

Received: 2013.04.11
Accepted: 2013.10.17
Published: 2014.03.07

Udział czynników genetycznych i środowiskowych w etiologii wrodzonego zarośnięcia przełyku i przetoki tchawiczo-przełykowej

The role of genetic and environmental factors in the etiology of esophageal atresia and tracheo-esophageal fistula

Damian Bednarczyk¹, Robert Śmigiel², Maria Małgorzata Sąsiadek¹

¹Katedra i Zakład Genetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra Pielęgniarstwa Pediatrycznego, Zakład Pediatrii Społecznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

Zarośnięcie przełyku i przetoka tchawiczo-przełykowa są poważnymi wadami wrodzonymi, których etiologia jest słabo poznana. Dotychczas opisano wiele czynników genetycznych mogących przyczynić się do wystąpienia omawianych wad rozwojowych, a także zidentyfikowano wiele czynników środowiskowych, a w literaturze dominuje pogląd o ich współudziale w etiologii i patogenezie wrodzonego zarośnięcia przełyku.

W pracy przedstawiono aktualną wiedzę na temat embriogenezy przełyku i tchawicy, środowiskowe czynniki ryzyka, a także wymieniono i opisano zmiany genetyczne zidentyfikowane dotąd u pacjentów z wrodzonym zarośnięciem przełyku.

Słowa kluczowe:

zarośnięcie przełyku • przetoka tchawiczo-przełykowa • wady wrodzone

Summary

Esophageal atresia and tracheo-esophageal fistula are severe congenital malformations, whose etiology is still poorly understood. So far, numerous genetic and environmental factors that may contribute to the occurrence of these defects have been described and the literature is dominated by the view of their common involvement in the etiology and pathogenesis of congenital esophageal atresia.

In this review the authors present current knowledge on the embryogenesis of the esophagus and trachea, discuss environmental risk factors, and also list and describe genetic alterations identified so far in patients with congenital esophageal atresia.

Key words:

esophageal atresia • tracheo-esophageal fistula • congenital malformations

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1093206>

Word count:

4262

Tables:

–

Figures:

–

References:

73

Adres autora: mgr Damian Bednarczyk, Katedra i Zakład Genetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław; e-mail: damian.bednarczyk@gmail.com

WSTĘP

Zarośnięcie przełyku (OMIM 189960) jest wrodzoną wadą rozwojową, występującą z częstością 1 na 3500 żywo urodzonych noworodków [65]. Defekt ten charakteryzuje się utratą ciągłości przełyku, któremu towarzyszyć może patologiczne połączenie z tchawicą, czyli tzw. przetoką tchawiczoprzelykową. Na podstawie lokalizacji zespolenia przełyku z tchawicą wyodrębniono sześć podtypów anatomicznych [30], chociaż opisywanych jest wiele różnych podziałów anatomicznych, etiologicznych i rokowniczych zarośnięcia przełyku [23]. W większości przypadków (87%) występuje ślepe zakończenie bliższego końca przełyku z dolną przetoką tchawiczoprzelykową [49]. Jak dotąd nie wyjaśniono przyczyn nadreprezentacji powyższego podtypu anatomicznego, a także nie znaleziono korelacji między klinicznym podtypem, a określoną zmianą genetyczną.

W połowie przypadków pacjenci z wrodzonym zarośnięciem przełyku mają jego izolowaną postać bez dodatkowych wad towarzyszących. U pozostałych pacjentów zarośnięcie przełyku współistnieje z innymi wadami (postać zespołowa, syndromiczna). Najczęściej współwystępują wady serca (13-34%), kończyn (5-19%), układu moczowo-płciowego (5-14%) i kostnego oraz wady innych części przewodu pokarmowego (zarośnięcie odbytu, dwunastnicy) [14,54,65].

Dostępność różnych technik obrazowania umożliwia zarówno diagnostykę prenatalną, jak i postnatalną wad wrodzonych. Postęp w chirurgii dziecięcej w ostatnich dekadach obniżył śmiertelność oraz częstość występowania powikłań pooperacyjnych, niemniej leczenie wrodzonego zarośnięcia przełyku, zwłaszcza w postaci zespołowej, stanowi poważne wyzwanie dla lekarzy wielu specjalności [29,61].

Patogeneza zarośnięcia przełyku jest bardzo słabo poznana. Zarówno przełyk, jak i tchawica powstają w czasie embriogenezy z prajelita. W czwartym tygodniu życia płodowego prajelito ulega podziałowi na brzuszną część oddechową oraz grzbietową część pokarmową. Dokładny patomechanizm tego podziału nie jest znany.

Uważa się, że zarośnięcie przełyku i przetoka tchawiczoprzelykowa powstają w wyniku działania wielu różnych czynników genetycznych i/lub środowiskowych, a ustalenie przyczyn choroby u większości pacjentów jest bardzo trudne.

ROZWÓJ EMBRYONALNY PRZEŁYKU I TCHAWICY – MECHANIZMY MOLEKULARNE STERUJĄCE PROCESAMI ROZWOJU PRZEŁYKU I TCHAWICY

Wrodzone zarośnięcie przełyku z przetoką tchawiczoprzelykową lub bez niej powstają w wyniku zaburzeń rozwoju jelita pierwotnego we wczesnym etapie życia płodowego. Około trzeciego tygodnia wraz z rozwojem

cewy środkowej endoderma ulega wpukleniu w tarczę zarodkowej tworząc rynienkę jelitową, z której powstaje prajelito. W czwartym tygodniu prajelito przekształca się w jelito pierwotne. Ścianę pierwotnego jelita od zewnątrz pokrywa mezoderma trzewna, która różnicuje się w dalszym etapie rozwoju do otrzewnej trzewnej. Między 4 a 8 tygodniem dokonuje się podział przedniej części endodermalnego jelita pierwotnego. Tchawica rozwija się jako rurkowaty uchyłek jelita pierwotnego w kierunku brzuszonym. Rosnąca tchawica daje początek parzystym zawiązkom oskrzeli, z których powstaną płuca. Grzbietowa część przedniego jelita pierwotnego przekształca się w przełyk. W tym samym czasie tworzy się przegroda tchawiczoprzelykowa. W ósmym tygodniu następuje całkowite rozdzielenie przełyku i tchawicy. Niepełne oddzielenie części krtaniowo-tchawiczej od przełyku może być przyczyną powstania przetoki tchawiczoprzelykowej. Poniżej przetoki może się utworzyć zwężenie lub zanik przełyku [60].

Na poziomie molekularnym rozwój embrionalny przedniego jelita pierwotnego sterowany jest produktami wielu genów, należących do różnych ścieżek sygnalizacyjnych. Dotychczasowa wiedza na temat podłoża molekularnego odpowiedzialnego za embrionalny rozwój i separację tchawicy i przełyku pochodzi głównie z badań na modelach zwierzęcych.

Chen i wsp. badali u myszy ekspresję genów w tkance przełyku w czasie prawidłowego rozwoju zarodkowego tego organu [9]. Autorzy ci wykazali, że wzór ekspresji genów zmienia się dynamicznie w zależności od etapu organogenezy. Między 9,5, a 11,5 dniem życia zarodka endoderma przekształca się w przełyk. W tym czasie ekspresja 1612 genów jest wysoka, a ekspresja 1303 genów ulega zmniejszeniu. W grupie genów z wysoką ekspresją są m.in.: *Irf6*, *Sox21*, *Nfib*, *Upk2*, *Hoxa5*, *Sox2*, *P63*, *Foxq1*, *Hoxa2*, *Hoxa4*, *Ovol2*, *Emp1*, *Lhfp*, *Kremen2*, *Twist1*, *Rarb*, *Hoxb4*, *Nfe2l3*, *Erf*, *Hoxc6*, a także *Klf5* (ścieżka sygnalizacyjna TGF- β), *Shh* i *FoxA2* (ścieżka sygnalizacyjna Hedgehog) oraz β -*katienina* (ścieżka sygnalizacyjna Wnt). W kolejnym etapie, między 11,5 dniem życia zarodkowego, a 7 dniem po urodzeniu tkanka nabłonkowa przełyku ulega przekształceniu z nabłonka jednowarstwowego w nabłonek wielowarstwowy. W tym czasie ponad 2 tysiące genów wykazuje zmieniony wzór ekspresji. Wśród nich są geny odpowiedzialne za różnicowanie keratynocytów (*Cnfn*, *Ctnnd*, *Evpl*, *Fgf10*, *Krt10*, *Krt17*, *Krt36*, *Krt79*, *Krt80*, *Krt84*, *Ppl*, *Ptch1*, *Tgfb2*) oraz rozwój mięśni (*Mybpc2*, *Mybph*, *Myh1*, *Myh10*, *Myh2*, *Myl1*, *Myl3*, *Myo18b*, *Myo5b*, *Myo6*, *Myom1*, *Bmp4*), naczyń krwionośnych (*Tgfb3*, *Tgm2*, *Fgf10*, *Col3a1*, *Edn1*, *Edn2*, *Epas1*, *Agt*) i neuronów (*Bdnf*, *Cacng4*, *Dlx2*, *Dmd*, *Epha7*, *Erbp3*, *Hoxb3*, *Nrtn*). W ostatnim etapie, który ma początek od 7 dnia po urodzinach warstwa nabłonkowa przełyku rogowacieje, a ekspresji ulegają m.in. geny

Akr1b8, Aldhs, Mts, Hmox1, Gsts, Abccs, Nqo1, Ltb4dh oraz *Nrf2*. Warstwa rogowa przełyku nie występuje u ludzi [9].

Różnicowanie się poszczególnych odcinków jelita pierwotnego kontrolowane jest przez lokalną ekspresję swoistych genów homeotycznych (*HOX*). Produkty białkowe tych genów są czynnikami transkrypcyjnymi, które regulują ekspresję oddzielnych zestawów genów odpowiedzialnych za kształtowanie ostatecznej, dojrzałej struktury anatomicznej. W jelicie przednim, z którego powstaje przełyk i tchawica ekspresji ulegają geny *Hoxa3* oraz *Hoxb4* [55]. Wykazano, że u myszy z uszkodzonym genem *Hoxc4* występuje zarośnięcie przełyku z przetoką tchawiczoprzełykową oraz wady kostne [6].

Do genów homeotycznych należy również gen *Barx1*, ulegający ekspresji w mezenchymie żołądka pełni rolę w rozwoju tego organu. Woo i wsp. wykazali również ekspresję tego genu w komórkach mezenchymalnych jelita pierwotnego między powstającą tchawicą, a przełykiem [72]. W zarodkach myszy laboratoryjnej z usuniętymi dwoma kopiami genu *Barx1*(-/-) gardło jest wyjątkowo wydłużone, a miejsce rozdzielenia przełyku i tchawicy wyraźnie przesunięte w kierunku ogonowym. Ponadto endoderma przełyku wykazuje molekularne i cytologiczne cechy endodermy układu oddechowego. Dodatkowo u powyższych mutantów aktywacja ścieżki sygnalizacyjnej Wnt jest nieprawidłowo przedłużona w czasie oraz obejmuje większy obszar jelita pierwotnego. Woo i wsp. wnioskuje, że hamujący wpływ *Barx1* na aktywność szlaku sygnalizacyjnego Wnt pełni ważną rolę w czasie prawidłowo przebiegającego procesu rozdzielenia jelita pierwotnego na przełyk i tchawicę [72].

Już w połowie dwudziestego wieku wiadomo było, że witamina A odgrywa główną rolę w rozwoju embrionalnym, a karmienie ciężarnych myszy dietą ubogą w tę witaminę prowadzi do narodzin osesków z wadami płuc [71]. W organizmie witamina A metabolizowana jest do kwasu retinowego, który w czasie rozwoju embrionalnego wiąże się do jednego ze swoich receptorów, a oddziaływanie to wpływa na ekspresję genów *Hox*, np. genu *Hoxa5*, który ekspresjonowany jest w płucach [68]. Powyższe zależności sprawiają, że myszy z usuniętymi genami receptorów kwasu retinowego mają wady wrodzone tchawicy i przełyku [35,41].

W 2008 r. zidentyfikowano u myszy mutację pojedynczego nukleotydu w genie *Pcsk5* [63]. Mutacja ta zaburza ekspresję genów *Hox*, a u wszystkich myszy, które ją mają występuje wiele wad charakterystycznych dla asocjacji VACTERL, z zarośniętym przełykiem w obrazie. Gen *Pcsk5* koduje białko biorące udział w potranslacyjnych modyfikacjach integryn alfa. Mutację opisywanego genu znaleziono również u pacjenta z asocjacją VACTERL, niemniej odziedziczona została ona po zdrowych rodzicach, co komplikuje jej znaczenie w etiologii [63].

Do genów homeotycznych mających znaczenie w prawidłowym rozwoju jelita pierwotnego należy również

gen *Nkx2-1*. Wykazano, że ulega on ekspresji w przedniej części jelita przedniego oraz endodermie tchawicy, ale nie przełyku [33].

Inne czynniki transkrypcyjne ulegające ekspresji w komórkach jelita pierwotnego należą do rodziny genów *SOX*. Białka te zawierają domenę wiążącą DNA taką samą jaką występuje w białku SRY (sex-determining region Y). W endodermie jelita przedniego ekspresji ulega gen *Sox2* [15], przy czym jego ekspresja jest wyższa w części grzbietowej, która przekształca się później w przełyk, a niższa w części brzusznej, która daje początek tchawicy – odwrotnie do ekspresji genu *Nkx2-1* [28]. Na modelu zwierzęcym wykazano, że u 60% homozygotycznych mutantów delecyjnych genu *Sox2* występuje zarośnięcie przełyku z dystalną przetoką tchawiczoprzełykową [50,51]. Heterozygotyczne mutacje genu *SOX2* u ludzi są powiązane z zespołem oczno-przełykowo-płciowym (AEG syndrome; OMIM 206900), w którego obrazie występuje zarośnięcie przełyku [70].

Za prawidłowo przebiegający rozwój przedniej części jelita pierwotnego odpowiedzialne są również białko *Bmp4* oraz jego inhibitor białko *Noggin*. Uważa się, że dzięki wyjątkowej zdolności białka *Noggin* do dyfuzji w zewnątrzkomórkowej macierzy, odgrywa ono główną rolę w tworzeniu gradientu morfogenetycznego. Que i wsp. wykazali na modelu mysim, że 70% homozygotycznych mutantów delecyjnych genu *Nog* prezentuje zarośnięcie przełyku i niewłaściwe rozgałęzienie płuc [49]. Okazało się, że w pewnych przypadkach zarośnięcia przełyku u ludzi występuje delecja locus 17q21.3-q24.2, a region ten zawiera gen *NOG*, ludzki ortolog mysiego genu *Nog* [48]. Podobna zależność istnieje w przypadku genu *Foxf1* i jego ludzkiego odpowiednika *FOXF1* [57]. Gen ten koduje czynnik transkrypcyjny mogący pełnić istotną funkcję w czasie rozwoju embrionalnego. Do rodziny genów *Fox* należą również geny *Foxp2* i *Foxp1*. Geny te ulegają ekspresji w wielu organach wywodzących się z jelita pierwotnego, w tym w płucach i jelicie. Shu i wsp. wykazali, że u mysich mutantów *Foxp2*(-/-)/*Foxp1*(+/-) poza licznymi wadami wrodzonymi prowadzącymi do śmierci wszystkich zarodków przed urodzeniem, rozwój muskulatury przełyku jest zaburzony [59]. Autorzy ci wnioskuje, że *Foxp2* i *Foxp1* wspólnie regulują rozwój płuc i przełyku [59].

Grupą genów odpowiedzialnych za morfogenezę przełyku są również geny ścieżki sygnalizacyjnej *Sonic Hedgehog* (*SHH*). Ekspresja tych genów występuje w całej warstwie endodermalnej przewodu pokarmowego z wyjątkiem trzustki [55]. Litington i wsp. wykazali, że myszy z delecją genu *Shh* mają zarośnięty przełyk z przetoką tchawiczoprzełykową oraz wady w budowie tchawicy i płuc [34]. Dotąd obserwacje dotyczące genu *Shh* na myszach nie znalazły potwierdzenia u ludzi z zarośnięciem przełyku. Motoyama i wsp. udowodnili główną rolę w rozwoju jelita pierwotnego czynników transkrypcyjnych *Gli2* oraz *Gli3* [42]. Ponownie na modelu mysim wykazano, że homozygotyczne mutanty delecyjne genu *Gli2* charakteryzuje zwężenie przełyku i tchawicy oraz hipoplazja płuc. Dodatkowa delecja jednej

z dwóch kopii genu *Gli3* u powyższych mutantów spowodowała wystąpienie u nich zarośnięcie przełyku z przetoką tchawiczą oraz poważnymi wadami płuc. Jednoczesne usunięcie obu kopii genów *Gli2* i *Gli3* skutkowało u mysich mutantów brakiem przełyku, tchawicy oraz płuc.

Park i wsp. wykazali, że gen *Shh* reguluje tworzenie się i rozmieszczenie chrząstek tchawicy przez kontrolę poziomu ekspresji genu *Sox9* [47]. U mysich mutantów delecyjnych genu *Shh* brak jest ekspresji genu *Sox9*, co skutkuje utratą zdolności do tworzenia chrząstek. Uzupełnienie hodowli tkankowej tchawicy z delecją genu *Shh* egzogenym białkiem Shh przywraca proces formowania chrząstek tchawicy. Taki sam wpływ na powyższą hodowlę ma dostarczenie egzogennych białek Bmp4 oraz Noggin. Eksperyment ten wskazuje, że to gdzie i kiedy powstaną chrząstki tchawicy określa wzór ekspresji genu *Sox9*, będący pod kontrolą szlaku sygnalizacyjnego Shh modulowanego dodatkowo przez białka Bmp4 oraz Noggin.

Zdolność doksorubicyny do wywoływania wad rozwojowych, m.in. przełyku i tchawicy w eksperymentalnym modelu zwierzęcym, wykorzystana została do obserwacji zmian poziomu ekspresji genów w czasie nieprawidłowo przebiegającej organogenezy. Doksorubicyna, popularnie nazywana także adriamycyną, to policykliczny związek organiczny. Należy on do antybiotyków antracyklinowych i izolowany jest z kultur bakterii *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Adriamycyna jest stosowana w leczeniu ludzi z nowotworami dzięki swoim właściwościom cytotoksycznym. Wykazano, że antybiotyk ten interkaluje w DNA, blokując replikację oraz funkcję polimerazy DNA i RNA. Obecność doksorubicyny w komórce indukuje również powstawanie wolnych rodników. Właściwości te sprawiają, że komórki po kontakcie z adriamycyną ulegają apoptozie.

U szczurów doksorubicyna wykazuje działanie teratogene i embriotoksyczne. Podawanie tej substancji w dawce około 1,25 mg/kg/dzień w 6-9 dniu ciąży indukuje u oseków wystąpienie zarośniętego przełyku i jelit, przetoki tchawiczo-przełykowej, niedorozwoju pęcherza moczowego oraz wad układu sercowo-naczyniowego [64]. Różnorodność wad rozwojowych jakie obserwuje się u szczurów po kontakcie z adriamycyną jest podobna do fenotypu mysich mutantów z delecją genów szlaku sygnałowego *Sonic Hedgehog* [34,42]. Pozwala to postawić hipotezę, że adriamycyna ma wpływ na prawidłowe funkcjonowanie tej ścieżki sygnałowej. Arsic i wsp. wykazali, że w zarodkach szczurzych po ekspozycji na adriamycynę zmieniał się wzór i poziom ekspresji genu *Shh* [1]. Zespół wykazał, że w prawidłowych warunkach stężenie białka Shh jest duże w czasie, w którym dochodzi do rozdzielenia przełyku i tchawicy, a potem spada. U szczurów traktowanych adriamycyną stężenie białka Shh było bardzo małe na każdym etapie organogenezy.

Calonge i wsp. w 2007 r. stwierdzili, że poziomy ekspresji genów *Hoxa3*, *Hoxb3*, *Hoxd3* i *Hoxc4* w płucach szczurów z zarośnięciem przełyku indukowanym adriamycyną uległy znacznemu obniżeniu w porównaniu do grupy kontrolnej [8].

Trzy lata później na tym samym eksperymentalnym modelu zwierzęcym Hajduk i wsp. wykazali, że ekspresja genu *Fgf10* w mezenchymie zawiązków płuc u myszy potraktowanych adriamycyną ulega przesunięciu w czasie [24]. W porównaniu do grupy kontrolnej ekspresja genu *Fgf10* opóźniła się. Autorzy badania sugerują, że może to mieć istotny wpływ na powstawanie wad rozwojowych przełyku i tchawicy.

UDZIAŁ CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH W ETIOLOGII ZAROŚNIĘCIA PRZEŁYKU I PRZETOKI TCHAWICZO-PRZEŁYKOWEJ

Zdecydowana większość przypadków zarośnięcia przełyku występuje sporadycznie. Dane epidemiologiczne wskazują, że ryzyko urodzenia kolejnego dziecka z zarośnięciem przełyku jest niewielkie i wynosi 1-2% [40]. Badania na bliźniętach wskazują, że zarośnięcie przełyku przeważnie dotyczy tylko jednego z nich, jedynie w 2,5% przypadków oboje bliźnięt rodzi się z opisywaną wadą rozwojową [58]. Bardziej aktualne badania przeprowadzone przez Schulza i wsp. wykazują, że zarośnięcie przełyku częściej współwystępuje u bliźnięt monozygotycznych, w porównaniu do częstości występowania tej wady u obu bliźnięt dwuzygotycznych [56]. Również rodzinne ryzyko wystąpienia omawianej wady jest większe u bliźnięt monozygotycznych w porównaniu do ryzyka u bliźnięt dwuzygotycznych. Wyniki te wskazują na bardzo istotny udział czynników genetycznych w etiopatogenezie wrodzonego zarośnięcia przełyku [56]. Niemniej współczynnik zgodności bliźnięt monozygotycznych pod względem omawianej wady nigdy nie osiąga wartości 100%, co znaczy, że pozagenetyczne czynniki również odgrywają rolę w etiologii tego schorzenia [17]. Dlatego badania epidemiologiczne skupiają się nad udziałem czynników środowiskowych w etiologii zarośnięcia przełyku.

Czynnikiem ryzyka wystąpienia zarośnięcia przełyku u noworodka może być ekspozycja matki w pierwszym okresie ciąży na szkodliwe czynniki o pochodzeniu egzogennym bądź endogennym.

Oddsberg i wsp. opublikowali dwie prace badające wpływ różnych czynników środowiskowych na ryzyko urodzenia dziecka z zarośnięciem przełyku [44,45]. Te epidemiologiczne badania przeprowadzone zostały w Szwecji wśród 2 305 858 noworodków urodzonych między 1982 a 2004 rokiem. Spośród tej grupy do analizy zakwalifikowano 722 przypadki zarośnięcia przełyku oraz 3610 dzieci jako grupę kontrolną. Do obliczeń ilorazu szans oraz 95% przedziału ufności wykorzystano warunkową regresję logistyczną i inne testy statystyczne. W pierwszej publikacji badacze wykazali, że ryzyko wystąpienia omawianego schorzenia spada wraz z kolejnym urodzonym dzieckiem, a najwyższe jest dla pierwszej ciąży. Określono również ryzyko urodzenia dziecka z zarośnięciem przełyku u kobiet między 35 a 40 rokiem życia oraz tych po 40 roku życia. Wykazano, że ryzyko to jest odpowiednio dwukrotnie i trzykrotnie wyższe w porównaniu do ryzyka, którym obarczone są ciężarne przed 20 rokiem życia. Wy tłumaczeniem tego

zjawiska może być zwiększone ryzyko aberracji chromosomowych u kobiet w starszym wieku, niemniej wskazano, że usunięcie z analizy przypadków z aberracjami chromosomowymi nie usuwa korelacji wieku matki z ryzykiem zarośnięcia przełyku u jej potomstwa. Wykazano także, że u kobiet rasy białej ryzyko urodzenia dziecka z opisywaną wadą rozwojową jest 60% większe niż u kobiet innych ras. W drugiej publikacji ci sami badacze odrzucają hipotezę, że palenie powyżej 10 papierosów dziennie, otyłość lub niski status socjoekonomiczny we wczesnym okresie ciąży wiążą się ze zwiększonym ryzykiem urodzenia dziecka z zarośnięciem przełyku.

Opublikowano prace dwóch innych zespołów badawczych oceniające wpływ wieku ojca na ryzyko urodzenia się dziecka z zarośnięciem przełyku [22,73]. Pierwszy zespół badawczy po analizie statystycznej populacji ponad 5 milionów urodzeń w USA stwierdził, że istnieje związek między zaawansowanym wiekiem ojca, a nieznacznie większym ryzykiem zarośnięcia przełyku u jego potomstwa. Ten sam zespół zauważa jednak, że ryzyko wystąpienia wad wrodzonych u potomstwa starszych ojców wzrasta nieznacznie, co sugeruje słaby charakter związku między wiekiem ojca, a ryzykiem zarośnięcia przełyku u jego dzieci. Drugi zespół badawczy zauważa, że ryzyko wystąpienia wrodzonego zarośnięcia przełyku wzrasta z każdym dodatkowym rokiem u młodych ojców, ale nie występuje u ojców starszych.

Jenny Oddsberg uważa, że wpływ wieku matki i ojca na ryzyko wystąpienia wad rozwojowych u płodu oraz spadek tego ryzyka wraz z każdą kolejną ciążą wskazują na udział w etiologii zarośnięcia przełyku układu hormonalnego lub innych mechanizmów biologicznych [43].

W 2008 roku ukazała się praca oceniająca wpływ wieku rodziców na ryzyko wystąpienia różnych wad wrodzonych w polskiej populacji. Analizie poddano 8683 dzieci w wieku 0-2 lat zarejestrowanych w Polskim Rejestrze Wrodzonych Wad Rozwojowych w latach 1998-2002 spośród 902 452 żywych urodzeń. Wykazano brak znaczącej statystycznie korelacji między wiekiem rodziców, a ryzykiem wystąpienia wrodzonego zarośnięcia przełyku u potomstwa [39].

Czynnikiem, który może mieć znaczenie dla ryzyka zarośnięcia przełyku u płodu jest cukrzyca u matki w czasie ciąży. Ostatnie badania wykazują, że cukrzyca zwiększa ryzyko zespołowej postaci zarośnięcia przełyku, bez wpływu na izolowaną postać tego schorzenia [11]. Według Oddsberg i wsp. ryzyko wystąpienia zarośnięcia przełyku u płodu jest o 70% większe u ciężarnych z cukrzycą w porównaniu do kobiet bez cukrzycy [46].

Innymi czynnikami środowiskowymi mogącymi mieć wpływ na ryzyko wystąpienia zarośnięcia przełyku u płodu są m.in. leki, tj. tiamazol (methimazole), egzogenne hormony płciowe, choroby zakaźne, fenyloketonuria u matki lub jej kontakt w czasie ciąży z herbicydami i insektycydami [5,7,20,32,52].

Znaczącą rolę w usuwaniu ksenobiotyków z komórek odgrywa glutation oraz enzymy biorące udział w jego metabolizmie. W 2010 roku ukazała się publikacja, której autorzy wykazali istotny statystycznie związek między homozygotyczną delecją genu S-transferazy glutationowej (*GSTM1*-/-) a zarośnięciem przełyku [19]. Gen *GSTM1* koduje enzym katalizujący reakcję przyłączenia glutationu do ksenobiotyków, które po takiej modyfikacji usuwane są z komórki. Wyniki badań sugerują, że delecja obu kopii genu *GSTM1* może odgrywać ważną rolę w rozwoju zarośnięcia przełyku przez zaburzenie procesów usuwania toksyn z rozwijającego się płodu oraz organizmu jego matki.

Podsumowując należy zauważyć, że to, w jakim stopniu pewne substancje chemiczne pochodzące ze środowiska zwiększają ryzyko wystąpienia wad rozwojowych u płodu zależy od genetycznie warunkowanej zdolności organizmu do detoksykacji.

Większość badań nad wpływem czynników środowiskowych na ryzyko wystąpienia zarośnięcia przełyku i przetoki tchawiczo-przełykowej u płodu wskazuje, że istniejąca korelacja między tymi zjawiskami jest niewielka bądź na granicy istotności statystycznej. Poza tym część zaobserwowanych zależności stwierdzano w pojedynczych przypadkach klinicznych, a biorąc pod uwagę złożoność wpływu środowiska na płód wyciąganie wniosków z takich pojedynczych przypadków może się okazać przedwczesne.

UDZIAŁ CZYNNIKÓW GENETYCZNYCH W ETIOLOGII ZAROŚNIĘCIA PRZEŁYKU I PRZETOKI TCHAWICZO-PRZEŁYKOWEJ — OPIS ZMIAN GENETYCZNYCH U PACJENTÓW Z ZAROŚNIĘCIEM PRZEŁYKU

Wszystkie wymienione niżej dane dotyczą zespołowej postaci schorzenia, przyczyny izolowanej postaci pozostają nieznane. Zgodnie z wiedzą autorów nie opisano również eksperymentalnego modelu zwierzęcego izolowanego zarośnięcia przełyku. Uważa się, że główną rolę w etiologii izolowanej postaci odgrywają czynniki środowiskowe oraz jak dotąd niezidentyfikowane czynniki genetyczne.

W zespołowej postaci zarośnięcia przełyku wyniki badań eksperymentalnych na organizmach modelowych oraz mutacje opisywane u ludzi, wskazują na znaczący, ale niejednorodny udział czynników genetycznych w etiologii tej wady. Badania na zwierzętach wskazują, że manipulacje określonymi genami mogą powodować wystąpienie wielu wad rozwojowych, w tym zarośnięcia przełyku, u większości mutantów typu knock-out. Szczegóły wyników prac eksperymentalnych na modelach zwierzęcych zawiera rozdział poświęcony embriologii. W tej części artykułu autorzy skupią się na zmianach genetycznych opisywanych dotąd u pacjentów z zespołową postacią zarośnięcia przełyku z podziałem na aberracje chromosomów oraz mutacje pojedynczych genów. Szczegóły zmian genetycznych wraz z cechami klinicznymi pacjentów z zespołową postacią zarośnięcia przełyku zawiera praca [3].

ABERRACJE CHROMOSOMOWE

Zmiany liczby lub struktury chromosomów dotyczą 6-10% pacjentów z zarośnięciem przełyku, z czego w większości przypadków to trisomie. Omawiana wada rozwojowa opisywana jest u około 25% pacjentów z zespołem Edwardsa (trisomia 18), około 1% pacjentów z zespołem Downa (trisomia 21), a także sporadycznie w zespole Patau (trisomia 13) [18,61]. Przyczyny występowania wad wrodzonych przełyku i tchawicy w tych aneuploidiach są nieznane. Panuje przekonanie, że wielość wad obserwowanych w trisomii chromosomu 18 może się wiązać z obniżoną syntezą cholesterolu, który bierze udział w prawidłowym funkcjonowaniu ścieżki sygnałowej SHH [10,31].

Pośród strukturalnych zaburzeń chromosomowych niedrożność przełyku występować może w zespołach delecyjnych i mikrodelecyjnych 2q37.2-qter, 4q35-qter, 5p15-pter, 6q13-q15, 13q34-qter, 14q32.3-qter i 22q11, a także w duplikacjach 3p25-pter, 5q34-qter [18]. Uważa się, że regiony te zawierają geny, których obniżona ekspresja w wyniku delecji lub nadekspresja w przypadku duplikacji, może odgrywać istotną rolę w etiologii zarośnięcia przełyku. Obszerny opis aberracji chromosomowych u pacjentów z zarośnięciem przełyku i przetoką tchawiczo-przełykową zawiera praca [18].

Szczególnie interesujące są przypadki interstycjalnej delecji 17q22-q23.3 [38]. Region ten zawiera geny *NOG* oraz *RARα*, ludzkie odpowiedniki mysich genów, których udział w etiologii zarośnięcia przełyku został potwierdzony eksperymentalnie.

Stankiewicz i wsp. opisali delecję regionu 16q24.1 [62]. Obszar ten zawiera kilka blisko leżących genów, które kodują spokrewnione białka. Wśród nich jest m.in. gen czynnika transkrypcyjnego *FOXF1*. Wcześniej wykazano, że heterozygotyczna delecja genu *Foxf1* u myszy powoduje wystąpienie zarośnięcia przełyku [36].

MUTACJE GENOWE

Schorzenie, które omawia niniejsza publikacja, oprócz zespołów warunkowanych aberracjami chromosomowymi, może współistnieć w co najmniej siedmiu innych zaburzeniach genetycznych. Należą do nich asocjacja VATER/VACTERL, zespoły Feingolda, CHARGE, oczno-przełykowo-płciowy (AEG), Pallistera-Halla, Opitza oraz niedokrwiłość Fanconiego. Dla większości z nich szybki postęp w dziedzinie biologii molekularnej umożliwił identyfikację pojedynczych genów, których mutacje prowadzą do powstania tych chorób.

U 10-30% pacjentów z zarośniętym przełykiem zdiagnozować można asocjację VATER (OMIM 192350) lub VACTERL (OMIM 276950;314390) [13,65]. Nazwy te to akronimy powstałe z pierwszych liter współistniejących wad: wady kręgow (Vertebral), wady odbytnicy i odbytu (Anal), wady układu sercowo-naczyniowego (Cardiovascular), zarośnięcie przełyku z lub bez przetoki tchawiczo-przełyko-

wej (Tracheo-oesophageal), wady kości przedramienia lub wady nerek (Radial lub Renal) oraz wady kończyn (Limb). Czasami występuje również wodogłowie (Hydrocephalus) i wtedy akronim przyjmuje postać VACTERL-H. Ogólnie asocjacja oznacza nielosowe skojarzenie wad rozwojowych, które występują razem częściej niż mogłyby występować przypadkowo, ale ich obraz kliniczny nie jest na tyle stały, aby określić go nazwą zespołu [60]. U pacjentów z zarośnięciem przełyku, u których zdiagnozowano jedną z trzech postaci powyższej asocjacji, zidentyfikowano dotychczas mutacje w genach *FANCB*, *PTEN*, *ZIC3* oraz delecję genu *FOXF1* [26,53,62,69]. Mutacja pierwszego z wymienionych genów - *FANCB* (Xp22.2), polegała na zamianie nukleotydu G na A w wysoce konserwatywnym miejscu donorowym intronu 7, a miejsce to bierze udział w czasie wycinania intronów podczas procesu dojrzewania mRNA. U pacjentów z wadami rozwojowymi asocjacji VATER opisano także heterozygotyczną mutację germinálną H61D w genie supresorowym *PTEN* (10q23.31), który koduje fosfatazę biorącą udział w procesach sygnałowych komórki. W asocjacji VACTERL zidentyfikowano również insercję 6 nukleotydów w obrębie sekwencji powtórzeń GCC w genie *ZIC3* (Xq26.3). Uważa się, że mutacja ta zwiększa liczbę aminokwasów alaniny z 10 do 12 na końcu łańcucha białkowego i przez to jest patogenna. Kolejnym genem mającym udział w patogenie opisywanych wyżej asocjacji wad rozwojowych jest gen *FOXF1*. Koduje on czynnik transkrypcyjny będący pod kontrolą szlaku sygnałowego SHH. Mikrodelecję regionu 16q24.1 zawierającego ten gen opisano u chorych z zarośnięciem przełyku oraz z innymi wadami tworzącymi postać asocjacji VACTERL. Niedawno u pacjentów z asocjacją VACTER/VACTERL opisano mikroduplikację *de novo* regionów chromosomalnych 1q41, 2q37.3 i 8q24.3, sugerując udział genu *GPR35* w etiologii powyższego schorzenia [25].

Wady, które razem tworzą postać asocjacji VACTERL-H często są składową obrazu klinicznego niedokrwiłości Fanconiego. Ta rzadka, w większości przypadków autosomalnie recesywna choroba jest wysoce heterogenna. Cechą tej choroby jest zwiększona podatność na uszkodzenia materiału genetycznego i wysoki odsetek złamań chromosomów w wyniku błędnie funkcjonującego systemu naprawy DNA. Dotąd zidentyfikowano przynajmniej 13 genów, których mutacje mogą ją wywoływać. Geny te łączy się w grupy od A do G i grupy I, L, M oraz N, a zarośnięcia przewodu pokarmowego (w tym zarośnięcia dwunastnicy i przełyku) opisuje się u około 14% pacjentów z powyższą chorobą [2].

Kolejnym genem mogącym mieć znaczenie w etiopatogenezie wrodzonego zarośnięcia przełyku jest gen *MYCN*, leżący na chromosomie 2q24.1. Białkowy produkt tego genu jest umiejscowiony w jądrze komórkowym i bierze udział w regulacji transkrypcji, cyklu komórkowym, różnicowaniu i morfogenezie, będąc pod kontrolą szlaków sygnałowych SHH, WNT, TGF oraz FGF [27]. Zmiany w tym genie są przyczyną zespołu Feingolda (OMIM 164280). Schorzenie to jest stosunkowo rzadkie i dziedziczy się w sposób autosomalnie dominujący. Charakteryzuje się występowaniem cech dysmorficznych twarzy, czaszki,

w tym małogłowie, nieprawidłowości w budowie palców u rąk i stóp, lekką lub umiarkowaną niepełnosprawnością intelektualną oraz zarośnięciami różnych odcinków przewodu pokarmowego, w tym przełyku i dwunastnicy. Do tej pory opisano 23 mutacje oraz 5 delecji tego genu [37]. Prawie 30-40% pacjentów z zespołem Feingolda ma zarośnięcie przełyku i przetokę tchawiczo-przełykową [66].

Mutacje genu *CHD7* kodującego enzym helikazę występują u 60% pacjentów z zespołem CHARGE (OMIM 214800) [67]. Nazwa to akronim pochodzący od pierwszych liter wad wrodzonych obecnych w tym schorzeniu. Wady te obejmują szczyelinę różnych struktur oka (Coloboma), wady serca (Heart defects), zarośnięcie nozdrzy tylnych (choanal Atresia), zahamowanie wzrostu i rozwoju psychoruchowego (Retardation of growth and development), wady układu moczowo-płciowego (Genitourinary defects) oraz dysmorfie uszu wraz z głuchotą (Ear anomalies). Około 10% pacjentów z zespołem CHARGE posiada również zarośnięty przełyk z lub bez przetoki tchawiczo-przełykowej. Uważa się, że gen *CHD7* pełni rolę we wczesnej embriogenezie poprzez epigenetyczną regulację organizacji chromatyny, regulując w ten sposób ekspresję genów.

Engelen i wsp. wykazali, że białkowy produkt genu *CHD7* oddziałuje z białkiem kodowanym przez gen *SOX2* w neuronalnych komórkach macierzystych u myszy [16]. Oba białka na zasadzie wzajemnych kofaktorów współpracują ze sobą w aktywacji różnych genów. Wydaje się więc, że mutacje w genie *SOX2* i *CHD7* prowadzić będą do wystąpienia wad wrodzonych mogących obejmować te same narządy.

Na obraz kliniczny wad rozwojowych warunkowanych mutacjami w genie *SOX2* składają się jednostronne lub obustronne niewykształcenie oczu, zarośnięcie przełyku oraz nieprawidłowości w budowie narządów płciowych. Łącznie wady te określa się nazwą zespołu oczno-przełykowo-płciowego (AEG syndrome; OMIM 206900). Podobnie jak mutacje genu *CHD7* również zmiany w genie *SOX2* są autosomalnie dominujące [70].

Zarośnięcie przełyku pojawia się sporadycznie również w dwóch kolejnych zespołach genetycznych. Pierwszym

z nich jest zespół Pallistera-Hall (OMIM 146510). Powodują go mutacje w genie *GLI3*, dziedziczące się autosomalnie dominująco. Udział tego genu w etiologii omawianego schorzenia wykazano na modelu zwierzęcym, ale zmian liczby kopii genów *GLI2* i *GLI3* u pacjentów z zarośnięciem przełyku nie znaleziono [4].

Drugim zespołem w obrazie którego rzadko pojawia się zarośnięcie przełyku jest zespół Opitza GBBB (OMIM 300000). Wykazano, że powodują go mutacje genu *MID1* zlokalizowanego na chromosomie X [12].

Niedawno Gordon i wsp. wykazali, że delecja *de novo* 17q21.31 obejmująca gen *EFTUD2* oraz sąsiednie geny albo *de novo* heterozygotyczne mutacje utraty funkcji w genie *EFTUD2* prowadzą do wystąpienia zespołowej postaci zarośnięcia przełyku z dyzostozą żuchwowo-twarzową [21].

Powyższa lista genów wyczerpuje naszą dotychczasową wiedzę na temat podłoża molekularnego zespołowych postaci zarośnięcia przełyku. Przyczyny izolowanej postaci omawianego schorzenia wciąż pozostają nieznane. W związku z tym nie można mówić o swoistym, genetycznym czynniku ryzyka wrodzonego zarośnięcia przełyku.

ZAKOŃCZENIE

Dynamiczny rozwój nowoczesnej embriologii, genetyki molekularnej i innych nauk podstawowych pozwala na identyfikowanie nowych mechanizmów, w tym genów, których mutacje odgrywają znaczącą rolę w etiopatogenezie wad rozwojowych przewodu pokarmowego. Podkreśla się jednak, że pochodzenie zarośnięcia przełyku i/lub przetoki tchawiczo-przełykowej jest poligenowe (działanie wielu genów i ich interakcje) i wieloczynnikowe (działanie czynników genetycznych i środowiskowych). Sugeruje się jednak, że w etiopatogenezie zarośnięcia przełyku najprawdopodobniej istnieje jeden lub kilka czynników głównych inicjujących nieprawidłowy rozwój przełyku doprowadzając do jego niedrożności, dlatego obecne badania naukowe koncentrują się na poszukiwaniu tych potencjalnie najistotniejszych czynników.

PIŚMIENICTWO

[1] Arsic D., Keenan J., Quan Q.B., Beasley S.: Differences in the levels of Sonic hedgehog protein during early foregut development caused by exposure to Adriamycin give clues to the role of the Shh gene in esophageal atresia. *Pediatr. Surg. Int.*, 2003; 19: 463-466

[2] Auerbach A.D.: Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat. Res.*, 2009; 31: 4-10

[3] Bednarczyk D., Sasiadek M.M., Smigiel R.: Chromosome aberrations and gene mutations in patients with esophageal atresia. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2013; 57: 688-693

[4] Bednarczyk D., Smigiel R., Patkowski D., Laczmanska I., Lebioda A., Laczmanski L., Sasiadek M.M.: Normal exon copy number of the *GLI2* and *GLI3* genes in patients with esophageal atresia. *Dis. Esophagus*, 2013; 26: 678-681

[5] Bos A.P., Pattenier A.M., Grobbee R.E., Lindhout D., Tibboel D., Moleenaar J.C.: Etiological aspects of congenital diaphragmatic hernia: results of a case comparison study. *Hum. Genet.*, 1994; 94: 445-446

[6] Boulet A.M., Capecchi M.R.: Targeted disruption of *hoxc-4* causes esophageal defects and vertebral transformations. *Dev. Biol.*, 1996; 177: 232-249

[7] Bush R.T., Dukes P.C.: Women with phenylketonuria: successful management of pregnancy and implications. *N. Z. Med. J.*, 1985; 98: 181-183

[8] Calonge W.M., Martinez L., Lacadena J., Fernandez-Dumont V., Mate-sanz R., Tovar J.A.: Expression of homeotic genes *Hoxa3*, *Hoxb3*, *Hoxd3* and *Hoxc4* is decreased in the lungs but not in the hearts of adriamycin-exposed mice. *Pediatr. Surg. Int.*, 2007; 23: 419-424

- [9] Chen H., Li J., Li H., Hu Y., Tevebaugh W., Yamamoto M., Que J., Chen X.: Transcript profiling identifies dynamic gene expression patterns and an important role for Nrf2/Keap1 pathway in the developing mouse esophagus. *PLoS One*, 2012; 7: e36504
- [10] Cooper M.K., Wassif C.A., Krakowiak P.A., Taipale J., Gong R., Kelley R.I., Porter F.D., Beachy P.A.: A defective response to Hedgehog signaling in disorders of cholesterol biosynthesis. *Nat. Genet.*, 2003; 33: 508-513
- [11] Correa A., Gilboa S.M., Besser L.M., Botto L.D., Moore C.A., Hobbs C.A., Cleves M.A., Riehle-Colarusso T.J., Waller D.K., Reece E.A.: Diabetes mellitus and birth defects. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2008; 199: 237.e1-9
- [12] De Falco F., Cainarca S., Andolfi G., Ferrentino R., Berti C., Rodríguez Criado G., Rittinger O., Dennis N., Odent S., Rastogi A., Liebelt J., Chitayat D., Winter R., Jawanda H., Ballabio A., Franco B., Meroni G.: X-linked Opitz syndrome: novel mutations in the MID1 gene and redefinition of the clinical spectrum. *Am. J. Med. Genet. A*, 2003; 120A: 222-228
- [13] de Jong E.M., Felix J.F., Deurloo J.A., van Dooren M.F., Aronson D.C., Torfs C.P., Heij H.A., Tibboel D.: Non-VACTERL-type anomalies are frequent in patients with esophageal atresia/tracheo-esophageal fistula and full or partial VACTERL association. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.*, 2008; 82: 92-97
- [14] Depaape A., Dolk H., Lechat M.F.: The epidemiology of tracheo-oesophageal fistula and oesophageal atresia in Europe. *EUROCAT Working Group. Arch. Dis. Child.*, 1993; 68: 743-748
- [15] de Santa Barbara P., van den Brink G.R., Roberts D.J.: Development and differentiation of the intestinal epithelium. *Cell Mol. Life Sci.*, 2003; 60: 1322-1332
- [16] Engelen E., Akinci U., Bryne J.C., Hou J., Gontan C., Moen M., Szumska D., Kockx C., van Ijcken W., Dekkers D.H., Demmers J., Rijkers E.J., Bhattacharya S., Philipsen S., Pevny L.H., Grosveld F.G., Rottier R.J., Lenhard B., Poot R.A.: Sox2 cooperates with Chd7 to regulate genes that are mutated in human syndromes. *Nat. Genet.*, 2011; 43: 607-611
- [17] Felix J.F., de Jong E.M., Torfs C.P., de Klein A., Rottier R.J., Tibboel D.: Genetic and environmental factors in the etiology of esophageal atresia and/or tracheoesophageal fistula: an overview of the current concepts. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.*, 2009; 85: 747-754
- [18] Felix J.F., Tibboel D., de Klein A.: Chromosomal anomalies in the aetiology of oesophageal atresia and tracheo-oesophageal fistula. *Eur. J. Med. Genet.*, 2007; 50: 163-175
- [19] Filonzi L., Magnani C., de' Angelis G.L., Dallaglio S., Nonnis Marzano F.: Evidence that polymorphic deletion of the glutathione S-transferase gene, GSTM1, is associated with esophageal atresia. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.*, 2010; 88: 743-747
- [20] Fraser C., Baird P.A., Sadovnick A.D.: A comparison of incidence trends for esophageal atresia and tracheoesophageal fistula, and infectious disease. *Teratology*, 1987; 36: 363-369
- [21] Gordon C.T., Petit F., Oufadem M., Decaestecker C., Jourdain A.S., Andrieux J., Malan V., Alessandri J.L., Baujat G., Baumann C., Boute-Benejean O., Caumes R., Delobel B., Dieterich K., Gaillard D. i wsp.: EFTUD2 haploinsufficiency leads to syndromic oesophageal atresia. *J. Med. Genet.*, 2012; 49: 737-746
- [22] Green R.F., Devine O., Crider K.S., Olney R.S., Archer N., Olshan A.F., Shapira S.K.: National Birth Defects Prevention Study: Association of paternal age and risk for major congenital anomalies from the National Birth Defects Prevention Study, 1997 to 2004. *Ann. Epidemiol.*, 2010; 20: 241-249
- [23] Gross R.E.: *Surgery of infancy and childhood*. Philadelphia: WB Saunders, 1953
- [24] Hajduk P., Murphy P., Puri P.: Fgf10 gene expression is delayed in the embryonic lung mesenchyme in the adriamycin mouse model. *Pediatr. Surg. Int.*, 2010; 26: 23-27
- [25] Hilger A., Schramm C., Pennimpede T., Wittler L., Dworschak G.C., Bartels E., Engels H., Zink A.M., Degenhardt F., Müller A.M., Schmiedeke E., Grasshoff-Derr S., Märzheuser S., Hosie S., Holland-Cunz S. i wsp.: De novo microduplications at 1q41, 2q37.3, and 8q24.3 in patients with VATER/VACTERL association. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2013; 21: 1377-1382
- [26] Holden S.T., Cox J.J., Kesterton I., Thomas N.S., Carr C., Woods C.G.: Fanconi anaemia complementation group B presenting as X linked VACTERL with hydrocephalus syndrome. *J. Med. Genet.*, 2006; 43: 750-754
- [27] Hurlin P.J.: N-Myc functions in transcription and development. *Birth Defects Res. C Embryo Today*, 2005; 75: 340-352
- [28] Jacobs I.J., Ku W.Y., Que J.: Genetic and cellular mechanisms regulating anterior foregut and esophageal development. *Dev. Biol.*, 2012; 369: 54-64
- [29] Kamiński A., Jasińska A., Antoniak B., Iwaszkiewicz K., Piotrowska A., Werner B., Wołoszczuk-Gębicka B.: Wpływ wady łuku aorty na sposób i wyniki leczenia pacjentów z wrodzoną niedrożnością przełyku. *Kardiologia i Torakochirurgia Polska*, 2012; 3: 322-326
- [30] Ladd W.E.: The surgical treatment of esophageal atresia and tracheoesophageal fistulas. *N. Eng. J. Med.*, 1944; 625
- [31] Lam W.W., Kirk J., Manning N., Reardon W., Kelley R.I., Fitzpatrick D.: Decreased cholesterol synthesis as a possible aetiological factor in malformations of trisomy 18. *Eur. J. Med. Genet.*, 2006; 49: 195-199
- [32] Lammer E.J., Cordero J.F.: Exogenous sex hormone exposure and the risk for major malformations. *JAMA*, 1986; 255: 3128-3132
- [33] Lazzaro D., Price M., de Felice M., Di Lauro R.: The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development*, 1991; 113: 1093-1104
- [34] Litingtung Y., Lei L., Westphal H., Chiang C.: Sonic hedgehog is essential to foregut development. *Nat. Genet.*, 1998; 20: 58-61
- [35] Luo J., Sucov H.M., Bader J.A., Evans R.M., Giguère V.: Compound mutants for retinoic acid receptor (RAR) β and RAR α 1 reveal developmental functions for multiple RAR β isoforms. *Mech. Dev.*, 1996; 55: 33-44
- [36] Mahlapuu M., Enerbäck S., Carlsson P.: Haploinsufficiency of the forkhead gene Foxf1, a target for sonic hedgehog signaling, causes lung and foregut malformations. *Development*, 2001; 128: 2397-2406
- [37] Marcelis C.L., Hol F.A., Graham G.E., Rieu P.N., Kellermayer R., Meijer R.P., Lugtenberg D., Scheffer H., van Bokhoven H., Brunner H.G., de Brouwer A.P.: Genotype-phenotype correlations in MYCN-related Feingold syndrome. *Hum. Mutat.*, 2008; 29: 1125-1132
- [38] Marsh A.J., Wellesley D., Burge D., Ashton M., Browne C., Dennis N.R., Temple K.: Interstitial deletion of chromosome 17 (del(17)(q22q23.3)) confirms a link with oesophageal atresia. *J. Med. Genet.*, 2000; 37: 701-704
- [39] Materna-Kiryluk A., Wiśniewska K., Badura-Stronka M., Mejnar-towicz J., Wieckowska B., Balcar-Boroń A., Czerwionka-Szaflarska M., Gajewska E., Godula-Stuglik U., Krawczyński M., Limon J., Rusin J., Sawulicka-Oleszczuk H., Szwalkiewicz-Warowicka E., Walczak M., Lantos-Bieleńska A.: Parental age as a risk factor for isolated congenital malformations in a Polish population. *Paediatr. Perinat. Epidemiol.*, 2009; 23: 29-40
- [40] McMullen K.P., Karnes P.S., Moir C.R., Michels V.V.: Familial recurrence of tracheoesophageal fistula and associated malformations. *Am. J. Med. Genet.*, 1996; 63: 525-528
- [41] Mendelsohn C., Lohnes D., Décimo D., Lufkin T., LeMeur M., Chambon P., Mark M.: Function of the retinoic acid receptors (RARs) during development (II). Multiple abnormalities at various stages of organogenesis in RAR double mutants. *Development*, 1994; 120: 2749-2771
- [42] Motoyama J., Liu J., Mo R., Ding Q., Post M., Hui C.C.: Essential function of Gli2 and Gli3 in the formation of lung, trachea and oesophagus. *Nat. Genet.*, 1998; 20: 54-57
- [43] Oddsberg J.: Environmental factors in the etiology of esophageal atresia. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2011; 52: S4-S5

- [44] Oddsberg J., Jia C., Nilsson E., Ye W., Lagergren J.: Influence of maternal parity, age, and ethnicity on risk of esophageal atresia in the infant in a population-based study. *J. Pediatr. Surg.*, 2008; 43: 1660-1665
- [45] Oddsberg J., Jia C., Nilsson E., Ye W., Lagergren J.: Maternal tobacco smoking, obesity, and low socioeconomic status during early pregnancy in the etiology of esophageal atresia. *J. Pediatr. Surg.*, 2008; 43: 1791-1795
- [46] Oddsberg J., Lu Y., Lagergren J.: Maternal diabetes and risk of esophageal atresia. *J. Pediatr. Surg.*, 2010; 45: 2004-2008
- [47] Park J., Zhang J.J., Moro A., Kushida M., Wegner M., Kim P.C.: Regulation of Sox9 by Sonic Hedgehog (Shh) is essential for patterning and formation of tracheal cartilage. *Dev. Dyn.*, 2010; 239: 514-526
- [48] Puusepp H., Zilina O., Teek R., Männik K., Parkel S., Kruustük K., Kuuse K., Kurg A., Ounap K.: 5.9 Mb microdeletion in chromosome band 17q22-q23.2 associated with tracheo-esophageal fistula and conductive hearing loss. *Eur. J. Med. Genet.*, 2009; 52: 71-74
- [49] Que J., Choi M., Ziel J.W., Klingensmith J., Hogan B.L.: Morphogenesis of the trachea and esophagus: current players and new roles for noggin and Bmps. *Differentiation*, 2006; 74: 422-437
- [50] Que J., Luo X., Schwartz R.J., Hogan B.L.: Multiple roles for Sox2 in the developing and adult mouse trachea. *Development*, 2009; 136: 1899-1907
- [51] Que J., Okubo T., Goldenring J.R., Nam K.T., Kurotani R., Morrissey E.E., Taranova O., Pevny L.H., Hogan B.L.: Multiple dose-dependent roles for Sox2 in the patterning and differentiation of anterior foregut endoderm. *Development*, 2007; 134: 2521-2531
- [52] Ramírez A., Espinosa de los Monteros A., Parra A., De León B.: Esophageal atresia and tracheoesophageal fistula in two infants born to hyperthyroid women receiving methimazole (Tapazol) during pregnancy. *Am. J. Med. Genet.*, 1992; 44: 200-202
- [53] Reardon W., Zhou X.P., Eng C.: A novel germline mutation of the PTEN gene in a patient with macrocephaly, ventricular dilatation, and features of VATER association. *J. Med. Genet.*, 2001; 38: 820-823
- [54] Robert E., Mutchinick O., Mastroiaco P., Knudsen L.B., Daltveit A.K., Castilla E.E., Lancaster P., Källén B., Cocchi G.: An international collaborative study of the epidemiology of esophageal atresia or stenosis. *Reprod. Toxicol.*, 1993; 7: 405-421
- [55] Roberts D.J., Johnson R.L., Burke A.C., Nelson C.E., Morgan B.A., Tabin C.: Sonic hedgehog is an endodermal signal inducing Bmp-4 and Hox genes during induction and regionalization of the chick hindgut. *Development*, 1995; 121: 3163-3174
- [56] Schulz A.C., Bartels E., Stressig R., Ritgen J., Schmiedeke E., Mattheisen M., Draaken M., Ludwig M., Bagci S., Müller A., Gembruch U., Geipel A., Berg C., Heydweiller A., Bachour H., Schumacher J., Bartmann P., Nöthen M.M., Reutter H.: Nine new twin pairs with esophageal atresia: a review of the literature and performance of a twin study of the disorder. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.*, 2012; 94: 182-186
- [57] Shaw-Smith C.: Genetic factors in esophageal atresia, tracheo-esophageal fistula and the VACTERL association: roles for *FOXF1* and the 16q24.1 FOX transcription factor gene cluster, and review of the literature. *Eur. J. Med. Genet.*, 2010; 53: 6-13
- [58] Shaw-Smith C.: Oesophageal atresia, tracheo-oesophageal fistula, and the VACTERL association: review of genetics and epidemiology. *J. Med. Genet.*, 2006; 43: 545-554
- [59] Shu W., Lu M.M., Zhang Y., Tucker P.W., Zhou D., Morrissey E.E.: Foxp2 and Foxp1 cooperatively regulate lung and esophagus development. *Development*, 2007; 134: 1991-2000
- [60] Smigiel R., Karpiński P., Patkowski D.: Isolated and syndromic forms of oesophageal atresia - genetic aspects and counselling. *Med. Wieku Rozwoj.*, 2009; 13: 11-18
- [61] Smigiel R., Patkowski D., Pyrek B., Zielińska M., Golebiowski W., Czyżewska M., Szmyd K., Sasiadek M.M.: Difficult therapeutic decision making in treatment of children with oesophageal atresia and trisomy of chromosome 18 - comments by geneticist, surgeon, neonatologist, paediatrician and anaesthesiologist. *Med. Wieku Rozwoj.*, 2011; 15: 7-15
- [62] Stankiewicz P., Sen P., Bhatt S.S., Storer M., Xia Z., Bejjani B.A., Ou Z., Wiszniewska J., Driscoll D.J., Maisenbacher M.K., Bolivar J., Bauer M., Zackai E.H., McDonald-McGinn D., Nowaczyk M.M. i wsp.: Genomic and genic deletions of the FOX gene cluster on 16q24.1 and inactivating mutations of *FOXF1* cause alveolar capillary dysplasia and other malformations. *Am. J. Hum. Genet.*, 2009; 84: 780-791
- [63] Szumska D., Pieleś G., Essalmani R., Bilski M., Mesnard D., Kaur K., Franklyn A., El Omari K., Jefferis J., Bentham J., Taylor J.M., Schneider J.E., Arnold S.J., Johnson P., Tymowska-Lalanne Z. i wsp.: VACTERL/caudal regression/Currarino syndrome-like malformations in mice with mutation in the proprotein convertase *Pcsk5*. *Genes Dev.*, 2008; 22: 1465-1477
- [64] Thompson D.J., Molello J.A., Strebing R.J., Dyke I.L.: Teratogenicity of adriamycin and daunomycin in the rat and rabbit. *Teratology*, 1978; 17: 151-157
- [65] Torfs C.P., Curry C.J., Bateson T.F.: Population-based study of tracheoesophageal fistula and esophageal atresia. *Teratology*, 1995; 52: 220-232
- [66] van Bokhoven H., Celli J., van Reeuwijk J., Rinne T., Glaudemans B., van Beusekom E., Rieu P., Newbury-Ecob R.A., Chiang C., Brunner H.G.: MYCN haploinsufficiency is associated with reduced brain size and intestinal atresias in Feingold syndrome. *Nat. Genet.*, 2005; 37: 465-467
- [67] Vissers L.E., van Ravenswaaij C.M., Admiraal R., Hurst J.A., de Vries B.B., Janssen I.M., van der Vliet W.A., Huys E.H., de Jong P.J., Hamel B.C., Schoenmakers E.F., Brunner H.G., Veltman J.A., van Kessel A.G.: Mutations in a new member of the chromodomain gene family cause CHARGE syndrome. *Nat. Genet.*, 2004; 36: 955-957
- [68] Wang Z., Dollé P., Cardoso W.V., Niederreither K.: Retinoic acid regulates morphogenesis and patterning of posterior foregut derivatives. *Dev. Biol.*, 2006; 297: 433-445
- [69] Wessels M.W., Kuchinka B., Heydanus R., Smit B.J., Dooijes D., de Krijger R.R., Lequin M.H., de Jong E.M., Husen M., Willems P.J., Casey B.: Polyalanine expansion in the ZIC3 gene leading to X-linked heterotaxy with VACTERL association: a new polyalanine disorder? *J. Med. Genet.*, 2010; 47: 351-355
- [70] Williamson K. A., Hever A. M., Rainger J., Rogers R. C., Magee A., Fiedler Z., Keng W. T., Sharkey F. H., McGill N., Hill C. J., Schneider A., Messina M., Turnpenny P. D., Fantes J. A., van Heyningen V., FitzPatrick D. R.: Mutations in SOX2 cause anophthalmia-esophageal-genital (AEG) syndrome. *Hum. Mol. Genet.*, 2006; 15: 1413-1422
- [71] Wilson J.G., Roth C.B., Warkany J.: An analysis of the syndrome of malformations induced by maternal vitamin A deficiency. Effects of restoration of vitamin A at various times during gestation. *Am. J. Anat.*, 1953; 92: 189-217
- [72] Woo J., Miletich I., Kim B.M., Sharpe P.T., Shivdasani R.A.: Barx1-mediated inhibition of Wnt signaling in the mouse thoracic foregut controls tracheo-esophageal septation and epithelial differentiation. *PLoS One*, 2011; 6: e22493
- [73] Yang Q., Wen S.W., Leader A., Chen X.K., Lipson J., Walker M.: Paternal age and birth defects: how strong is the association? *Hum. Reprod.*, 2007; 22: 696-701

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.