

Асоціація COL2A1rs2276454, rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 структуроутворювальних колагенів драглистого ядра з дегенерацією міжхребцевих дисків L5-L4, L5-S1

Є. Г. Педаченко^{id A,F}, І. Г. Васильєва^{id *A,C,D,E}, М. В. Хижняк^{id B,E}, О. С. Галанта^{id C,D},
Н. Г. Чопик^{id C}, О. І. Цюбко^{id B}, А. Б. Грязов^{id B}, О. С. Нехлопочин^{id B}, Т. А. Ксензов^{id B,E},
А. Б. Дмитренко^{id B}, Т. А. Макарова^{id B}

ДУ «Інститут нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті;
F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – визначення зв'язку дегенеративних змін міжхребцевих дисків L5-S1 та L4-L5 з однонуклеотидними варіантами колагенів COL2A1rs2276454, COL2A1rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 в етнічних українців.

Матеріали та методи. Обстежили 90 осіб групи випадок із дегенерацією міжхребцевого диска L5-S1 та 50 осіб групи випадок із дегенерацією міжхребцевого диска L4-L5, а також 66 осіб групи контроль. Об'єкт дослідження – венозна кров пацієнтів із дегенеративними ураженнями міжхребцевих дисків і здорових донорів. Венозну кров отримали в результаті венепункції. Типування COL2A1rs2276454, COL2A1rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 здійснили, використовуючи набір Tag Man Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США) та Tag Man SNP Genotyping Assays для визначення поліморфізмів (Applied Biosystems, США). Дослідження здійснили спеціалісти в галузі молекулярної біології та біохімії відділу нейробіохімії ДУ «Інститут нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України» на приладі CFX96 (Bio-Rad, США). Сертифікат визначення вимірвальних можливостей № ПТ-322/21 від 28.07.2021 р. до 27.08.2023 р.

Результати. COL2A1rs2276454, імовірно, має протективне значення для виникнення дегенерації міжхребцевого диска L5-S1 у чоловіків (ВШ (95 % ДІ): 0,27 (0,10–0,80), $\chi^2 = 6,02$, $p = 0,015$). Генотип C/T (COL9A1rs1135056) у 3,25 раза частіше виявляли в пацієнтів-чоловіків з дегенерацією міжхребцевого диска L5-S1 порівняно з жінками групи випадок (ВШ (95 % ДІ): 3,25 (1,20–8,84), $\chi^2 = 5,50$, $p = 0,02$). Генотип G/A (COL11A1rs1676486) у загальній групі пацієнтів з дегенерацією міжхребцевого диска L5-S1 виявляли в 5,46 раза частіше в пацієнтів-чоловіків (ВШ (95 % ДІ): 5,46 (1,60–18,47), $\chi^2 = 8,29$, $p = 0,004$), у 4,17 раза частіше реєстрували в чоловіків порівняно з групою жінок (ВШ (95 % ДІ): 4,17 (1,07–16,82), $\chi^2 = 4,17$, $p = 0,04$). Порівняння шансів виявити генотип G/G, G/A, AA у групі чоловіків з дегенерацією міжхребцевого диска L5-S1 показало статистично значуще (у 4,06 раза) переважання частоти генотипу G/A (ВШ (95 % ДІ): 4,06 (1,23–13,38), $\chi^2 = 4,17$, $p = 0,04$). Найімовірніша модель спадковості для COL11A1rs1676486 – домінантна (ВШ (95 % ДІ): 2,08 (1,03–4,21), $\chi^2 = 4,26$, $p = 0,04$). Асоціації COL2A1rs2276454, rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 структуроутворювальних колагенів драглистого ядра з дегенерацією міжхребцевих дисків L5-L4 не виявили.

Висновки. COL2A1rs2276454, можливо, має протективне значення для виникнення дегенерації міжхребцевого диска L5-S1 у чоловіків (ВШ (95 % ДІ): 0,27 (0,10–0,80), $\chi^2 = 6,02$, $p = 0,015$). COL2A1rs1793953 не асоціюється з дегенерацією міжхребцевих дисків L4-L5, L5-S1. Генотип C/T (COL9A1rs1135056) асоціюється з дегенерацією міжхребцевого диска L5-S1 у чоловіків порівняно з жінками групи L5-S1 (ВШ (95 % ДІ): 3,25 (1,20–8,84), $\chi^2 = 5,50$, $p = 0,02$). Генотип G/A COL11A1rs1676486 асоціюється з дегенерацією міжхребцевого диска L5-S1 у пацієнтів-чоловіків (ВШ (95 % ДІ): 5,46 (1,60–18,47), $\chi^2 = 8,29$, $p = 0,004$) та порівняно з жінками (ВШ (95 % ДІ): 4,17 (1,07–16,82), $\chi^2 = 4,17$, $p = 0,04$). Тип спадковості COL11A1rs1676486 – домінантний (ВШ (95 % ДІ): 2,08 (1,03–4,21), $\chi^2 = 10,06$; $p = 0,002$).

Ключові слова:

дегенерація міжхребцевого диска, COL2A1rs2276454, rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486, драглисте ядро.

Патологія. 2022.

Т. 19, № 3(56).

С. 175-182

*E-mail:

vigvasileva@gmail.com

Association of COL2A1rs2276454, rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 structure-forming collagens of the nucleus pulposus with degeneration of intervertebral discs L5-L4, L5-S1

Ye. H. Pedachenko, I. H. Vasylieva, M. V. Khyzhniak, O. S. Halanta, N. H. Chopyk, O. I. Tsiubko, A. B. Hriazov, O. S. Nekhlouchyn, T. A. Ksenzov, A. B. Dmytrenko, T. A. Makarova

Aim. The purpose of the work was to determine the relationship between degenerative changes of the L5-S1 and L4-L5 intervertebral discs with collagen mononucleotide variants COL2A1rs2276454, rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 among ethnic Ukrainians.

Materials and methods. The following subjects were investigated: 90 persons of the case group with degeneration of the intervertebral disc L5-S1; 50 persons of the case group with degeneration of the intervertebral disc L4-L5; 66 people of the control group. The object of the study was the venous blood of patients with degenerative lesions of the intervertebral discs and healthy donors. Venous blood was obtained as a result of venipuncture. Typing of COL2A1rs2276454, COL2A1rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 was performed using the Tag Man Universal PCR Master Mix kit (Applied Biosystems, USA) and Tag Man SNP Genotyping Assays for the determination of polymorphisms (Applied Biosystems, USA). The research

Key words:

intervertebral disc degeneration, COL2A1rs2276454, rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486, nucleus pulposus.

Pathologia

2022; 19 (3), 175-182

was carried out by specialists in the field of molecular biology and biochemistry of the Department of Neurobiochemistry of the SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", using the CFX96 device (Bio-Rad, USA). Certificate of determination of measuring capabilities No. PT-322/21 from 07/28/2021 to 08/27/2023.

Results. *COL2A1rs2276454* may have a protective value for the development of degeneration of the intervertebral disc L5-S1 among men (OR (95 % CI): 0.27 (0.10–0.80), $\chi^2 = 6.02$, $P = 0.015$). Genotype C/T (*COL9A1rs1135056*) is 3.25 times more common among male patients with degeneration of the intervertebral disc L5-S1 in comparison with the female case group (OR (95 % CI): 3.25 (1.20–8.84), $\chi^2 = 5.50$, $P = 0.02$). The presence of the genotype G/A (*COL11A1rs1676486*) in the general group of patients with degeneration of the intervertebral disc L5-S1 is observed 5.46 times more often among male patients (OR (95 % CI): 5.46 (1.60–18.47), $\chi^2 = 8.29$, $P = 0.004$); G/A is registered 4.17 times more often among men compared to the group of women (OR (95 % CI): 4.17 (1.070–16.82), $\chi^2 = 4.17$, $P = 0.04$). Comparison of the odds of observing the genotype G/G, G/A, AA in the group of men with degeneration of the intervertebral disc L5-S1 showed a statistically significant 4.06 times predominance of the genotype G/A (OR (95 % CI): 4.06 (1.23–13.38), $\chi^2 = 4.17$, $P = 0.04$). The most probable model of heredity for *COL11A1rs1676486* is dominant OR (95 % CI): 2.08 (1.03–4.21), $\chi^2 = 4.26$, $P = 0.04$. Associations of *COL2A1rs2276454*, *rs1793953*, *COL9A1rs1135056*, *COL11A1rs1676486* structure-forming collagens of the gelatinous nucleus with degeneration of L5-L4 intervertebral discs were not detected.

Conclusions. The *COL2A1rs2276454* may be protective for the development of L5-S1 intervertebral disc degeneration in men (OR (95 % CI): 0.27 (0.10–0.80), $\chi^2 = 6.02$, $P = 0.015$). *COL2A1rs1793953* is not associated with degeneration of intervertebral discs L4-L5, L5-S1. C/T *COL9A1rs1135056* genotype is associated with L5-S1 intervertebral disc degeneration among males (OR (95 % CI): 3.25 (1.20–8.84), $\chi^2 = 5.50$, $P = 0.02$) compared with L5-S1 females. G/A *COL11A1rs1676486* genotype is associated with L5-S1 intervertebral disc degeneration among male patients (OR (95 % CI): 5.46 (1.60–18.47), $\chi^2 = 8.29$, $P = 0.004$) and compared to female patients (OR (95 % CI): 4.17 (1.07–16.82), $\chi^2 = 4.17$, $P = 0.04$). The type of inheritance *COL11A1rs1676486* is dominant.

Усі типи колагенів для забезпечення функцій міжхребцевого диска (МХД): сприйняття та трансформації навантажень, забезпечення рухливості, захисту клітинних компонентів диска від механічних впливів – об'єднані в єдину структуру міжмолекулярними зв'язками. Зміни в послідовності амінокислот колагенів позначаються на міцності волокон та можливості інтеграції структур МХД, що прискорює дегенеративні зміни [1,2].

Основний структурний білок драглистого ядра (ДЯ) – фібрилярний колаген тип II (кол II) [3,4]. У тканині ДЯ кол II становить понад 85 %. Кол II – гомотример, ген *COL2A1* локалізований у регіоні 12q13.11-q13.2. Для цього колагену характерний високий рівень гідроксилювання та глікозилювання: всі лізинові залишки в Y положенні триплету Glu-X-Y гідроксильовані, а також майже половина гідроксилізинових залишків глікозилювані. Глікозилювання гідроксилізіну регулює латеральне зростання колагенових волокон. Вважають, що вміст води у волокнах кол II корелює з рівнем глікозилюваних залишків. У ДЯ немає ієрархічної упорядкованої структури колагенових волокон, фібрили кол II орієнтовані випадковим чином. У ДЯ фібрили, що мають напрямок вздовж і під різними кутами до осей навантажень, протистоять стисканням і передають навантаження на зовнішні ламелі фіброзного кільця (ФК) [5–9].

У тканинах, що містять кол II, 1–5 % від загального колагену зазвичай становить колаген типу IX (кол IX) [10]. Кол IX – коротка молекула, в якій неспіралізовані домени на N- і C-кінцях у процесі дозрівання не відщеплюються; це визначає нездатність до утворення волокон. Кол IX – гетеротример, його ланцюги $\alpha 1$ (IX), $\alpha 2$ (IX), $\alpha 3$ (IX) експресуються на генах *COL9A1* (хромосома 6q13), *COL9A2* (хромосома 1p33-p32.2), *COL9A3* (хромосома 20q). Кол IX складається з трьох колагенових спіралізованих (фібрилярних) доменів і чотирьох неколагенових (глобулярних) доменів. Глобулярний домен на N-кінці занурюється в міжфібрилярний простір колагенових волокон кол II, а фібрилярні домени взаємодіють із поверхню волокон інших колагенів, з

іншими компонентами екстраклітинного матриксу та протеїнами, що асоційовані з клітинною мембраною [11–13]. Отже, кол IX модулює властивості поверхні фібрил, регулює їхню лінійну та латеральну зростання. Кол IX та кол II утворюють сітчасту структуру, що забезпечує збереження кулястої форми ДЯ [14].

Колаген тип XI (кол XI) фібрилярний колаген – регулятор латерального зростання фібрил кол II. Кол XI зв'язується з протеогліканами клітинної поверхні, що забезпечує когезію та інтегративність тканини. Кол XI – гетеротример, його два ланцюги $\alpha 1$ та $\alpha 2$ кодується генами *COL11A1*, *COL11A2* (локуси 1p21, 6p21.3), а третій ланцюг ($\alpha 3$) являє собою гіперглікозилюваний $\alpha 1$ ланцюг кол II [12,13] та, відповідно, експресується на гені *COL2A1* (12q13.12).

Незважаючи на те, що патофізіологію дегенерації міжхребцевих дисків (ДМХД) вивчено недостатньо, вважають, що 75 % етіології ДМХД має генетичну природу [7]. Повногеномні дослідження показали важливі аспекти генетичних поліморфізмів. Один із них – значущі для розвитку ДМХД поліморфізми відрізняються в різних етнічних і расових групах. Нині відомо понад 20 поліморфізмів, що асоційовані з виникненням ДМХД. Знання генетичних варіантів, асоційованих із дегенеративними процесами у міжхребцевих дисках, зробить реальними персоналізовану терапію та прогноз.

Мета роботи

Визначення зв'язку дегенеративних змін міжхребцевих дисків L5-S1 та L4-L5 з одонуклеотидними варіантами колагенів *COL2A1rs2276454*, *COL2A1rs1793953*, *COL9A1rs1135056*, *COL11A1rs1676486* в етнічних українців.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 90 хворих із ДМХД L5-S1: 38 (42 %) жінок і 52 (58 %) чоловіки віком $34,49 \pm 6,72$ року; 50 хворих

із ДМХД L4-L5: 26 (52 %) жінок і 24 (48 %) чоловіки віком $34,49 \pm 6,72$ року; 66 осіб групи порівняння: 36 (55 %) жінок і 30 (45 %) чоловіків віком $35,00 \pm 6,51$ року.

Більшість пацієнтів мали тривалий больовий синдром (у середньому протягом 1 року), який не зникав внаслідок консервативного лікування; це стало приводом звернення до лікувальної установи та хірургічного втручання. Групу випадок склали пацієнти переважно з третьою та четвертою стадіями остеохондрозу. Найчастіше гостру фазу захворювання діагностували в жінок і чоловіків віком 30–40 років.

У групах випадок і контроль кількість пацієнтів, які курили, мали цукровий діабет, гіпотеріоз, надмірні фізичні навантаження, травми хребта, надмірну вагу, рухову одноманітність, не мала статистично значущої різниці. ШОЕ всіх обстежених хворих відповідало фізіологічній нормі. Травма хребта передувала дегенеративним змінам у ~10 % хворих, і кількість випадків статистично значущо не відрізнялась у групах. Учасникам дослідження виконали МРТ.

У групи контролю увійшли особи без зареєстрованих МРТ-патологій.

Усі обстежені проживали на території України та належали до етнічної групи Caucasian.

Об'єкт дослідження – венозна кров пацієнтів із дегенеративними ураженнями міжхребцевих дисків і здорових донорів. Венозну кров отримали в результаті венопункції.

Типування COL2A1rs2276454, COL2A1rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 здійснили, використовуючи набір Tag Man Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США) і Tag Man SNP Genotyping Assays для визначення поліморфізмів (Applied Biosystems, США). Дослідження здійснили спеціалісти в галузі молекулярної біології та біохімії відділу нейробіохімії ДУ «Інститут нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України» на приладі CFX96 (Bio-Rad, США). Сертифікат визначення вимірювальних можливостей № ПТ-322/21 від 28.07.2021 р. до 27.08.2023 р.

Контекстні послідовності для визначення поліморфізмів генів колагенів:

COL2A1rs2276454

CTGTAACCTCAGTACTTACCTGTGC[A/G]
CCTTTGGGCCCAGCGATACCAGCTG

COL2A1rs1793953

AGGACCCCTCTAGTGTCTCAGGCTC[A/G]
TTCACTCAGTTTCAACCTGCAAGT

COL9A1rs1135056

GCAAGGAATACTCACAGGAAGCCCC[C/T]
GGGGTCTCTGGGGTCCCACTCTC

COL11A1rs1676486

TCTTGTTAACATATACTTACTGGAG[A/G]
CCCAGGAGGCCCTGGAAGACCACTG

Генотипи поліморфних локусів COL2A1rs2276454, COL2A1rs1793953, COL11A1rs1676486, COL9A1rs1135056 визначали методом алейної дискримінації, застосовуючи програмне забезпечення CFX96 Real Time PCR Detection System.

Статистичне опрацювання даних здійснили з використанням загальнодоступної on-line програми SNPStats [15,16]. Частоти розподілу генотипів у вибірці пацієнтів перевіряли на відхилення від рівноваги Харді–Вайнберга. Програма для аналізу частот генотипів між вибірками використовує кодомінантну, домінуючу, рецесивну, супердомінантну та логаддитивну моделі розрахунку. Шанс виникнення клінічної ознаки залежно від наявності поліморфних варіантів при бінарному аналізі (випадок, контроль) визначається шляхом логістичного регресійного аналізу; підсумовується як частота генотипів, їхнє відношення, відношення шансів (ВШ) із 95 % довірчим інтервалом (ДІ). Програма також надає результати трьох видів порівнянь: з однією загальною референс-категорією, а також попарні порівняння, під час яких також обраховують ВШ із 95 % ДІ. Різницю при порівнянні вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати

Для дослідження змін у розподілі алелів генів у популяції, що викликані мутаціями, використали теоретичний критерій правомірності висновків щодо відповідності розподілу частот генотипів у контрольній групі закону генетичної рівноваги Харді–Вайнберга. Перевірка розподілу частот генотипів досліджених варіантів COL2A1rs2276454, COL2A1rs1793953, COL9A1rs1135056, COL11A1rs1676486 у групі контроль показала відповідність закону рівноваги Харді–Вайнберга.

COL2A1rs2276454. Геномна локалізація: chr12:47982508G>A (GRCh38.p13); 34 екзон, однонуклеотидний варіант (ОНВ) транскрипційний варіант NM_001844.5:c.2295C>T, синонімний: = Gly, частота мінорного алеля в різних дослідженнях: А – 0,38–0,40.

Дослідження частот алелів і генотипів у пацієнтів показало, що в загальній групі G:A становить 0,67:0,33, у групі випадок – 0,69:0,31, у групі контроль – 0,64:0,36; частоти генотипів G/G, G/A, A/A у загальній групі – 0,45, 0,44, 0,12 відповідно; групи випадок – 0,49, 0,40, 0,11 відповідно; у групі контроль – 0,39, 0,48, 0,12 відповідно.

Дослідження асоціації генотипів G/G, G/A, A/A COL2A1 rs2276454 у пацієнтів із L4-L5, L5-S1 ДМХД показало можливе протективне значення алеля А в чоловіків із ДМХД L5-S1 (табл. 1). Шанс наявності генотипу G/A COL2A1rs2276454 у групі випадок серед чоловіків статистично значущо в 3,7 раза нижчий, ніж генотипу G/G (ВШ (95 % ДІ): 0,27 (0,103–0,800) $\chi^2 = 6,02$, $p = 0,015$). У відділі L4-L5 статистично значущих відмінностей за розподілом частот генотипів rs2276454 COL2A1 не виявили.

COL2A1rs1793953. Геномна локалізація chr12:47999743G>A (GRCh38.p13); частота алеля А у різних дослідженнях: 0,10–0,65, ОНВ, інтрон.

Частота алелів у пацієнтів у загальній групі G:A становить 0,40:0,60, у групі випадок – 0,41:0,59, у групі контроль – 0,39:0,61; частоти генотипів G/G, G/A, A/A у загальній групі – 0,14, 0,53, 0,33 відповідно; в групі випадок – 0,16, 0,51, 0,33 відповідно; у групі контроль – 0,12, 0,55, 0,33 відповідно.

Дослідження асоціації COL2A1rs1793953 у пацієнтів із ДМХД L4-L5, L5-L4 порівняно з групою

Таблиця 1. Аналіз асоціації генотипів G/G, G/A, A/A (COL2A1rs2276454) із ризиком виникнення дегенерації міжхребцевого диска L5-S1

L5-S1 ген COL2A1 (rs2276454) випадок, контроль (n = 90, n = 66)				
	Генотип	Випадок	Контроль	ВШ (95 % ДІ)
Жінки	G/G	16	18	1,00
	G/A	18	14	0,69 (0,26–1,82)
	A/A	4	4	0,89 (0,19–4,15)
Чоловіки	G/G	28	8	1,00
	G/A	18	18	0,27 (0,10–0,80)*
	A/A	6	4	2,33 (0,53–10,35)

*: $\chi^2 = 6,02$; $p = 0,015$

Таблиця 2. Порівняння асоціації генотипів C/C, C/T, T/T (COL9A3rs1135056) із дегенерацією міжхребцевого диска L5-S1 між групами жінок і чоловіків

L5-S1 ген COL9A3rs1135056 випадок, контроль (n = 90, n = 66)				
Генотип		Випадок	Контроль	ВШ (95 % ДІ)
C/C	Жінки	18	14	1,00
	Чоловіки	16	14	1,12 (0,41–3,06)
C/T	Жінки	12	18	1,00
	Чоловіки	26	12	3,25 (1,20–8,84)*
T/T	Жінки	6	4	1,00
	Чоловіки	6	4	1,00 (0,17–5,98)

*: $\chi^2 = 5,50$; $p = 0,020$

Таблиця 3. Аналіз асоціації варіанта COL11A1rs1676486 з ризиком виникнення дегенерації міжхребцевого диска L5-S1

L5-S1 ген COL11A1rs1676486 випадок, контроль (n = 90, n = 66)						
Генотип	Жінки			Чоловіки		
	Випадок	Контроль	ВШ (95 % ДІ)	Випадок	Контроль	ВШ (95 % ДІ)
G/G	22	24	1,00	32	26	0,74 (0,34–1,62)
G/A	12	10	0,76 (0,28–2,12)	20	4	5,46 (1,60–18,47)*
A/A	4	2	0,46 (0,08–2,75)	0	0	–

*: $\chi^2 = 8,29$; $p = 0,004$

Таблиця 4. Порівняння асоціації варіанта COL11A1rs1676486 із ризиком виникнення дегенерації міжхребцевого диска L5-S1 у групах жінок і чоловіків

L5-S1 ген COL11A1rs1676486 випадок, контроль (n = 50, n = 66)				
Генотип		Випадок	Контроль	ВШ (95 % ДІ)
G/G	Жінки	22	24	1,00
	Чоловіки	32	26	0,74 (0,34–1,62)
G/A	Жінки	12	10	1,00
	Чоловіки	20	4	4,17 (1,07–16,82)*
A/A	Жінки	4	2	1,00
	Чоловіки	0	0	–
G/G	Чоловіки	32	26	1,00
G/A		20	4	4,06 (1,23–13,38)#
A/A		0	0	–

*: $\chi^2 = 4,17$; $p = 0,04$; #: $\chi^2 = 5,80$; $p = 0,02$

без уражень хребта не виявило зв'язок наявності поліморфних варіантів із дегенеративним процесом.

COL9A1rs1135056. Геномна локалізація – chr6:70252130T>C, (GRCh38.p13) NC_000006, 28 екзон; однонуклеотидний місенс варіант. Результат варіанта NM_001851.6:c.1862A>G, Gln[CAG]>Arg[CGG]. Частота алеля C 0,27–0,41.

У нашому дослідженні частота алелів COL9A1rs1135056 у загальній групі пацієнтів становить T:C – 0,67:0,33, у групі випадок – 0,69:0,31, у групі контроль – 0,64:0,36; частоти генотипів T/T:T/C:C/C

у загальній групі – 0,45:0,44:0,12 відповідно; у групі випадок – 0,49:0,40:0,11 відповідно; у групі контроль – 0,39:0,48:0,12 відповідно.

Порівняння генотипів у пацієнтів із ДМХД L5-S1 показало, що шанс наявності генотипу T/C у 3,25 раза вищий у чоловіків (ВШ (95 % ДІ): 3,25 (1,20–8,84), $\chi^2 = 5,50$, $p = 0,020$) (табл. 2). У групі пацієнтів-чоловіків із ДМХД L4-L5 такий зв'язок не виявили.

COL11A1rs1676486. Геномна локалізація chr1:102888582A>G, (GRCh38), однонуклеотидний місенс варіант, 62 екзон. Транскрипційний варіант: XM_017000334.1:c.4756T>C. Результат варіанта Ser1535Pro.

Частоти алелів у загальній групі обстежених становлять G:A – 0,81:0,19; у групі випадок – 0,78:0,22; у групі контроль – 0,86:0,14; генотипів G/G, G/A, A/A у загальній групі – 0,67, 0,29, 0,04; у групі випадок – 0,60, 0,36, 0,04; у групі контроль – 0,76, 0,21, 0,03.

Під час статистичного опрацювання результатів генотипування COL11A1rs1676486 у пацієнтів визначили в 5,46 раза переважання шансів виявлення G/A генотипу в чоловіків із ДМХД L5-S1 (ВШ (95 % ДІ): 5,46 (1,60–18,47), $\chi^2 = 8,29$; $p = 0,004$) (табл. 3). Визначили статистично значущо (в 4,17 раза) більшу частоту шансів наявності генотипу G/A при L5-S1 ДМХД у чоловіків порівняно з жінками (ВШ (95 % ДІ) 4,17 (1,07–16,82), $\chi^2 = 4,17$; $p = 0,04$) (табл. 4). Результат підтверджено шляхом порівняння частот генотипів у групі чоловіків із L5-S1 ДМХД: шанс наявності генотипу G/A у 4,06 раза вищий за такий для генотипу G/G (ВШ (95 % ДІ) – 4,06 (1,23–13,38), $\chi^2 = 4,17$, $p = 0,04$) (табл. 4).

COL11A1rs1676486 асоційований із підвищеною чутливістю до L5-S1 ДМХД при кодмінантній і домінантній моделях наслідування: ВШ (95 % ДІ) 3,36 (1,57–7,22), $\chi^2 = 10,06$, $p = 0,002$ та 2,08 (1,03–4,21), $\chi^2 = 4,26$, $p = 0,04$ відповідно. Кожна з цих моделей свідчить про ризикове значення генотипу A/A та алеля *A. Згідно зі значеннями AIC, більш імовірною є домінантна модель спадковості (AIC = 212,2) (табл. 5).

Обговорення

Колагени – молекули з функцією підтримки форми й архітектури тканини. Основні структуроутворювальні колагени ДЯ – кол II, кол IX, кол XI. Кол II і кол XI – фібрилярні колагени: кол II утворює розгалужену структуру, а кол XI має значення для регулювання товщини фібрил кол II шляхом формування гетерофібрил кол II / кол XI. Кол IX – коротка молекула, що N-кінцем занурюється в простір між волокнами кол II і кол XI. Фібрили між собою поєднуються ковалентними зв'язками за участю специфічних доменів.

Кожна амінокислота в архітектоніці колагенових структур відіграє особливу роль. Порушення первинної структури колагенів мають важливе значення для просторової організації, гідроксилювання та стійкості до дії протеолітичних ферментів. Модифікації в генах колагенів можуть локалізуватися в інтронній частині, що може призводити до порушення регуляції транскрипції, дозрівання молекули мРНК. Зміни різного характеру можуть стосуватися екзонної частини гена. У разі однонуклеотидних варіантів це можуть бути місенс заміни,

Таблиця 5. Асоціація кодомінантної, домінантної, рецесивної та супердомінантної моделей спадковості COL11A1rs1676486 і ризику L5-S1 дегенерації міжхребцевого диска

L5-S1 ген		rs1676486 випадок, контроль (n = 90, n = 66)				
Модель	Генотип	Випадок	Контроль	ВШ (95 % ДІ)	p	AIC
Кодомінантна	G/G	54 (60,0 %)	50 (75,8 %)	1,00	0,046	214,2
	G/A	32 (35,6 %)	14 (21,2 %)	3,36 (1,57–7,22)*		
	A/A	4 (4,4 %)	2 (3,0 %)	0,54 (0,09–3,08)		
Домінантна	G/G	54 (60,0 %)	50 (75,8 %)	1,00	0,014	212,2
	G/A-A/A	36 (40,0 %)	16 (24,2 %)	2,08 (1,03–4,21)*		
Рецесивна	G/G-G/A	86 (95,6 %)	64 (97,0 %)	1,00	0,290	216,3
	A/A	4 (4,4 %)	2 (3,0 %)	2,05 (0,99–4,26)		
Супердомінантна	G/G-A/A	58 (64,4 %)	52 (78,8 %)	1,00	0,053	212,7
	G/A	32 (35,6 %)	14 (21,2 %)	0,49 (0,23–1,01)		

*: $\chi^2 = 10,06$, $p = 0,002$; #: $\chi^2 = 4,26$, $p = 0,04$

що не призводять до заміни амінокислоти, але заміна кодону може бути значущою для регуляції трансляції. Місенс варіант із заміною амінокислоти може істотно позначитися на властивостях молекули колагену.

Зіставлення генетичної модифікації та функціонального розладу є доволі складним завданням. Втім, нині вже відомо багато структурних змін, що визначають клінічний діагноз. Варіанти амінокислот у колагенах мають різні за силою клінічні наслідки. Так, деякі з них несумісні з життям, деякі призводять до вад розвитку, а більшість модифікацій проявляються як прискорювачі старіння або тригери захворювань. Дослідження вказують, що генетичні варіанти неоднаково впливають на клінічні прояви серед різних етнічних груп. Один із підходів до вивчення ролі генетичного варіанта в формуванні клінічної ознаки – метод випадок-контроль, що дає змогу здійснити пошук асоціації клінічних проявів і генетичних варіантів.

Дослідження генетичних асоціацій із L5-S1 ДМХД свідчить про наявність зв'язку з COL2A1rs2276454, і варіант COL2A1rs2276454 може мати протективне значення для виникнення дегенеративних змін ДЯ у чоловіків. Одним із пояснень може бути те, що заміна G на A в позиції chr12:g.47982508 призводить до заміни кодону гліцину GGC, який у мРНК ланцюга $\alpha 1$ кол II має частоту виявлення 29 % на переважний за частотою (47 %) кодон гліцину GGU. Відомо, що швидкість включення амінокислот у частіші кодони вища [17]. Можливо, переваги для процесу трансляції важливі при репарації дегенеративних процесів. У дослідженнях інших авторів визначено кореляцію варіанта COL2A1rs2276454 із дегенеративним люмбальним сколіозом в осіб із корейської популяції [18]; з дегенерацією міжхребцевого диска в пацієнтів із китайської популяції [19]; зі зміщенням диска скронево-нижньощелепного суглоба при скронево-нижньощелепному розладі [20].

Дослідження асоціації COL2A1rs1793953 у пацієнтів із ДМХД L4-L5, L5-L4 порівняно з групою без уражень хребта не виявило зв'язок наявності поліморфних варіантів із дегенеративним процесом. В інших дослідженнях [19] показано можливу протекційну роль COL2A1rs1793953 у розвитку ДМХД. У дослідженні випадок-контроль виявили можливу асоціацію COL2A1rs1793953 з мадибулярним прогнатизмом [20].

Нині доведено важливість генетичних модифікацій COL9A2 і COL9A3 для виникнення дегенеративних

процесів міжхребцевих дисків [11]. Значення $\alpha 1$ ланцюга в ДМХД показано в експериментальному дослідженні з Col9a1-/- мишами, які мають відповідні поведінкові та структурні аномалії [21]. Виявлену в нашому дослідженні асоціацію rs1135056 з L5-S1 ДМХД можна пояснити тим, що під час транскрипції rs1135056 кодон глутаміну замінюється кодоном аргініну, Gln[CAG]>Arg[CGG], NM_001851.6:c.1862A>G. Глутамін – полярна незаряджена амінокислота, а аргінін – основна амінокислота, здатна утворювати водородні зв'язки, змінюючи в такий спосіб просторову організацію. Заміна може бути причиною впливу на властивості комплексоутворення і в самому триланцюговому тропоколагені IX, і при взаємодії з кол II. Відомо також, що 621 позиція амінокислоти $\alpha 1$ ланцюга кол IX локалізується в ділянці, що відповідає за адгезивні властивості білка [22]. Сучасні дослідження rs1135056 пов'язують із синдромом ICTEV (вроджена косолапість) і хворобою Kashin–Beck [23].

Генетичні дослідження виявили асоціацію з дегенеративними процесами у люмбальному відділі хребта COL11A1rs1676486 [24]. Wu F. et al. у результаті метааналізу показали асоціацію COL11A1rs1676486 із чутливістю до дегенерації міжхребцевого диска при кодомінантній, домінантній і рецесивній генетичних моделях успадкування. Автори виявили, що етнічна належність не є джерелом гетерогенності [25].

У нашому дослідженні також показано асоціацію L5-S1 ДМХД у чоловіків із варіантом COL11A1rs1676486. Можливо, асоціація пов'язана з заміною під час трансляції Ser1535Pro. Пролін у третьому положенні трипептиду (G-X-Y) гідроксильований у деяких або всіх ланцюгах колагену. Гідроксипролін і пролін сприяють утворенню стабільної триспиральної структури, що надає молекулі міцності. Модифікація Ser1535Pro локалізується біля С-кінцевого пропептиду (1543-1563), що має критичне значення для синтезу проколагену XI, його секреції та дозрівання до тропоколагену, а також самоскладання фібрил кол XI і гетерофібрил кол II / кол XI у волокна. Заміна Ser1535Pro може бути критичною для формування просторової організації екстраклітинного матриксу, а отже впливати на функціональні властивості тканини [26].

Дослідження асоціації L4-L5, L5-S1 ДМХД, яке здійснили, показало відсутність статистично значущих асоціацій L4-L5 ДМХД із генетичними варіантами COL2A1rs2276454, rs1793953, COL9A1rs1135056,

COL11A1rs1676486. Поясненням такого результату, крім недостатньої кількості досліджень, може бути менша залежність дегенерації цього міжхребцевого диска від генетичних змін колагенів. Можливо, необхідний полігенний аналіз для виявлення полігенних асоціацій.

Висновки

1. Апель А COL2A1rs2276454, імовірно, має протективне значення для виникнення L5-S1 ДМХД у чоловіків (ВШ (95 % ДІ): 0,27 (0,10–0,80), $\chi^2 = 6,02$, $p = 0,015$).

2. Дослідження наявності COL2A1rs1793953 у пацієнтів із L4-L5, L5-S1 ДМХД не показало статистично значущої асоціації з дегенеративним процесом.

3. Апель Т COL9A1rs1135056 асоціюється із L5-S1 ДМХД у чоловіків порівняно з групою жінок із L5-S1 ДМХД (ВШ (95 % ДІ): 3,25 (1,20–8,84), $\chi^2 = 5,50$, $p = 0,02$).

4. Наявність алеля А COL11A1rs1676486 асоціюється з L5-S1 ДМХД у пацієнтів-чоловіків (ВШ (95 % ДІ): 5,46 (1,60–18,47), $\chi^2 = 8,29$, $p = 0,004$) та порівняно з жінками (ВШ (95 % ДІ): 4,17 (1,07–16,82), $\chi^2 = 4,17$, $p = 0,04$). Тип спадковості COL11A1rs1676486 – домінуючий (ВШ (95 % ДІ): 2,08 (1,03–4,21), $\chi^2 = 10,06$, $p = 0,002$).

Перспективи подальших досліджень. Важливе значення генетичних досліджень для впровадження персоналізованої медицини та прогнозу диктує необхідність встановлення асоціацій генетичних варіантів зі значущими в соціальному аспекті дегенеративними процесами міжхребцевих дисків. Для вдосконалення результатів необхідно збільшення груп дослідження, а також здійснення більш досконалого полігенного аналізу.

Фінансування

Дослідження здійснене в рамках НДР ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України»: «Дослідити поліморфізм генів колагенів та рецептору вітаміну D серед осіб з дегенеративними захворюваннями міжхребцевих дисків», № держреєстрації 0119U103927.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 10.10.2022

Після доопрацювання / Revised: 01.11.2022

Прийнято до друку / Accepted: 11.11.2022

Відомості про авторів:

Педаченко Є. Г., д-р мед. наук, професор, лікар-нейрохірург, науковий керівник відділення малоінвазивної і лазерної спінальної нейрохірургії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ, академік Національної академії медичних наук України.
ORCID ID: [0000-0003-4759-6019](https://orcid.org/0000-0003-4759-6019)

Васильєва І. Г., канд. біол. наук, старший дослідник, начальниця відділу нейробіохімії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0003-4321-5354](https://orcid.org/0000-0003-4321-5354)

Хижняк М. В., д-р мед. наук, професор, лікар-нейрохірург, зав. відділення малоінвазивної і лазерної спінальної нейрохірургії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0002-6632-4206](https://orcid.org/0000-0002-6632-4206)

Галанта О. С., науковий співробітник відділу нейробіохімії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0002-9902-9916](https://orcid.org/0000-0002-9902-9916)

Чопик Н. Г., канд. біол. наук, провід. науковий співробітник відділу нейробіохімії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0003-1024-1556](https://orcid.org/0000-0003-1024-1556)

Цюбко О. І., науковий співробітник відділу нейробіохімії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0003-0138-4643](https://orcid.org/0000-0003-0138-4643)

Грязов А. Б., д-р мед. наук, зав. відділення радіонейрохірургії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0003-1785-6705](https://orcid.org/0000-0003-1785-6705)

Нехлопочин О. С., PhD, науковий співробітник відділення спінальної нейрохірургії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0002-1180-6881](https://orcid.org/0000-0002-1180-6881)

Ксензов Т. А., лікар-нейрохірург, аспірант ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ, Україна.
ORCID ID: [0000-0001-8305-8563](https://orcid.org/0000-0001-8305-8563)

Дмитренко А. Б., молодший науковий співробітник відділу нейробіохімії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0002-0141-3697](https://orcid.org/0000-0002-0141-3697)

Макарова Т. А., молодший науковий співробітник відділу нейробіохімії, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ.
ORCID ID: [0000-0001-5203-450X](https://orcid.org/0000-0001-5203-450X)

Information about authors:

Pedachenko Ye. H., MD, PhD, DSc, Professor, Research Supervisor of the Department of Minimally Invasive and Laser Spinal Neurosurgery, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.

Vasylieva I. H., PhD, Senior Researcher, Head of the Department of Neurobiochemistry, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Khyzhniak M. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Minimally Invasive and Laser Spinal Neurosurgery, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Halanta O. S., Research Assistant of Department of Neurobiochemistry, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Chopyk N. H., PhD, Leading Researcher of Department of Neurobiochemistry, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Tsiubko O. I., Research Assistant of Department of Neurobiochemistry, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Hriazov A. B., MD, PhD, DSc, Head of Department of Radiology, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Nekhlodochyn O. S., Researcher of Department of Spinal Neurosurgery, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Ksenzov T. A., MD, Doctor Neurosurgeon, Graduate Student, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Dmytrenko A. B., Research Assistant of Department of Neurobiochemistry, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Makarova T. A., Research Assistant of Department of Neurobiochemistry, SI "Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

Список літератури

- [1] Ligorio C., Hoyland J. A., Saiani A. Self-Assembling Peptide Hydrogels as Functional Tools to Tackle Intervertebral Disc Degeneration. *Gels*. 2022. Vol. 8, Iss. 4. P. 211. <https://doi.org/10.3390/gels8040211>
- [2] Kawaguchi Y. Genetic background of degenerative disc disease in the lumbar spine. *Spine surgery and related research*. 2018. Vol. 2, Iss. 2. P. 98-112. <https://doi.org/10.22603/ssr.2017-0007>
- [3] Type II collagen-positive embryonic progenitors are the major contributors to spine and intervertebral disc development and repair / X. Li, S. Yang, L. Qin, S. Yang. *Stem cells translational medicine*. 2021. Vol. 10, Iss. 10. P. 1419-1432. <https://doi.org/10.1002/sctm.20-0424>
- [4] Atomic force microscopy imaging for nanoscale and microscale assessments of extracellular matrix in intervertebral disc and degeneration / M. A. Cauble, N. S. Mancini, J. Kalinowski et al. *JOR spine*. 2020. Vol. 3, Iss. 3. P. e1125. <https://doi.org/10.1002/jsp2.1125>
- [5] Meniscus, articular cartilage and nucleus pulposus: a comparative review of cartilage-like tissues in anatomy, development and function / S. Chen, P. Fu, H. Wu, M. Pei. *Cell and tissue research*. 2017. Vol. 370, Iss. 1. P. 53-70. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2613-0>
- [6] Ohnishi T., Novais E. J., Risbud M. V. Alterations in ECM signature underscore multiple sub-phenotypes of intervertebral disc degeneration. *Matrix biology plus*. 2020. Vol. 6-7, 100036. <https://doi.org/10.1016/j.mplus.2020.100036>
- [7] Association between polymorphisms of collagen genes and susceptibility to intervertebral disc degeneration: a meta-analysis / G. Xie, C. Liang, H. Yu, Q. Zhang. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2021. Vol. 16, Iss. 1. P. 616. <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02724-8>
- [8] Mechanotransduction pathways in the regulation of cartilage chondrocyte homeostasis / Z. Zhao, Y. Li, M. Wang et al. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2020. Vol. 24, Iss. 10. P. 5408-5419. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15204>
- [9] The Proteolysis of ECM in Intervertebral Disc Degeneration / H. Liang, R. Luo, G. Li et al. *International journal of molecular sciences*, 2022. Vol. 23, Iss. 3. P. 1715. <https://doi.org/10.3390/ijms23031715>
- [10] Normal aging in human lumbar discs: An ultrastructural comparison / R. B. V. Fontes, J. S. Baptista, S. R. Rabbani et al. *PLoS one*. 2019. Vol. 14, Iss. 6. P. e0218121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218121>
- [11] Collagen IX gene polymorphisms and lumbar disc degeneration: a systematic review and meta-analysis / H. Wu, S. Wang, W. Chen et al. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2018. Vol. 13, Iss. 1. P. 47. <https://doi.org/10.1186/s13018-018-0750-0>
- [12] Teles Filho R. V., Abe G. M., Daher M. T. Genetic Influence in Disc Degeneration – Systematic Review of Literature. *Revista brasileira de ortopedia*, 2020. Vol. 55, Iss. 2. P. 131-138. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1692626>
- [13] Arseni L., Lombardi A., Orioli D. From Structure to Phenotype: Impact of Collagen Alterations on Human Health. *International journal of molecular sciences*. 2018. Vol. 19, Iss. 5. P. 1407. <https://doi.org/10.3390/ijms19051407>
- [14] Col9a2 gene deletion accelerates the degeneration of intervertebral discs / H. Xu, R. Dong, Q. Zeng et al. *Experimental and therapeutic medicine*. 2022. Vol. 23, Iss. 3. P. 207. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11130>
- [15] SNPStats: a web tool for the analysis of association studies / X. Solé, E. Guinó, J. Valls et al. *Bioinformatics*. 2006. Vol. 22, Iss. 15. P. 1928-1929. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>
- [16] SNPStats: Your web tool for SNP analysis // Institut Català d'Oncologia. March 15, 2016. URL: <https://www.odap-ico.org/en/portfolio/snpstats-your-web-tool-for-snp-analysis/>
- [17] Parvathy S. T., Udayasuriyan V., Bhadana V. Codon usage bias. *Molecular biology reports*. 2022. Vol. 49, Iss. 1. P. 539-565. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06749-4>
- [18] Association of COL2A1 gene polymorphism with degenerative lumbar scoliosis / D. W. Hwang, K. T. Kim, S. H. Lee et al. *Clinics in orthopaedic surgery*. 2014. Vol. 6, Iss. 4. P. 379-384. <https://doi.org/10.4055/cios.2014.6.4.379>
- [19] Correlations Between COL2A and Aggrecan Genetic Polymorphisms and the Risk and Clinicopathological Features of Intervertebral Disc Degeneration in a Chinese Han Population: A Case-Control Study / Y., Deng X. T. Tan, Q. Wu, X. Wang. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2017. Vol. 21, Iss. 2. P. 108-115. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2016.0256>
- [20] Polymorphisms in COL2A1 gene in Adolescents with Temporomandibular Disorders / B. C. do Nascimento Rechia, B. Michels, A. L. Faturri et al. *The Journal of clinical pediatric dentistry*. 2020. Vol. 44, Iss. 5. P. 364-372. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-44.5.12>
- [21] *In vivo* Mouse Intervertebral Disc Degeneration Models and Their Utility as Translational Models of Clinical Discogenic Back Pain: A Comparative Review / S. N., Tang B. A. Walter, M. K. Heimann et al. *Frontiers in pain research*. 2022. Vol. 3. P. 894651. <https://doi.org/10.3389/fpain.2022.894651>
- [22] Collagen alpha-1(I) chain isoform 1 precursor [Homo sapiens] / National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/73486666>
- [23] COL9A1 gene polymorphism is associated with Kashin-Beck disease in a northwest Chinese Han population / X. Shi, F. Zhang, A. Lv et al. *PLoS one*. 2015. Vol. 10, Iss. 3. P. e0120365. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120365>
- [24] A genetic variant in COL11A1 is functionally associated with lumbar disc herniation in Chinese population / W. Liu, G. Sun, L. Guo et al. *Journal of genetics*. 2017. Vol. 96, Iss. 6. P. 867-872. <https://doi.org/10.1007/s12041-017-0874-8>
- [25] A Meta-analysis Assessing the Association Between COL11A1 and GDF5 Genetic Variants and Intervertebral Disc Degeneration Susceptibility / F. Wu., X. Huang, Z. Zhang, S. Shao. *Spine*. 2020. Vol. 45, Iss. 11. P. E616-E623. <https://doi.org/10.1097/BRS.00000000000003371>
- [26] Proline provides site-specific flexibility for in vivo collagen / W. Y. Chow, C. J. Forman, D. Bihan et al. *Scientific reports*. 2018. Vol. 8, Iss. 1. P. 13809. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31937-x>

References

- [1] Ligorio C., Hoyland, J. A., & Saiani, A. (2022). Self-Assembling Peptide Hydrogels as Functional Tools to Tackle Intervertebral Disc Degeneration. *Gels*, 8(4), 211. <https://doi.org/10.3390/gels8040211>
- [2] Kawaguchi, Y. (2018). Genetic background of degenerative disc disease in the lumbar spine. *Spine surgery and related research*, 2(2), 98-112. <https://doi.org/10.22603/ssr.2017-0007>
- [3] Li, X., Yang, S., Qin, L., & Yang, S. (2021). Type II collagen-positive embryonic progenitors are the major contributors to spine and intervertebral disc development and repair. *Stem cells translational medicine*, 10(10), 1419-1432. <https://doi.org/10.1002/sctm.20-0424>
- [4] Cauble, M. A., Mancini, N. S., Kalinowski, J., Lykotrafitis, G., & Moss, I. L. (2020). Atomic force microscopy imaging for nanoscale and microscale assessments of extracellular matrix in intervertebral disc and degeneration. *JOR spine*, 3(3), e1125. <https://doi.org/10.1002/jsp2.1125>
- [5] Chen, S., Fu, P., Wu, H., & Pei, M. (2017). Meniscus, articular cartilage and nucleus pulposus: a comparative review of cartilage-like tissues in anatomy, development and function. *Cell and tissue research*, 370(1), 53-70. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2613-0>
- [6] Ohnishi, T., Novais, E. J., & Risbud, M. V. (2020). Alterations in ECM signature underscore multiple sub-phenotypes of intervertebral disc degeneration. *Matrix biology plus*, 6-7, 100036. <https://doi.org/10.1016/j.mplus.2020.100036>
- [7] Xie, G., Liang, C., Yu, H., & Zhang, Q. (2021). Association between polymorphisms of collagen genes and susceptibility to intervertebral disc degeneration: a meta-analysis. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 16(1), 616. <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02724-8>
- [8] Zhao, Z., Li, Y., Wang, M., Zhao, S., Zhao, Z., & Fang, J. (2020). Mechanotransduction pathways in the regulation of cartilage chondrocyte homeostasis. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(10), 5408-5419. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15204>
- [9] Liang, H., Luo, R., Li, G., Zhang, W., Song, Y., & Yang, C. (2022). The Proteolysis of ECM in Intervertebral Disc Degeneration. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1715. <https://doi.org/10.3390/ijms23031715>
- [10] Fontes, R. B. V., Baptista, J. S., Rabbani, S. R., Traynelis, V. C., & Liberti, E. A. (2019). Normal aging in human lumbar discs: An ultrastructural comparison. *PLoS one*, 14(6), e0218121. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218121>
- [11] Wu, H., Wang, S., Chen, W., Zhan, X., Xiao, Z., Jiang, H., & Wei, Q. (2018). Collagen IX gene polymorphisms and lumbar disc degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 13(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s13018-018-0750-0>
- [12] Teles Filho, R. V., Abe, G. M., & Daher, M. T. (2020). Genetic Influence in Disc Degeneration – Systematic Review of Literature. *Revista brasileira de ortopedia*, 55(2), 131-138. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1692626>
- [13] Arseni, L., Lombardi, A., & Orioli, D. (2018). From Structure to Phenotype: Impact of Collagen Alterations on Human Health. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1407. <https://doi.org/10.3390/ijms19051407>
- [14] Xu, H., Dong, R., Zeng, Q., Fang, L., Ge, Q., Xia, C., Zhang, P., Lv, S., Zou, Z., Wang, P., Li, J., Ruan, H., Hu, S., Wu, C., Jin, H., & Tong, P. (2022). Col9a2 gene deletion accelerates the degeneration of intervertebral discs. *Experimental and therapeutic medicine*, 23(3), 207. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11130>
- [15] Solé, X., Guinó, E., Valls, J., Niesta, R., & Moreno, V. (2006). SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*, 22(15), 1928-1929. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>
- [16] Institut Català d'Oncologia. (2016, March 15). *SNPStats: Your web tool for SNP analysis*. <https://www.odap-ico.org/en/portfolio/snpstats-your-web-tool-for-snp-analysis/>

- [17] Parvathy, S. T., Udayasuriyan, V., & Bhadana, V. (2022). Codon usage bias. *Molecular biology reports*, 49(1), 539-565. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06749-4>
- [18] Hwang, D. W., Kim, K. T., Lee, S. H., Kim, J. Y., & Kim, D. H. (2014). Association of COL2A1 gene polymorphism with degenerative lumbar scoliosis. *Clinics in orthopedic surgery*, 6(4), 379-384. <https://doi.org/10.4055/cios.2014.6.4.379>
- [19] Deng, Y., Tan, X. T., Wu, Q., & Wang, X. (2017). Correlations Between COL2A and Aggrecan Genetic Polymorphisms and the Risk and Clinicopathological Features of Intervertebral Disc Degeneration in a Chinese Han Population: A Case-Control Study. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 21(2), 108-115. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2016.0256>
- [20] Do Nascimento Rechia, B. C., Michels, B., Faturri, A. L., de Paiva Bertoli, F. M., Scariot, R., de Souza, J. F., K uchler, E. C., & Brancher, J. A. (2020). Polymorphisms in COL2A1 gene in Adolescents with Temporomandibular Disorders. *The Journal of clinical pediatric dentistry*, 44(5), 364-372. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-44.5.12>
- [21] Tang, S. N., Walter, B. A., Heimann, M. K., Gantt, C. C., Khan, S. N., Kokiko-Cochran, O. N., Askwith, C. C., & Purmessur, D. (2022). *In vivo* Mouse Intervertebral Disc Degeneration Models and Their Utility as Translational Models of Clinical Discogenic Back Pain: A Comparative Review. *Frontiers in pain research*, 3, 894651. <https://doi.org/10.3389/fpain.2022.894651>
- [22] NCBI. (n.d.). *Collagen alpha-1(I) chain isoform 1 precursor [Homo sapiens]*. U.S. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/73486666>
- [23] Shi, X., Zhang, F., Lv, A., Wen, Y., & Guo, X. (2015). COL9A1 gene polymorphism is associated with Kashin-Beck disease in a northwest Chinese Han population. *PLoS one*, 10(3), e0120365. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120365>
- [24] Liu, W., Sun, G., Guo, L., Wang, L., Fan, W., Lang, M., Chen, D., & Yi, X. (2017). A genetic variant in COL11A1 is functionally associated with lumbar disc herniation in Chinese population. *Journal of genetics*, 96(6), 867-872. <https://doi.org/10.1007/s12041-017-0874-8>
- [25] Wu, F., Huang, X., Zhang, Z., & Shao, Z. (2020). A Meta-analysis Assessing the Association Between COL11A1 and GDF5 Genetic Variants and Intervertebral Disc Degeneration Susceptibility. *Spine*, 45(11), E616-E623. <https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000003371>
- [26] Chow, W. Y., Forman, C. J., Bihan, D., Puzkarska, A. M., Rajan, R., Reid, D. G., Slatter, D. A., Colwell, L. J., Wales, D. J., Farndale, R. W., & Duer, M. J. (2018). Proline provides site-specific flexibility for in vivo collagen. *Scientific reports*, 8(1), 13809. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31937-x>