

9.2 Streszczenie

Wrodzone zarośnięcie przełyku z lub bez przetoki tchawiczo-przełykowej jest wadą rozwojową o niejasnej etiologii. Liczne czynniki środowiskowe oraz genetyczne, które opisane zostały jako potencjalne czynniki ryzyka dla wystąpienia omawianej wady czynią z niej schorzenie o heterogennym podłożu. Wśród zmian genetycznych opisanych u pacjentów z zespołową postacią zarośnięcia przełyku są zarówno duże aberracje chromosomalne jak i mutacje pojedynczych nukleotydów. Natomiast u pacjentów z izolowaną postacią zarośnięcia przełyku nie zidentyfikowano dotąd patogennych mutacji. W związku z tym nie można mówić o genetycznym czynniku ryzyka specyficznym dla tego schorzenia. Dzięki inżynierii genetycznej i technice celowania genowego udało się wykazać udział określonych genów w etiologii rozwojowych wad wrodzonych, w tym wad przełyku i tchawicy, na modelu zwierzęcym. W wyniku tych eksperymentów wykazano, że geny *Hoxc4*, *Rara*, *Rarb*, *Sox2*, *Nog*, *Foxf1*, *Nkx2-1*, *Shh*, *Gli2*, oraz *Gli3* pełnią funkcję w morfogenezie licznych organów, a ich delecja prowadzi do zaburzeń w budowie ciała i nieprawidłowości w kształtowaniu m.in. przełyku i tchawicy. Rezultaty uzyskane na modelu zwierzęcym skłoniły autora rozprawy do postawienia hipotezy, że mutacje wyżej wymienionych genów mogą mieć swój udział w etiologii zarośnięcia przełyku również u ludzi. W celu weryfikacji tej hipotezy postanowiono przeprowadzić analizę mutacyjną genu *SHH* i jego sekwencji regulatorowej *ZRS* oraz określić liczbę kopii następujących loci: *SHH*, *ZRS*, *GLI2*, *GLI3*, *PTCH1*, *HOXC4*, *RAR α* , *RAR β* , *SOX2*, *NOG*, *FOXF1* i *NKX2-1*. W pracy zastosowano m.in. takie metody jak PCR, TTGE, sekwencjonowanie, MLPA czy ilościowy PCR z detekcją w czasie rzeczywistym (Real Time qPCR). Przeprowadzone analizy wykazały brak zmian liczby kopii następujących loci: *SHH*, *ZRS-SHH*, *GLI2*, *GLI3*, *HOXC4*, *RAR α* , *RAR β* , *SOX2*, *NOG*; obecność dwóch zmian synonimicznych w kodującej części genu *SHH*, jednej mutacji w sekwencji regulatorowej *ZRS*; obecność zmian liczby kopii w genach *PTCH1*, *NKX2-1* i *FOXF1*; obecność aberracji

chromosomowych w materiale genetycznym pochodzącym z tkanki przełyku, których nie obserwowano w materiale genetycznym pochodzącym z limfocytów krwi obwodowej. Rezultatem badań molekularnych przeprowadzonych w ramach rozprawy jest wykazanie, że zmiany liczby kopii analizowanych regionów następujących *loci*: *SHH*, *ZRS-SHH*, *GLI2*, *GLI3*, *HOXC4*, *RAR α* , *RAR β* , *SOX2*, *NOG* nie stanowią istotnego czynnika ryzyka wystąpienia wrodzonego zarośnięcia przełyku. Sugeruje się ponadto, że opisane w ramach niniejszej rozprawy mutacje pojedynczego nukleotydu w genie *SHH* i sekwencji regulatorowej *ZRS*, a także zmiany liczby kopii w genach *PTCH1*, *NKX2-1*, *FOXF1* i chromosomowe zmiany strukturalne, specyficzne tkankowo stanowią mogą potencjalne czynniki ryzyka w etiologii wrodzonego zarośnięcia przełyku.