

УДК 616.711-007.55-07+617.3+577.161.2-008.64

DOI: 10.56871/RBR.2025.33.74.001

АССОЦИАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D С ТЯЖЕЛЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ СКОЛИОЗОМ У РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ

© Константин Григорьевич Буслов¹, Сергей Егорович Хальчицкий¹, Марина Ваниковна Согоян¹, Сергей Валентинович Виссарионов¹, Юрий Вадимович Комов², Екатерина Геннадьевна Батоцыренова², Игорь Александрович Сраго², Вадим Анатольевич Кашуро^{2, 3, 4}, Елена Николаевна Красникова², Татьяна Юрьевна Крецер²

¹ Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии им. Г.И. Турнера. 196603, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Парковая, д. 64–68, Российская Федерация

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2, Российская Федерация

³ Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена. 191186, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48, Российская Федерация

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9, Российская Федерация

Контактная информация: Сергей Егорович Хальчицкий — заведующий лабораторией. E-mail: s_khalchitski@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1467-8739> SPIN: 2143-7822

Для цитирования: Буслов К.Г., Хальчицкий С.Е., Согоян М.В., Виссарионов С.В., Комов Ю.В., Батоцыренова Е.Г., Сраго И.А., Кашуро В.А., Красникова Е.Н., Крецер Т.Ю. Ассоциация аллельных вариантов комбинированного генетического риска дефицита витамина D с тяжелым идиопатическим сколиозом у российских пациентов. Российские биомедицинские исследования. 2025;10(2):7–17. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2025.33.74.001>

Поступила: 28.02.2025

Одобрена: 15.04.2025

Принята к печати: 24.06.2025

Резюме. Введение. Идиопатический сколиоз (ИС) — распространенное заболевание позвоночника, которое встречается у 2–4% людей во всем мире. Имеется большой массив исследований по определению связи между концентрацией витамина D в крови и ИС. **Цель исследования** — изучение ассоциации между полиморфными вариантами в генах *CYP2R1* и *GC* и тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) у российских пациентов. **Материалы и методы.** Подбор пациентов с ИС, а также лиц контрольной группы проводился по результатам предварительных клинических исследований. Генотипирование образцов крови проводилось методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР). **Результаты.** Распределение аллелей *CYP2R1* rs2060793 и генотипов и аллелей *CYP2R1* rs10766197 статистически различалось ($p < 0,05$) между пациентами и контрольной группой. Не было обнаружено статистически значимых различий между ТИС и контрольной группой для однонуклеотидных вариаций *CYP2R1* rs10741657 и *GC* rs4588, rs842999, rs2282679. Стратификация шкалы комбинированного генетического риска (КГР) дефицита витамина D на три подгруппы была проведена делением шкалы в соответствии с суммой аллелей риска. Было выявлено статистически значимое различие ($p < 0,05$) между группами. Парадоксально, но низкий КГР был выявлен у пациентов с ТИС чаще, чем в контроле ($OR=2,28$). Самое низкое значение КГР (0 аллелей) было обнаружено только в группе ТИС, но не в контрольной группе: 0/92 (0%) и 8/91 (9%) соответственно. **Выводы.** Полученные в данном исследовании результаты не являются достаточными для принятия какого-либо клинического решения о значимости тестирования метаболитов витамина D у пациентов с ИС или терапевтического применения препаратов витамина D. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить влияние генетических факторов метаболизма витамина D на прогрессирование идиопатического сколиоза, прогнозирование его течения и выбор тактики лечения.

Ключевые слова: идиопатический сколиоз, дефицит витамина D, *CYP2R1*, *GC*, мутация

DOI: 10.56871/RBR.2025.33.74.001

ASSOCIATION OF ALLELIC VARIANTS OF COMBINED GENETIC RISK OF VITAMIN D DEFICIENCY WITH SEVERE IDIOPATHIC SCOLIOSIS IN RUSSIAN PATIENTS

© Konstantin G. Buslov¹, Sergei E. Khalchitsky¹, Marina V. Sogoyan¹,
Sergei V. Vissarionov¹, Yuri V. Komov², Ekaterina G. Batotsyrenova²,
Igor A. Srago², Vadim A. Kashuro^{2, 3, 4}, Elena N. Krasnikova², Tatyana Yu. Kretser²

¹H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery. 64-68 Parkovaya str., Pushkin, Saint Petersburg 196603 Russian Federation

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University. 2 Lithuania, Saint Petersburg 194100 Russian Federation

³Herzen State Pedagogical University of Russia. 48 Moika emb., Saint Petersburg 191186 Russian Federation

⁴Saint Petersburg State University. 7–9 Universitetskaya emb., Saint Petersburg 199034 Russian Federation

Contact information: Sergei E. Khalchitsky — Head of Laboratory. E-mail: s_khalchitski@mail.ru ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1467-8739> SPIN: 2143-7822

For citation: Buslov KG, Khalchitsky SE, Sogoyan MV, Vissarionov SV, Komov YuV, Batotsyrenova EG, Srago IA, Kashuro VA, Krasnikova EN, Kretser TYu. Association of allelic variants of combined genetic risk of vitamin D deficiency with severe idiopathic scoliosis in Russian patients. Russian Biomedical Research. 2025;10(2):7–17. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2025.33.74.001>

Received: 28.02.2025

Revised: 15.04.2025

Accepted: 24.06.2025

Abstract. Introduction. Idiopathic scoliosis (IS) is a common spinal disorder that affects 2–4% of people worldwide. There is a large research array investigating the relationship between blood vitamin D levels and IS. **The purpose of the work** — to study the association between polymorphic variants in the *CYP2R1* and *GC* genes and severe idiopathic scoliosis (SIS) in Russian patients. **Materials and methods.** Patients with IS and controls were selected based on the results of preliminary clinical studies. Blood samples were genotyped using allele-specific polymerase chain reaction (PCR). **Results.** The distribution of *CYP2R1* rs2060793 alleles and the distribution of *CYP2R1* rs10766197 genotypes and alleles were statistically different ($p < 0.05$) between patients and controls. No statistically significant differences were found between TIS and the control group for single nucleotide variations in *CYP2R1* rs10741657 and *GC* rs4588, rs842999, rs2282679. Stratification of the combined genetic risk (GSR) score for vitamin D deficiency into three subgroups was performed by dividing the score according to the sum of risk alleles. A statistically significant difference ($p < 0.05$) was found between the groups. Paradoxically, low GSR was detected in patients with TIS more often than in the controls (OR=2.28). The lowest GSR value (0 alleles) was found only in the TIS group, but not in the control group: 0/92 (0%) and 8/91 (9%), respectively. **Conclusions.** The results obtained in this study are not sufficient to make any clinical decision on the significance of testing vitamin D metabolites in patients with IS or the therapeutic use of vitamin D preparations. Further studies are needed to determine the influence of genetic factors of vitamin D metabolism on the progression of idiopathic scoliosis, prognosis of its course and choice of treatment tactics.

Keywords: idiopathic scoliosis, vitamin D deficiency, *CYP2R1*, *GC*, mutation



ВВЕДЕНИЕ

Идиопатический сколиоз (ИС) — распространенное заболевание позвоночника, которое встречается у 2–4% людей во всем мире, манифестируя обычно в детском возрасте [22]. Этиология и патогенез ИС до сих пор остаются неясными [5, 23, 27, 31].

В настоящее время ведется активный поиск биомаркеров для оценки тяжести течения и прогрессирования заболевания, в том числе и на генетическом уровне [1, 3]. Проведено много исследований с целью изучения связи между концентрацией витамина D в крови и клиническим течением ИС. Вместе с тем в ряде исследований было показано наличие генетической предрасположенности к дефициту витамина D,

но прямая связь между ИС и генетическим риском гиповитаминоза D не изучалась [2, 4, 6, 8]. Относительно низкие уровни метаболитов витамина D в плазме у пациентов с ИС были отмечены во многих исследованиях [16, 21, 32]. Кроме того, дефицит витамина D является возможным фактором, влияющим на клиническое течение ИС. Дефицит витамина D распространен у пациентов с подростковым ИС, и хотя он сопоставим с таковым у здоровых подростков, была обнаружена корреляция между предоперационными показателями боли в спине и выраженностью дефицита витамина D [14]. Это наблюдение согласуется с результатами исследования, показывающими, что угол искривления (угол Кобба) отрицательно коррелировал с уровнем витамина D в сыворотке крови [16]. Результаты проспективного, рандомизированного,

Таблица 1

**Однонуклеотидные вариации (SNV) в генах CYP2R1
и GC, влияющие на концентрацию в крови метаболитов витамина D**

Table 1

SNV of CYP2R1 and GC, associated with vitamin D blood concentrations

Ген, SNV / Gene, SNV	Регион, популяция / Region, population	Источник данных / Data source
CYP2R1 rs10500804	Арабы / Arabs Датчане / Danes Корейцы / Koreans	[15] [25] [27]
CYP2R1 rs10741657	Датчане / Danes Северная Америка, Европеиды / North America, Caucasoids Иордания / Jordan Смешанная (обзор) / Mixed (review)	[17–19] [23] [20] [24, 26]
CYP2R1 rs10766197	Европеиды / Caucasoids Датчане / Danes Смешанная (обзор) / Mixed (review)	[16] [17–19] [26]
CYP2R1 rs11023374	Аляска, американские индейцы / Alaska, American Indians	[22]
CYP2R1 rs12794714	Арабы / Arabs	[15]
CYP2R1 rs2060793	Смешанная (обзор) / Mixed (review)	[26]
GC rs1155563	Смешанная (обзор) / Mixed (review)	[26]
GC rs17467825	Арабы / Arabs	[15]
GC rs2282679	Южная Азия, арабы / Southern Asia, Arabs Северная Америка, Европеиды / Northern America, Caucasoids Смешанная (обзор) / Mixed (review)	[15] [23] [26]
GC rs2298850	Южная Азия, арабы / Southern Asia, Arabs	[15]
GC rs3755967	Южная Азия, арабы / Southern Asia, Arabs	[15]
GC rs4588	Датчане / Danes Иордания / Jordan Смешанная (обзор) / Mixed (review)	[17–19, 25] [20] [21, 26]
GC rs7041	Южная Азия, арабы / Southern Asia, Arabs Иордания / Jordan Датчане / Danes Смешанная (обзор) / Mixed (review)	[15] [20] [25] [21, 26]
GC rs842999	Датчане / Danes	[17–19]

случай-контроль интервенционного исследования показали клиническое и рентгенологическое улучшение у пациентов с ИС на фоне приема препаратов мелатонина, кальция и витамина D [15]. Приведенные примеры подтверждают роль низкого уровня метаболитов витамина D в прогрессировании ИС, однако значение витамина D в этиопатогенезе и клиническом течении ИС еще не вполне ясно [13, 21].

Дефицит или недостаточность витамина D могут быть обусловлены многими факторами, такими как раса, этническая принадлежность, географические и экологические факторы, диета и образ жизни, а также индивидуальная генетическая предрасположенность. В многочисленных исследованиях было показано, что распространенные генетические варианты в генах *CYP2R1* (микросомальная 25-гидроксилаза витамина D) и *GC* (витамин D-связывающий белок — DBP) ассоциированы с более низкими концентрациями циркулирующего 25-гидроксивитамина D [7, 9–12, 18–20, 24–26, 28, 29]. Примечательно, что влияние полиморфных аллелей *CYP2R1* и *GC* на концентрации сывороточного 25-гидроксивитамина D отмечалось в разных географических регионах и популяциях (табл. 1), хотя популяционные генетические особенности отражают различную значимость каждого отдельного аллельного варианта для развития гиповитаминоза D.

Совместный эффект от наличия «неблагоприятных» аллелей *CYP2R1* и *GC* на концентрацию 25-гидроксивитамина D в крови был проанализирован J. Nissen и соавт. [24, 25] в датской популяции, авторы предложили шкалу комбинированного генетического риска (КГР, GRS — genetic risk score) как сумму «неблагоприятных» аллелей.

Шкала комбинированного генетического риска (диапазон 0–8) была рассчитана как сумма аллелей G rs10741657, аллелей A rs10766197, аллелей A rs4588 и аллелей C/A rs842999 у каждого индивида [25, 26] и была показана положительная корреляция между шкалой КГР и средней концентрацией 25-гидроксивитамина D в плазме. Таким образом, влияние дефицита витамина D на прогрессирование ИС остается не

вовне ясным. Исследование концентрации 25-гидроксивитамина D в крови пациентов с ИС является «единичным фотоснимком», в то время как индивидуальные генетические характеристики формируют тенденцию на протяжении всей жизни.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью исследования было изучение связи между полиморфными генетическими вариантами *CYP2R1* и *GC* и тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) у российских пациентов. В наше исследование были включены шесть однонуклеотидных вариаций: rs2060793, rs10766197, rs10741657 гена *CYP2R1* и rs4588, rs842999, rs2282679 гена *GC*. Был проведен анализ на ассоциацию каждого из генетических полиморфных вариантов с ТИС и анализ распределения КГР у пациентов с ТИС и здоровых лиц контрольной группы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты и контрольная группа

В исследование с одобрения локального этического комитета института были включены 91 пациент с тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) и 92 здоровых лица, составивших контрольную группу. Все пациенты имели прогрессирующую форму заболевания со стадией III или IV в соответствии с критериями SRS [17]. Пациенты со сколиозом, вторичным по отношению к другому заболеванию, в исследование не включались. Представители контрольной группы были отобраны после медицинского осмотра. Подробная информация о группах с ТИС и здоровых лиц (контроль) представлена в таблице 2.

Генотипирование

Геномную ДНК выделяли из крови с помощью набора для выделения ДНК («Синтол», Москва, Россия). Для генотипирования использовали аллель-специфическую полимеразную цепную реакцию в реальном времени с детекцией по SYBR

Таблица 2

Клинические характеристики группы пациентов с тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) и здоровых лиц контрольной группы

Table 2

Clinical characteristics of Patients with severe idiopathic scoliosis (SIS) and healthy controls

Испытуемые / Subjects	Численность / Number	Возраст (средний возраст) / Age (middle age)	Степень сколиоза / Scoliosis degree	
			III степень	IV степень
Пациенты ТИС / Patients SIS	91 (100%)	6–20 (17,4)	14	77
Женщины / Female	70 (77%)	6–20 (17,6)	11	59
Мужчины / Male	21 (23%)	15–19 (16,9)	3	18
Контрольная группа / Healthy controls	92 (100%)	18–56 (31,6)	–	–
Женщины / Female	82 (89%)	19–49 (28,4)	–	–
Мужчины / Male	10 (11%)	19–56 (35,7)	–	–



Green I. ПЦР каждого образца ДНК проводили одновременно в двух лунках, в каждой из которых содержалось по одному из аллель-специфических праймеров, а также одинаковое количество второго (общего) праймера и геномной ДНК. Смесь для ПЦР содержала по 400 нМ каждого аллель-специфического и общего олигонуклеотидного праймеров, 0,2 ед. термоактивируемой Taq-полимеразы «SynTaq» («Синтол», Москва, Россия) в соответствующем буфере для ПЦР в реальном времени с флуоресцеином (FAM) и SYBR Green I, 3 мМ MgCl₂, по 1 мкМ каждого dNTP и 1 мкл раствора ДНК (8–15 нг). После начального нагрева при 95° в течение 5 минут повторяли 35 циклов по 10 секунд для шага денатурации при 95° и 30 секунд для сопряженного шага отжига-синтеза при 60°, во время которого производился сбор данных флуоресценции. Для подтверждения специфичности AS-PCR применялся анализ кривой плавления продуктов ПЦР в диапазоне от 65 до 95° с шаговым повышением температуры +0,5°. Для распознавания гомозиготных и гетерозиготных образцов ДНК использовался метод delta-Ct. Список олигонуклеотидных праймеров ПЦР приведен в таблице 3.

Статистический анализ

Для статистического анализа использовался онлайн-калькулятор медицинской статистики (<https://medstatistic.ru/>

calculators.html). Для межгруппового сравнения распределения генотипов и аллелей применялся тест χ^2 . Тест χ^2 рассчитывался для таблиц сопряженности 5x5 или менее. Коэффициент отношения шансов (OR) был рассчитан для оценки влияния статистически различающихся генотипов и аллелей в группах сравнения на предрасположенность к ТИС.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Подробные результаты распределения генотипов и аллелей CYP2R1 и GC в группах пациентов с ТИС и здоровых лиц контрольной группы представлены в таблице 4 и 5.

Тест χ^2 применялся для сравнения встречаемости генотипов и аллелей в группе ТИС и контрольной группе. Аллель G rs2060793 CYP2R1 преобладал в контрольной группе: 129 (69%) против 105 (58%) в группе ТИС, различие статистически достоверно ($p < 0,05$). Различия в распределении генотипов и аллелей rs10766197 CYP2R1 было статистически значимым ($p < 0,05$) между группой ТИС и контрольной группой: 19 (21%) и 29 (31%) соответственно. Аллель A rs10766197 CYP2R1 был обнаружен в группе ТИС в 105 (56%) и в контрольной группе в 79 (43%) случаях, различие статистически достоверно ($p < 0,05$). Не было обнаружено статистически значимых различий между

Таблица 3

Список олигонуклеотидных праймеров для ПЦР

Table 3

List of oligonucleotide PCR-primers

Ген, SNV / Gene, SNV	Название праймера / Primer name	5'–3' последовательность / 5'–3' sequence
CYP2R1 rs10741657	CYP2R1-657sA	GGGAGATACTTTAGCAGGCA
	CYP2R1-657sG	GGGAGATACTTTAGCAGGCG
	CYP2R1-657aB	TGTCAGCCCTGGAAGACTCA
CYP2R1 rs10766197	CYP2R1-197aG	GGTCCTTTCTGTATCTTGGCAC
	CYP2R1-197aA	GGTCCTTTCTGTATCTTGGCAA
	CYP2R1-197sB	ACCGAATACACAGCAGGCTA
CYP2R1 rs2060793	CYP2R1-793sA	GCCCCACCTGGATAATCCCA
	CYP2R1-793sG	GCCCCACCTGGATAATCCCG
	CYP2R1-793aB	TTTCCCCCATATCTGCCTCA
GC rs2282679	GC-679aT	CTCTGTCTCTTAATTATCTCACAA
	GC-679aG	CTCTGTCTCTTAATTATCTCACAC
	GC-679sB	TCACAGCCTCAGTTCCTATG
GC rs4588	GC-588sG	ACCAGCTTTGCCAGTTCCG
	GC-588sT	ACCAGCTTTGCCAGTTCCCT
	GC-588aB	TAGAATTTCTTGAGACAGGCA
GC rs842999	GC-999aG	CTTACACTTATACAAGAGCAGC
	GC-999aA	CTTACACTTATACAAGAGCAGT
	GC-999aC	CTTACACTTATACAAGAGCAGG
	GC-999sB	TTTAAGACTTGATGAGCCCTGT

Таблица 4

Распределение генотипов и аллелей CYP2R1 в группах пациентов с тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) и в контрольной группе

Table 4

Distribution of genotypes and alleles of CYP2R1 in the groups of Patients with severe idiopathic scoliosis (SIS) and Healthy Controls (HC)

Ген, SNV / Gene, SNV		ТИС, (%) / SIS (%)	Контроль, (%) / Controls (%)	χ², p
CYP2R1 rs2060793				
Генотипы / Genotypes	GG	32 (35%)	46 (49%)	χ²=4,9825 p=0,082806
	AG	41 (45%)	37 (40%)	
	AA	18 (20%)	10 (11%)	
	Bcero / Total	91 (100%)	93 (100%)	
Аллели / Alleles	G	105 (58%)	129 (69%)	χ²=5,4038 p=0,020093*
	A	77 (42%)	57 (31%)	
	Bcero / Total	182 (100%)	186 (100%)	
Носители аллелей / Allele carries	G	73 (55%)	83 (64%)	χ²=1,9844 p=0,158931
	A	59 (45%)	47 (36%)	
	Bcero / Total	132 (100%)	130 (100%)	
CYP2R1 rs10741657				
Генотипы / Genotypes	GG	38 (42%)	45 (49%)	χ²=1,4059 p=0,495127
	TG	35 (38%)	34 (37%)	
	TT	18 (20%)	13 (14%)	
	Bcero / Total	91 (100%)	92 (100%)	
Аллели / Alleles	G	111 (61%)	124 (67%)	χ²=1,6319 p=0,201436.
	T	71 (39%)	60 (33%)	
	Bcero / Total	182 (100%)	184 (100%)	
Носители аллелей / Allele carries	G	73 (58%)	79 (62%)	χ²=0,5968 p=0,439785
	T	53 (42%)	47 (38%)	
	Bcero / Total	126 (100%)	126 (100%)	
CYP2R1 rs10766197				
Генотипы / Genotypes	GG	31 (34%)	17 (18%)	χ²= 6,5548 p=0,037726*
	AG	41 (45%)	47 (51%)	
	AA	19 (21%)	29 (31%)	
	Bcero	91 (100%)	93 (100%)	
Аллели / Alleles	G	103 (57%)	81 (44%)	χ²=6,2616 p=0,012338*
	A	79 (43%)	105 (56%)	
	Bcero / Total	182 (100%)	186 (100%)	
Носители аллелей / Allele carries	G	72 (55%)	64 (46%)	χ²=2,1195 p=0,145436
	A	60 (45%)	76 (54%)	
	Bcero / Total	132 (100%)	140 (100%)	

* Результат достоверен при $p < 0,05$. / The result is reliable at $p < 0.05$.

Таблица 5

Распределение генотипов и аллелей GC в группах пациентов с тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) и в контрольной группе

Table 5

Distribution of genotypes and alleles of GC in the groups of Patients with severe idiopathic scoliosis (SIS) and Healthy Controls (HC)

Ген, SNV / Gene, SNV		ТИС, (%) / SIS (%)	Контроль, (%) / Controls (%)	χ², p
GC rs4588				
Генотипы / Genotypes	GG	51 (56%)	44	χ²=2,0387 p=0,360838
	TG	33 (36%)	37	
	TT	7 (8%)	12	
	Bcero / Total	91 (100%)	93	
Аллели / Alleles	G	135 (74%)	125 (67%)	χ²=2,1562 p=0,141995
	T	47 (26%)	61 (33%)	
	Bcero / Total	182 (100%)	186 (100%)	
Носители аллелей / Allele carries	G	84 (68%)	81 (62%)	χ²=0,8234 p=0,364192
	T	40 (32%)	49 (38%)	
	Bcero / Total	124 (100%)	130 (100%)	
GC rs2282679				
Генотипы / Genotypes	GG	7 (8%)	13 (14%)	χ²=2,4248 p=0,297487
	TG	33 (36%)	36 (39%)	
	TT	51 (56%)	44 (47%)	
	Bcero / Total	91 (100%)	93 (100%)	
Аллели / Alleles	G	47 (26%)	62 (33%)	χ²=2,4882 p=0,114702
	T	135 (74%)	124 (67%)	
	Bcero / Total	182 (100%)	186 (100%)	
Носители аллелей / Allele carries	G	40 (32%)	49 (38%)	χ²=0,9092 p=0,340323
	T	84 (68%)	80 (62%)	
	Bcero / Total	124 (100%)	129 (100%)	
GC rs842999				
Генотипы / Genotypes	CC	41 (45%)	33 (36%)	χ²=1,7241 p=0,78633
	GC	30 (34%)	37 (40%)	
	GG	14 (15%)	16 (17%)	
	TC	4 (4%)	4 (4%)	
	TG	2 (2%)	2 (2%)	
	TT	0	1 (1%)	
	Bcero / Total	91 (100%)	93 (100%)	
Аллели / Alleles	C	116 (64%)	107 (58%)	χ²=1,5293 p=0,465495
	G	60 (33%)	71 (38%)	
	T	6 (3%)	8 (4%)	
	Bcero / Total	182 (100%)	186 (100%)	
Носители аллелей / Allele carries	C	75 (59%)	74 (55%)	χ²=0,5783 p=0,748897
	G	46 (36%)	55 (40%)	
	T	6 (5%)	7 (5%)	
	Bcero / Total	127 (100%)	136 (100%)	

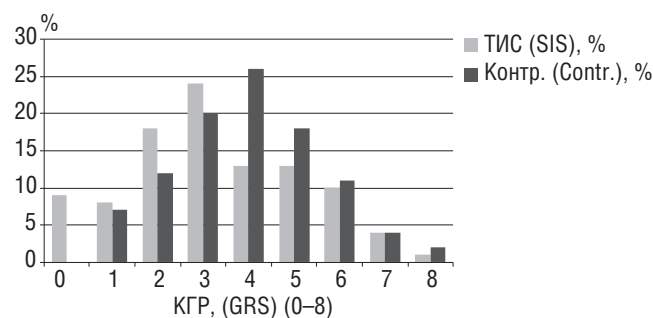


Рис. 1. Распределение значений шкалы комбинированного генетического риска (КГР, 0–8 баллов) дефицита витамина D в группах пациентов с тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) и в контрольной группе

Fig. 1. Distribution the values of the combined genetic risk score (GRS, 0–8 points) for vitamin D deficiency in groups of patients with severe idiopathic scoliosis (SIS) and in the control group

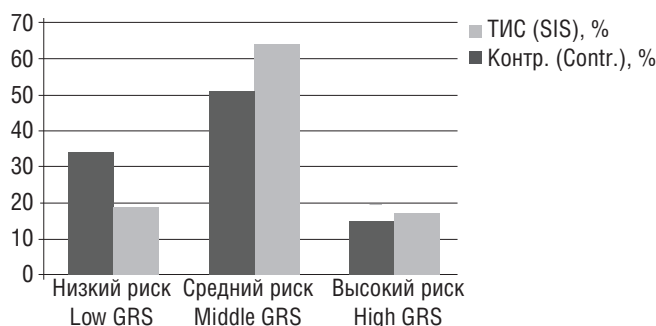


Рис. 2. Распределение пациентов с тяжелым идиопатическим сколиозом (ТИС) и лиц контрольной группы на подгруппы риска

Fig. 2. Distribution of patients with severe idiopathic scoliosis (SIS) and control group individuals into subgroups of risk

группой ТИС и контрольной группой для однонуклеотидных вариаций *CYP2R1* rs10741657 и *GC* rs4588, rs842999, rs2282679.

Комбинированный генетический риск (КГР) predispositionности к дефициту витамина D (диапазон 0–8) рассчитывался как сумма количества G-аллелей rs10741657, A-аллелей rs10766197, A-аллелей rs4588 и C/A-аллелей rs842999, в соответствии с J. Nissen и др. [21]. Подробная информация о распределении КГР в группах пациентов с ТИС и здоровых лиц представлена на графике (рис. 1).

Стратификация шкалы КГР на три подгруппы была сделана путем деления шкалы в соответствии с суммой аллелей риска: низкий КГР — от 0 до 2 аллелей, средний КГР — от 3 до 5 аллелей, высокий КГР — от 6 до 8 аллелей. Тест χ^2 и расчет отношения шансов (OR) применялись для сравнения подгрупп низкого КГР и среднего+высокого КГР для группы ТИС и контрольной группы. Статистически значимое различие ($p < 0,05$) было обнаружено между группами, низкие значения КГР встречались у пациентов с ТИС чаще, чем в контроле (OR=2,28). Самое низкое значение КГР (0 аллелей

риска дефицита витамина D) было обнаружено только в группе ТИС, но не в контрольной группе: 8/91 (9%) против 0/92 (0%) (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Значение витамина D в прогрессировании ИС остается неопределенным [13]. Целью нашего исследования было выявление возможной прямой связи между идиопатическим сколиозом и распространенными полиморфными аллелями *CYP2R1* и *GC*, при условии, что: 1) относительно низкие уровни метаболитов витамина D в крови ассоциированы с возникновением и прогрессированием ИС; 2) показана ассоциация между определенными аллелями в генах *CYP2R1* и *GC* с predispositionностью к гиповитаминозу D; 3) КГР, рассчитанный как сумма числа аллелей генов *CYP2R1* и *GC* коррелирует со средним уровнем 25-гидроксивитамина D в крови.

Вопреки нашим ожиданиям, результаты показывают ассоциацию ТИС с низким значением КГР дефицита витамина D по сравнению со средним и высоким значением КГР (OR=2,28). Примечательно, что самое низкое значение КГР (0 аллелей риска дефицита витамина D) было обнаружено только в группе ТИС, но не в контрольной группе (0% против 9%, рис. 1). Кроме того, аллель риска -A и генотип AA *CYP2R1* rs10766197 были более распространены в контрольной группе.

Для определения ассоциации между ИС и аллельными вариантами генов *CYP2R1* и *GC* нами был использован дизайн исследования случай-контроль с применением сравнения групп «экстремального риска» predispositionности к заболеванию [30]. Этот подход основан на сравнении, с одной стороны, группы с тяжелыми клиническими проявлениями, а с другой стороны — контрольной группы без риска развития ИС. По нашему мнению, такой дизайн исследования оправдан для тестирования перспективных генетических вариантов перед проведением более масштабных исследований. Однако результаты исследований, полученные при данном подходе сравнения крайностей, не могут быть напрямую экстраполированы на любые клинические формы идиопатического сколиоза.

ВЫВОДЫ

Полученные в нашем исследовании результаты не являются достаточными для принятия какого-либо клинического решения о значимости тестирования метаболитов витамина D у пациентов с ИС или терапевтического применения препаратов витамина D. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение влияния генетических факторов метаболизма витамина D на прогрессирование идиопатического сколиоза, прогнозирование его течения и, в перспективе, на определение рациональной тактики лечения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Информированное согласие на публикацию. Авторы получили письменное согласие пациентов на публикацию медицинских данных.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patient for publication of relevant medical information within the manuscript.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виссарионов С.В., Хальчицкий С.Е., Першина П.А. и др. Генетические факторы прогрессирования сколиоза (обзор литературы). Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. 2024;25:767–808. EDN: UTXDKY.
2. Сергеев Ю.С., Арсентьев В.Г., Шабалов Н.П., Анциферова Е.С. Недостаточность витамина D у детей раннего возраста. Реалии сегодняшнего дня. Педиатр. 2021;12(6):15–14. DOI: 10.17816/PED1265-14.
3. Хальчицкий С.Е., Грачева Ю.А., Печальнова С.А. и др. Системный ювенильный идиопатический артрит и его биомаркеры (обзор литературы). Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. 2023;24:176–199. EDN: JACYAQ.
4. Ahuja K., Garg B., Chowdhuri B. et al. A Comparative Analysis of the Metabolic and Coagulative Profiles in Patients with Idiopathic Scoliosis, Congenital Scoliosis and Healthy Controls: A Case-Control Study. Asian Spine J. 2018;12(6):1028–1036. DOI: 10.31616/asj.2018.12.6.1028.
5. Aulia T.N., Djufri D., Gatam L. et al. Etiopathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis (AIS): Role of genetic and environmental factors. Narra J. 2023;3(3):e217. DOI: 10.52225/narra.v3i3.217.
6. Balioglu M.B., Aydin C., Kargin D. et al. Vitamin-D measurement in patients with adolescent idiopathic scoliosis. J Pediatr Orthop B. 2017;26(1):48–52. DOI: 10.1097/BPB.0000000000000320.
7. Barry E.L., Rees J.R., Peacock J.L. et al. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D₃ supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(10):E2133–7. DOI: 10.1210/jc.2014-1389.
8. Cațan L., Cerbu S., Amaricai E. et al. Assessment of Static Plantar Pressure, Stabilometry, Vitamin D and Bone Mineral Density in Female Adolescents with Moderate Idiopathic Scoliosis. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(6):2167. DOI: 10.3390/ijerph17062167.
9. Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A. et al. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. Physiol Rev. 2016;96(1):365–408. DOI: 10.1152/physrev.00014.2015.
10. Duan L., Xue Z., Ji H. et al. Effects of CYP2R1 gene variants on vitamin D levels and status: A systematic review and meta-analysis. Gene. 2018;678:361–369. DOI: 10.1016/j.gene.2018.08.056.
11. Elcum N., Alkayal F., Noronha F. et al. Vitamin D insufficiency in Arabs and South Asians positively associates with polymorphisms in GC and CYP2R1 genes. PLoS One. 2014;9(11):e113102. DOI: 10.1371/journal.pone.0113102.
12. Fohner A.E., Wang Z., Yracheta J. et al. Genetics, Diet, and Season Are Associated with Serum 25-Hydroxycholecalciferol Concentration in a Yup'ik Study Population from Southwestern Alaska. J Nutr. 2016;146(2):318–25. DOI: 10.3945/jn.115.223388.
13. González-Ruiz J.M., Bastir M., Pizones J. et al. Vitamin D and adolescent idiopathic scoliosis, should we stop the hype? A cross-sectional observational prospective study based on a geometric morphometrics approach. Eur Spine J. 2023;32(4):1132–1139. DOI: 10.1007/s00586-023-07566-y.
14. Hampton M., Brewer P., Athanassacopoulos M. et al. Prevalence and Significance of Vitamin D Deficiency in Patients Undergoing Corrective Surgery for Adolescent Idiopathic Scoliosis. Int J Spine Surg. 2022;16(1):202–207. DOI: 10.14444/8189.
15. Herdea A., Dragomirescu M.C., Ulici A. et al. Controlling the Progression of Curvature in Children and Adolescent Idiopathic Scoliosis Following the Administration of Melatonin, Calcium, and Vitamin D. Children (Basel). 2022;9(5):758. DOI: 10.3390/children9050758.
16. Herdea A., Charkaoui A., Ulici A. Prevalence of 25-OH-Vitamin D and Calcium Deficiency in Adolescent Idiopathic Scoliosis. J Med Life. 2020;13(2):260–264. DOI: 10.25122/jml-2020-0101.
17. Korbel K., Kozinoga M., Stoliński Ł. et al. Scoliosis Research Society (SRS) Criteria and Society of Scoliosis Orthopaedic and Rehabilitation Treatment (SOSORT) 2008 Guidelines in Non-Operative Treatment of Idiopathic Scoliosis. Pol Orthop Traumatol. 2014;79:118–22.
18. Krasniqi E., Boshnjaku A., Wagner K.H. et al. Association between Polymorphisms in Vitamin D Pathway-Related Genes, Vitamin D Status, Muscle Mass and Function: A Systematic Review. Nutrients. 2021;13(9):3109. DOI: 10.3390/nu13093109.
19. Lafi Z.M., Irshaid Y.M., El-Khateeb M. et al. Association of rs7041 and rs4588 Polymorphisms of the Vitamin D Binding Protein and the rs10741657 Polymorphism of CYP2R1 with Vitamin D Status Among Jordanian Patients. Genet Test Mol Biomarkers. 2015;19(11):629–36. DOI: 10.1089/gtmb.2015.0058.

20. Lee J., Won Woo H., Kim J. et al. Independent and interactive associations of season, dietary vitamin D, and vitamin D-related genetic variants with serum 25(OH)D in Korean adults aged 40 years or older. *Endocr J.* 2021;68(6):701–711. DOI: 10.1507/endocrj.EJ20-0519.
21. Llopis-Ibor C.I., Mariscal G., de la Rubia Ortí J.E. et al. Incidence of vitamin D deficiency in adolescent idiopathic scoliosis: a meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1250118. DOI: 10.3389/fendo.2023.1250118.
22. Maqsood A., Frome D.K., Gibly R.F. et al. IS (Idiopathic Scoliosis) etiology: Multifactorial genetic research continues. A systematic review 1950 to 2017. *J Orthop.* 2020;21:421–426. DOI: 10.1016/j.jor.2020.08.005.
23. Marya S., Tambe A.D., Millner P.A. et al. Adolescent idiopathic scoliosis: a review of aetiological theories of a multifactorial disease. *Bone Joint J.* 2022;104-B(8):915–921. DOI: 10.1302/0301-620X.104B8.BJJ-2021-1638.R1.
24. Nissen J., Vogel U., Ravn-Haren G. et al. Real-life use of vitamin D₃-fortified bread and milk during a winter season: the effects of CYP2R1 and GC genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations in Danish families, the VitmaD study. *Genes Nutr.* 2014;9(4):413. DOI: 10.1007/s12263-014-0413-7.
25. Nissen J., Rasmussen L.B., Ravn-Haren G. et al. Common variants in CYP2R1 and GC genes predict vitamin D concentrations in healthy Danish children and adults. *PLoS One.* 2014;9(2):e89907. DOI: 10.1371/journal.pone.0089907.
26. Nissen J., Vogel U., Ravn-Haren G. et al. Common variants in CYP2R1 and GC genes are both determinants of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations after UVB irradiation and after consumption of vitamin D₃-fortified bread and milk during winter in Denmark. *Am J Clin Nutr.* 2015;101(1):218–27. DOI: 10.3945/ajcn.114.092148.
27. Peng Y., Wang S.R., Qiu G.X. et al. Research progress on the etiology and pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis. *Chin Med J (Engl).* 2020;133(4):483–493. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000652.
28. Petersen R.A., Larsen L.H., Damsgaard C.T. et al. Common genetic variants are associated with lower serum 25-hydroxyvitamin D concentrations across the year among children at northern latitudes. *Br J Nutr.* 2017;117(6):829–838. DOI: 10.1017/S0007114517000538.
29. Slater N.A., Rager M.L., Havrda D.E. et al. Genetic Variation in CYP2R1 and GC Genes Associated With Vitamin D Deficiency Status. *J Pharm Pract.* 2017;30(1):31–36. DOI: 10.1177/0897190015585876.
30. Støer N.C., Salim A., Bokenberger K. et al. Is the matched extreme case-control design more powerful than the nested case-control design? *Stat Methods Med Res.* 2019;28(6):1911–1923. DOI: 10.1177/0962280218778624.
31. Tang N.L.S., Dobbs M.B., Gurnett C.A. et al. A Decade in Review after Idiopathic Scoliosis Was First Called a Complex Trait-A Tribute to the Late Dr. Yves Cotrel for His Support in Studies of Etiology of Scoliosis. *Genes (Basel).* 2021;12(7):1033. DOI: 10.3390/genes12071033.
32. Zhu Q., Chen J., Chen C. et al. Association between calcium-phosphorus balance and adolescent idiopathic scoliosis: A meta-analysis. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2019;53(6):468–473. DOI: 10.1016/j.aott.2019.08.012.

REFERENCES

1. Vissarionov S.V., Khalchitsky S.E., Pershina P.A. et al. Genetic factors in scoliosis progression: a literature review. *Medline.ru.* 2024;25:767–808. (In Russian).
2. Sergeev Y.S., Arsentev V.G., Shabalov N.P., Antsiferova E.S. Vitamin D deficiency in young children. The realities of today. *Pediatrician.* 2021;12(6):5–14. (In Russian). DOI: 10.17816/PED1265-14.
3. Khalchitsky S.E., GrachevaYu.A., Pechal'nova S.A. et al. Systemic juvenile idiopathic arthritis and its biomarkers (literature review). *Medline.ru.* 2023;24:176–199. (In Russian).
4. Ahuja K., Garg B., Chowdhuri B. et al. A Comparative Analysis of the Metabolic and Coagulative Profiles in Patients with Idiopathic Scoliosis, Congenital Scoliosis and Healthy Controls: A Case-Control Study. *Asian Spine J.* 2018;12(6):1028–1036. DOI: 10.31616/asj.2018.12.6.1028.
5. Aulia T.N., Djufri D., Gatam L. et al. Etiopathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis (AIS): Role of genetic and environmental factors. *Narra J.* 2023;3(3):e217. DOI: 10.52225/narra.v3i3.217.
6. Balioglu M.B., Aydin C., Kargin D. et al. Vitamin-D measurement in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *J Pediatr Orthop B.* 2017;26(1):48–52. DOI: 10.1097/BPB.0000000000000320.
7. Barry E.L., Rees J.R., Peacock J.L. et al. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D₃ supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(10):E2133–7. DOI: 10.1210/jc.2014-1389.
8. Cațan L., Cerbu S., Amarică E. et al. Assessment of Static Planar Pressure, Stabilometry, Vitamin D and Bone Mineral Density in Female Adolescents with Moderate Idiopathic Scoliosis. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(6):2167. DOI: 10.3390/ijerph17062167.
9. Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A. et al. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev.* 2016;96(1):365–408. DOI: 10.1152/physrev.00014.2015.
10. Duan L., Xue Z., Ji H. et al. Effects of CYP2R1 gene variants on vitamin D levels and status: A systematic review and meta-analysis. *Gene.* 2018;678:361–369. DOI: 10.1016/j.gene.2018.08.056.
11. Elkum N., Alkayal F., Noronha F. et al. Vitamin D insufficiency in Arabs and South Asians positively associates with polymorphisms in GC and CYP2R1 genes. *PLoS One.* 2014;9(11):e113102. DOI: 10.1371/journal.pone.0113102.
12. Fohner A.E., Wang Z., Yracheta J. et al. Genetics, Diet, and Season Are Associated with Serum 25-Hydroxycholecalciferol Concentration in a Yup'ik Study Population from Southwestern Alaska. *J Nutr.* 2016;146(2):318–25. DOI: 10.3945/jn.115.223388.
13. González-Ruiz J.M., Bastir M., Pizones J. et al. Vitamin D and adolescent idiopathic scoliosis, should we stop the hype? A cross-sectional observational prospective study based on a geometric morphometrics approach. *Eur Spine J.* 2023;32(4):1132–1139. DOI: 10.1007/s00586-023-07566-y.
14. Hampton M., Brewer P., Athanassacopoulos M. et al. Prevalence and Significance of Vitamin D Deficiency in Patients Undergoing



- Corrective Surgery for Adolescent Idiopathic Scoliosis. *Int J Spine Surg*. 2022;16(1):202–207. DOI: 10.14444/8189.
15. Herdea A., Dragomirescu M.C., Ulici A. et al. Controlling the Progression of Curvature in Children and Adolescent Idiopathic Scoliosis Following the Administration of Melatonin, Calcium, and Vitamin D. *Children (Basel)*. 2022;9(5):758. DOI: 10.3390/children9050758.
16. Herdea A., Charkaoui A., Ulici A. Prevalence of 25-OH-Vitamin D and Calcium Deficiency in Adolescent Idiopathic Scoliosis. *J Med Life*. 2020;13(2):260–264. DOI: 10.25122/jml-2020-0101.
17. Korbel K., Kozinoga M., Stoliński Ł. et al. Scoliosis Research Society (SRS) Criteria and Society of Scoliosis Orthopaedic and Rehabilitation Treatment (SOSORT) 2008 Guidelines in Non-Operative Treatment of Idiopathic Scoliosis. *Pol Orthop Traumatol*. 2014;79:118–22.
18. Krasniqi E., Boshnjaku A., Wagner K.H. et al. Association between Polymorphisms in Vitamin D Pathway-Related Genes, Vitamin D Status, Muscle Mass and Function: A Systematic Review. *Nutrients*. 2021;13(9):3109. DOI: 10.3390/nu13093109.
19. Lafi Z.M., Irshaid Y.M., El-Khateeb M. et al. Association of rs7041 and rs4588 Polymorphisms of the Vitamin D Binding Protein and the rs10741657 Polymorphism of CYP2R1 with Vitamin D Status Among Jordanian Patients. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2015;19(11):629–36. DOI: 10.1089/gtmb.2015.0058.
20. Lee J., Won Woo H., Kim J. et al. Independent and interactive associations of season, dietary vitamin D, and vitamin D-related genetic variants with serum 25(OH)D in Korean adults aged 40 years or older. *Endocr J*. 2021;68(6):701–711. DOI: 10.1507/endocrj.EJ20-0519.
21. Llopis-Ibor C.I., Mariscal G., de la Rubia Ortí J.E. et al. Incidence of vitamin D deficiency in adolescent idiopathic scoliosis: a meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1250118. DOI: 10.3389/fendo.2023.1250118.
22. Maqsood A., Frome D.K., Gibly R.F. et al. IS (Idiopathic Scoliosis) etiology: Multifactorial genetic research continues. A systematic review 1950 to 2017. *J Orthop*. 2020;21:421–426. DOI: 10.1016/j.jor.2020.08.005.
23. Marya S., Tambe A.D., Millner P.A. et al. Adolescent idiopathic scoliosis : a review of aetiological theories of a multifactorial disease. *Bone Joint J*. 2022;104-B(8):915–921. DOI: 10.1302/0301-620X.104B8.BJJ-2021-1638.R1.
24. Nissen J., Vogel U., Ravn-Haren G. et al. Real-life use of vitamin D₃-fortified bread and milk during a winter season: the effects of CYP2R1 and GC genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations in Danish families, the VitmaD study. *Genes Nutr*. 2014;9(4):413. DOI: 10.1007/s12263-014-0413-7.
25. Nissen J., Rasmussen L.B., Ravn-Haren G. et al. Common variants in CYP2R1 and GC genes predict vitamin D concentrations in healthy Danish children and adults. *PLoS One*. 2014;9(2):e89907. DOI: 10.1371/journal.pone.0089907.
26. Nissen J., Vogel U., Ravn-Haren G. et al. Common variants in CYP2R1 and GC genes are both determinants of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations after UVB irradiation and after consumption of vitamin D₃-fortified bread and milk during winter in Denmark. *Am J Clin Nutr*. 2015;101(1):218–27. DOI: 10.3945/ajcn.114.092148.
27. Peng Y., Wang S.R., Qiu G.X. et al. Research progress on the etiology and pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis. *Chin Med J (Engl)*. 2020;133(4):483–493. doi: 10.1097/CM9.0000000000000652.
28. Petersen R.A., Larsen L.H., Damsgaard C.T. et al. Common genetic variants are associated with lower serum 25-hydroxyvitamin D concentrations across the year among children at northern latitudes. *Br J Nutr*. 2017;117(6):829–838. DOI: 10.1017/S0007114517000538.
29. Slater N.A., Rager M.L., Havrda D.E. et al. Genetic Variation in CYP2R1 and GC Genes Associated With Vitamin D Deficiency Status. *J Pharm Pract*. 2017;30(1):31–36. DOI: 10.1177/0897190015585876.
30. Støer N.C., Salim A., Bokenberger K. et al. Is the matched extreme case-control design more powerful than the nested case-control design? *Stat Methods Med Res*. 2019;28(6):1911–1923. DOI: 10.1177/0962280218778624.
31. Tang N.L.S., Dobbs M.B., Gurnett C.A. et al. A Decade in Review after Idiopathic Scoliosis Was First Called a Complex Trait-A Tribute to the Late Dr. Yves Cotrel for His Support in Studies of Etiology of Scoliosis. *Genes (Basel)*. 2021;12(7):1033. DOI: 10.3390/genes12071033.
32. Zhu Q., Chen J., Chen C. et al. Association between calcium-phosphorus balance and adolescent idiopathic scoliosis: A meta-analysis. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2019;53(6):468–473. DOI: 10.1016/j.aott.2019.08.012.