



Ailesel Eksüdatif Vitreoretinopati ve Gastrointestinal Malformasyona Yol Açan Kirpimsi Sinyal Defekti

Hedgehog Signal Defect Leading to Familial Exudative Vitreoretinopathy-Like Disease and Gastrointestinal Malformation

© Nedime Şahinoğlu Keşkek*, © İmren Akkoyun**, © Abdülkerim Temiz***, © Özgür Kütük****

*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

**Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

***Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

****Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Öz

Amaç: Çalışmamızın amacı ailesel eksüdatif vitreoretinopati (AEVR) benzeri hastalık ve gastrointestinal yola ait malformasyonların bir arada seyrettiği yeni bir genetik birlikteliği sunmak ve kirpimsi sinyal ile ilgili genetik durumları derlemektir.

Gereç ve Yöntem: Gastrointestinal yola ait malformasyonları nedeni ile yenidoğan cerrahi yoğun bakım ünitesinde takip edilen üç hastanın rutin oftalmolojik muayeneleri sırasında AEVR benzeri hastalık saptandı. Hastalara genetik analiz yapıldı.

Bulgular: Yenidoğanların doğum haftaları sırasıyla; 39, 38, 39 hafta ve doğum ağırlıkları 3.500, 3.600 ve 3.300 gramdı. Üç hastanın altı gözü laser fotokoagülasyon ile tedavi edildi. Hiçbir gözde hastalığın rekürrensi izlenmedi. AEVR benzeri hastalık olan hastaların, genetik analizinde, kirpimsi sinyal yolağında defekt saptandı.

Sonuç: AEVR, genetik olarak iyi tanımlanmış bir retinal vasküler hastalıktır. Çalışmamız, gastrointestinal yol defekti ve AEVR benzeri retinal vasküler hastalık birlikteliğini gösteren ilk çalışmadır. Kirpimsi yolağın, retinal vasküler ve bağırsak gelişimindeki önemi bu çalışma ile gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ailesel eksüdatif vitreoretinopati, gastrointestinal yol malformasyonları, genetik, kirpimsi yolak, retinal vasküler hastalık

Abstract

Objectives: The aim of the study was to present a new genetic association presenting with gastrointestinal tract malformations (GTMs) and familial exudative vitreoretinopathy (FEVR)-like disease and review the genetics of Hedgehog signaling.

Materials and Methods: Three neonates were diagnosed with FEVR-like retinal vascular disease upon routine ophthalmological examination during hospitalization in the neonatal surgical intensive care unit for GTMs. Genetic analysis of the neonates was performed.

Results: Gestational age of the neonates was 39, 38, and 39 weeks and birth weights were 3,500, 3,600, and 3,300 grams, respectively. All six eyes of the three infants were treated by laser photocoagulation. Recurrence was not seen in any of the eyes. Genetical analysis of all the neonates diagnosed with FEVR-like disease revealed defects in the Hedgehog pathway.

Conclusion: FEVR is a genetically well-defined retinal vascular disease. The current study is the first to show an association between FEVR-like retinal vascular disease and GTMs. This study demonstrates the importance of the Hedgehog pathway in retinal vascular and gut development.

Keywords: Familial exudative vitreoretinopathy, gastrointestinal tract malformations, genetic, hedgehog pathway, retinal vascular disease

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Nedime Şahinoğlu Keşkek, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

E-posta: nedime_sahin@yahoo.com ORCID-ID: orcid.org/0000-0001-8544-103X

Geliş Tarihi/Received: 07.01.2021 **Kabul Tarihi/Accepted:** 22.06.2021

Cite this article as: Şahinoğlu Keşkek N, Akkoyun İ, Temiz A, Kütük Ö. Hedgehog Signal Defect Leading to Familial Exudative Vitreoretinopathy-Like Disease and Gastrointestinal Malformation. Turk J Ophthalmol 2022;52:174-178

©Telif Hakkı 2022 Türk Oftalmoloji Derneği
Türk Oftalmoloji Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Giriş

Ailesel eksüdatif vitreoretinopati (AEVR), retinanın perfüze olmaması, proliferatif retinopati ve retina dekolmanı ile karakterize konjenital bir retina vasküler hastalığıdır.¹ Klinik olarak AEVR, zor tespit edilebilen retinal vasküler anomaliden retina dekolmanına kadar çok çeşitli fenotipler ile ortaya çıkabilir.² Klasik klinik bulgular arasında periferik avasküler retina, neovaskülarizasyon, eksüstasyon, damarlarda çekinti ("dragging") oluşması ve retina dekolmanı yer almaktadır.¹ AEVR'ye yol açan moleküler mekanizmaların altında Wnt/Norin sinyal yolağının mutasyonları yatmaktadır.³ Özellikle, dört genin AEVR ile ilişkili olduğu gösterilmiştir: *FZD4*, *LRP5*, *TSPAN12* ve *NDP*.^{3,4,5,6}

Kirpimsi ("Hedgehog" [Hh]) sinyallerinin embriyonik bağırsak gelişiminde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Yaygın gastrointestinal sistem malformasyonlarının (GSM) moleküler etiolojisinde anormal Hh sinyalizasyonunun rol oynadığı tanımlanmıştır.⁷ Hh sinyal proteinleri ailesi üç üyeden oluşur: sonik (Shh), Hint ("Indian" [Ihh]) ve ("desert" [Dhh]) kirpimsi proteinlerdir. Shh sinyali, bağırsak morfogenezindeki anahtar molekülleri oluşturmaktadır. Bu moleküller erken embriyogenez boyunca endodermde eksprese edilir ve bağırsak oluşumunda önemli bir role sahiptir.⁸

Bağırsak gelişimine ek olarak, Shh sinyal yolağı nöronal farklılaşma, akson yönelimi ve anjiyogenezde önemlidir.⁹ Astrositler, kan-beyin bariyerinin oluşumunu desteklemek için Shh salgılar.¹⁰ Retinal vasküler endotelial hücrelerin *in vitro* modeli ile yapılan yakın tarihli bir çalışmada, Shh yolağının endotelial geçirgenliği düzenlediği gösterilmiştir.¹¹ Shh yolağındaki bir mutasyon GSM ve retinal vasküler hastalıktan oluşan bir bozukluğa neden olabilir.

Bu çalışmanın amacı, arasında akrabalık olmayan, AEVR fenotipi gösteren üç sporadik GSM hastasını bildirmektir. Genetik analizler ile Shh yolağındaki defektler saptandı. Bu ilişki nedeniyle GSM'li hastaların retina uzmanlarına sevk gerekebilir.

Gereç ve Yöntem

Bu olgu serisinde Eylül 2016-Eylül 2019 tarihleri arasında GSM nedeniyle yenidoğan cerrahi yoğun bakım ünitesinde yatışları sırasında rutin oftalmolojik muayene yapılan üç yenidoğanın altı gözü sunulmaktadır. Yenidoğanların üçü de erkekti, gebelik yaşları sırasıyla 39, 38 ve 39 hafta ve doğum ağırlıkları 3.500, 3.600 ve 3.300 gramdı (Tablo 1). Tüm hastalar aynı göz hekimi (N.S.K.) tarafından binoküler indirekt

oftalmoskop kullanılarak muayene edildi ve AEVR teşhisi kondu. AEVR, oftalmoskopik bulgulara göre evre 1, avasküler perifer; evre 2, neovaskülarizasyonun eşlik ettiği avasküler perifer; evre 3, maküla tutulumu olmayan retina dekolmanı; evre 4, makülayı tutan retina dekolmanı; ve evre 5, tam retina dekolmanı olacak şekilde sınıflandırıldı.¹²

Retinanın avasküler olduğu düşünülen bölgelerine (0,15 saniye ve 160 mW güç) ameliyathanede genel anestezi altında 360° yakın konfluent patern ile diyor lazer fotokoagülasyon yapıldı.

Araştırma, yerel etik kurul onayı (KA19/306) alındıktan sonra, üçüncü basamak tedavi merkezi olan kliniğimizde gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince Helsinki Bildirgesi'nin ilkelerine uyuldu. Hastaların ebeveynlerinden bilgilendirilmiş onam alındı.

Hasta DNA'sı tam kandan (3 mL) QIAamp DNA kan kiti (QIAGEN, Hilden, Almanya) kullanılarak izole edildi. Üç mikrogram yüksek molekül ağırlıklı DNA, bir Covarias ultrasonik katör kullanılarak kesildi ve genomik DNA kütüphanesi Agilent SureSelect Hedef Zenginleştirme Sistemi ile hazırlandı. Agilent SureSelect Human All Exon V7 ile zenginleştirildikten sonra, Illumina HiSeq 2500 Sistemi (Illumina, San Diego, ABD) ile dizilendi. Veri yorumlama ve varyant arama SOPHiA DDM® sürüm 5.4.2 (Sophia Genetics, İsviçre) kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular

Fundus muayenesinde 6 gözün tümünde düz ("flat") neovaskülarizasyon ve fırça-izi benzeri retina kanamaları mevcuttu. Şekil 1a'da hasta 1'den çekilen maküla görüntüsü izlenmektedir. Şekil 1b'de ise aynı hastaya ait avasküler olduğu düşünülen bir alan ve kanama görülmektedir. Hasta 2'nin tedavi öncesi ve sonrası fundus görüntüleri Şekil 1c ve 1d'de gösterilmiştir. Hasta 3'te de vasküler zon sınırında ve avasküler retina bölgelerinde neovaskülarizasyonun neden olduğu kanamalar mevcuttu (Şekil 1e, f). Tüm gözlerle eksüstasyon olmayan evre 2 AEVR (evre 2A) tanısı konuldu. Avasküler olduğu varsayılan alanlar lazer fotokoagülasyon ile başarılı bir şekilde tedavi edildi ve ek bir tedaviye ihtiyaç duyulmadı. Hiçbir olguda nöks görülmedi.

Yenidoğanların ikisinde anal atrezi, birinde Hirschsprung hastalığı (HSCR) vardı. Daha sonra, hastaların fenotipleriyle ilişkili olduğu varsayılan nedensel mutasyonları araştırdık. Her ikisi de anal atrezi ile başvuran hastalardan hasta 1'de heterozigot LRP5 ("low-density lipoprotein receptor-related protein 5", düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü ile ilişkili protein

Tablo 1. Olguların özellikleri

Hasta no, cinsiyet	GH (hafta)	DA (g)	LP zamanı (hafta)	İzlem süresi (ay)	AEVR evresi	GSM
1, erkek	39	3.500	41	56	2A	Anal atrezi
2, erkek	38	3.600	40	42	2A	Anal atrezi
3, erkek	39	3.300	40	30	2A	Hirschsprung hastalığı

AEVR: Ailevi eksüdatif vitreoretinopati, GSM: Gastrointestinal sistem malformasyonları, GH: Gestasyonel haftası, DA: Doğum ağırlığı, LP: Laser fotokoagülasyon

5) mutasyonu (rs80358313, NP_002326.2: p.Gly610Arg, NM_002335.4: c.1828G>A) ve hasta 2'de heterozigot KIF7 ("kinesin-like protein KIF7", kinesin benzeri protein KIF7) mutasyonu (rs143877028, NP_940927.2: p.Ser1281Ile, NM_198525.3: c.3842G>T) saptadık. HSCR olan hasta 3'te heterozigot GLI2 ("zincfinger protein GLI2") mutasyonu (rs751513015, NP_005261.2: p.Asp705Asn, NM_005270.4: c.2113G>A) saptandı. Tüm bulgularımız, Shh yolağındaki farklı genlerin mutasyonlarını göstermiştir.

Tartışma

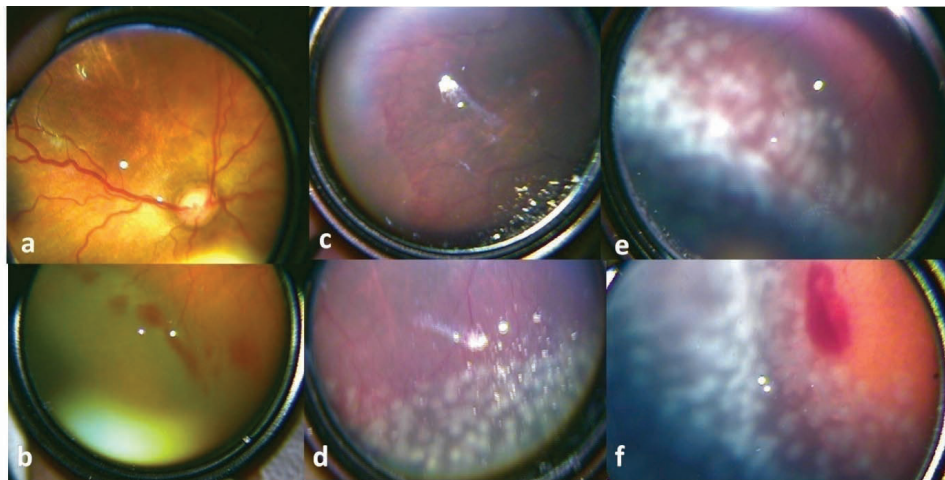
AEVR ilk olarak Criswick ve Schepens¹ tarafından 1969 yılında tanımlanmıştır. AEVR, farklı klinik belirtilerle ortaya çıkar, ancak oküler gelişimdeki bozukluklar ile sınırlıdır.¹³ AEVR ile ilişkili dört gen saptanmıştır. Otozomal dominant AEVR, FZD4, LRP5 ve TSPAN12'deki mutasyonlardan; otozomal resesif form homozigot LRP5 mutasyonlarında, X'e bağlı AEVR ise NDP'deki mutasyonlardan ortaya çıkmaktadır.⁶ Norrie hastalığı, retina dekolmanına neden olan anormal retina vaskülarizasyonu ile tanımlanan, esas olarak term bebeklerde ortaya çıkan başka bir kalıtsal bozukluktur. Norrie hastalığı, doğumdan hemen sonra körlüğe neden olur ve çoğu hastada mental retardasyon ve sağırılık gibi sistemik bozukluklar vardır.¹³ Norrie hastalığı proteini (NDP) genindeki mutasyonlar Norrie hastalığına yol açar.¹⁴ NDP, postnatal dönemde progenitor proliferasyonda yer alan norrin seviyelerini artırmak için doğumda retinada önemli ölçüde artmıştır.¹⁵ McNeill ve ark.¹⁶, Hh sinyalinin NDP ifadesini düzenlediğini göstermiş ve NDP'nin Hh aktivasyonu sonrası retinada retinal progenitor proliferasyonunu tetikleyen temel sinyal olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca Wang ve ark.¹⁷ Hh sinyalinin retinal prekürsör hücre proliferasyonunu desteklemek için zorunlu olduğunu göstermişlerdir.

Surace ve ark.¹⁸ rodent modellerinde Hh yolağı ile prematüre retinopatisi (PR) arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve vasküler endotel büyüme faktörüne (VEGF) benzer şekilde Hh

ifadesinin arttığını bulmuşlardır. Sonuçlarını desteklemek için araştırmacılar, PR modellerine seçici Hh inhibitörü siklopamin vermişler ve neovaskülarizasyonun engellendiğini ortaya koymuşlardır. Sonuçları Hh yolağı aktivasyonunun, hipoksi ile tetiklenen retina neovaskülarizasyonunda önemli bir rolü olduğunu kanıtlamıştır.

Liu ve ark.¹⁹ rodent PR modellerinde VEGF, retina neovaskülarizasyonu ve Hh sinyal yolağı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Sonuçları, normal oksijen konsantrasyonlarında, VEGF transkripsiyon ve ekspresyonunun düşük olduğunu, yüksek oksijen seviyelerinin VEGF ekspresyonunu önemli ölçüde uyardığını ve siklopaminin Hh blokajı ile VEGF ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. Yazarlar, Hh yolağının PR'de VEGF seviyelerinin düzenlenmesinde rol oynadığını ve Hh sinyal yolağını bloke etmenin PR tedavisinde yararlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

FZD4, LRP5, TSPAN12 ve NDP genleri Wnt/b-katenin sinyal yolağının bir parçasıdır ve vücutta hücre sağkalımı, proliferasyonu ve migrasyonunda rol oynar. Bizim çalışmamızda bir hastada AEVR'de beklenen LRP5 mutasyonu saptanmıştır. Ancak bildiğimiz kadarıyla bu olgu tabloya anal atrezinin eşlik ettiği bildirilen ilk olgudur. LRP5, FZD4 ve NDP genindeki mutasyonlar, değişen sıklıklarda PR hastalarında da tanımlanmıştır.^{20,21,22} Bu çalışmada, AEVR tanısını klinik prezentasyon ile yenidoğan hastaların gebelik haftası ve doğum ağırlığı gibi tıbbi verilerine dayanarak koyduk. Prematüre bebeklerde PR ve AEVR arasında ayırım yapmak zordur. Olgularımızın klinik bulguları PR'ye benzerdi. Ancak sırt ("ridge") görünümü yoktu. Bunun yerine, tüm hastalarda zon 2'de düz ("flat") neovaskülarizasyon ve fırça izleri benzeri kanamalar vardı. Yakın zamanda bu iki hastalığın klinik benzerliği nedeniyle ROPER (PR'ye karşı AEVR) adlı yeni bir sınıflandırma getirilmiştir.²³ John ve ark.²³ prematüre bebeklerde retina bulguları PR'ye göre AEVR için daha tipik olan ROPER'i tanımlamışlardır. ROPER'in ayırt edici floresein anjiyografi bulgularının vasküler/avasküler bileşkede düzensiz



Şekil 1. Hastaların fundus fotoğrafları. **a)** Hasta 1'in sağ göz maküla bölgesinde artı işareti benzeri görünüm izlenmektedir. **b)** Hasta 1'de, sağ gözün vaskülarize ve avasküler retina bölgelerinin sınırında retina kanamaları ve neovaskülarizasyon görülmektedir. **c)** Hasta 2'nin, sağ göz temporal periferinde düz neovaskülarizasyonlar izlenmektedir. **d)** Hasta 2'nin, lazer fotokoagülasyon sonrası sağ göz fundus görüntüsü. **e)** Hasta 3'ün tedavi sonrası sol gözde düz neovaskülarizasyonlar ve lazer lekeleri.

vaskülarizasyon tomurcukları, damarların tam budanması, noktasal hiperfloresan alanlar ve segmental vasküler sızıntı alanları olduğunu bildirmişlerdir. Hastalarımıza floresein anjiyografi yapılmadı ancak retina bulguları PR'ye benzerdi. Bir hastada iriste neovaskülarizasyon mevcuttu. Bu vasküler bozuklukların ayırıcı tanısı önemlidir, çünkü ROPER'in öngörülemeden ve uzun süreli bir seyri olabilir.

Organogenez sürecinde hücre sayıları çoğalma ve hücre ölümü dengelenerek düzenlenir. Gelişim sırasında Hh sinyal yolağı hücre çoğalmasını ve hayatta kalmayı kontrol eder.²⁴ Shh, nöral kök hücreler, orta beyin, ön beyin, retina ve nöral krest için önemli bir sağkalım faktörüdür.^{25,26} Ayrıca, yakın zamanda yapılan bir çalışmada, Shh sinyal yolağının retinal endotelial sıkı bağlantıların sürdürülmesinde görev aldığı kanıtlanmıştır.¹¹

Retina damarlarında, endotel hücrelerini kaplayan çok sayıda perisit bulunur. Perisitlerden gelen sinyaller, kan-retina bariyerinin oluşumu ve sürdürülmesi için gereklidir.²⁷ Neovasküler damarlar genellikle kan-retina bariyerinin bozulması ile ilişkilidir. Shh sinyalizasyonu ile damar büyümesi ve bariyer oluşumu arasındaki ilişki, Shh sinyalinin anjiyogenez ve bariyer oluşumundaki rolünü göstermektedir. Shh yolağındaki bir defektin kan-retina bariyerinin bütünlüğünü bozması, retinaya oksijen akışını azaltması ve retina neovaskülarizasyonuna neden olması muhtemeldir.

HSCR, genetik etiyolojiye bağlı fonksiyonel intestinal tıkanıklık ile karakterizedir.²⁸ Enterik sinir sisteminin gelişim bozukluğu sonucu gelişen intestinal disfonksiyondur. Anal atrezi de dahil olmak üzere konjenital anorektal malformasyonlara sık rastlanır ve insidansı 1.000-5.000 yenidoğanda 1'dir.²⁹ Hh ailesi proteinleri (Shh, Ihh, Dhh) dokuların gelişimini ve dengelenmesini kontrol eden salgılanan sinyal molekülleridir.³⁰ Shh, Ihh ve Dhh'nin tümü intestinal tüpte eksprese edilir.³⁰ Gao ve ark.³¹ Hh genindeki genetik polimorfizmlerin HSCR ve anorektal malformasyonlarla ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Hastalarımızın ikisi anal atrezi ve biri ise HSCR tanısı almıştı.

Sonuç

Çalışmamız, Hh yolağının hem retinal vasküler hem de intestinal gelişimindeki rolünü vurgulamakta ve AEVR ve GSM'den oluşan yeni bir sendromu tanımlamaktadır. Çocuk cerrahları bu ilişkinin farkında olmalı ve GSM'li yenidoğanları retina uzmanlarına yönlendirmelidir.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

İleride yapılacak çalışmalarda, klinik bulguların analizi, floresein anjiyografi ile retina görüntüleme ve aile genetik analizi neonatal vasküler hastalığın genetiği hakkındaki bilgilerimizi daha da ileriye götürebilir.

Etik

Etik Kurul Onayı: Araştırma, yerel etik kurul onayı (KA19/306) alındıktan sonra, üçüncü basamak tedavi merkezi olan kliniğimizde gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince Helsinki Bildirgesi'nin ilkelerine uyuldu.

Hasta Onayı: Hastaların ebeveynlerinden bilgilendirilmiş onam alındı.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Konsept: N.Ş.K., İ.A., A.T., Ö.K., Dizayn: N.Ş.K., İ.A., A.T., Ö.K., Veri Toplama veya İşleme: N.Ş.K., İ.A., A.T., Ö.K., Analiz veya Yorumlama: N.Ş.K., İ.A., A.T., Ö.K., Literatür Arama: N.Ş.K., İ.A., A.T., Ö.K., Yazan: N.Ş.K., İ.A., A.T., Ö.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

1. Criswick VG, Schepens CL. Familial exudative vitreoretinopathy. Am J Ophthalmol. 1969;68:578-594.
2. Tang M, Sun L, Hu A, Yuan M, Yang Y, Peng X, Ding X. Mutation spectrum of the LRP5, NDP, and TSPAN12 genes in Chinese patients with familial exudative vitreoretinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017;58:5949-5957.
3. Warden SM, Andreoli CM, Mukai S. The Wnt signaling pathway in familial exudative vitreoretinopathy and Norrie disease. Semin Ophthalmol. 2007;22:211-217.
4. Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, Wang H, Cundy T, Glorieux FH, Lev D, Zacharin M, Oexle K, Marcelino J, Suwairi W, Heeger S, Sabatakis G, Apte S, Adkins WN, Allgrove J, Arslan-Kirchner M, Batch JA, Beighton P, Black GC, Boles RG, Boon LM, Borrone C, Brunner HG, Carle GF, Dallapiccola B, De Paepe A, Floege B, Halfhide ML, Hall B, Hennekam RC, Hirose T, Jans A, Jüppner H, Kim CA, Keppler-Noreuil K, Kohlschütter A, LaCombe D, Lambert M, Lemmy E, Lettboer T, Peltonen L, Ramesar RS, Romanengo M, Somer H, Steichen-Gersdorf E, Steinmann B, Sullivan B, Superti-Furga A, Swoboda W, van den Boogaard MJ, Van Hul W, Vikkula M, Votruba M, Zabel B, Garcia T, Baron R, Olsen BR, Warman ML; Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. Cell. 2001;107:513-523.
5. Toomes C, Downey L. Familial exudative vitreoretinopathy, autosomal dominant. 2005 Mar 21 [Updated 2011 Sep 22]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, editors. GeneReviews[Internet] Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2014. Accessed August 8, 2014.
6. Sims KB. NDP-related retinopathies. 1999 Jul 30 [Updated 2009 Jul 23]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, editors. GeneReviews[Internet] Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2014. Accessed August 8, 2014.
7. de Santa Barbara P, van den Brink GR, Roberts DJ. Molecular etiology of gut malformations and diseases. Am J Med Genet. 2002;115:221-230.
8. Roberts DJ. Molecular mechanisms of development of the gastrointestinal tract. Dev Dyn. 2000;219:109-120.
9. Nagase T, Nagase M, Machida M, Fujita T. Hedgehog signalling in vascular development. Angiogenesis. 2008;11:71-77.
10. Alvarez JI, Dodelet-Devillers A, Kebir H, Ifergan I, Fabre PJ, Terouz S, Sabbagh M, Wosik K, Bourbonniere L, Bernard M, van Horssen J, de Vries HE, Charron F, Prat A. The Hedgehog pathway promotes blood-brain barrier integrity and CNS immune quiescence. Science. 2011;334:1727-1731.
11. Díaz-Coránguez M, Chao DL, Salero EL, Goldberg JL, Antonetti DA. Cell autonomous sonic hedgehog signaling contributes to maintenance of retinal endothelial tight junctions. Exp Eye Res. 2017;164:82-89.
12. Ranchod TM, Ho LY, Drenser KA, Capone A Jr, Trese MT. Clinical presentation of familial exudative vitreoretinopathy. Ophthalmology. 2011;118:2070-2075.

13. Shastry B, Hiraoka M, Trese D, Trese M. Norrie disease and exudative vitreoretinopathy in families with affected female carriers. *Eur J Ophthalmol* 1999;9:238-242.
14. Chen ZY, Battinelli EM, Fielder A, Bunday S, Sims K, Breakefield XO, Craig IW. A mutation in the Norrie disease gene (NDP) associated with X-linked familial exudative vitreoretinopathy. *Nat Genet.* 1993;5:180-183.
15. Ye X, Smallwood P, Nathans J. Expression of the Norrie disease gene (Ndp) in developing and adult mouse eye, ear, and brain. *Gene Expr. Patterns.* 2011;11:151-155.
16. McNeill B, Mazerolle C, Bassett EA, Mears AJ, Ringuette R, Lagali P, Picketts DJ, Paes K, Rice D, Wallace VA. Hedgehog regulates Norrie disease protein to drive neural progenitor self-renewal. *Hum Mol Genet.* 2013;22:1005-1016.
17. Wang Y, Dakubo GD, Thurig S, Mazerolle CJ, Wallace VA. Retinal ganglion cell-derived sonic hedgehog locally controls proliferation and the timing of RGC development in the embryonic mouse retina. *Development.* 2005;132: 5103-5113.
18. Surace EM, Balagagn KS, Tessitore A, Mussolino C, Cotugno G, Bonetti C, Vitale A, Ali RR, Auricchio A. Inhibition of ocular neovascularization by hedgehog blockade. *Mol Ther.* 2006;13:573-579.
19. Liu M, Chen X, Liu H, Di Y. Expression and significance of the Hedgehog signal transduction pathway in oxygen-induced retinal neovascularization in mice. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:1337-1346.
20. Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, Tawara A, Tahira T. Genetic variants of FZD4 and LRP5 genes in patients with advanced retinopathy of prematurity. *Mol Vis.* 2013;19:476-485.
21. Dailey WA, Gryc W, Garg PG, Drenser KA. Frizzled-4 variations associated with retinopathy and intrauterine growth retardation: a potential marker for prematurity and retinopathy. *Ophthalmology.* 2015;122:1917-1923.
22. Hutcheson KA, Paluru PC, Bernstein SL, Koh J, Rappaport EF, Leach RA, Young TL. Norrie disease gene sequence variants in an ethnically diverse population with retinopathy of prematurity. *Mol Vis.* 2005;11:501-508.
23. John VJ, McClintic JI, Hess DJ, Berrocal AM. Retinopathy of prematurity versus familial exudative vitreoretinopathy: report on clinical and angiographic findings. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina.* 2016;47:14-19.
24. Varjosalo M, Taipale J. Hedgehog: functions and mechanisms. *Genes Dev.* 2008;22:2454-2472.
25. Cai C, Thorne J, Grabel L. Hedgehog serves as a mitogen and survival factor during embryonic stem cell neurogenesis. *Stem Cells.* 2008;26:1097-1108.
26. Stenkamp DL, Frey RA, Mallory DE, Shupe EE. Embryonic retinal gene expression in sonic-you mutant zebrafish. *Dev Dyn.* 2002;225:344-350.
27. Shen W, Fruttiger M, Zhu L, Chung SH, Barnett NL, Kirk JK, Lee S, Coorey NJ, Killingsworth M, Sherman LS, Gillies MC. Conditional Müller cell ablation causes independent neuronal and vascular pathologies in a novel transgenic model. *J Neurosci.* 2012;32:15715-15727.
28. Amiel J, Sproat-Emison E, Garcia-Barcelo M, Lantieri F, Burzynski G, Borrego S, Pelet A, Arnold S, Miao X, Griseri P, Brooks AS, Antinolo G, de Pontual L, Clement-Ziza M, Munnich A, Kashuk C, West K, Wong KK, Lyonnet S, Chakravarti A, Tam PK, Ceccherini I, Hofstra RM, Fernandez R; Hirschsprung Disease Consortium. Hirschsprung disease, associated syndromes and genetics: a review. *J Med Genet.* 2008;45:1-14.
29. Rintala RJ. Congenital anorectal malformations: Anything new? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2009;48:7982.
30. McMahon AP, Ingham PW, Tabin CJ. Developmental roles and clinical significance of hedgehog signaling. *Curr Top Dev Biol.* 2003;53:1114.
31. Gao H, Wang D, Bai Y, Zhang J, Wu M, Mi J, Jia H, Wang W. Hedgehog gene polymorphisms are associated with the risk of Hirschsprung's disease and anorectal malformation in a Chinese population. *Mol Med Rep.* 2016;13:4759-4766.