Bone Joint Surg Am.* 1958;40A(3):529-54.
- NASH CL JR, MOE JH. A study of vertebral rotation. *J Bone Joint Surg Am.* 1969;51(2):223-9.
- NEGRINI S, DONZELLI S, AULISA AG, CZAPROWSKI D, SCHREIBER S, DE MAUROY JC, DIERS H, GRIVAS TB, KNOTT P, KOTWICKI T, LEBEL A, MARTI C, MARUYAMA T, O'BRIEN J, PRICE N, PARENT E, RIGO M, ROMANO M, STIKELEATHER L, WYNNE J, ZAINA F. 2016 SOSORT guidelines: orthopaedic and rehabilitation treatment of idiopathic scoliosis during growth. *Scoliosis Spinal Disord.* 2018;13:3.
- RISSO-NETO MI, JOMAA FA, LANDIM E, VEIGA IG, CAVALI PTM, PASQUALINI W. Análise da reprodutibilidade intra e interobservadores das classificações de King e Lenke para Escoliose Idiopática do Adolescente. *Coluna/Columna.* 2006;5(2):65-71.
- NEUBÜSER A, KOSEKI H, BALLING R. Characterization and developmental expression of Pax9, a paired-box-containing gene related to Pax1. *Dev Biol.* 1995;170(2):701-16.
- NEWTON PO, YASZAY B, UPASANI VV, PAWELEK JB, BASTROM TP, LENKE LG, LOWE T, CRAWFORD A, BETZ R, LONNER B, HARMS STUDY GROUP. Preservation of thoracic kyphosis is critical to maintain lumbar lordosis in the surgical treatment of adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2010;35(14):1365-70.
- NG SY, BETTANY-SALTIKOV J, CHEUNG IYK, CHAN KKY. The role of Vitamin D in the pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis. *Asian Spine J.* 2018;12(6):1127-1145.
- O'BRIEN MF (2008). Adolescent Idiopathic Scoliosis. In: MF O'Brien, TR Kuklo, KM Blanke & LG Lenke (Eds.), *Spinal Deformity Study Group Radiographic Measurement Manual* (pp.47-70). Memphis, TN: Medtronic Sofamor Danek.
- OGON M, GIESINGER K, BEHENSKY H, WIMMER C, NOGLER M, BACH CM, KRISMER M. Interobserver and intraobserver reliability of Lenke's new scoliosis classification system. *Spine (Phila Pa 1976).* 2002;27(8):858-62.
- OGURA Y, KOU I, MIURA S, TAKAHASHI A, XU L, TAKEDA K, TAKAHASHI Y, KONO K, KAWAKAMI N, UNO K, ITO M, MINAMI S, YONEZAWA I, YANAGIDA H, TANEICHI H, ZHU Z, TSUJI T, SUZUKI T, SUDO H, KOTANI T, WATANABE K, HOSOGANE N, OKADA E, IIDA A, NAKAJIMA M, SUDO A, CHIBA K, HIRAKI Y, TOYAMA Y, QIU Y, SHUKUNAMI C, KAMATANI Y, KUBO M, MATSUMOTO M, Ikegawa S. Functional SNP in BNC2 is associated with adolescent idiopathic scoliosis. *Am J Hum Genet.* 2015;97(2):337-42.
- PRUIJS JE, HAGEMAN MA, KEESSEN W, VAN DER MEER R, VAN WIERINGEN JC. Variation in Cobb angle measurements in scoliosis. *Skeletal Radiol.* 1994;23(7):517-20.
- PUNO RM, AN KC, PUNO RL, JACOB A, CHUNG SS. Treatment recommendations for idiopathic scoliosis: an assessment of the Lenke classification. *Spine (Phila Pa*

1976). 2003;28(18):2102-14; discussion 2114-5.

QIU G, LI Q, WANG Y, YU B, QIAN J, YU K, LEE CI, ZHANG J, SHEN J, ZHAO Y, WENG X, WANG T, ALADIN DM, LU WW. Comparison of reliability between the PUMC and Lenke classification systems for classifying adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2008;33(22):E836-42.

QIU Y, SUN X, QIU X, LI W, ZHU Z, ZHU F, WANG B, YU Y, QIAN B. Decreased circulating leptin level and its association with body and bone mass in girls with adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2007;32(24):2703-10.

RAGGIO, C. L. Sexual dimorphism in adolescent idiopathic scoliosis. *The Orthopedic Clinics of North America*, v. 37, n° 4, p. 555-558, 2006. ISSN: 0030-5898, DOI: 10.1016/j.ocl.2006.09.010.

RICHARDS BS. Lumbar curve response in type II idiopathic scoliosis after posterior instrumentation of the thoracic curve. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1992;17(8S):S282-6.

RICHARDS BS, SUCATO DJ, JOHNSTON CE, DIAB M, SARWARK JF, LENKE LG, PARENT S, SPINAL DEFORMITY STUDY GROUP. Right thoracic curves in presumed adolescent idiopathic scoliosis: which clinical and radiographic findings correlate with a preoperative abnormal magnetic resonance image? *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010;35(20):1855-60.

RISSER JC. The classic: The iliac apophysis: an invaluable sign in the management of scoliosis. 1958. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(3):643-53.

ROACH JW. Adolescent idiopathic scoliosis. *Orthop Clin N Am*. 1999;30:353-65.

RODRIGO I, HILL RE, BALLING R, MÜNSTERBERG A, IMAI K. *Pax1* and *Pax9* activate *Bapx1* to induce chondrogenic differentiation in the sclerotome. *Development*. 2003;130(3):473-82.

ROGALA EJ, DRUMMOND DS, GURR J. Scoliosis: incidence and natural history. A prospective epidemiological study. *J Bone Joint Surg Am*. 1978;60(2):173-6.

SCAAL M. Early development of the vertebral column. *Semin Cell Dev Biol*. 2016;49:83-91.

SCHORR M, DRABKIN A, ROTHMAN MS, MEENAGHAN E, LASHEN GT, MASCOLO M, WATTERS A, HOLMES TM, SANTOSO K, YU EW, MISRA M, EDDY KT, KLIBANSKI A, MEHLER P, MILLER KK. Bone mineral density and estimated hip strength in men with anorexia nervosa, atypical anorexia nervosa and avoidant/restrictive food intake disorder. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019;90(6):789-797.

SHARMA S, LONDONO D, ECKALBAR WL, GAO X, ZHANG D, MAULDIN K, KOU I, TAKAHASHI A, MATSUMOTO M, KAMIYA N, MURPHY KK, CORNELIA R, TSRHC SCOLIOSIS CLINICAL GROUP; JAPAN SCOLIOSIS CLINICAL RESEARCH GROUP, HERRING JA, BURNS D, AHITUV N, IKEGAWA S, GORDON D, WISE CA. A *PAX1* enhancer locus is associated with susceptibility to idiopathic scoliosis in females. *Nat Commun*. 2015;6:6452.

SLATTERY C, VERMA K. Classification in brief: the Lenke classification for adolescent idiopathic scoliosis. Clin Orthop Relat Res. 2018; 476(11):2271-2276.

TAKAHASHI Y, KOU I, TAKAHASHI A, JOHNSON TA, KONO K, KAWAKAMI N, UNO K, ITO M, MINAMI S, YANAGIDA H, TANEICHI H, TSUJI T, SUZUKI T, SUDO H, KOTANI T, WATANABE K, CHIBA K, HOSONO N, KAMATANI N, TSUNODA T, TOYAMA Y, KUBO M, MATSUMOTO M, IKEGAWA S. A genome-wide association study identifies common variants near *LBX1* associated with adolescent idiopathic scoliosis. Nat Genet. 2011;43(12):1237–1240.

TAKIMOTO A, MOHRI H, KOKUBU C, HIRAKI Y, SHUKUNAMI C. *Pax1* acts as a negative regulator of chondrocyte maturation. Exp Cell Res. 2013;319(20):3128-39.

TAMBORNINO JM, ARMBRUST EN, MOE JH. Harrington instrumentation in correction of scoliosis. A comparison with cast correction. J Bone Joint Surg Am. 1964;46:313-21.

THALER M, KAUFMANN G, STEINGRUBER I, MAYR E, LIEBENSTEINER M, BACH C. Radiographic versus ultrasound evaluation of the Risser Grade in adolescent idiopathic scoliosis: a prospective study of 46 patients. Eur Spine J. 2008;17(9):1251-5.

THÉROUX J, LE MAY S, HEBERT JJ, LABELLE H. Back pain prevalence is associated with curve-type and severity in adolescents with idiopathic scoliosis: a cross-sectional study. Spine (Phila Pa 1976). 2017a;42(15):E914-E919.

THÉROUX J, STOMSKI N, HODGETTS CJ, BALLARD A, KHADRA C, LE MAY S, LABELLE H. Prevalence of low back pain in adolescents with idiopathic scoliosis: a systematic review. Chiropr Man Therap. 2017b;25:10.

UNDERHILL DA. Genetic and biochemical diversity in the *Pax* gene family. Biochem Cell Biol. 2000;78(5):629-38.

VASILADIS ES, GRIVAS TB, KASPIRIS A. Historical overview of spinal deformities in ancient Greece. Scoliosis. 2009;4:6.

WALLIN J, WILTING J, KOSEKI H, FRITSCH R, CHRIST B, BALLING R. The role of *Pax-1* in axial skeleton development. Development. 1994;120(5):1109-21.

WANG D, SHI L, CHU WC, BURWELL RG, CHENG JC, AHUJA AT. Abnormal cerebral cortical thinning pattern in adolescent girls with idiopathic scoliosis. Neuroimage. 2012;59(2):935-42.

WANG J, ZHANG J, XU R, CHEN TG, ZHOU KS, ZHANG HH. Measurement of scoliosis Cobb angle by end vertebra tilt angle method. J Orthop Res. 2018;13(1):223.

WARD K, OGILVIE J, ARGYLE V, NELSON L, MEADE M, BRAUN J, CHETTIER R. Polygenic inheritance of adolescent idiopathic scoliosis: A study of extended families in Utah. Am J Med Genet A. 2010;152A(5):1178-88.

WILM B, DAHL E, PETERS H, BALLING R, IMAI K. Targeted disruption of *Pax1* defines

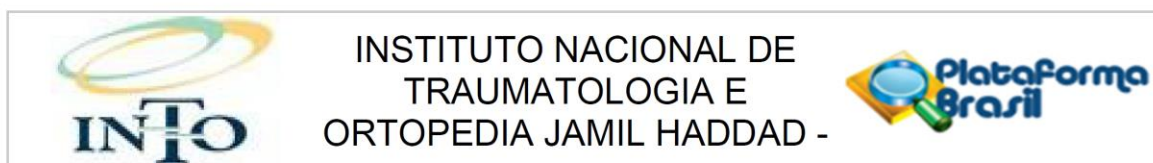
its null phenotype and proves haploinsufficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(15):8692-7.

WU T, SUN X, ZHU Z, YAN H, GUO J, CHENG JC, QIU Y. Role of enhanced central leptin activity in a scoliosis model created in bipedal amputated mice. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2015;40(19):E1041-5.

WYNNE-DAVIES R. Genetic aspects of idiopathic scoliosis. *Dev Med Child Neurol*. 1973;15(6):809-11.

XU L, SHENG F, XIA C, QIN X, TANG NL, QIU Y, CHENG JC, ZHU Z. Genetic variant of *PAX1* gene is functionally associated with adolescent idiopathic scoliosis in the Chinese population. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2018;43(7):492-6.

ANEXO A. Aprovação comitê de ética em pesquisa (CEP/INTO)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Comparação dos resultados radiográficos no tratamento das escolioses idiopáticas Lenke 1 e 2 , utilizando a linha centro sacral com parâmetro de escolha da última vértebra instrumentada

Pesquisador: ANTONIO EULALIO PEDROSA ARAUJO JUNIOR

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 73527617.4.0000.5273

Instituição Proponente: Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia / INTO / SAS/ MS - RJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.767.503

Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda a projeto de pesquisa de aluno do Mestrado Profissional do INTO que propõe a análise dos resultados radiográficos do tratamento da escoliose idiopática Lenke 1 e 2. A escoliose idiopática do adolescente acomete 2 A 3% da população, sendo que o tratamento cirúrgico da escoliose está indicado em curvas maiores de 45°. As escolioses classificadas por Lenke como 1 e 2 são as que geram mais contradição entre cirurgiões em relação a última vértebra a ser instrumentada, sendo esta escolha podendo ser baseada em vários parâmetros radiográficos. Será realizado um estudo para avaliar os parâmetros radiográficos correlacionados com descompensação coronal nas curvas Lenke 1 e 2, e avaliar se existe alguma alteração genética associada à sua doença.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar os parâmetros radiográficos correlacionados com descompensação coronal nas curvas Lenke 1 e 2, e avaliar a associação de polimorfismos genéticos com o desenvolvimento da escoliose.

Objetivo Secundário:

Avaliar a real necessidade das radiografias em inclinação nas curvas 1 e 2 , como parâmetro de escolha , se a flexibilidade da curva interfere na

Endereço: Avenida Brasil, nº 500

Bairro: São Cristóvão

CEP: 20.940-070

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2134-5000

Fax: (21)2134-5228

E-mail: cep.into@into.saude.gov.br

Apêndice A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (tcle)



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE TRAUMATOLOGIA E ORTOPEDIA JAMIL HADDAD

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO **(De acordo com as normas da Resolução do CNS nº 466 de 12/12/2012)**

Você está sendo convidado para participar da pesquisa: Comparação dos resultados radiográficos no tratamento das escolioses idiopáticas Lenke 1 e 2, utilizando a linha centro sacral com parâmetro de escolha da última vértebra instrumentada. Você foi selecionado por apresentar o padrão cirúrgico de escoliose idiopática Lenke 1 ou 2 e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição e nem com a conduta do tratamento que você está recebendo no INTO.

O objetivo deste estudo é avaliar os parâmetros radiográficos correlacionados com descompensação coronal nas curvas Lenke 1 e 2, e avaliar se existe alguma alteração genética associada à sua doença.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em uma colheita de saliva para a identificação de alterações genéticas que possam estar associadas às escolioses idiopáticas Lenke 1 e 2, e também irá permitir a coleta de dados do seu prontuário. Para a colheita de saliva é utilizado um cotonete estéril na parte interna da bochecha. A colheita da saliva será realizada na Unidade de pesquisa Clínica do INTO. Não há risco adicional se você participar desta pesquisa. Todas as etapas do tratamento serão as mesmas com ou sem a sua participação na pesquisa.

Esta pesquisa não oferece benefícios diretos a você. O benefício principal da sua participação é que no futuro poderá ajudar a melhorar o diagnóstico e/ou tratamento de outras pessoas com escoliose. O teste que será realizado vai identificar as alterações genéticas que podem ou não estar associados ao desenvolvimento da escoliose. No futuro, quando o estudo for concluído, o que pode demorar até um ano, o pesquisador responsável entrará em contato para agendar uma nova consulta para orientação quanto ao resultado do exame realizado no INTO. As amostras coletadas serão utilizadas apenas para realização deste estudo, sendo devidamente descartadas para o encerramento do projeto. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados da pesquisa serão divulgados de forma a não possibilitar sua identificação. Os resultados quando forem divulgados serão identificados com siglas que não permitirão conhecer a sua identidade.

Este Termo foi redigido em três vias, sendo uma para o participante, outra para o pesquisador e uma para ser anexada ao prontuário do participante, onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal e do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP. Você poderá esclarecer suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento através dos números dos telefones ou endereço de e-mail disponível neste Termo.

Rio de Janeiro, ____ de ____ de ____.

Pesquisador responsável: Antonio Eulalio Pedrosa Araujo Junior

Contato com o pesquisador responsável:

Endereço: Avenida Brasil, 500, 5º andar. Telefone: 2134-5499

e-mail: eulaliojunior@superig.com.br

Responsável pela aplicação do termo
Assinatura e carimbo

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do INTO/MS.

Endereço: Avenida Brasil nº 500, 9º andar – sala nº 4 – São Cristóvão – Rio de Janeiro – RJ
CEP: 20940-070 Tel.: (21) 2134-5000/(21) 2134-5061 e-mail: cep.into@into.saude.gov.br

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Participante da pesquisa: _____

Assinatura do participante da pesquisa

Folha 1 de 1

APÊNDICE B. INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

ID: ESCO-_____

Material Biológico () Swab () Sangue

ESTUDO RETROSPECTIVO DA ESCOLIOSE IDIOPÁTICA DO ADOLESCENTE

Nome: _____

Prontuário: _____ Sexo: () feminino () masculino

Data de nascimento: ____/____/____ Peso: _____ kg Altura: _____ cm

Data cirurgia: _____ Idade na cirurgia: _____

Procedimento: Artrodese _____ () Seletivo () Não-Seletivo

Risser: () zero () I () II () III () IV () V Cartilagem trirradiada aberta ? () sim () não

Vértebra neutra (p Nas –Moe) : _____ Vértebra final curva (end –vertebra) : _____

Vértebra ápice da curva: Torácico Principal: _____ Lombar: _____

Nash Moe: Ápice torácico: _____ Ápice lombar : _____

Classificação de Lenke: Tipo de curva: () I () II () III () IV e () V () VI

Modificador Lombar (CSV L): () A () B () C

Modificador Sagital T5-T12: () Hipo () normal () hiper

Classificação final: _____

LSTV : _____ LTV: _____

Vértebra Sagital Estável : _____

	Rx Pré-op		
	Data: _____		
Radiografia panorâmica em AP	Ângulo	Extensão	Teste inclinação
Curva torácica proximal			
Curva torácica principal			
Curva lombar			
Coronal C7- CSVL (cm)			
Ângulo última vértebra curva			
Angulação Ombro T1			
Radiografia panorâmica em perfil	Ângulo	Extensão	Teste inclinação
Ângulo T2-T5			
Ângulo T5-T12			
Ângulo T10-L2			
Lordose lombar (Ângulo T12-S1)			