

Patogeneza i genetyka wad cewy nerwowej

Pathogenesis and genetics of neural tube defects

Witczak Monika¹, Ferenc Tomasz¹, Wilczyński Jan²

¹ Zakład Biologii i Genetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

² Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Streszczenie

U ludzi do wad cewy nerwowej zaliczamy wszelkie wrodzone malformacje, które związane są z nieprawidłowym zamknięciem się cewy nerwowej w krytycznym okresie embriogenezy tj. czwartym tygodniu rozwoju zarodka.

Wady te charakteryzują się złożoną etiologią oraz różnią się pod względem ciężkości, co zależy od rodzaju i umiejscowienia wady. Postuluje się, że etiologia izolowanych wad cewy nerwowej jest wieloczynnikowa, obejmująca zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe.

W badaniach na modelach mysich zidentyfikowano ponad 80 genów zaangażowanych w proces neurulacji.

Pomimo tego, nadal mamy mało wiedzy na temat pierwotnych zdarzeń genetycznych zaangażowanych w patogenezę cewy nerwowej.

Słowa kluczowe: **wady cewy nerwowej / patogeneza / genetyka /**

Abstract

After congenital heart defects neural tube defects (NTDs) is the second most prevalent congenital malformation among birth defects. The average rate of isolated NTDs is 1.4-2.0 per 1000 live births worldwide.

The etiology of isolated (nonsyndromic) NTDs is believed to be the result of a combination of genetic predisposition and environmental factors.

Over 80 genes believed to be engaged in the neurulations have been identified during the investigation and research of the mouse models.

Despite exhaustive research efforts, now spanning several decades, little is known about the actual genetic mechanisms governing the primary events involved in neural tube closure (NTC).

Key words: **neural tube defects / pathogenesis / genetics /**

Adres do korespondencji:

Tomasz Ferenc
Zakład Biologii i Genetyki UM
90-647 Łódź, Pl. Hallera 1
e-mail: biolgen@achilles.wam.lodz.pl

Otrzymano: 05.08.2007
Zaakceptowano do druku: 15.10.2007

Czynniki genetyczne a proces neurulacji

We wczesnym okresie rozwoju układu nerwowego wyróżnia się następujące stadia: płytki nerwowej, rynienki nerwowej i cewy nerwowej. Fałdowanie się płytki nerwowej do formy cewy nerwowej nazywa się neurulacją pierwotną [1]. Neurulacja pierwotna zachodzi wzdłuż całej osi przednio-tylnej (A-P) zarodka aż do przyszłej okolicy lędźwiowej [2].

Z kolei etap rozwoju odcinka ogonowego cewy nerwowej po zamknięciu otworu nerwowego tylnego nazywa się neurulacją wtórną [1, 3].

O'Rahilly i Miller podają, że za rozpoczęcie łączenia się (fuzji) fałdów nerwowych i zamykania otworów nerwowych odpowiedzialne są dwa główne miejsca inicjacji tego procesu [4]. Pierwsze z nich, nazwane przez autorów miejscem α znajduje się w okolicy tyłomózgowia, a drugie nazwane miejscem β znajduje się w okolicy przodomózgowia. Proces łączenia się fałdów nerwowych zaczynający się w miejscu α przebiega w obu kierunkach (głowym i ogonowym), natomiast z miejsca β tylko w jednym kierunku (głowym) [4].

Proces neurulacji jest fundamentalnym etapem embriogenezy, który kończy się utworzeniem cewy nerwowej będącej prekursorem mózgu i rdzenia kręgowego. Wprawdzie zdarzenia na poziomie komórkowym w procesie neurulacji zostały już dość szczegółowo opisane, to wiedza na temat ich molekularnej regulacji nie jest dokładnie poznana [5,6]. Aktualne dane dotyczące biologicznych mechanizmów procesu neurulacji w większości pochodzą z badań na modelach szczepów mysich [5, 6, 7, 8, 9].

Rozwój zarodka jest zdeterminowany przez ekspresję genów, które kontrolują cząstkowe programy rozwojowe, zapewniając ciągłość ich realizacji w określonym czasie, określonej kolejności i w określonych zespołach komórek zarodka [10]. Genetyczna regulacja morfogenezy cewy nerwowej u ssaków jest bardzo złożonym procesem, w który zaangażowanych jest ponad 80 zidentyfikowanych dotychczas genów [6, 8, 9, 11, 12].

Obecnie przyjmuje się, że produkty tych genów wykazują funkcje o szerokim zakresie działań biologicznych i należą do nich cząsteczki sygnałowe [5, 13], białka i czynniki transkrypcyjne [5, 13, 14], czynniki regulujące aktywność chromatyny [15, 16], białka cytoszkieletu [12], białka adhezyjne [6,17] oraz niektóre geny supresorowe cyklu komórkowego i geny na szlaku apoptozy, np. *P53* i *bcl-2* [6, 8]. Grupy genów, które należą do szlaków rozwojowych zaangażowanych w powstawanie cewy nerwowej są również genami - kandydatami, jako czynniki ryzyka wad cewy nerwowej [8,11,18,19].

Programy rozwojowe ektodermy nerwowej (neuroektodermy), z której powstaje cewa nerwowa, są kontrolowane przez: geny kodujące prekursorów peptydów sygnałowych (morfogenów) m.in. SHH (*sonic hedgehog*), BMP (*bone morphogenetic proteins*), WNT (*wingless*), czynnik FGF (*fibroblast growth factor*) czy czynnik PDGF (*platelet-derived growth factor*); ich receptory oraz białka przekazujące i przetwarzające te sygnały; geny *hox* kodujące czynniki transkrypcyjne zwane homeobiałkami, a także geny które warunkują syntezę kwasu retinowego i kodują jego receptory [5, 10, 11, 13, 20]. Należy podkreślić, że geny te pełnią wiele funkcji w czasie embriogenezy.

W odniesieniu do rozwoju cewy nerwowej, peptyd SHH wydzielany z komórek płytki nerwowej struny grzbietowej indukuje leżące pod struną komórki neuroektodermy, które będą stanowiły podstawę przyszłej cewy nerwowej [2, 10, 21].

Peptyd SHH wyznacza miejsce transkrypcji genu *hnf-3 β* , kontrolującego programy rozwoju mezodermy przystrunowej i neuroektodermy [10]. Delecja genu *hnf-3 β* powodowała u zarodka myszy brak struny grzbietowej oraz nieprawidłowy rozwój cewy nerwowej [10]. Białko BMP jest cząsteczką sygnałową należącą do rodziny transformującego czynnika wzrostu (*transforming growth factor* – TGF).

BMP odgrywa istotną rolę w embriogenezie uczestnicząc m.in. w rozwoju mezodermy przyosiowej, polaryzacji cewy nerwowej a w dalszym etapie rozwoju zarodkowego w tworzeniu kości i chrząstki [5, 11, 13, 21, 22].

Głównym inhibitorem białka BMP jest białko sekrecyjne NOG (*Noggin*) [22, 23, 24]. Z kolei, rodzina czynników FGF tworzy jedną z ważniejszych grup parakrynowych czynników wzrostowych działających podczas rozwoju embrionalnego [5, 25]. Obecnie znanych jest dwanaście białek tej rodziny, różniących się składem aminokwasów oraz funkcją [21]. Czynniki rodziny FGF odpowiadają za różnicowanie komórek mezodermy, tworzenie się naczyń, wzrost kończyn, jak również indukują wzrost komórek grzebienia nerwowego [13, 25].

Płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF-A i PDGF-C) poprzez receptor PDGFR α reguluje rozwój twarzoczaszki, cewy nerwowej oraz narządów, które powstają z listka mezodermalnego [11]. Białka z rodziny WNT są ligandami dla receptorów transbłonowych, należących do rodziny białek (receptorów) Frizzled i pełnią funkcję sygnalizacyjną za pośrednictwem b-kateniny [13, 21, 26]. W rozwoju zarodkowym białka WNT regulują tworzenie się osi grzbietowo-brzuszej oraz rozwój kończyn [25]. Geny *hox* są zgrupowane w 4 zespoły zwane *hox A, B, C i D* i ulegają ekspresji głównie w regionach wykazujących segmentację w czasie rozwoju, takich jak cewa nerwowa, płytka segmentalna czy somity. Istotny jest fakt, iż u kręgowców w czasie rozwoju ekspresja kolejnych genów z rodziny *hox* jest stopniowo aktywowana wzdłuż osi przednio-tylnej [2]. Z kolei kwas retinowy poprzez swoiste receptory jądrowe działa na szlakach sygnalizacyjnych wpływając pośrednio lub bezpośrednio na ekspresję wielu genów uczestniczących w rozwoju zarodkowym m.in. na geny *hox, sonic hedgehog, RAR α, β i γ* [2, 9, 11].

We wczesnym okresie rozwoju zarodkowego endogennym źródłem kwasu retinowego jest najprawdopodobniej skupienie komórek mezodermalnych tworzących węzeł pierwotny zwany też węzłem Hensena [27].

Jak do tej pory, posiadamy mało wiedzy na temat tego, na ile omawiane geny są genami podatności, a na ile genami ryzyka powstawania wad cewy nerwowej.

Wady cewy nerwowej

Termin wady cewy nerwowej obejmuje wszelkie wrodzone malformacje, które związane są z nieprawidłowym zamknięciem cewy nerwowej, w krytycznym okresie embriogenezy tj. czwartym tygodniu rozwoju zarodka, przy czym wady pojawiają się w dowolnym miejscu wzdłuż formującego się rdzenia kręgowego, w kierunku głowym od rozwijającego się mózgowia i w kierunku ogonowym od kości krzyżowej [8].

Defekt zamknięcia cewy nerwowej wywołuje kaskadę zmian strukturalnych czyli sekwencje wad [28]. Wady te różnią się pod względem ciężkości, co zależy od rodzaju i umiejscowienia wady [6, 8, 12, 28, 29, 30, 31, 32].

Kliniczne spektrum wynikające z sekwencji zdarzeń nie zamknięcia się cewy nerwowej obejmuje wady czaszki: bezmózgowie, bezczaszkowie, przepuklina mózgowa, iniencefalia (*iniencephaly*) i wady kręgosłupa: rozszczep kręgosłupa, przepuklina oponowa, przepuklina oponowo-rdzeniowa, rozszczep rdzenia kręgowego, całkowity rozszczep kręgosłupa oraz jednoczesny rozszczep czaszki i kręgosłupa [33].

Genetyczne czynniki ryzyka wad cewy nerwowej

Wady cewy nerwowej charakteryzują się złożoną etiologią. Postuluje się, że powstawanie izolowanych wad cewy nerwowej jest spowodowana wieloczynnikowym charakterem, obejmującym zarówno czynniki genetyczne jak i środowiskowe (fizyczne, chemiczne, biologiczne) [7, 8].

Wprawdzie analiza wzoru dziedziczenia wad cewy nerwowej wykazała pewną agregację rodzinną, to w większości przypadków wady te nie dziedziczą się zgodnie z mendlowskim modelem dziedziczenia [8]. Ryzyko wystąpienia rozszczepu kręgosłupa i/lub bezmózgowia u rodzeństwa osoby dotkniętej tymi wadami mieści się w zakresie od 3% do 8% i jest wyższe niż w ogólnej populacji [18]. Jednak tylko 5% przypadków wad cewy nerwowej występuje w rodzinach z obciążonym wywiadem [33]. Dotychczas zidentyfikowano 26 zespołów chromosomopatii, 27 monogenopatii autosomalnych, w tym 20 recesywnych i 7 dominujących oraz 5 genopatii sprzężonych z płcią, w których mogą występować wady cewy nerwowej [34].

Pomimo usilnych badań trwających od wielu lat, nadal mamy mało wiedzy na temat pierwotnych zdarzeń genetycznych zaangażowanych w patogenezę cewy nerwowej [7,8,13]. Najlepsze obecnie dostępne dane pochodzą z badań na modelach zwierzęcych [7, 8, 9]. U myszy ponad 100 mutacji pojedynczych genów jest związanych z wadami cewy nerwowej [7,18]. Przebadano tylko kilka ludzkich genów ortologicznych (homologicznych) do tych, które występują u myszy, takich jak: *T-locus (brachyury)* i *PAX3*. (Tabela I).

Mutacje mysiego czynnika transkrypcyjnego *PAX3* prowadzą do powstawania fenotypu *Splotch (Sp)*, który charakteryzuje się zaburzeniem pigmentacji u heterozygot i wadami cewy nerwowej u homozygot [6, 7, 18].

U człowieka, mutacje genu *PAX3* zostały opisane u pacjentów z zespołem Waardenburga typu I - chorobą charakteryzującą się zaburzeniami pigmentacji, podobnymi do występujących u heterozygotycznych myszy *Splotch*, oraz okazjonalnym współwystępowaniem rozszczepu kręgosłupa [7, 18]. Z kolei, gen *T-locus* koduje czynnik transkrypcyjny, niezbędny w procesie różnicowania mezodermy i prawidłowego rozwoju osiowego zarodka. U mysich embrionów, które były homozygotami dla zmutowanego allelu T (*T-null/T-null*) występowały zaburzenia dotyczące tkanek wywodzących się z mezodermy i zarodki umierały w środkowym okresie ciąży. Natomiast zarodki, które były heterozygotami dla allelu T (*T-null/T-locus*) przeżywały, ale miały skrócone ogony i niekiedy wrodzone wady kręgów krzyżowych [18].

W kilku badaniach analizowano wariant intronowy (TIVS7 T/C) ludzkiego genu ortologu *T-locus* jako czynnik ryzyka rozszczepu kręgosłupa u ludzi. Zanotowane wyniki tych badań były rozbieżne [18].

Przykładowym systemem modelowym, który został szeroko przebadany w celu lepszego zrozumienia patogenezy wad w przebiegu zamykania cewy nerwowej w tylnej części zarodka, jest zmutowany szczep myszy z kręconym ogonem (*curly tail - ct*). Uznano, że istnieje związek pomiędzy opóźnieniem zamknięcia otworu nerwowego tylnego u homozygotycznych myszy z kręconym ogonem (*ct/ct*), a powstawaniem rozszczepu kręgosłupa. Ponadto powstawanie rozszczepu kręgosłupa u myszy o tym genotypie (*ct/ct*) było zawsze poprzedzone nie zamknięciem się tylnego otworu nerwowego [7, 8, 9].

Van Straaten i wsp. podają, że tylny otwór nerwowy u zmutowanych embrionów myszy (*ct/ct*) był do pięciu razy większy, niż otwór nerwowy obserwowany w embrionach kontrolnych o genotypie dzikim [9].

Zasugerowano, że wady dotyczące kręgosłupa są zmianami wtórnymi do braku równowagi w grzbietowo-brzuszej proliferacji komórkowej, która prowadzi do przejściowo zwiększonej krzywizny brzusznej tylnego otworu nerwowego u embrionów myszy z kręconym ogonem. Ta krzywizna jest odpowiedzialna za mechaniczny ucisk przeciwstawiający się grzbietowo-bocznym ruchom zginającym, które pojawiają się w przebiegu neurulacji. W konsekwencji, zamknięcie tylnego otworu nerwowego opóźnia się i myszy rodzą się zarówno z rozszczepem kręgosłupa, jak i kręconym ogonem [8, 9]. Rola czynnika genetycznego w patogenezie rozszczepu kręgosłupa dla tego systemu modelowego (myszy *ct/ct*) sprowadzała się do zaburzenia ekspresji genów *Wnt5α* i *RARβ* [8, 9].

Geny na szlaku przemian folian – homocysteina

Powszechnie akceptowany jest fakt, że niewystarczająca podaż naturalnego folianu lub jego syntetycznej formy – kwasu foliowego, przed i we wczesnym okresie ciąży wiąże się ze zwiększonym ryzykiem powstawania rozszczepu kręgosłupa i bezmózgowia [18, 35, 36, 37, 38].

Poznanie związku pomiędzy rozszczepem kręgosłupa a obniżeniem stężenia folianu w surowicy ciężarnych sprawiło, że geny kodujące około 150 białek bezpośrednio zaangażowanych w metabolizm i transport folianu stały się celem rozległych badań [8, 36, 39, 40, 41, 42, 43].

Folian uczestniczy w ważnych szlakach metabolicznych, które – jeśli zostaną przerwane – mogą wywierać niekorzystny wpływ na rozwój zarodka. Głównym zadaniem szlaków biochemicznych z udziałem folianu jest dostarczanie jednostek jednowęglowych takich jak: metylowa (-CH₃), metylenowa (-CH₂) czy formylowa (-HCO) dla wielu procesów enzymatycznych m.in. syntezy puryn i pirymidyn, syntezy białek, przemiany homocysteiny do metioniny, w procesach metylacji DNA [39, 40, 43, 44, 45, 46].

Należy w tym miejscu podkreślić, że charakterystyczny wzór metylacji genomowego DNA ustala się w stadium gastrulacji. Natomiast w okresie powstawania tkanek somatycznych następuje specyficzna demetylacja niektórych genów charakterystycznych tkankowo [47].

Witczak M, et al.

Tabela I. Geny – kandydaci rozszczepu kręgosłupa, które zostały przebadane w niewielkiej liczbie badań [18].

	Powiązanie z rozszczepem kręgosłupa ?
Geny innych szlaków niż szlak folian-homocysteina	
Apolipoproteiny B i E*	nie
Leptyna**	możliwy umiarkowany związek
Receptor leptyny**	nie
¹ Niesprężone białko***	tak
Mysie geny ortologiczne	
² Rak sutka 1	nie
Kinaza tyrozynowa c-src	nie
³ Gen białka MARCKS	nie
Gen białka podobnego do MARCKS	nie
Białko Msh – homolog 2 z rodziny homeobiałek	nie
⁴ Białko AP-1 odpowiedzialne za montowanie nukleosomów	nie
Receptor dla płytkowo-pochodnego czynnika wzrostu α	tak
⁵ Białko 2 α związane z aktywacją czynnika wzmacniającego transkrypcję	nie
⁶ Mózdkowe białko zawierające domenę palców cynkowych 3	nie
Geny zaangażowane w rozwój cewy nerwowej	
⁷ Białko morfogenetyczne kości 4	tak
Homeobiałka A, B, C i D	nie
⁸ NOG	u 2 pacjentów zidentyfikowano mutacje zmiany sensu
⁹ SLUG	u 1 pacjenta zidentyfikowano mutację zmiany sensu
¹⁰ Sonic Hedgehod	tak
¹¹ Mózdkowe białko zawierające domenę palców cynkowych 2	nie
*Apolipoproteiny B i E regulują stężenia cholesterolu;	
**leptyna i receptor leptyny są związane z powstawaniem otyłości;	
***niesprężone białko 2 może wiązać się z powstawaniem cukrzycy insulinozależnej i otyłości.	
Tabelę I przedrukowano z czasopisma <i>The Lancet</i> , Vol 364, Laura R Mitchell, N Scott Adzick, Jeanne Melchionne, Patrik S Pasquariello, Leslie N Sutton, Alexander S Whitehead. Spina bifida.,1885-95, November 20, 2004, (za zgodą Elsevier).	
¹ białko mitochondrialne UCP2; ² gen <i>BRCA1</i> ; ³ białka MARCKS uczestniczą w dystrybucji substratów dla kinazy białkowej C: ⁴ białko NAP1L2; ⁵ czynnik transkrypcyjny AP-2 α ;	
⁶ białko ZIC3; ⁷ białko BMP-4; ⁸ NOG-białko sekrecyjne (indukcyjne);	
⁹ SLUG-białko represorowe, ¹⁰ Sonic Hedgehod – rodzina czynników indukcyjnych,	
¹¹ ZIC2 (przypr. tłum.).	

Zaburzenie metabolizmu folianu może również prowadzić do zwiększonego stężenia homocysteiny, co w niektórych modelach zwierzęcych wywierało teratogeny wpływ na cewę nerwową [42, 48, 49].

Wśród genów biorących udział na szlaku przemian folian – homocysteina, których mutacje mogą w sposób istotny wpływać na powstawanie rozszczepu kręgosłupa, wymienia się najczęściej geny (kandydaci) kodujące: reduktazę 5,10- metylenotetrahydrofolianu (*MTHFR*), czy warianty polimorficzne tego genu (*MTHFR* C667T i A1298C), syntazę metioniny (*MTR*), reduktazę syntazy metioniny (*MTRR*), cyklohydrolazę syntetazy formylotetrahydrofolianu (*MTHFD*),

przenośnik zredukowanego folianu (*RFC1*), α -receptor folianu (*FRA*), β -receptor folianu (*FR β*), β -syntazę cystationiny (*CBS*), metylotransferazę betaina-homocysteina (*BHMT*), karboksypeptydazę II glutaminianu (*GCP2*) [39, 41, 43, 44, 49, 50].

Autorzy podkreślają, że geny zaangażowane na szlaku przemian folian-homocysteina, mogą wpływać na rozwój rozszczepu kręgosłupa poprzez genotyp matczynej albo genotyp zarodka, interakcje pomiędzy genotypami matki i zarodka, jak również poprzez interakcje tych genów z czynnikami środowiskowymi. Możliwe jest też, że geny te są głównie czynnikami modyfikującymi ryzyko, a nie prawdziwymi czynnikami przyczynowymi [7, 18, 39, 41, 44, 50].

Patogeneza i genetyka wad cewy nerwowej.

To powoduje, że nie można wyciągnąć ostatecznych wniosków dotyczących precyzyjnej roli, jaką odgrywiają geny czy polimorficzne warianty tych genów, uczestniczące na szlaku przemian folian-homocysteina, w powstawaniu rozszczepu kręgosłupa [18].

Praca finansowana przez UM w Łodzi z pracy własnej nr 502-15-366

Piśmiennictwo

- Bartel H. Okres zarodkowy. Układ nerwowy. W: Embriologia. Podręcznik dla studentów. Pod red. Bartel H. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2004, 120-144, 402-441.
- Bieleńska-Osuchowska Z. Wczesny rozwój zarodka. Rozwój układu nerwowego. Aneks. W: Zarys orgogenezy. Pod red. Bieleńska Osuchowska Z. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2004, 9-54, 95-102, 475-482.
- Saitu H, Yamada S, Uwabe C, [et al.]. Development of the posterior neural tube in human embryo. *Anat Embryol.* 2004, 209, 107-117.
- O'Rahilly R, Miller F. The two sites fusion of the neural folds and the two neuropores in the human embryo. *Teratology.* 2002, 65, 162-170.
- Basch M, Garcia-Castro M, Bronner-Fraser M. Molecular mechanisms of neural crest induction. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2004, 72, 109-123.
- Copp A, Greene N, Murdoch J. The genetic basis of mammalian neurulation. *Nature Rev Genet.* 2003, 4, 784-793.
- Padmanabhan R. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenit Anom.* 2006, 46, 55-67.
- Finnell R, Gould A, Spiegelstein O. Pathobiology and genetics of neural tube defects. *Epilepsia.* 2003, 44, 14-23.
- Van Straaten H, Copp A. Curly tail: a 50-year history of the mouse spina bifida model. *Anat Embryol.* 2001, 203, 225-237.
- Sokół-Misiak W. Mechanizm działania genów kontrolujących rozwojem. W: Molekularne mechanizmy rozwoju zarodkowego. Pod red. Krzanowska H., Sokół-Misiak W. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002, 144-189.
- Ding H, Wu X, Bostrom H, [et al.]. A specific requirement for PDGF-C in palate formation and PDGFR- α signaling. *Nat Genet.* 2004, 36, 1111-1116.
- Sarnat H. Molecular genetic classification of central nervous system malformations. *J Child Neurol.* 2000, 15, 675-687.
- Heeg-Truesdell E, LaBonne C. A Slug, a fox, a pair of sox: transcriptional responses to neural crest inducing signals. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2004, 72, 124-139.
- Stegmann K, Boecker J, Kosan C, [et al.]. Human transcription factor SLUG: mutation analysis in patients with neural tube defects and identification of a missense mutation (D119E) in the Slug subfamily- defining region. *Mutat Res.* 1999, 406, 63-69.
- Navel G, Barak O, Ames T, [et al.]. CECRZ, a protein involved in neurulation, forms a novel chromatin remodeling complex with SNF2L. *Hum Mol Genet.* 2005, 14, 513-524.
- Menegola E, Di Renzo F, Broccia M, [et al.]. Inhibition of histone deacetylase activity on specific embryonic tissues as a new mechanism for teratogenicity. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2005, 74, 392-398.
- Colas J, Schoenwolf G. Differential expression of two cell adhesion molecules, Ephrin-A5 and Integrin $\alpha 6$, during cranial neurulation in the chick embryo. *Dev Neurosci.* 2003, 25, 357-365.
- Mitchell L, Adzick N, Melchionne J, [et al.]. Spina bifida. *Lancet.* 2004, 364, 1885-1895.
- Melvin E, George T, Worley G, [et al.]. Genetic studies in neural tube defects. *Pediatr Neurosurg.* 2000, 32, 1-9.
- De Marco P, Merello E, Mascelli S, [et al.]. Current perspectives on the genetic causes of neural tube defects. *Neurogenetics.* 2006, 7, 201-221.
- Rupik W. Mechanizmy indukcji embrionalnej. W: Podstawy embriologii zwierząt i człowieka. Pod red. Jura Cz, Klag J. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2005, 159-236.
- Felder B, Stegmann K, Schultealbert A, [et al.]. Evaluation of BMP4 and its specific inhibitor NOG as candidates in human neural tube defects (NTDs). *Eur J Hum Genet.* 2002, 10, 753-756.
- Anderson R, Lawrence A, Stottman R, [et al.]. Chordin and noggin promot organizing centers of forebrain development in the mouse. *Development.* 2002, 129, 4975-4987.
- McMahon J, Takada S, Zimmerman L, [et al.]. Noggin – mediated antagonism of BMP signaling is required for growth and patterning of the neural tube and somite. *Genes Dev.* 1998, 12, 1438-1452.
- Kamińska B. Szlaki przekazywania sygnału w embriogenezie. W: Molekularne mechanizmy rozwoju zarodkowego. Pod red. Krzanowska H., Sokół-Misiak W. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002:124-142.
- Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2003, 129, 199-221.
- Jaglarz M. Mechanizm i genetyczna regulacja rozwoju zawiązków kończyn kręgowców. W: Podstawy embriologii zwierząt i człowieka. Pod red. Jura Cz, Klag J. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2005, 251-263.
- Korniszewski L. Mechanizmy patogenetyczne. Typy wad wrodzonych. W: Dziecko z zespołem wad wrodzonych. Diagnostyka dysmorfologiczna. Pod red. Korniszewski L. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2005, 19-27, 28-38.
- Kucińska-Chahwan A, Roszkowski T, Dębski R. Przepukliny kręgosłupa – retrospektywna analiza przypadków diagnozowanych w pracowni USG Kliniki Położnictwa i Ginekologii CMKP w latach 1997-2004. *Ginekol Pol.* 2006, 77, 10-16.
- Matsumoto A, Hatta T, Moriyama K, [et al.]. Sequential observations of exencephaly and subsequent morphological changes by mouse exo utero development system: analysis of the mechanism of transformatio from exencephaly to anencephaly. *Anat Embryol.* 2002, 205, 7-18.
- Polifka J, Friedman J. Medical genetics: 1. Clinical teratology in the age of genomics. *CMAJ.* 2002, 167, 265-273.
- Loo C, Freeman B, Stanford D. CSN findings in iniencephaly: case report and literature review. *Pathology.* 2001, 33, 112-115.
- Wady cewy nerwowej. Wytyczne postępowania klinicznego: The American College of Obstetricians and Gynecologists. *Medycyna Praktyczna - Ginekologia i Położnictwo.* 2003, 6, 47-58.
- Frey L, Hauser W. Epidemiology of neural tube defects. *Epilepsia.* 2003, 44, 4-13.
- Eichholzer M, Tonz O, Zimmermann R. Folic acid: a public-health challenge. *Lancet.* 2006, 367, 1352-1361.
- Busby A, Abramsky L, Dolk H, [et al.]. Preventing neural tube defects in Europe: a missed opportunity. *Reprod Toxicol.* 2005, 20, 393-402.
- Latos-Bieleńska A, Materna-Kiryluk A, PRCM Working Group. Polish registry of congenital malformations – aims and organization of the registry monitoring 300 000 births a year. *J Appl Genet.* 2005, 46, 341-348.
- Hozyasz K. Kwas foliowy – rola w profilaktyce i leczeniu wybranych chorób. *Przegląd Pediatr.* 1999, 29, 106-110.
- Cabrera R, Hill D., Etheredge A, [et al.]. Investigations into the etiology of neural tube defects. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2004, 72, 330-344.
- Stover P. Physiology of folate and vitamin B12 in health and disease. *Nutr Rev.* 2004, 62, 3-12.
- Relton C, Wilding C, Jonas P, [et al.]. Genetic susceptibility to neural tube defect pregnancy varies with offspring phenotype. *Clin Genet.* 2003, 64, 424-428.
- Epeldegui M, Pena-Melian A, Varela-Moreiras G, [et al.]. Homocysteine modifies development of neurulation and dorsal root ganglia in chick embryos. *Teratology.* 2002, 65, 171-179.
- Gos M, Szpecht-Potocka A. Genetic basis of neural tube defects. II. Genes correlated with folate and methionine metabolism. *J App Genet.* 2002, 43, 511-524.
- Gueant J, Gueant-Rodriguez R, Anello G, [et al.]. Genetic determinants of folate and vitamin B12 metabolism: a common pathway in neural tube defects and Down syndrome? *Cli Chem Lab Med.* 2003, 41, 1473-1477.
- Ziemiański S, Wartanowicz M. Kwas foliowy – niezbędny mikrośkładnik pożywienia. *Minipress Ginekologia – Położnictwo.* 1999, 5, 3-8.
- Sikorski R. Etiopatogeneza wad wrodzonych. *Medipress Ginekol.* 1997, 3, 7-11.
- Jerzmanowski A. Mechanizmy dziedziczenia stanów zróżnicowania. W: Molekularne mechanizmy rozwoju zarodkowego. Pod red. Krzanowska H., Sokół-Misiak W. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2002, 111-123.
- Bennett G, Van Waes J, Moser K, [et al.]. Failure of homocysteine to induce neural tube defects in mouse model. *Birth Defects Res B Reprod Toxicol.* 2006, 77, 89-94.
- Brouns M, Afman L, Van Hauten B, [et al.]. Morphogenic movements during cranial neural tube closure in the chick embryo and the effect of homocysteine. *Anat Embryol.* 2005, 210, 81-90.
- Boyles A, Billups A, Deak K. Neural tube defects and folate pathway genes: family-based association tests of gene-gene and gene-environment interactions. 2006, 114, 1547-1552.