


# Associação dos polimorfismos ESR $\alpha$ XbaI A > G, ESR $\alpha$ PvuII T > C e ESR $\beta$ AlwNI T > C com o risco de desenvolver escoliose idiopática da adolescência: Revisão sistemática e metanálise genética\*

## *Association of ESR $\alpha$ XbaI A > G, ESR $\alpha$ PvuII T > C and ESR $\beta$ AlwNI T > C Polymorphisms with the Risk of Developing Adolescent Idiopathic Scoliosis: A Systematic Review and Genetic Meta-analysis*

Mohammad Reza Sobhan<sup>1</sup> Masoud Mahdinezhad-Yazdi<sup>1,\*</sup> Seyed Alireza Dastgheib<sup>2</sup>  
 Mohammadali Jafari<sup>3</sup> Ali Raei-Ezzabadi<sup>3</sup> Hossein Neamatzadeh<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ortopedia, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

<sup>2</sup> Departamento de Genética Médica, Faculdade de Medicina, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>3</sup> Departamento de Medicina de Emergência, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

<sup>4</sup> Departamento de Genética Médica, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

<sup>5</sup> Centro de Pesquisa em Saúde Materno-Infantil, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Endereço para correspondência Seyed Alireza Dastgheib, PhD, Assistant Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran (e-mail: dastgheibsa@gmail.com).

Rev Bras Ortop 2020;55(1):8–16.

### Resumo

Vários estudos de associação entre os polimorfismos genéticos nos receptores  $\alpha$  e  $\beta$  de estrogênio e a escoliose idiopática da adolescência (EIA) foram publicados nas últimas duas décadas. No entanto, a associação com a EIA, especialmente em diferentes subgrupos étnicos, continua a ser controversa. Assim, o presente estudo investigou esses dados inconclusivos por meio de uma metanálise para avaliar sistematicamente essa associação.

Uma pesquisa bibliográfica foi realizada nas bases de dados PubMed, ISI Web of Science, EMBASE, SCOPUS, EBSCO, Cochrane Library, China National Knowledge Infrastructure (CNKI) e Wanfang até 20 de janeiro de 2018. A força de associação foi avaliada por meio de razões de probabilidades (RPs) e intervalos de confiança de 95% (ICs95%).

Um total de 12 estudos de caso-controle, com 4.304 casos de EIA e 3.123 controles, atenderam aos critérios de inclusão do presente estudo. As RPs combinadas indicaram que os polimorfismos ESR $\alpha$  XbaI A > G, ESR $\alpha$  PvuII T > C e ESR $\beta$  AlwNI T > C podem não estar significativamente associados ao risco geral de desenvolvimento de EIA. No

### Palavras-chave

- ▶ escoliose idiopática
- ▶ receptores estrogênicos
- ▶ polimorfismo
- ▶ metanálise

\* Originalmente Publicado por Elsevier Editora Ltda.

entanto, observou-se uma associação significativa entre o polimorfismo ESR $\alpha$  XbaI A > G e a EIA sob o modelo homocigótico (GG versus AA; RP = 1,448; IC95%: 1,052--1,993;  $p = 0,023$ ).

Esta metanálise sugere que os polimorfismos ESR $\alpha$  XbaI A > G, ESR $\alpha$  PvuII T > C e ESR $\beta$  AlwNI T > C podem não estar associados ao risco geral de desenvolvimento de EIA. No entanto, ESR $\alpha$  XbaI A > G pode influenciar a suscetibilidade de desenvolver EIA entre indivíduos asiáticos. Considerando o tamanho e a variação étnica limitada da amostra, outros estudos de maior escala são necessários para obter uma estimativa mais precisa das associações.

## Abstract

Several association studies of gene polymorphisms in estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  with respect to adolescent idiopathic scoliosis (AIS) have been published in the past two decades. However, the association with AIS, especially among different ethnic subgroups, still remains controversial. Thus, we investigated these inconclusive data by performing a meta-analysis to systematically evaluate the association.

A literature search was conducted in the PubMed, ISI Web of Science, EMBASE, SCOPUS, EBSCO, Cochrane Library, China National Knowledge Infrastructure (CNKI) and Wanfang databases until January 20, 2018. The strength of relationship was assessed using odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95% CIs).

A total of 12 case-control studies with 4,304 cases of AIS and 3,123 controls met our criteria. The pooled ORs indicated that the ESR $\alpha$  XbaI A > G, ESR $\alpha$  PvuII T > C and ESR $\beta$  AlwNI T > C polymorphisms were not significantly associated with the risk of developing AIS in the overall analysis. However, we found a significant association between the ESR $\alpha$  XbaI A > G polymorphism and AIS under the homozygote model (GG versus AA; OR = 1.448; 95%CI: 1.052-1.993;  $p = 0.023$ ).

The present meta-analysis suggests that the ESR $\alpha$  XbaI A > G, ESR $\alpha$  PvuII T > C and ESR $\beta$  AlwNI T > C polymorphisms may not be associated with the risk of developing AIS in the overall analysis. However, ESR $\alpha$  XbaI A > G might have an influence on the susceptibility to develop AIS among Asians. Considering the limited sample size and ethnicity, further larger studies are needed to provide a more precise estimation of the associations.

## Keywords

- ▶ idiopathic scoliosis
- ▶ receptors, estrogen
- ▶ polymorphism
- ▶ meta-analysis

## Introdução

A escoliose idiopática da adolescência (EIA) é um distúrbio clinicamente significativo de alta herdabilidade, e que afeta de 2% a 4% da população mundial.<sup>1</sup> Estima-se que a EIA acometa até 3% de todas as crianças, surgindo após os 10 anos de idade.<sup>2</sup> Sua patogênese é mal compreendida,<sup>3</sup> sua causa parece ser complexa, e a possível etiologia inclui fatores genéticos, hormônios e disfunção metabólica, crescimento anormal e fatores ambientais e relacionados ao estilo de vida.<sup>4</sup> De todos esses fatores, os genéticos são muito bem documentados. As heranças autossômica dominante e dominante ligada ao X foram descritas na etiologia da EIA, mas, na maioria das famílias com a doença, a herança é complexa e não mendeliana.<sup>5,6</sup> Os maiores esforços para entender a base genética da EIA se concentraram em associações genômicas amplas e em estudos de genes candidatos. Estudos populacionais de pacientes indexados e de suas famílias mostraram o acometimento de 11% dos parentes de primeiro grau, assim como de 2,4% e 1,4% dos parentes de segundo e terceiro graus, respectivamente.<sup>7</sup>

Muitos estudos anteriores tentaram identificar os genes envolvidos no início e na evolução da EIA, como o receptor de

melatonina 1B (*MTNR1B*), *ladybird home-box1* (*LBX1*), triptofano hidroxilase<sup>1</sup> (*TPH1*), arilalquilamina N-acetiltransferase (*AA-NAT*) e basonuclina<sup>2</sup> (*BNC2*); entre eles, o gene *LBX1* é o mais investigado.<sup>4,8</sup> Como a EIA se desenvolve durante a puberdade e é mais comum no sexo feminino, as duas formas do receptor de estrogênio (*ESR $\alpha$*  e *ESR $\beta$* ) foram implicadas como genes candidatos.<sup>3,4</sup>

Embora as implicações funcionais dos polimorfismos ESR $\alpha$  XbaI (A/G), ESR $\alpha$  PvuII (T/C) e ESR $\beta$  AlwNI (C/T) não tenham sido completamente esclarecidas, foi sugerido que mudanças intrônicas na sequência ER $\alpha$  possam modificar a expressão ou afinidade deste receptor pelo estrogênio.<sup>9</sup> Portanto, conduzimos a presente metanálise para entender melhor a associação entre os polimorfismos nos genes *ESR $\alpha$*  e *ESR $\beta$*  e a EIA por meio de estudos realizados em seres humanos e animais.

## Materiais e Métodos

### Estratégia de Busca na Literatura

Esta metanálise foi conduzida e relatada de acordo com as diretrizes Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA). Realizamos a busca nas bases de

dados Medline, ISI Web of Science, EMBASE, SCOPUS, EBSCO, Cochrane Library, China National Knowledge Infrastructure (CNKI) e Wanfang, cobrindo todos os artigos até 20 de janeiro de 2018. As buscas eletrônicas foram conduzidas com as seguintes palavras-chave: *scoliosis* [escoliose], *AIS*, *ESR1*, *ESR $\alpha$* , *ESR2*, *ESR $\beta$* , *estrogen receptor* [receptor de estrogênio], *-351 A > G*, *XbaI*, *rs9340799*, *rs9340799*, *PvuII*, *rs2234693*, *AlwNI* e *rs1256120*, *gene* ou *allele* [alelo], *genotype* [genótipo], *mutation* [mutação], *variant* [variante], *variation* [variação] e *polymorphism* [polimorfismo]. Avaliamos as publicações que poderiam ser relevantes pelo exame de seus títulos e resumos, e todos os estudos compatíveis com os critérios de elegibilidade foram obtidos. Todos os estudos elegíveis foram analisados cuidadosamente, e suas bibliografias foram verificadas para tentar descobrir outras publicações relevantes. Caso houvesse mais de um artigo publicado pelo mesmo autor usando a mesma série de casos, selecionamos o estudo com mais indivíduos examinados. Além disso, não houve nenhuma restrição a idiomas, e apenas estudos publicados com artigos com texto completo disponível foram incluídos.

### Critérios de Inclusão e Exclusão

Os estudos incluídos na presente metanálise tiveram que conter os seguintes critérios: a) avaliação dos polimorfismos ESR $\alpha$  XbaI (A/G), ESR $\alpha$  PvuII (T/C) e ESR $\beta$  AlwNI (C/T) e dos riscos de desenvolvimento de EIA; b) ser estudos de caso-controle; e c) ter suficientes dados publicados para se estimar as razões de probabilidades (RPs) com intervalo de confiança de 95% (IC95%). Os critérios de exclusão foram os seguintes: a) pesquisa não relacionada à EIA; b) estudos populacionais; c) resumos, comentários, relatos de casos, cartas e revisões; d) duplicatas de publicações anteriores; e e) ausência de dados suficientes.

### Extração de Dados

Dois pesquisadores extraíram os dados de forma independente, e os resultados foram revisados por um terceiro investigador. Em cada estudo, foram observados os seguintes itens: nome do primeiro autor, ano de publicação, país, número de casos e controles, polimorfismos genéticos, frequências alélicas menores (FAMs) e desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) do grupo controle. As discordâncias foram resolvidas por meio de discussão e consulta com outro pesquisador.

### Avaliação de qualidade

A avaliação da qualidade dos estudos incluídos concordava, em grande parte, com a confirmação do EHWE para a distribuição genotípica dos polimorfismos ESR $\alpha$  XbaI (A/G), ESR $\alpha$  PvuII (T/C) e ESR $\beta$  AlwNI (C/T) nos controles. A diferença de EHW nos controles definia a má qualidade dos estudos. Por outro lado, estudos com distribuição genotípica dos polimorfismos ESR $\alpha$  XbaI (A/G), ESR $\alpha$  PvuII (T/C) e ESR $\beta$  AlwNI (C/T) nos controles de acordo com o EHW ( $p > 0,05$ ) foram definidos como de alta qualidade.

### Análise Estatística

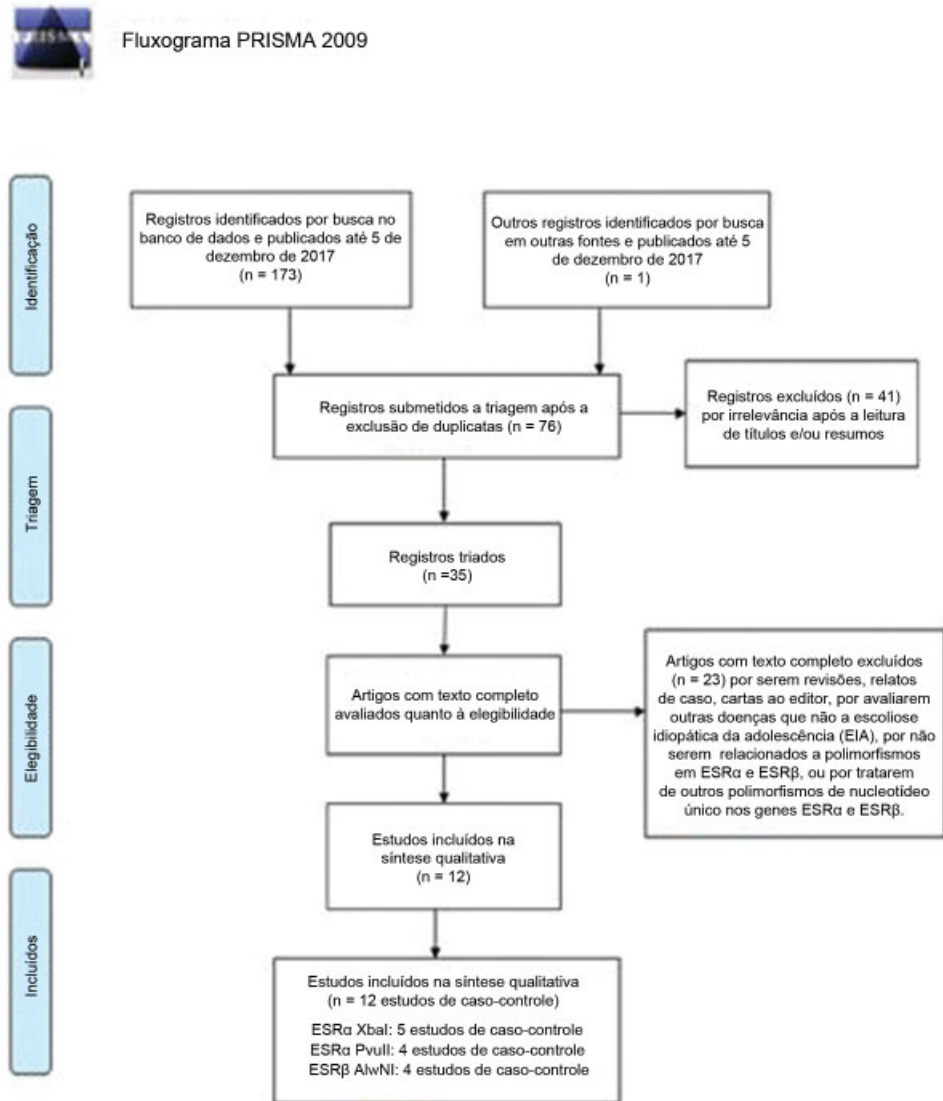
A força da associação entre o polimorfismo ESR $\alpha$  e o risco de desenvolver EIA foi medida por RPs, enquanto a precisão da

estimativa foi dada pelos IC95%. O polimorfismo ESR $\alpha$  XbaI (A/G) e a suscetibilidade a desenvolver EIA foram avaliados por comparações alélicas (G *versus* A) e genotípicas do modelo genético codominante (GG *versus* AA e GA *versus* AA), dominante (GG + GA *versus* AA) e recessivo (GG *versus* GA + AA), em que o alelo G foi considerado o alelo de risco. Os polimorfismos ESR $\alpha$  PvuII (T/C) e ESR $\beta$  AlwNI (C/T) foram avaliados de acordo com os modelos alélico (C *versus* T), homocigótico (CC *versus* TT), heterocigótico (TC *versus* TT), dominante (TC/CC *versus* TT) e recessivo (CC *versus* TC/TT), respectivamente. O modelo genético avaliado para a RP do polimorfismo foi o modelo dominante. O teste Q de Cochran foi usado para a análise formal da heterogeneidade. A heterogeneidade foi considerada significativa quando  $p < 0,01$  no teste Q. A variabilidade percentual da RP agrupada atribuível à heterogeneidade entre os estudos foi quantificada pela métrica  $I^2$ , que é independente do número de estudos na metanálise, e considera valores entre 0% e 100%; valores maiores indicam maior grau de heterogeneidade 33 ( $I^2 = 0-25\%$ : ausência de heterogeneidade;  $I^2 = 25-50\%$ : heterogeneidade moderada;  $I^2 = 50-75\%$ : heterogeneidade extensa;  $I^2 = 75-100\%$ : heterogeneidade extrema).<sup>10,11</sup> Um modelo de efeitos aleatórios (método de DerSimonian-Laird) ou fixos (método de Mantel-Haenszel) foi usado no cálculo das estimativas agrupadas de efeito na presença ou ausência de heterogeneidade. O EHW foi avaliado pelo teste exato de Fisher.<sup>12</sup> A sensibilidade foi analisada pela troca dos modelos de efeito. A alteração estatística da significância indicou a instabilidade dos resultados.<sup>13</sup> Além disso, o teste unicaudal da sensibilidade foi também utilizado para a avaliação da estabilidade dos resultados por meio da omissão de um estudo por vez. O viés de publicação foi determinado pela inspeção visual de gráficos de funil, em que o erro padrão de  $\log(RP)$  de cada estudo foi plotado contra o seu  $\log(RP)$ . O viés de publicação foi qualitativa e quantitativamente avaliado por gráficos de funil de Begg e pelo teste de Egger, respectivamente. O valor de  $p < 0,05$  foi considerado representativo de viés de publicação estatisticamente significativo. Além disso, o gráfico assimétrico indicou o possível viés de publicação.<sup>11</sup> As análises de subgrupo foram realizadas separadamente de acordo com o tamanho da amostra, etnia, origem do controle, histórico familiar e método de genotipagem. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa Comprehensive Meta-Analysis (CMA, Biostat, Englewood, NJ, EUA), versão 2.1. Todos os valores de  $p$  da metanálise eram bicaudais, e foram considerados significativos se inferiores a 0,05.

## Resultados

### Características dos Estudos Incluídos

O presente estudo obedeceu às diretrizes PRISMA (► Fig. 1). Na primeira triagem, identificamos 174 publicações a partir das buscas eletrônicas sistemáticas na literatura, e 98 publicações foram excluídas após a leitura do título devido à alta taxa de repetição de artigos nos diferentes bancos de dados. Após a eliminação das duplicatas, 64 artigos foram excluídos após a análise dos títulos, resumos e textos completos, por serem inconsistentes com nossos critérios de inclusão. Por fim, 7 estudos de caso-controle elegíveis, com um total de 2.377 casos e 1.770 controles, foram incluídos na metanálise.<sup>14-20</sup>



**Fig. 1** Fluxograma do processo de escolha de estudos.

As características dos estudos incluídos foram resumidas na **Tabela 1**. Os estudos foram publicados entre 2006 e 2014, e realizados na China, no Japão e na Polônia. Nesses sete estudos, os grupos étnicos foram os seguintes: em 2 estudos, com 535 casos e 425 controles, os indivíduos eram caucasianos,<sup>18,20</sup> e em 5 estudos, com 1.842 casos e 1.982 controles, os indivíduos eram asiáticos.<sup>14-19</sup> As distribuições de genótipo entre os controles de todos os estudos seguiram o EHW, exceto dois estudos sobre Xbal (rs9340799)<sup>14,16</sup> e um estudo sobre PvuII (rs2234693).<sup>14</sup> Portanto, segundo os critérios de qualidade, cinco estudos apresentavam alta qualidade, e dois estudos, baixa qualidade.

### Polimorfismo ESR $\alpha$ Xbal A > G

No total, 5 estudos de caso-controle com 1.927 casos e 1.353 controles investigaram a associação entre o polimorfismo ESR $\alpha$  Xbal A > G e o risco de desenvolver EIA. De modo geral, esta metanálise de estudos incluídos sugeriu que não há associação significativa entre o polimorfismo de ESR $\alpha$  Xbal A > G e o risco de desenvolvimento de EIA (G *versus* A, RP = 1,071, IC95%: 0,879–1,304,  $p = 0,497$  (**Fig. 2A**); GA

*versus* AA, RP = 1,037, IC95%: 0,889–1,209,  $p = 0,641$ ; GG *versus* AA, RP = 1,292, IC95%: 0,979–1,705,  $p = 0,070$ ; GG + GA *versus* AA, RP = 1,052, IC95%: 0,910–1,217,  $p = 0,492$ ; GG *versus* GA + AA, RP = 1,071, IC95%: 0,922–1,243,  $p = 0,369$ ). Nas análises de subgrupo por etnia, houve uma associação significativa entre ESR $\alpha$  Xbal A > G e o risco de desenvolver EIA entre indivíduos asiáticos sob o modelo homocigótico (GG *versus* AA, RP = 1,448, IC95%: 1,052–1,993,  $p = 0,023$ ).

### Polimorfismo ESR $\alpha$ PvuII T > C

No total, 4 estudos de caso-controle com 1.129 casos e 714 controles investigaram a associação entre o polimorfismo ESR $\alpha$  PvuII T > C e o risco de desenvolver EIA. Os resultados agrupados de todos os estudos incluídos não mostraram uma associação significativa entre ESR $\alpha$  PvuII T > C e o risco de desenvolver EIA sob o modelo alélico (C *versus* T, RP = 1018, IC95%: 0,888–1,166,  $p = 0,800$ ), o modelo heterocigótico (CT *versus* TT, RP = 0,996, IC95%: 0,804–1,234,  $p = 0,973$ ), o modelo homocigótico (CC *versus* TT, RP = 1,045, IC95%: 0,789–1,383,  $p = 0,760$ ) (**Fig. 2B**), o modelo dominante

**Tabela 1** Principais características dos estudos incluídos nesta metanálise

Autor	País (etnia)	Caso/ controle	Sexo	Casos				Controles				FAMs	EHW			
				Genótipos		Alelos		Genótipos		Alelos						
				AA	GA	GG	A	G	AA	AG	GG			A	G	
XbaI (rs9340799)				72	76	54	220	184		82	66	26	230	118		
Wu et al <sup>14</sup> (2006)	China (asiática)	202/174	Geral	64	70	51	198	172		72	59	23	223	105		0,340
			Feminino	8	6	3	22	12		10	7	3	7	13		0,325
			Masculino													
Tang et al <sup>15</sup> (2006)	China (asiática)	540/260	Feminino	328	176	36	832	248		157	85	18	399	121		0,232
Zhao et al <sup>16</sup> (2009)	China (asiática)	100/100	Feminino	58	34	8	150	50		55	31	14	141	59		0,295
Takahashi et al <sup>17</sup> (2011)	Japão (asiática)	798/637	Feminino	526	248	24	1300	296		421	196	20	1038	236		0,185
Janusz et al <sup>18</sup> (2013)	Polónia (caucasiana)	287/182	Feminino	96	141	50	333	241		61	92	29	214	150	0,412	0,559
PvuII (rs2234693)	TT	TC	CC	T	C	TT	TC	CC		T	C					
Wu et al <sup>14</sup> (2006)	China (asiática)	202/174	Geral	71	92	39	234	170		64	70	40	198	150		0,431
			Feminino	65	84	36	214	156		57	61	36	175	133		0,431
			Masculino	6	8	3	20	14		7	9	4	23	17		0,425
Tang et al <sup>15</sup> (2006)	China (asiática)	540/260	Feminino	201	249	93	648	432		102	128	30	332	188		0,361
Zhao et al <sup>16</sup> (2009)	China (asiática)	100/100	Feminino	31	51	18	113	87		50	19	112	88	0,883		
Janusz et al <sup>18</sup> (2013)	Polónia (caucasiana)	287/182	Feminino	77	144	66	298	276		42	93	47	177	187		0,513
AlwNI (rs1256120)	CC	TC	TT	C	T	CC	TC	TT		C	T					
Zhang et al <sup>19</sup> (2009)	China (asiática)	202/174	Geral	36	105	77	177	259		10	55	75	75	205		0,732
			Feminino	30	85	61	145	207		5	30	45	40	120		0,750
			Masculino	6	20	16	32	52		5	25	30	35	85		0,7083
Takahashi et al <sup>17</sup> (2010)	Japão (asiática)	798/637	Feminino	99	368	331	566	1030		79	306	252	464	810		0,6358
Kotwicki et al <sup>20</sup> (2014)	Polónia (caucasiana)	248/243	Feminino	164	74	10	402	94		159	77	7	395	91		0,1872

Abreviaturas: FAMs, frequências alélicas menores; EHW, equilíbrio de Hardy-Weinberg.

(CC + CT versus TT, RP = 1,005, IC95%: 0,821–1,229,  $p = 0,965$ ) e o modelo recessivo (CC versus CT + TT, RP = 1,034, IC95%: 0,808–1,322,  $p = 0,792$ ). Nas análises de subgrupos por etnia, não houve uma associação significativa entre o polimorfismo ESR $\alpha$  PvuII T > C e o risco de desenvolver EIA sob os cinco modelos genéticos (► **Tabela 2**).

**Polimorfismo ESR $\beta$  AlwNI C > T**

Três estudos de caso-controle, com 1.248 casos e 1.054 controles, foram selecionados para estimar a associação entre o polimorfismo de ESR $\beta$  AlwNI C > T e a suscetibilidade a desenvolver EIA. Nenhuma associação estatisticamente significativa foi observada entre AlwNI C > T e a suscetibilidade a desenvolver EIA em todos os modelos genéticos (C

versus T, RP = 1,072, IC95%: 0,946–1,215,  $p = 0,276$ ; CT versus TT, RP = 0,896, IC95%: 0,705–1,139,  $p = 0,370$ ; CC versus TT, RP = 0,950, IC95%: 0,266–3,386,  $p = 0,937$ ; CC + CT versus TT, RP = 1,374, IC95%: 0,758–2,493,  $p = 0,295$  (► **Fig. 2C**); CC versus CT + TT, RP = 1,032, IC95%: 0,857–1,242,  $p = 0,739$ ); (► **Fig. 2**).

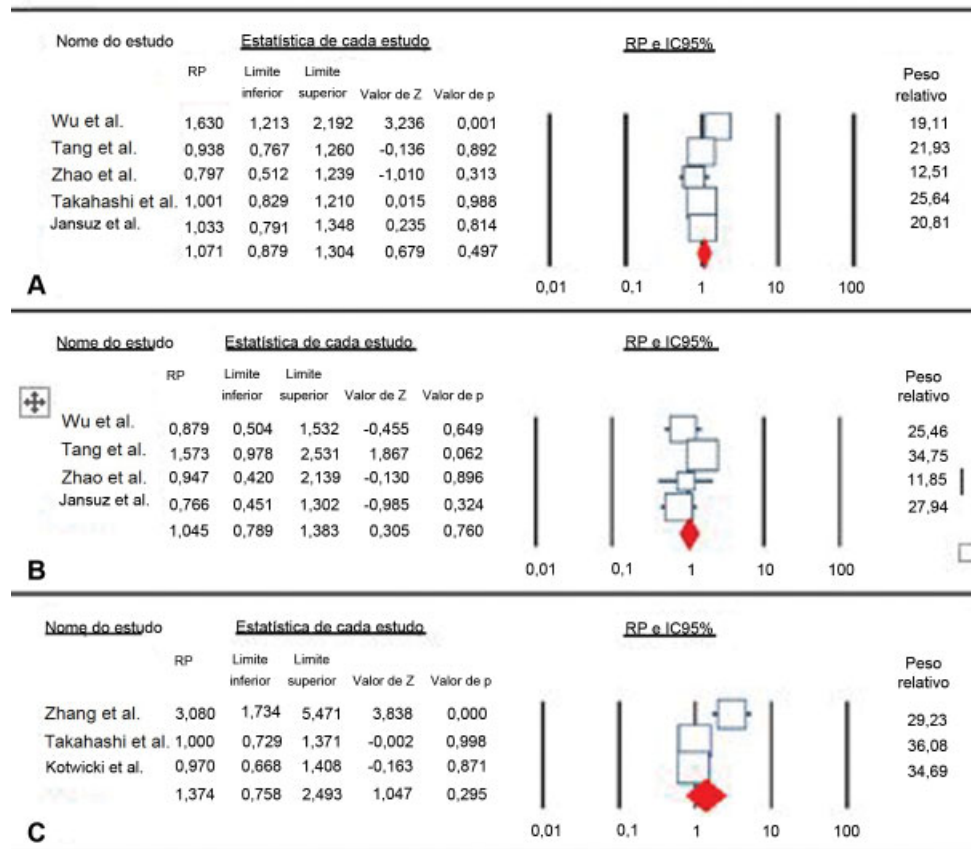
**Análises de Heterogeneidade e Sensibilidade**

A heterogeneidade não foi significativa para os polimorfismos de ESR $\alpha$  XbaI A > G, ESR $\alpha$  PvuII T > C e ESR $\beta$  AlwNI T > C na maioria dos modelos genéticos, o que sugeriu que os polimorfismos não foram responsáveis pela heterogeneidade entre os estudos (► **Tabela 2**). As análises de sensibilidade por omissão sequencial de qualquer estudo individual, um de

**Tabela 2** Metanálise da associação dos polimorfismos de ESR $\alpha$  XbaI (A > G), ESR $\alpha$  PvuII (T > C) e ESR $\beta$  AlwNI (C > T) com o risco de desenvolvimento de EIA

Polimorfismo	Modelo genético	Tipo de modelo	Heterogeneidade (H)		Razão de probabilidades (RP)				Viés de publicação	
			I <sup>2</sup> (%)	pH	RP	IC95%	Teste Z	p <sub>RP</sub>	p <sub>Begg</sub>	p <sub>Egger</sub>
<i>XbaI (rs9340799)</i>										
Geral	G versus A	Aleatório	61,79	0,033	1,071	0,879–1,304	0,679	0,497	0,806	0,949
	GA versus AA	Fixo	0,00	0,869	1,037	0,889–1,209	0,466	0,641	0,806	0,401
	GG versus AA	Fixo	46,01	0,116	1,292	0,979–1,705	1,809	0,070	0,462	0,721
	GG + GA versus AA	Fixo	16,61	0,309	1,052	0,910–1,217	0,686	0,492	0,806	0,705
	GG versus GA + AA	Fixo	42,61	0,137	1,071	0,922–1,243	0,897	0,369	0,086	0,233
<i>Por etnia</i>										
Asiática	G versus A	Aleatório	71,18	0,015	1,079	0,834–1,396	0,580	0,562	1,000	0,950
	GA versus AA	Fixo	0,00	0,765	1,048	0,888–1,236	0,552	0,581	0,308	0,359
	GG versus AA	Fixo	44,82	0,142	1,448	1,052–1,993	2,268	0,023	1,000	0,915
	GG + GA versus AA	Fixo	36,58	0,193	1,060	0,906–1,241	0,733	0,464	1,000	0,709
	GG versus GA + AA	Fixo	56,02	0,078	1,084	0,922–1,273	0,976	0,329	0,308	0,268
<i>PvuII (rs2234693)</i>										
Geral	C versus T	Fixo	5,54	0,365	1,018	0,888–1,166	0,253	0,800	1,000	0,472
	CT versus TT	Fixo	0,00	0,788	0,996	0,804–1,234	-0,033	0,973	0,734	0,903
	CC versus TT	Fixo	34,62	0,204	1,045	0,789–1,383	0,305	0,760	1,000	0,608
	CC + CT versus TT	Fixo	0,00	0,548	1,005	0,821–1,229	0,044	0,965	0,308	0,574
	CC versus CT + TT	Fixo	45,60	0,138	1,034	0,808–1,322	0,263	0,792	1,000	0,767
<i>Por etnia</i>										
Asiática (chinesa)	C versus T	Fixo	0,00	0,476	1,075	0,917–1,260	0,889	0,374	1,000	0,398
	CT versus TT	Fixo	0,00	0,813	1,044	0,819–1,330	0,345	0,730	1,000	0,714
	CC versus TT	Fixo	27,64	0,251	1,178	0,847–1,639	0,973	0,330	1,000	0,578
	CC + CT versus TT	Fixo	0,00	0,949	1,085	0,864–1,364	0,704	0,481	0,296	0,041
	CC versus CT + TT	Fixo	55,04	0,108	1,131	0,838–1,526	0,805	0,421	1,000	0,660
<i>AlwNI (rs1256120)</i>										
Geral	T versus C	Fixo	0,00	0,538	1,072	0,946–1,215	1,090	0,276	1,000	0,686
	TC versus CC	Fixo	0,00	0,373	0,896	0,705–1,139	-0,896	0,370	0,296	0,078
	TT versus CC	Aleatório	90,86	≤0,001	0,950	0,266–3,386	-0,080	0,937	1,000	0,489
	TT + CT versus CC	Aleatório	84,41	0,002	1,374	0,758–2,493	1,047	0,295	0,296	0,212
	TT versus TC + CC	Fixo	0,00	0,391	1,032	0,857–1,242	0,333	0,739	1,000	0,970

Abreviaturas: EIA, escoliose idiopática da adolescência; IC95%, intervalo de confiança de 95%.



**Fig. 2** Gráficos em floresta da associação entre polimorfismos em ESR $\alpha$  XbaI A > G, ESR $\alpha$  PvuII T > C e ESR $\beta$  AlwNI C > T sob modelo dominante e o risco de escoliose idiopática da adolescência (EIA). (A) XbaI A > G (modelo alélico); (B) PvuII T > C (modelo homocigótico); e (C) AlwNI C > T (modelo dominante). Os quadrados e linhas horizontais correspondem à razão de probabilidades (RP) e ao intervalo de confiança de 95% (IC95%) específicos do estudo. A área dos quadrados reflete o peso específico do estudo (inverso da variância). O diamante representa o resumo da RP e do IC95%.

cada vez, ou por omissão de estudos em que as distribuições genotípicas nos controles saudáveis fossem significativamente diferentes do EHW não alteraram materialmente as RPs agrupadas, indicando que os resultados eram estáveis.

### Viés de Publicação

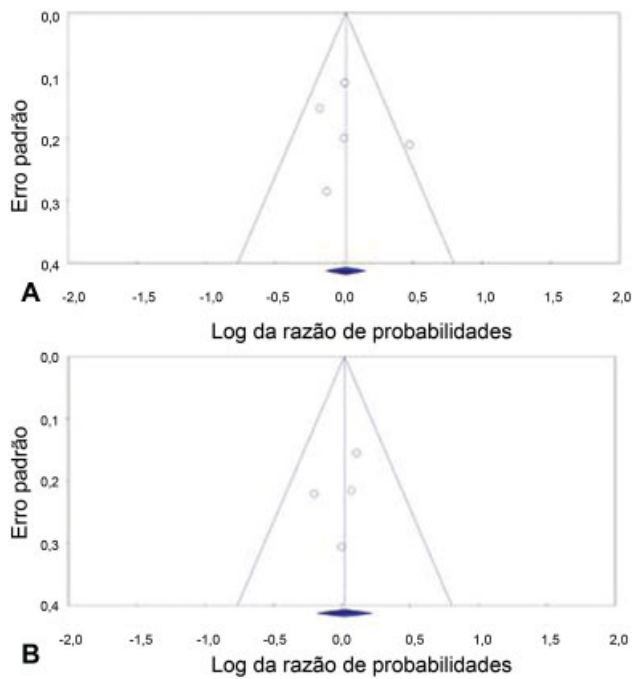
O gráfico de funil de Begg e os testes de Egger foram realizados para estimar o viés de publicação dos estudos sobre a associação entre a suscetibilidade a desenvolver EIA e polimorfismos em ESR $\alpha$  XbaI A > G, ESR $\alpha$  PvuII T > C e ESR $\beta$  AlwNI T > C. O formato do gráfico de funil não revelou qualquer evidência de assimetria óbvia para os polimorfismos sob nenhum dos modelos genéticos. Além disso, os valores de *p* dos testes de Egger foram superiores a 0,05, fornecendo evidência estatística da simetria dos gráficos de funil. No entanto, os resultados do teste de Egger revelaram evidências de viés de publicação de ESR $\alpha$  PvuII T > C em asiáticos sob o modelo dominante (CC + CT versus TT:  $p_{\text{Begg}} = 0,296$ ,  $p_{\text{Egger}} = 0,041$ ); (**Fig. 3**).

### Discussão

A patogênese da EIA é um processo complexo. Sabe-se que fatores genéticos desempenham um papel importante na suscetibilidade a desenvolver EIA.<sup>14-16</sup> No entanto, a maioria

dos mecanismos moleculares que levam ao desenvolvimento da EIA ainda é desconhecida. Mutações genéticas em vários *loci* foram identificadas por estudos genéticos, e a base genética da patogênese da EIA foi estabelecida.<sup>17</sup> Embora muitos estudos epidemiológicos tenham sido conduzidos para a avaliação dos papéis dos polimorfismos em ESR $\alpha$  e ESR $\beta$  e o risco de desenvolver EIA em diferentes populações, os resultados foram inconclusivos.<sup>18,20</sup> Os polimorfismos nos genes de ESR $\alpha$  e ESR $\beta$  foram relacionados ao maior risco de desenvolvimento de diferentes doenças.<sup>21</sup> O gene *ER $\alpha$*  humano está localizado no cromossomo 6q25, se estende por mais de 140 kb e inclui 8 éxons.<sup>22</sup> Os polimorfismos mais estudados nesse gene são PvuII T > C e XbaI A > G no íntron 1, 397 bp e 351 bp a montante do éxon 2, respectivamente.<sup>23</sup> O gene que codifica ESR $\beta$  está localizado no cromossomo 14q23,<sup>1</sup> e a possível associação de polimorfismos de nucleotídeo único (PNUs) em ESR $\beta$  (RsaI G > A, AluI A > G e AlwNI C > T) e a doença ainda não foi analisada.<sup>24</sup>

A presente metanálise atualizada, com 12 estudos elegíveis e um total de 4.304 casos de EIA e 3.123 controles, faz um exame abrangente das evidências atuais sobre as associações de polimorfismos em ESR $\alpha$  e ESR $\beta$  e a suscetibilidade à doença. Os resultados sugerem que os polimorfismos nos genes de ESR $\alpha$  e ESR $\beta$  não apresentaram associação significativa com o



**Fig. 3** Análise de gráfico de funil para detecção do viés de publicação para associação de polimorfismos em ESR $\alpha$  XbaI A > G e ESR $\alpha$  PvuII T > C com risco de escoliose idiopática do adolescente (EIA). A: XbaIA > G (modelo de alelo: G versus A); B: PvuII T > C (modelo recessivo: CC versus CT TT).

risco de desenvolver EIA. Esta metanálise é condizente com aquelas conduzidas por Chen et al<sup>25</sup> (ESR $\alpha$  XbaI), Yang et al<sup>26</sup> (ESR $\alpha$  XbaI e ESR $\alpha$  PvuII) e Cao et al<sup>4</sup> (ESR $\beta$  AlwNI), que relataram resultados negativos entre os polimorfismos em ESR $\alpha$  e ESR $\beta$  e o risco de desenvolver EIA. No entanto, Inoue et al<sup>27</sup> e Wu et al<sup>14</sup> observaram uma associação significativa entre o polimorfismo ESR $\alpha$  XbaI A > G e ESR $\alpha$  PvuII T > C e o risco de desenvolver EIA. Em 2016, em uma metanálise, Cao et al<sup>4</sup> relataram que não havia associação significativa entre os polimorfismos ESR $\alpha$  XbaI A > G e ESR $\alpha$  PvuII T > C e o risco de desenvolver EIA em uma análise populacional total. Porém, para a comparação com metanálise de Cao et al,<sup>4</sup> a análise de subgrupos por etnia também foi realizada. Nesta metanálise, descobrimos que o polimorfismo ESR $\alpha$  XbaI A > G estava associado ao risco de desenvolver EIA em asiáticos sob o modelo homocigótico (GG versus AA, RP = 1,448, IC95%: 1,052–1,993,  $p = 0,023$ ). A discrepância entre subgrupos étnicos pode ser decorrente do pequeno número de estudos europeus, pois apenas uma pesquisa foi conduzida com caucasianos. Portanto, realizamos uma análise estratificada apenas com a população chinesa (asiática). Nossos dados revelaram que o alelo XbaI G era um fator de risco na população chinesa. Diferentemente do polimorfismo ESR $\alpha$  XbaI, não houve diferenças significativas entre o polimorfismo ESR $\alpha$  PvuII T > C e a distribuição genotípica entre pacientes com EIA e indivíduos saudáveis.

Na presente metanálise, um modelo de efeitos fixos ou efeitos aleatórios foi usado com base em testes de heterogeneidade. Diferenças nas populações estudadas com origens genéticas distintas e variações na seleção de amostras e

exposições ambientais podem resultar em heterogeneidades.<sup>28–30</sup> Nossa análise de metarregressão também mostrou que a etnia em grupos de casos e grupos de controle contribuiu significativamente para a heterogeneidade. Ao limitar a análise aos estudos no EHW, o resultado não foi alterado, sugerindo que essa metanálise é robusta e confiável. Além disso, realizamos análises de sensibilidade de acordo com o tamanho da amostra, e validação cruzada pelo método *leave-one-out* para determinar se a modificação dos critérios de inclusão removendo um estudo a cada vez não afetou materialmente os resultados originais.

Existem algumas limitações em nossa metanálise. Primeiro, o tamanho da amostra em nosso estudo foi comparativamente pequeno, e seu poder estatístico era insuficiente para estimar as associações. Segundo, apenas estudos publicados nos idiomas inglês e chinês foram incluídos; portanto, pode ter ocorrido um viés de publicação. Terceiro, a maior proporção do poder estatístico foi conferida por asiáticos. Não havia estudos suficientes em caucasianos, o que limitou o poder estatístico. Não foram encontrados estudos de outras partes do mundo, como África e América Latina. Isso sugere um resultado parcial, relevante apenas para os subgrupos asiáticos e caucasianos. Quarto, ao interpretar os resultados desta metanálise, deve-se mencionar que, como em outras características complexas, o risco de desenvolver EIA pode ser modulado por vários outros marcadores genéticos e genes candidatos, além de ESR $\alpha$  e ESR $\beta$ . Portanto, mais investigações sobre o efeito haplotípico dos polimorfismos e múltiplos polimorfismos em diferentes genes são necessárias. Por fim, devido à indisponibilidade de outras informações detalhadas, nossos resultados foram baseados em estimativas de fator único, sem ajustes para outros fatores de risco. Uma avaliação mais profunda do risco de desenvolver EIA deve dedicar mais atenção às possíveis interações de genes, de genes e com o ambiente, e até de diferentes polimorfismos de ESR $\alpha$  e ESR $\beta$  com outros *loci*.

## Consideração Final

Em resumo, esta metanálise sugere que os polimorfismos em ESR $\alpha$  XbaI (A/G), ESR $\alpha$  PvuII (T/C) e ESR $\beta$  AlwNI (C/T) não estão associados ao maior risco de desenvolvimento de EIA. No entanto, ESR $\alpha$  XbaI A > G pode influenciar a suscetibilidade a desenvolver EIA entre asiáticos. Com base nas limitações já mencionadas, é essencial que estudos maiores, de bom delineamento experimental, sejam realizados para a reavaliação das possíveis associações entre os polimorfismos nos genes ESR $\alpha$  e ESR $\beta$  e outros genes candidatos e o risco de desenvolver EIA.

### Conflito de Interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

### Referências

- Chettier R, Nelson L, Ogilvie JW, Albertsen HM, Ward K. Haplotypes at LBX1 have distinct inheritance patterns with opposite effects in adolescent idiopathic scoliosis. *PLoS One* 2015;10(02): e0117708



- 2 Lenke L. Idiopathic scoliosis. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2004
- 3 Buchan JG, Alvarado DM, Haller GE, et al. Rare variants in FBN1 and FBN2 are associated with severe adolescent idiopathic scoliosis. *Hum Mol Genet* 2014;23(19):5271–5282
- 4 Cao Y, Min J, Zhang Q, Li H, Li H. Associations of LBX1 gene and adolescent idiopathic scoliosis susceptibility: a meta-analysis based on 34,626 subjects. *BMC Musculoskelet Disord* 2016;17:309
- 5 Gurnett CA, Alaei F, Bowcock A, et al. Genetic linkage localizes an adolescent idiopathic scoliosis and pectus excavatum gene to chromosome 18 q. *Spine* 2009;34(02):E94–E100
- 6 Wise CA, Gao X, Shoemaker S, Gordon D, Herring JA. Understanding genetic factors in idiopathic scoliosis, a complex disease of childhood. *Curr Genomics* 2008;9(01):51–59
- 7 Cheung KM, Wang T, Qiu GX, Luk KD. Recent advances in the aetiology of adolescent idiopathic scoliosis. *Int Orthop* 2008;32(06):729–734
- 8 Villa MJ. Genes associated with adolescent idiopathic scoliosis: a review. *Hered Genet.* 2015;4:146
- 9 Meng J, Mu X, Wang YM. Influence of the XbaI polymorphism in the estrogen receptor- $\alpha$  gene on human spermatogenic defects. *Genet Mol Res* 2013;12(02):1808–1815
- 10 Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003;327(7414):557–560
- 11 Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002;21(11):1539–1558
- 12 Khoram-Abadi KM, Forat-Yazdi M, Kheirandish S, et al. DNMT3B -149 C>T and -579 G>T polymorphisms and risk of gastric and colorectal cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016;17(06):3015–3020
- 13 Harbord RM, Egger M, Sterne JA. A modified test for small-study effects in meta-analyses of controlled trials with binary endpoints. *Stat Med* 2006;25(20):3443–3457
- 14 Wu J, Qiu Y, Zhang L, Sun Q, Qiu X, He Y. Association of estrogen receptor gene polymorphisms with susceptibility to adolescent idiopathic scoliosis. *Spine* 2006;31(10):1131–1136
- 15 Tang NL, Yeung HY, Lee KM, et al. A relook into the association of the estrogen receptor [alpha] gene (PvuII, XbaI) and adolescent idiopathic scoliosis: a study of 540 Chinese cases. *Spine* 2006;31(21):2463–2468
- 16 Zhao D, Qiu GX, Wang YP, Zhang JG, Shen JX, Wu ZH. Association between adolescent idiopathic scoliosis with double curve and polymorphisms of calmodulin1 gene/estrogen receptor- $\alpha$  gene. *Orthop Surg* 2009;1(03):222–230
- 17 Takahashi Y, Matsumoto M, Karasugi T, et al. Replication study of the association between adolescent idiopathic scoliosis and two estrogen receptor genes. *J Orthop Res* 2011;29(06):834–837
- 18 Janusz P, Kotwicki T, Andrusiewicz M, Kotwicka M. XbaI and PvuII polymorphisms of estrogen receptor 1 gene in females with idiopathic scoliosis: no association with occurrence or clinical form. *PLoS One* 2013;8(10):e76806
- 19 Zhang HQ, Lu SJ, Tang MX, et al. Association of estrogen receptor beta gene polymorphisms with susceptibility to adolescent idiopathic scoliosis. *Spine* 2009;34(08):760–764
- 20 Kotwicki T, Janusz P, Andrusiewicz M, Chmielewska M, Kotwicka M. Estrogen receptor 2 gene polymorphism in idiopathic scoliosis. *Spine* 2014;39(26):E1599–E1607
- 21 Ban S, Sata F, Kurahashi N, et al. Genetic polymorphisms of ESR1 and ESR2 that may influence estrogen activity and the risk of hypospadias. *Hum Reprod* 2008;23(06):1466–1471
- 22 Kos M, Reid G, Denger S, Gannon F. Minireview: genomic organization of the human ERalpha gene promoter region. *Mol Endocrinol* 2001;15(12):2057–2063
- 23 Yazdi MM, Jamalaladini MH, Sobhan MR, et al. Association of ESRa Gene Pvu II T>C XbaI A>G and BtgI G>A polymorphisms with knee osteoarthritis susceptibility: a systematic review and meta-analysis based on 22 case-control studies. *Arch Bone Jt Surg* 2017;5(06):351–362
- 24 Fu C, Dong WQ, Wang A, Qiu G. The influence of ESR1 rs9340799 and ESR2 rs1256049 polymorphisms on prostate cancer risk. *Tumour Biol* 2014;35(08):8319–8328
- 25 Chen S, Zhao L, Roffey DM, Phan P, Wai EK. Association between the ESR1 -351A>G single nucleotide polymorphism (rs9340799) and adolescent idiopathic scoliosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Spine J* 2014;23(12):2586–2593
- 26 Yang M, Li C, Li M. The estrogen receptor  $\alpha$  gene (XbaI, PvuII) polymorphisms and susceptibility to idiopathic scoliosis: a meta-analysis. *J Orthop Sci* 2014;19(05):713–721
- 27 Inoue M, Minami S, Nakata Y, et al. Association between estrogen receptor gene polymorphisms and curve severity of idiopathic scoliosis. *Spine* 2002;27(21):2357–2362
- 28 Sobhan MR, Mehdinejad M, Jamaladini MH, Mazaheri M, Zare-Shehneh M, Neamatzadeh H. Association between aspartic acid repeat polymorphism of the asporin gene and risk of knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2017;51(05):409–415
- 29 Mehdinejad M, Sobhan MR, Mazaheri M, Zare Shehneh M, Neamatzadeh H, Kalantar SM. Genetic association between ERCC2, NBN RAD51 gene variants and osteosarcoma risk: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017;18(05):1315–1321
- 30 Sobhan MR, Forat Yazdi M, Mazaheri M, Zare Shehneh M, Neamatzadeh H. Association between the DNA repair gene XRCC3 rs861539 polymorphism and risk of osteosarcoma: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017;18(02):549–555