

PR-016.815-092, 129341
K67

doi:10.25143/prom-rsu_2010-05_pd

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

Benita Krivicka-Užkurele

**LŪPAS UN AUKSLĒJU ŠĶELTŅU ZONAS AUDU
FUNKCIONĀLĀ MORFOLOĢIJA OPERĀCIJU MATERIĀLĀ**

Specialitāte – morfoloģija

Promocijas darbs

Darba zinātniskā vadītāja:

Dr. med., Dr. habil. med., profesore Māra Pilmane



Projekts veikts ar ESF projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa Universitātē” atbalstu.

Rīga, 2010

0221007644

SATURS

SATURS	2
DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI	5
1. IEVADS	6
Darba aktualitāte	6
Darba mērķis	8
Darba uzdevumi	8
Darba novitāte	8
Darba hipotēzes	9
Mērķa populācija	9
Sadarbības partneri	9
Materiāli tehniskais nodrošinājums	9
2. LITERATŪRAS APSKATS	10
2.1. Sejas un mutes dobuma galvenie attīstības etapi	10
2.2. Augšanas faktori un to receptori	12
2.2.1. Fibroblastu augšanas faktori un to receptori	12
2.2.1.1. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors	14
2.2.1.2. Pirmā fibroblastu augšanas faktora receptori	16
2.2.2. Nervu augšanas faktors	17
2.2.3. Nervu augšanas faktora receptori	18
2.2.4. Transformējošais augšanas faktors beta	19
2.3. Barx1 gēns	22
2.4. Proteīngēni 9.5	23
2.5. Apoptoze	24
2.6. Ādas un gļotādas dzišana un augšanas faktori	26
2.6.1. Iekaisuma fāze	26
2.6.2. Proliferācijas fāze	27
2.6.3. Remodelēšanās fāze	28
2.6.4. Dažādu brūču dzišanas atšķirības	28
3. MATERIĀLS UN METODES	30
3.1. Izmeklējamais materiāls	29
3.1.1. Pacientu materiāls un iedalījums grupās	30

3.1.1.1. Pirmās pacientu grupas - zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu ar viopusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums	30
3.1.1.2. Otrās pacientu grupas - bērnu ar maiņas sakodienu ar viopusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums	31
3.1.1.3. Trešās pacientu grupas - zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums	33
3.1.1.4. Ceturtās pacientu grupas - bērnu ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums	33
3.1.2. Kontroles pacienti	34
3.2. Metodes	35
3.2.1. Rutīnās histoloģijas metode	35
3.2.2. Biotīna un streptavidīna imūnhistoķīmiskā metode un reaktīvi	35
3.2.3. TUNEL metode	36
3.2.4. Statistiskās metodes	37
4. REZULTĀTI	39
4.1. Rufīnās histoloģijas atradne	39
4.1.1. Kontroles pacientu atradne	39
4.1.2. Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu atradne	39
4.2. Imūnhistoķīmisko pētījumu un apoptozes atradne	40
4.2.1. Kontroles grupas atradne	40
4.2.2. Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu - zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu grupas atradne	43
4.2.3. Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu - bērnu ar maiņas sakodienu grupas atradne	51
4.2.4. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu - zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu grupas atradne	57
4.2.5. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu - bērnu ar maiņas sakodienu grupas atradne	61
4.3. Augšanas faktoru, Barx1 gēna un apoptozes savstarpēja korelācija	67
5. DISKUSIJA	71
6. SECINĀJUMI	86
7. LITERATŪRAS SARAKSTS	89
PUBLIKĀCIJAS UN PREZENTĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU	110
PATEICĪBAS	113

PIELIKUMS

Ar hematoksilīnu un eozīnu krāsoto vienpusējo un divpusējo lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu audu mikrofotogrāfijas

Kontroles pacientu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas

Apoptoze kontroles pacientu audos

Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas

Apoptoze vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audos

Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas

Apoptoze vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audos

Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas

Apoptoze divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audos

Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas

Apoptoze divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audos

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

Saīsinājums	Angliskais nosaukums	Latviskais skaidrojums
Barx1	Barx1 homeobox gene	Barx1 gēns
CGRP	Calcitonin gene-related peptide	Kalcitonīngēna radniecīgais peptīds
DNES	Diffuse neuroendocrine system	Difūzā neuroendokrīnā sistēma
FGF	Fibroblast growth factor	Fibroblastu augšanas faktors
FGFR	Fibroblast growth factor receptor	Fibroblastu augšanas faktora receptors
g	-	Gadi
M	-	Meitene
mēn	-	Mēneši
MHC	Major histocompatibility complex	Audu saderības komplekss
MMP	Matrix metalloproteinase	Matrices metaloproteināze
NGF	Nerve growth factor	Nervu augšanas faktors
NGFR	Nerve growth factor receptor	Nervu augšanas faktora receptors
NT	Neurotrophin	Neirotropīns
NPY	Neuropeptide Y	Neiropeptīds Y
PGP 9.5	Proteine gene product 9.5	Proteīngēnviela 9.5
SP	Substance P	P viela
TGF-β	Transforming growth factor-beta	Transformējošais augšanas faktors β
VIP	Vazoactive intestinal polypeptide	Vazoaktīvais intestinālais polipeptīds
Z	-	Zēns

1. IEVADS

Darba aktualitāte

Sejas šķeltnes ir viena no izplatītākajām cilvēku iedzimtajām patoloģijām. Latvijā lūpas un aukslēju šķeltnes ir vidēji vienam bērnam no 700 - 800 jaundzimušajiem, kas sastāda otru biežāk atrasto patoloģiju embrijiem un augļiem (Akota u.c., 2001; Pilmane un Šūmahers, 2006). Šķeltnes var izraisīt estētiskus traucējumus un būt par iemeslu smagām funkcionālām novirzēm, kas jau pirmajās dzīves dienās un gados var negatīvi ietekmēt bērna fizisko un garīgo attīstību. Šīs novirzes skar bērna dzīvības pamatfunkcijas – pilnvērtīgu barības uzņemšanu, zobu un žokļu funkciju, runas attīstību un reizē ar to arī turpmāku indivīda iekļaušanos sabiedrībā. Lūpas un aukslēju šķeltņu ārstēšana ietver vairākkārtējas plastiskas ķirurģiskas korekcijas un atkārtotus dažādu speciālistu – logopēda, ortodonta, ausu, kakla un deguna ārsta apmeklējumus. Turklāt, šķeltņu korekcija, kurai seko brūces slēgšanās un rētaudu veidošanās, var negatīvi ietekmēt sejas un mutes dobuma audu augšanu (Van Beurden et al., 2005; Burdi, 2006).

Iedzimto attīstības traucējumu cēloņi ir dažādi iekšējās vai ārējās vides faktori (Pilmane un Šūmahers, 2006). Apmēram 15% gadījumos tie ir ģenētiski determinēti, piemēram, gēnu mutācijas vai hromosomu aberācijas. Būtiski ārējās vides faktori, piemēram, alkohols, smēķēšana, noteiktu medikamentu lietošana un nesabalansēta diēta, izraisa apmēram 10% iedzimto anomāliju (Krapels et al., 2004; Wong and Hagg, 2004; Mavroudi et al., 2007; Sadler, 2009). Multifaktoriāla jeb abu minēto faktoru tipu kombinācija ir 20% - 25% gadījumu. Kopumā joprojām 40% – 60% personām ar dažādām iedzimtām anomālijām pilnībā cēloņi nav zināmi (Sadler, 2009).

Galvas un sejas attīstība ir dinamisks daudzpakāpju process, kurš sākas ar nervu kores šūnu veidošanos un migrāciju, lai kombinācijā ar mezodermas šūnām veidotu sejas aizmetni. Sejas un mutes dobuma attīstības pamatā ir secīga piecu sejas kroku saplūšana, kas notiek no ceturtās līdz 12. embrionālās attīstības nedēļai. Tā ir precīzi koordinētu procesu kaskāde, kas ietver ne tikai šūnu augšanu, diferenciaciju, šūnas ar šūnu un šūnas ar ekstracelulāro matrici mijiedarbību, bet arī programmētu šūnu nāvi. Minētās pārvērtības embrija audos izraisa un regulē dažādi faktori. Turklāt pat viena noteikta faktora trūkums vai pārlietu liela esamība var izraisīt neatgriezeniskas izmaiņas, kuru rezultātā attīstās iedzimtas anomālijas - sejas šķeltnes. Sejas un mutes dobuma audu veidošanos nosaka indukcijas un augšanas procesi. Indukciju izraisa ķīmiskas vielas, ko izdala noteiktas šūnu grupas (Pilmane un Šūmahers, 2006).

Būtisku vietu starp minētajām vielām ieņem tieši augšanas faktoru un noteiktu gēnu grupa, kuru izpēte ir intensificējusies pēdējo divu gadu desmitu laikā un aktīvi turpinās vēl joprojām. Augšanas faktori ir proteīni, kas darbojas kā signālmolekulas un saistās ar mērķa šūnas virsmas receptoriem. To darbības molekulārie aspekti sejas un mutes dobuma struktūru attīstības laikā joprojām pilnībā nav skaidri, un aktīvi tiek pētīti gan šūnu kultūrās, gan dažādu dzīvnieku modeļos. Pēdējos gados ir aktualizējušies pētījumi par apoptozes nozīmi sekundāro aukslēju formēšanās laikā. Zināms, ka to aizmetņu epitēlijs saplūšanas laikā izzūd, tomēr šī procesa mehānismu skaidro joprojām vairākas teorijas (Dudas et al., 2007).

Ir zināms, ka fibroblastu augšanas faktori (FGF) ir polipeptīdu grupa, kam ir noteicošā loma nervu kores šūnu migrācijas, kā arī epitēlijaudu un mezenhīmas mijiedarbības regulācijā sejas un mutes dobuma attīstības laikā (Szebenyi and Fallon, 1999; Greene and Pisano, 2004). Tie veido kompleksus ar četriem fibroblastu augšanas faktoru receptoriem (FGFR), kuri ir noteicošie normālu šūnu augšanā un diferenciacijā (Hughes, 1997; Greene and Pisano, 2004). Turklāt, 2008. gadā publicētajā pētījumā pierādīts, ka FGFR ir būtiska nozīme normālu zīdītāju aukslēju attīstībā (Crisera et al., 2008). Transformējošais augšanas faktors beta (TGF- β) ir multifunkcionāls citokīns, kas nosaka normālu mutes dobuma struktūru attīstību (Bodo et al., 1999; Meng et al., 2009) un tieši ietekmē sekundāro aukslēju attīstību (Greene and Pisano, 2004).

Tomēr, neskatoties uz daudzajiem pētījumiem, joprojām nav skaidru datu par dažādu augšanas faktoru un gēnu izplatību un novietojumu cilvēkiem dažādu šķeltnu skartajos audos. Lai arī nereti tiek skatīta atsevišķa faktora nozīme dzīvnieku embriju šķeltnu korekcijas laikā (Kohama et al., 2002), rezultātu analīzei trūkst kompleksas pieejas. Tā kā pēdējo gadu laikā īpaši aktualizējušies pētījumi par augšanas faktoru nozīmi veiksmīgā audu reģenerācijā un dzīšanā pēcoperāciju periodā (Werner and Grose, 2003; Akasaka et al., 2004; Ono et al., 2007), dati par lokālu minēto faktoru, to receptoru un gēnu ekspresiju, kā arī apoptozes relatīvo daudzumu šķeltnu skartajos audos ir nozīmīgi sekmīgā vai mazāk sekmīgā terapijas prognozē.

Pēdējo gadu pētījumos ar dzīvnieku modeļiem aprakstīta virkne gēnu, kuriem ir svarīga nozīme sejas un mutes dobuma attīstībā (Murray, 2002; Stanier et al., 2004; Jugessur et al., 2005). Tā kā sejas un mutes dobuma attīstība ietver šūnu migrācijas, proliferācijas, diferenciacijas un deģenerācijas procesus, tiek akcentēta un pētīta dažādu transkripcijas faktoru un signālmolekulu, īpaši augšanas faktoru un to receptoru nozīme audu izveidē. Tomēr joprojām lūpas un aukslēju šķeltnu izcelsmē visi patoģenēzes aspekti un iemesli nav

zināmi. Literatūrā nav kompleksu datu par dažādu gēnu, augšanas faktoru un to receptoru novietojumu un sadalījumu šķeltņu skartajos audos.

Darba mērķis

Augšanas faktoru, augšanas faktoru receptoru un gēnu relatīvā sadalījuma un novietojuma imūnhistoķīmiskā izpēte, šūnu nāves noteikšana un datu korelācija šķeltnes skartos audos bērniem ar vienpusējām un divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm ontogēnētiskā aspektā ar to faktoru noteikšanu, kuri visbūtiskāk raksturo šķeltņu morfopatogēnēzi.

Darba uzdevumi

1. Izpētīt bāziskā FGF, FGFR1, NGF, NGFR, TGF β , PGP 9.5 un Barx1 relatīvo sadalījumu un novietojumu šķeltnes skartajos audos bērniem ar vienpusējām un divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm, lietojot imūnhistoķīmijas metodi.
2. Noteikt apoptotisko šūnu relatīvo daudzumu un sadalījumu vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu skartajos audos, lietojot TUNEL metodi.
3. Izpētīt bāziskā FGF, FGFR1, NGF, NGFR, TGF β , PGP 9.5 un Barx1 relatīvo sadalījumu un novietojumu kontroles grupas audos, lietojot imūnhistoķīmijas metodi.
4. Noteikt apoptotisko šūnu relatīvo daudzumu un sadalījumu kontroles grupas audos, lietojot TUNEL metodi.
5. Noteikt iegūto morfoloģisko datu iespējamo savstarpējo korelāciju.
6. Noteikt iegūto morfoloģisko datu iespējamo korelāciju vecuma aspektā.
7. Noteikt bāziskā FGF, FGFR1, NGF, NGFR, TGF β , PGP 9.5 un Barx1 relatīvo sadalījumu un novietojumu šķeltnes skartajos audos pēc atkārtotajām operācijām bērniem ar vienpusējām un divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm.
8. Noteikt diagnostiski prognostiskos faktorus dažādu šķeltņu izveidē un terapijas prognozē.

Darba novitāte

Mūsu darbā pirmo reizi ar imūnhistoķīmijas un TUNEL metodēm izpētīti 37 vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu un 15 divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu audi no šķeltnes korekcijas rajona. Tādējādi ir ticami pierādīta un attēlos dokumentēta bFGF, FGFR1, NGF, NGFR, TGF β , PGP 9.5 un Barx1 gēna ekspresija un imūnreaktīvo šūnu relatīvais daudzums

ne tikai pirmreizēju, bet arī atkārtotu operāciju laika paņemtajā audu materiālā. Līdz šim publicētajā literatūrā šādi kompleksi dati nav atrodam, jo nereti tiek akcentēta tikai kāda atsevišķa augšanas faktora vai augšanas faktora receptoru izpēte.

Pilnīgi jauni ir mūsu pētījumā iegūtie dati, ka vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu skartos audus raksturo palielināta bFGF un FGFR1, bet pazemināta NGF lokāla ekspresija, pastiprināta šūnu apoptoze, variabla NGFR, TGFβ un Barx1 ekspresija un relatīvi atšķirīgs DNES struktūru daudzums. Pirmo reizi pierādīta pieaugoša šūnu apoptoze un relatīvi variablāka faktoru ekspresija smagākas anomālijas - divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audos.

Darba hipotēzes

1. Augšanas faktoru, augšanas faktoru receptoru un gēnu sadalījums un ekspresija nosaka audu lokālo atbildes reakciju reģenerācijas un deģenerācijas procesos.
2. Katram šķeltņu veidam ir savi svarīgākie faktori, kas nosaka šķeltnes attīstību.

Mērķa populācija

Latvijas šķeltņu centrā uzskaitē esošie pacienti ar vienpusējām un divpusējām lūpas un aukslēju šķeltņēm. Pacientu skaits: 52. Materiāls tika savākts laika posmā no 2003. līdz 2006. gadam. Ētikas komisijas atļauja: RSU Ētikas komitejas lēmums 2003. gada 22. maijā.

Sadarbības partneri

Materiāla savākšana tika veikta SIA "Rīgas Stradiņa Universitātes Stomatoloģijas Institūts" Lūpu, aukslēju un sejas šķeltņu centrā, bet imūnhistoķīmiskie izmeklējumi - Anatomijas un Antropoloģijas Institūta Morfoloģijas laboratorijā.

Darba vadītāja: Dr med, Dr habil med, profesore Māra Pilmane.

Materiāli tehniskais nodrošinājums

Darbam nepieciešamais materiāli tehniskais nodrošinājums atrodas Rīgas Stradiņa Universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūtā: mikrotoms, Leica kriotoms, Leica mikroskops, datori ar Image Pro Plus 60 programmu.

2. LITERATŪRAS APSKATS

2.1. Sejas un mutes dobuma attīstības galvenie etapi

Cilvēka embrijam attīstās seši žaunu loki, un tiem ir noteicošā loma sejas, mutes un deguna dobumu, ausu, kakla, balsenes un rīkles attīstībā (Pilmane un Šūmahers, 2006). Sejas un mutes dobuma veidošanās sākas ar nervu kores šūnu migrāciju uz žaunu lokiem un to kombinēšanos ar mezodermas šūnām (Burdī, 2006). Literatūrā plaši aprakstīta transkripcijas faktoru (piemēram, OTH2, SLUG), gēnu (HOX) un noteiktu molekulu klātbūtne ekstracelulārajā matricē (fibronektīns, laminīns, IV tipa kolagēns) migrācijas procesa laikā, bet joprojām tā molekulārajā mehānismā ir daudz neskaidrības. Tomēr nervu kores šūnu migrācija vien nenosaka žaunu loku veidošanos, un kā regulators faktors tiek akcentēts Shh gēns, kuru izdala paši žaunu loki (Sadler, 2009).

Ceturtās nedēļas sākumā cilvēka embrijam kļūst saskatāms pirmais žaunu loks. Vienlaicīgi veidojas ektodermāls mutes dobuma padziļinājums, kas vēlāk pārtop primārajā mutes dobumā. 42. embrionālās attīstības dienā to apņem piecas sejas krokas: augšpusē izvietojas pieres un deguna kroka, sānos – augšžokļa pāra krokas un apakšā – apakšžokļa pāra krokas. Augšžokļa un apakšžokļa krokas ir pirmā žaunu loka derivāti, bet pieres un deguna aizmetnis veidojas mezenhīmas proliferācijas rezultātā (Pilmane un Šūmahers, 2006; Sadler, 2009).

Piektās nedēļas sākumā pieres un deguna krokas abās pusēs ektodermas šūnas diferencējas ovālās ožas plakodēs. Tām apkārt novietotās neiromezenhīmas proliferācijas rezultātā pieres un deguna kroka tiek sadalīta deguna mediālajā un laterālajā izaugumā. Tālākas laterālo izaugumu augšanas rezultātā formēsies deguna spārni. Savukārt starp abiem deguna mediālajiem izaugumiem veidojas padziļinājums, un visas trīs minētas struktūras kopā izveidos starpžokļa segmentu, no kura vēlāk attīstās virslūpas daļa, padegunes rievā, starpžoklis un primāras aukslējas (Burdī, 2006). Divpadsmit milimetru garam embrijam sejas atsevišķo izaugumu saplūšana noris šādā secībā: augšžokļa kroka un mediālais deguna aizmetnis, mediālais un laterālais deguna aizmetnis, augšžokļa kroka un laterālais deguna aizmetnis, augšžokļa un apakšžokļa krokas (Pilmane un Šūmahers, 2006).

Sekundāro aukslēju attīstība sākas aptuveni sestajā nedēļā. Tās attīstās no trim daļām: aukslēju izaugumu pāra, kas attīstās pie augšžokļa krokas, un primārajām aukslējām, kas attīstās no starpžokļa segmenta. Sekundāro aukslēju veidošanās procesā izdala vairākas stadijas. Vispirms aukslēju izaugumi aug vertikāli un izvietojas abās pusēs mēles aizmetnim. Vēlāk tie pagriežas un izvietojas horizontāli virs mēles aizmetņa. Tālākās attīstības laikā

aukslēju aizmetņi aug virzienā viens pret otru un saplūst (Kerrigan et al., 2000). Visu šo nosaukto procesu pamatā ir epiteliocītu, mezenhīmas šūnu un ekstracelulārās matricēs mijiedarbība, kuru koordinē dažādas signālmolekulas un augšanas faktori, īpaši, TGF β , FGF un FGFR, NGF (Britto et al., 2002; Sperber, 2000; Carinci et al., 2007; Meng et al., 2009). Traucējumi šajos procesos, īpaši, aizmetņu saplūšanā, ir šķeltņu attīstības pamatā, un to bioloģiskie mehānismi joprojām ir neskaidri.

Pēdējo gadu publikācijās par bioloģisko aukslēju attīstības mehānismu tiek akcentēta TGF β nozīme aukslēju attīstības un sekundāro aukslēju aizmetņu saplūšanas laikā. TGF β 1, 2 un 3 tiek peles ekspresēti aukslēju aizmetņos dažādās attīstības stadijās. TGF β 1 un TGF β 2 galvenokārt regulē mezenhīmas šūnu proliferāciju un tādējādi nodrošina aizmetņu augšanu, bet TGF β 3 koordinē saplūšanu (Nawshad et al., 2004; Meng et al., 2009).

Abu aukslēju aizmetņu pamatu veido neiromezenhīma, bet klāj epitēlijs. Neilgi pirms aizmetņu saplūšanas, tajā izšķir divus šūnu slāņus:

1. iekšējo šūnu slāni, kuru veido kubisku, ar bazālu membrānu saistītu šūnu kārtu;
2. ārējo šūnu slāni jeb peridermu, kuru veido plakanu šūnu kārtu (Dudas et al., 2007).

Peridermas šūnas satur keratīnu, to brīvā virsma ir klāta ar siālglikoproteīniem un mikrobārkstiņām (Nawshad et al., 2004). Īsi pirms saplūšanas tās nolobās, tādējādi iedarbībai pakļaujot bazālās šūnas, kas tālāk ir mutes un deguma dobuma, kā arī vidusšuves epitēlija izcelsmes avots. Aukslēju aizmetņu mugurējās daļas klājošā epitēlija histodiferenciācijas rezultātā veidosies daudzrindu skropstiņepitēlijs. No aizmetņu priekšējās puses epitēlija diferencēsies daudzkārtains plakans košļāšanas funkciju nodrošinātājglotādas epitēlijs (Schuler, 1995). Epitēlijaudu diferenciaciju gan *in vivo*, gan *in vitro* nosaka zemāk novietotā mezenhīma vairāku augšanas faktoru, tai skaitā arī TGF β un FGF, ietekmē. Minētie faktori stimulē specifisku ekstracelulārās matricēs molekulu sintēzi aukslēju aizmetņu mezenhīmā un šo vielu receptoru ekspresiju epitēlijā (Ferguson, 1988; Sharpe and Ferguson, 1988). Savukārt tieši pretim novietoto aizmetņu epitēlijs formē tā saucamo vidusšuves epitēliju (Schuler, 1995). Jautājums, kādas izmaiņas notiek tieši ar šo epitēliju aizmetņu saplūšanas laikā, ir diskutabls vēl šodien un tiek skaidrots trīs teorijās, kuras apkopotas vairāku atsevišķu autoru un autoru kolektīvu publikācijās (Schuler, 1995; Dudas et al., 2007; Gritli-Linde, 2007). Vieni uzskata, ka epitēlija šūnas iet bojā apoptozes ceļā, citi domā, ka notiek epitēlija transformācija mezenhīmā, bet vēl citi uzskata, ka epiteliocīti migrē mutes un deguna dobuma virzienā.

Kopš 70-gadiem plašu akceptu ieguvusi teorija par programmētu šūnu nāvi. Analizējot peļu aukslējas un pielietojot TUNEL metodi apoptozes noteikšanai šūnās, Cuervo un Covarrubias

skaidro, ka tieši vidusšuves epitēlija šūnu nāve ir noteicošais faktors palatoģenēzē (Cuervo and Covarrubias, 2004). Lai arī peridermas šūnas aukslēju aizmetņu saplūšanas laikā migrē, tomēr neilgi pēc tam iet bojā apoptozes ceļā (Martinez-Alvarez et al., 2000; Cuervo and Covarrubias, 2004). Tas apstiprina vācu zinātnieku pētījumos ar trušiem iegūtos rezultātus, kuros tiek dokumentētas TUNEL pozitīvas šūnas epitēlijā aukslēju aizmetņu saplūšanas vietā (Holtgrave and Stoltenburg-Didinger, 2002).

Šai teorijai oponē japāņu pētnieku kolektīvs Takaharas vadībā, kuri uzskata, ka programmēta šūnu nāve nav nepieciešama normālu sekundāro aukslēju attīstības procesā (Takahara et al., 2004). Kultivējot peles embrija aukslējas *in vitro* un inhibējot programmētu šūnu nāvi ar kaspāzes inhibitoriem, zinātnieki novēro veiksmīgu aukslēju aizmetņu saplūšanu.

Epitēlija - mezenhīmas transformācija ir fenomens, kuru novēro ne tikai embriogēnēzē, bet arī audu dzišanas procesā. Epitēlija šūnu transformāciju mezenhīmā pavada pārmaiņas šūnu morfoloģijā, adhēzijas un migrācijas kapacitātē (Vaziri-Sani et al., 2005; Yu et al., 2009). Pēc peridermas šūnu bojāejas abu aukslēju bazālās šūnas producē desmosomas un savienojas, veidojot epitēlija šuvei līdzīgu struktūru. Tālākās attīstības laikā epiteliocītu starpšūnu kontakti un raksturīgās adhēzijas molekulas izzūd, notiek epitēlija fragmentācija un šūnas sāk producēt eksracelulāro matrici deģenerējošus enzīmus, tai skaitā arī matrices metaloproteināzes (MMP) (Kang and Svoboda, 2005). Rezultātā epiteliocīti izstiep filopodijas un pseidopodijas, migrē cauri sabrūkošajai bazālajai membrānai un transformējas mezenhīmas šūnās (LaGamba et al., 2005; Yu et al., 2009).

Vadošais regulatorais faktors šajos procesos ir TGF β . Tas kontrolē gan šūnu proliferāciju, gan epitēlija - mezenhīmas transformāciju. Interesanti, ka minētais augšanas faktors vienlaicīgi var inducēt gan apoptozi, gan augstākminēto transformāciju (Kang and Svoboda, 2005; Yu et al., 2009).

2.2. Augšanas faktori un to receptori

2.2.1. Fibroblastu augšanas faktoru (FGF) un to receptoru raksturojums

Fibroblastu proliferāciju veicinošs augšanas faktors pirmo reizi tika izolēts no vērša smadzeņu audiem 1939. gadā, un tam tika dots nosaukums bāziskais fibroblastu augšanas faktors (bFGF) (Mohammadi et al., 2005). Mūsdienās fibroblastu augšanas faktori (FGF) ir 22 strukturāli līdzīgu polipeptīdu grupa (Ornitz and Itoh, 2001; Itoh, 2007). Tiem ir būtiska regulatora nozīme ne tikai embrionālās attīstības laikā, bet arī nobriedušā organismā audu

reģenerācijas un dziļšanas procesos. Turklāt minētie augšanas faktori ir noteicošie homeostāzes uzturēšanā, jo parakrīnā veidā nodrošina sazināšanos starp mezenhimālas izcelsmes audiem un epitēlijaudiem (Mohammadi et al., 2005).

Lielākā daļa šo augšanas faktoru ir sekretori proteīni, kas darbojas ekstracelulāri (Ensoli et al., 2003). FGF organismā tiek ekspresēti praktiski visos cietajos un mīkstajos audos. Daži ir atrodamī tikai embrionālās attīstības laikā, bet citi, piemēram, pirmais fibroblastu augšanas faktors (FGF1), bFGF un piektais fibroblastu augšanas faktors (FGF5) tiek ekspresēti gan embrija, gan pieauguša cilvēka audos (Ornitz and Itoh, 2001). Tie stimulē ektodermālas, mezodermālas un entodermālas izcelsmes šūnu proliferāciju (Werner and Grose, 2003; Filho et al., 2007). FGF ietekmē primārās ķermeņa ass un ekstremitāšu attīstību, tiem ir noteicošā loma nervu kores šūnu migrācijas, kā arī epitēlijaudu un mezenhīmas mijiedarbības regulācijā sejas un mutes dobuma attīstības laikā (Szebenyi and Fallon, 1999; Greene and Pisano, 2004). Zināms, ka FGF līdzdarbojas praktiski visu galvaskausa struktūru attīstībā un ir minēti kā varbūtējs cēlonis aukslēju šķeltnu attīstībā. Tie piedalās šuvju un sinhondrožu, kā arī zobu attīstības regulācijā (Nie et al., 2006). FGF ir būtiska nozīme kaula augšanā un attīstībā, jo galvaskausa plakano kaulu veidošanās procesā dažādas FGF un to receptoru gēnu mutācijas izraisa priekšlaicīgu šuvju slēgšanos un kraniosinostozes (Mansukhani et al., 2000). FGF tiek ekspresēti endohondrālās ossifikācijas procesā žurku perihondrā un augšanas skrimslī. To mutācijas izraisa skeleta displāzijas, no kurām bieži sastopama ir ahondroplāzija (Lazarus et al., 2007). Minētajiem augšanas faktoriem ir būtiska nozīme audu dziļšanas un reģenerācijas procesos, tie veicina brūces rajonā esošu dažādu šūnu mitozī (Filho et al., 2007).

FGF veido kompleksus ar četriem fibroblastu augšanas faktoru receptoriem (FGFR) (Greene and Pisano, 2004). Tie lokalizējas šūnā, uz šūnas virsmas un/vai ekstracelulārajā matricē (Ensoli et al., 2003). FGFR ir četru tirozīnkināzes receptoru grupa, kurus kodē četri atšķirīgi gēni (Riley et al., 2007). Šie proteīni sastāv no ekstracelulārā ligandu saistoša domēna, transmembrānu domēna un intracelulārā tirozīnkināzes domēna (Galzie et al., 1997; Zhang et al., 2006). FGFR ekstracelulārais reģions satur trīs imūnglobulīniem līdzīgus domēnus, ar heparīnu saistošo reģionu un septiņu aminoskābju posmu. FGF saista glikozaminoglikānus, heparīnu un heparīnsulfātu. Heparīnsulfāts lokalizējas uz šūnu virsmas un ārpusšūnu matricē un modulē FGFR aktivāciju (Naski and Ornitz 1998; Ornitz, 2000; Presta et al., 2005). Šāda saistība ne tikai stabilizē FGF un pasargā to no denaturācijas un proteolīzes (Ornitz and Itoh, 2001), bet arī veic augšanas faktora rezervuāra lomu (Mohammadi et al., 2005) un nodrošina faktora receptora efektīvu mijiedarbību (Harmer, 2006). Jāmin fakts, ka dažāda heparīna un heparīnsulfāta koncentrācija ir pretēji efekti: augsta koncentrācija inhibē FGF darbību, bet

zema – stimulē (Ensoli et al. 2003). Pēc FGF piesaistīšanās notiek receptora aktivācijas dimerizācija, kuras rezultātā tiek aktivēta intracelulārā signāla transdukcijas sistēma (Galzie et al., 1997). Tirozīnkināzes receptori ir noteicošie normālu šūnu augšanā un diferenciācijā un to pārmērīga ekspresija tiek saistīta ar ļaundabīgām izmaiņām audos (Hughes, 1997). FGFR gēnu mutācijas izraisa dažādas skeleta displāzijas (Naski and Ornitz, 1998; White et al., 2005).

2.1.1.1. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors

Bāziskais FGF ir primārais mezodermas veidošanos inducējošais faktors embriogēnēzē, kurš modulē šūnu proliferāciju un diferenciāciju *in vivo* un *in vitro* (Zhang et al., 1991). Pētījumos ar dažādiem dzīvniekiem noskaidrots, ka tam ir būtiska nozīme ne tikai sejas un mutes dobuma, bet arī citu organisma struktūru veidošanās procesos. Peles aukslēju formēšanās procesā bāzisko FGF ekspresē gan nākošais deguna dobuma epitēlijs, gan zemāk novietotā mezenhīma. Minētais augšanas faktors tieši ietekmē kolagēna un citu ekstracelulārās matricē proteīnu sintēzi aukslēju aizmetņu saplūšanas laikā (Crisera et al., 2008). Cāļa un žurkas embrionālās attīstības laikā faktors regulē dažādu acs struktūru diferenciāciju un augšanu, kā arī tam ir būtiska nozīme ekstremitāšu attīstībā (Bikfalvi et al., 1997). Ar imūnhistoķīmijas metodi izpētot 18 dienas vecu žurku embriju audus, zinātnieku kolektīvs no Kalifornijas secina, ka bFGF ir plaši izplatīts gan mezenhimālās, gan mezodermālās un neuroektodermālās izcelsmes šūnās. Minētā faktora lokalizācija tiek demonstrēta epitēlija bazālajā membrānā gremošanas traktā, plaušās, nierēs, siekalu un tauku dziedzeros, muskuļu šķiedrās un asinsvadu gludajos miocītos. Ādā imūnreaktivitāti novēro graudainajā slānī ekstracelulāri (Gonzalez et al., 1990). Savukārt aitu embrija ādā matu folikulu attīstības laikā to novēro uz epidermas dermas robežas, kas, iespējams, norāda uz minēta faktora nozīmi lokālā audu remodelēšanās procesā (Du Cros et al., 1993).

Bāziskais FGF ir 18 kDa proteīns, kurš, saistoties ar heparīnu, ir pasargāts no proteolītiskas degradācijas (Plath et al., 1998). Tas var izdalīties no bojātas šūnas vai proteīniem netipiskā eksocitozes ceļā, apejot endoplazmatiskā tīkla un Goldži kompleksa sistēmas (Ensoli et al., 2003; Itoh, 2007).

Zināms, ka bFGF veicina endoteliocītu, fibroblastu, hondrocītu, osteoplastu un sinoviocītu proliferāciju. Tas inducē jaunu kapilāru veidošanos *in vivo* un *in vitro* (Qu et al., 1998; Van Winterswijk and Nout, 2007). Bāziskais FGF modulē endoteliocītu proteolītisko aktivitāti angiogēnēzes sākuma fāzē. Tas palielina endoteliocītos plazminogēna aktivatora sintēzi

un/vai aktivāciju, kā rezultātā veidojas proteāzes, kuras degradē bazālo membrānu un ekstracelulārās matricas komponentus (Ensoli et al., 2003).

Zināms, ka bFGF sekrēcija pieaug hroniski iekaisušos audos reimatoīda artrīta, zarnu sasilšanu un astmas gadījumos. To producē endoteliocīti un fibroblasti (Zittermann and Issekutz, 2006). Izpētot hroniski iekaisušus cilvēka plaušu, deguna gļotādas un žurkas audus, pierādīta minētā augšanas faktora atradne tuklo šūnu granulās un izdalīšanās no šūnas degranulācijas ceļā (Qu et al., 1998). Autori izsaka minējumu, ka tuklās šūnas saista bāzisko FGF no ekstracelulārās matricas un uzglabā to. Turklāt kā pamatojums tam varētu būt heparīns, kurš bagātīgi atrodams tuklo šūnu granulās un netieši saista bFGF (Inoue et al., 1996). Cita zinātnieku grupa oponentē un akcentē faktu, ka viens no būtiskākajiem bFGF izcelsmes avotiem tomēr ir makrofāgi (Akimoto et al., 1999).

Pēdējos gadu desmitos aktuāli ir kļuvuši pētījumi par bFGF lokalizāciju un nozīmi ādā tās dzišanas procesos. Galvenokārt zinātnieku domās sakrīt secinājumos, ka bFGF veicina ādas dzišanu un kvalitatīvu audu veidošanos. Tā, žurkas ādas ievainojuma gadījumā minētais augšanas faktors stimulē limfocītu un fibroblastu proliferāciju un veicina ekstracelulārās matricas komponentu veidošanos (Filho et al., 2007). Līdzīgus datus iegūst cits pētnieks analizējot bFGF darbību akūtās griezuma brūcēs trušu ādā (Ono, 2002). Turklāt pēdējais minētais japāņu zinātnieks kopā ar kolēģiem 2007. gadā publicē pētījuma rezultātus par bFGF efektiem akūtās griezuma brūcēs cilvēka ādā. Injicējot lokāli brūces rajonā minēto augšanas faktoru, tas reducē rētaudu veidošanos un uzlabo audu dzišanu (Ono et al., 2007).

Bāziskais FGF ir atrodams arī organisma cietajos audos. Locītavas skrimslī to novēro hondrocītu pericelulārajā matricē (Vincent and Saklatvala, 2006). Tā kā skrimšļa ekstracelulārā matricē satur daudz glikozaminoglikānus, tad, pēc autoru domām, bFGF tiek saistīts ar heparīnsulfātu ķēdēm. Arī kaula šūnas producē bFGF. Minētais faktors uzkrājas kaula matricē un darbojas autokrīni/parakrīni, kā arī iedarbojas uz nobriedušiem osteoklastiem, aktivējot FGFR1 (Chikazu et al., 2000). Skrimšļa un kaula šūnās bāziskā FGF ekspresija ir atkarīga no šūnu diferenciācijas pakāpes (Gonzalez et al., 1990).

Bāziskais FGF ir noteikts siekalās (Oda et al., 2004), tā daudzums pieaug noteiktu mutes dobuma sasilšanu gadījumos (Magnusson et al., 2004). Izanalizējot žurku un cilvēku siekalu dziedzeru audus, pētnieku grupa publicē datus, ka minētais augšanas faktors stimulē glandulocītu un izvadū epiteliocītu proliferāciju (Kagami et al., 2000).

2.2.1.2. Pirmā fibroblastu augšanas faktora receptori FGFR1

FGFR1 ir viens no četriem FGFR grupas locekļiem (Coutts and Gallagher, 1995; Eswarakumar et al., 2005). FGFR1 piemīt visaugstākā spēja piesaistīt bFGF un to uzskata par svarīgāko receptoru bFGF/FGFR sistēmā (Sato et al., 2003). Veidojoties bFGF/FGFR kompleksam, šūnā tiek inducēti dažādi procesi, tai skaitā, augšana, migrācija, proteāžu produkcija (Carinci et al., 2007).

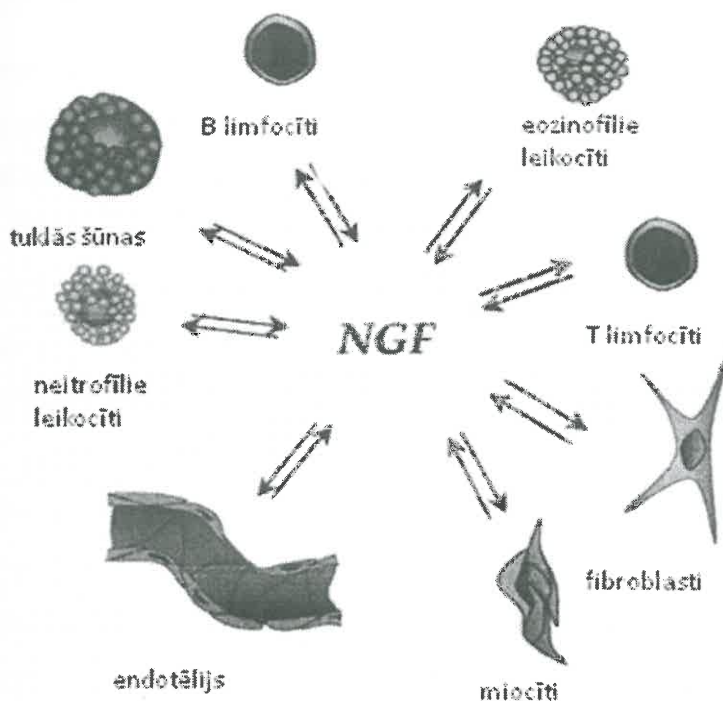
Cilvēka embrija galvaskausa agrīnā attīstības stadijā FGFR1 ekspresē praktiski visa galvas mezenhīma. Sākot ar 18. attīstības nedēļu, FGFR1 plaši novēro šuvju rajonos, mezenhīmas kondensācijas vietās, osteoīdā un kaula trabēkulu perifērijā (McIntosh et al., 2000). Aukslēju attīstības laikā minētā receptora ekspresiju novēro uz epitēlija un mezenhīmas robežas. *In vitro* pētījumos pierādīts, ka FGFR1 ir būtiska nozīme normālu zīdītāju aukslēju attīstībā (Crisera et al., 2008). Arī ekstremitāšu attīstības sākuma periodā minētos receptorus bagātīgi ekspresē mezenhīma. Interesanti, ka laikā, kad hondrocītu diferenciācija beidzas, FGFR1 novēro tikai perihondrā un periostā (McIntosh et al., 2000). Arī cilvēka muskuļaudu attīstības un diferenciācijas procesā tiek akcentēta FGFR nozīme (Sogos et al., 1998).

Nobriedušā cilvēka organismā minēto augšanas faktora receptoru plaši ekspresē dažādu audu šūnas. To novēro ādā, plaušās, radzenē, sirdī, placentā, nierēs, sēkliniekā un olnīcās (Hughes, 1997). Detalizētāka informācija par FGFR1 ekspresiju ādā atrodama Takenakas un līdzautoru publicētajā darbā (Takenaka et al., 2002). Vesela cilvēka ādā to novēro epidermā, mata cēlējmuskulī, asinsvadu sienas šūnās un dermas fibroblastos. Traumētā ādā pieaug FGFR1 ekspresija epidermas bazālajās šūnās, granulācijas audos, jaunizveidotajos kapilāros un fibroblastos.

Izmantojot imūnhistoķīmijas metodi un peles aukslēju modeli, literatūrā aprakstīta FGFR1 ekspresija veselos un traumētos audos. Veselās aukslējās novēro vāju minēto receptoru ekspresiju dažos fibroblastos. Trešajā dienā pēc operācijas novēro izteikti pozitīvu reakciju epiteliocītos. No piektās līdz desmitajai pēcoperācijas dienai pieaug FGFR1 ekspresija granulācijas audos, to novēro epitēlijā, asinsvadu sieniņas gludajos miocītos un vārpstveidīgos fibroblastos. Tādējādi tiek pierādīta FGFR1 nozīme aukslēju audu remodelēšanās procesos (Kanda et al., 2003).

2.2.2. Nervu augšanas faktors NGF

Nervu augšanas faktors ir metaboliski aktīvs peptīds, kas tika atklāts pagājušā gadsimta 50-tajos gados un pirmoreiz tika izolēts no nervu audiem (Iannone et al., 2002). Tas ir 118 aminoskābju peptīds, kuru veido 3 subvienības (Micera et al., 2003). Minētais augšanas faktors kopā ar smadzenēm saistīto neotropo faktoru un neotropīnu-3 (NT-3), neotropīnu-4 (NT-4) un neotropīnu-5 (NT-5) ietilpst klasiskajā neotropīnu grupā (Dou et al., 2006). NGF ir noteicošā loma simpātisko un sensoro nervu šūnu, kā arī centrālās nervu sistēmas holīnērgisko neironu attīstībā, diferenciācijā un izdzīvošanā (Iannone et al., 2002). Turklāt, tas būtiski ietekmē ne tikai nervu sistēmas šūnas, bet arī citu organisma audu šūnas (1. att.) (Micera et al., 2003).



1. attēls. NGF mijiedarbība ar dažādu audu, iekaisuma un imūnās sistēmas šūnām (Micera et al., 2003).

Cilvēka keratinocīti un dermas fibroblasti sintezē un sekretē NGF (Iannone et al., 2002). Arī iekaisuma šūnas - makrofāgi un tuklās šūnas producē minēto augšanas faktoru. Turklāt cilvēka šūnu kultūrās tas regulē tuklo šūnu attīstību un diferenciāciju, ietekmē histamīna un triptāzes sintēzi (Welker et al., 1998). NGF stimulē B limfocītu proliferāciju un imūnglobulīnu sekrēciju (Brodie and Gelfand, 1994). Tas darbojas kā autokrīns izdzīvošanas

faktors B atmiņās šūnām, bet, saistoties ar nervu augšanas faktoru receptoru p75, inducē apoptozi (Wiesmann and de Vos, 2001). NGF sintezē un uzglabā eozinofīlie leukocīti (Solomon et al., 1998). Zināms, ka šī augšanas faktora līmenis pieaug autoimūnu, iekaisuma vai fibrotisku saslimšanu gadījumos. Tādējādi, NGF ir būtiska nozīme ne tikai alergisku iekaisumu, tai skaitā arī alergiskas astmas, patoģenēzē, bet arī audu reģenerācijā un fibrozē (Micera et al., 2003; Sonar et al., 2007). Saistoties ar nervu augšanas faktora receptoru NGFR, tas inducē apoptozi nervu sistēmas šūnās (Micera et al., 2003), bet *in vitro* tas darbojas kā antiapoptotisks faktors kaula šūnām (Mogi et al., 2000). NGF ir veselu cilvēku siekalās (Nam et al., 2007).

2.2.3. Nervu augšanas faktora receptori NGFR

NGF funkcijas modulē divi atšķirīgi receptori – augstas afinitātes tirozīnkināzes receptors A (trkA) un zemas afinitātes 75-kDa receptors (p75NGFR) (Ono et al., 2003; Wehrman et al., 2007). p75NGFR pirmo reizi tika identificēts 1973. gadā kā NGF receptors, un sākotnēji to apzīmēja NGFR (Underwood and Coulson, 2008). p75NGFR ir transmembrānu glikoproteīns un tumornekrotisko faktoru supersaimes loceklis (Johnston et al., 2007). To raksturo ļoti plaša spektra funkcijas (Yamashita et al., 2005). Turklāt, minētā receptora intracelulārajam domēnam ir strukturāla līdzība ar citiem apoptozi inducējošiem receptoriem (Wiesmann and de Vos, 2001).

p75NGFR ir būtiska nozīme sejas un mutes dobuma audos embrionālās attīstības laikā. Cilvēka embriju audos šo receptoru intensīvi ekspresē aukslēju aizmetņi pirms to saplūšanas un zemāk esošā mezenhīma, kā arī aukslēju muskuļa aizmetņa mezenhīma un nākošā mēles muskulatūra. Vēlāk, aukslēju aizmetņu saplūšanas laikā, minēto receptoru ekspresiju novēro mīksto aukslēju veidošanās reģionā, bet pēc aukslēju aizmetņu saplūšanas - tikai aukslēju siekalu dziedzeros, asinsvados un nervos. Mēles muskulatūrā p75NGFR ekspresija ir intensīva un sāk samazināties pēc sekundāro aukslēju noformēšanās (Ono et al., 2003).

Žurkas embriogēnēzē NGF un NGFR ekspresiju novēro auksšķoļa un apakšķoļa ādā un ekstremitātēs, vietās, kur notiek mezenhīmas un epitēlija mijiedarbība. Tādējādi zinātnieki norāda, ka minētais augšanas faktors un tā receptori ietekmē ne tikai nervaudu, bet arī citu audu, tai skaitā muskuļaudu, un orgānu attīstību (Wheeler and Bothwell, 1992). Turklāt pētījumos ar dzīvniekiem dokumentēta p75NGFR ekspresija zobu aizmetņos un matu folikulos (Mitsiadis et al., 1992; Botchkareva et al., 2000). Publicēti dati par minētā receptora

ekspresiju žurkas zoba plātnītes epitēlijā un apkārt esošajā mezenhīmā agrīnā zoba attīstības stadijā, nervu šķiedrās ap zoba aizmetni (Byers et al., 1990).

p75NGFR ekspresē epidermas bazālā slāņa šūnās. Tādējādi nervu augšanas faktors un minētais receptors darbojas kā autokrīna sistēma, kas regulē šūnu proliferāciju un diferenciāciju (Di Marco et al., 1993; Pincelli and Marconi, 2000). Ādas, plaušu un konjunktīvas fibroblasti ekspresē NGFR tikai ilgstošas NGF iedarbības rezultātā, tādējādi atkal demonstrējot parakrīno/autokrīno faktora efektu (Micera et al., 2003).

Cilvēka B limfocīti ekspresē NGFR, un tam ir būtiska strukturāla līdzība ar citām minētā limfocītu tipa specifiskām virsmas molekulām – CD40 (Brodie and Gelfand, 1992; Brodie and Gelfand, 1994; Torcia et al., 1996).

Publicēti dati par p75NGFR ekspresiju limfātisko folikulu dendrītiskajās šūnās, mioepiteliālajās šūnās, mata folikula šūnās, mutes dobuma gļotādas bazālajos epiteliocītos, kā arī perivaskulārās šūnās un pulpas šūnās (Thompson et al., 1989; Reis-Filho et al., 2006).

Interesanti un nereti pretrunīgi ir dažādu zinātnieku grupu secinājumi par minēto receptoru un apoptozi. Ir dokumentēts, ka p75NGFR inducē nervu šūnu apoptozi NGF trūkuma gadījumā (Rabizadeh et al., 1993; Rabizadeh et al., 1994). Arī Johnston (Johnston et al., 2007) atzīst, ka šis receptors dažādos apstākļos var ne tikai veicināt vai nomākt programmētu nervu šūnu nāvi, bet arī stimulējoši vai kavējoši iedarboties uz aksona augšanu (Johnston et al., 2007). Arī Schor ziņo, ka NGFR noteiktās sistēmās pats inducē apoptozi, bet, saistoties ar NGF, novērš to, savukārt citās sistēmās faktora–receptora komplekss ir proapoptotisks (Schor, 2005).

2.2.4. Transformējošais augšanas faktors beta TGFβ

Transformējošais augšanas faktors beta (TGFβ) ir multifunkcionāls citokīns, kuram ir būtiska nozīme gan embrionālās attīstības laikā, gan audu reģenerācijas un homeostāzes procesā (Border and Ruoslahti, 1992). Tas nosaka normālu mutes dobuma struktūru attīstību (Bodo et al., 1999) un tieši ietekmē sekundāro aukslēju attīstību (Greene and Pisano, 2004).

Izpētot astoņus līdz 13 nedēļas vecus cilvēkā embrijus, Britto ar zinātnieku grupu (Britto et al., 2002) demonstrē TGFβ ekspresiju nākošā mutes dobuma audos. Kā apstiprinājums tam seko 2005. gadā publicēts raksts par augšanas faktoru un signālproteīnu nozīmi galvaskausa un sejas attīstībā, kurā demonstrēta minētā augšanas faktora ekspresija vidussuves epitēlijā un skaidrota tā nozīme zīdītāju aukslēju attīstībā (Spears and Svoboda, 2005). Pelēm TGFβ gēna trūkums 60% izraisa mirstību jau embrionālās attīstības laikā, kuras pamatā ir defektīva

dzeltenuma pūšļa vaskuloģenēze un hematopoēze. Pārējos gadījumos dzīvnieki piedzimst, bet galvenokārt četru nedēļu laikā mirst, turklāt pēc dzimšanas tiem atrod iekaisuma šūnu infiltrāciju lielā daļā orgānu (Flanders and Burmester, 2003).

Pastāv vismaz piecas TGF β izoformas: TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3, TGF β 4, TGF β 5, bet zīdītājiem ir konstatētas tikai trīs, no kurām dominējošā ir TGF β 1 jeb TGF β (Howe, 2003; Chin et al., 2004). TGF β saimes locekļu peptīdu struktūras ir ļoti līdzīgas (Howe, 2003). TGF β ir piederīgi TGF β supersaimei, kurā vēl ietilpst aktivīns, inhibīns, kaula morfoģenētiskais proteīns un miostatīns (Kiritsy et al., 1993; Piek et al., 1999; Prime et al., 2004). TGF β 3 ietekmē epitēlija un mezenhīmas transformāciju aukslēju un lūpu veidošanās procesā, un peles embrijam šķeltnes korekcijas laikā tas veicina mezenhīmas šūnu proliferāciju un migrāciju uz traumēto vietu gan *in utero*, gan *ex vivo* pētījumos (Kohama et al., 2002).

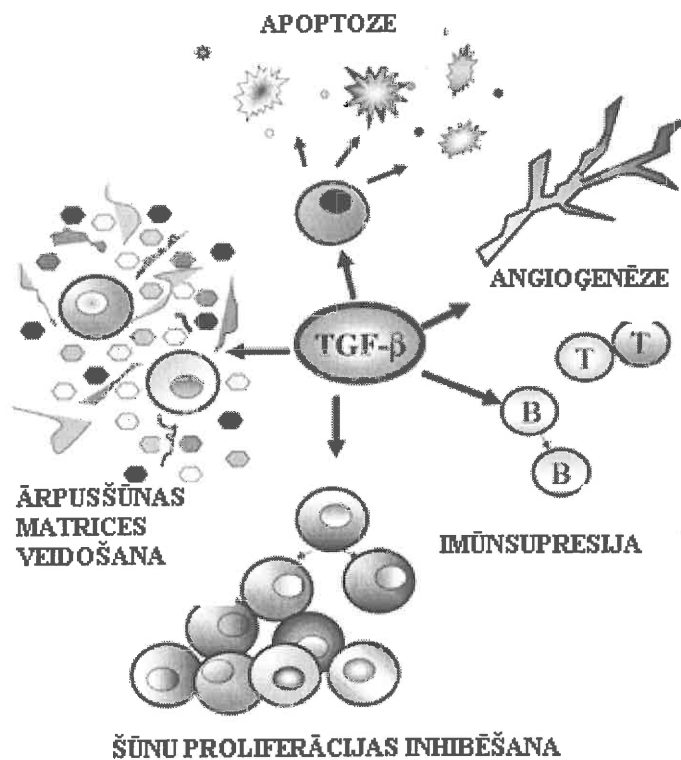
Praktiski visas šūnas sintezē TGF β un ekspresē TGF β receptorus (Hicks et al., 1999). TGF β tiek sintezēts lielmolekulāra priekšteča jeb proproteīna formā, kuru veido 390 – 414 aminoskābes (Verrecchia and Mauviel, 2002; Faler et al., 2006). Goldži kompleksā endoproteāze to sašķel nobriedušā TGF β un īpašā proteīnā, kurš novērš minētā augšanas faktora piesaisti receptoriem, turklāt šādi latentie kompleksi ir ķīmiski stabilāki nekā bioaktīvs TGF β (Piek et al., 1999; Blobe et al., 2000). Latentā TGF β aktivāciju nodrošina plazmīns un tam līdzīgās proteāzes, kas nošķel proteīnu (Piek et al., 1999; Flanders and Burmester, 2003). Pēc bioloģiski aktīva TGF β izveidošanās to piesaista dažādi ekstracelulārās matricē proteīni un modificē tā funkcijas (Piek et al., 1999).

TGF β ir tipiski sekretorie proteīni. Tie saistoties aktivē šūnas virsmā lokalizētos serīna/treonīnāzes receptorus, kuri izraisa kodolā esošu Smad proteīnu fosforilāciju. Rezultātā notiek Smad un citu DNS-saistošo proteīnu mijiedarbība, kas regulē specifisku gēnu transkripciju (Howe, 2003).

TGF β ir multifunkcionāls polipeptīds, un atkarībā no šūnu specifikas tas stimulē vai inhibē proliferāciju, regulē ekstracelulārās matricē sintēzi un remodelēšanos (Hicks et al., 1999). Tā efekti atkarīgi no šūnu diferenciācijas pakāpes un citu augšanas faktoru klātbūtnes vai trūkuma (Issa et al., 2006). TGF β darbojas autokrīni, parakrīni un endokrīni (Wyatt et al., 2007). Minētais faktors regulē hematopoēzi, angiogēzi, imūnos procesus un apoptozes indukciju (2. att.) (Piek et al., 1999; Schuster and Krieglstein, 2002; Prime et al., 2004).

Pretrunīgi ir dati par TGF β un apoptozi. Minētais augšanas faktors ir citokīns, kas atkarībā no šūnu tipa un celulārā konteksta stimulē vai kavē apoptozi. Tas aizsargā keratinocītus no DNS fragmentācijas un šūnu nāves pēc adhēzijas molekulu izzušanas, inhibē apoptozi neirālas

izcelsmes šūnās, bet inducē nenobriedušos B limfocītos (Howe, 2003). TGF β cilvēka aortas sieniņā izsauc masīvu gludo miocītu nāvi un inducē apoptozi cāļa tīklenes un spinālajos neurocītos (Schuster and Krieglstein, 2002; Wang et al., 2007).



2. attēls. TGF β funkcijas (Prime et al., 2004).

TGF β producē visi leukocīti (Branton and Kopp, 1999; Blobel et al., 2000). Tas ne tikai veicina leukocītu diferenciāciju un sekmē vaskulārā endoteliālā augšanas faktora (VEGF) sintēzi, bet arī pastiprina bFGF efektus. Minētais peptīds modulē limfocītu, makrofāgu un dendrītisko šūnu proliferāciju: inhibē T un B limfocītu veidošanos, inhibē lielā audu saderības kompleksa otrās klases molekulu (MHCII) ekspresiju (Prime et al., 2004; Horwitz, 2006).

TGF β stimulē osteoblastu proliferāciju un diferenciāciju, bet inhibē osteoklastu veidošanos un to aktivitāti (Mundy, 1991). Lai arī minēto augšanas faktoru sintezē praktiski visas šūnas, tomēr lielākais tā daudzums ir tieši kaulaudos un skrimšļaudos, kur to sintezē osteoblasti un hondroblasti (Branton and Kopp, 1999; Issa et al., 2006). Arī Centrella ar kolēģiem (Centrella et al., 1988) ziņo, ka kauls ir galvenais TGF β rezervuārs. Faktors stimulē II tipa kolagēna sintēzi mezenhīmas šūnās, bet nomāc diferencētu hondrocītu kultūrās, tādējādi ietekmējot

skrimšļa un kaula agrīnās attīstības stadijas, kā arī regulējot hondrocītu proliferāciju un diferenciaciju (Carinci et al., 2007).

Patreiz īpaši tiek pētīta TGFβ nozīme brūču dzīšanas procesos, kur konstatēta ievērojami paaugstināta tā koncentrācija. TGFβ ir cieši saistīts ar audu fibrozes veidošanos gan normālu reģenerācijas procesu norisē, gan arī dažādu slimību gadījumos (Border et al., 1994; Eickelberg, 2001). TGFβ aktīvi darbojas audu dzīšanas procesos. Audu bojājuma gadījumā tas izdalās asins plātnišu degranulācijas ceļā, veicina iekaisuma šūnu – leukocītu un makrofāgu migrāciju un sekmē šīs šūnas producēt vairāk TGFβ, kā arī kontrolē ielaisuma mediatoru sintēzi (Border and Ruoslahti, 1992; Faler et al., 2006). TGFβ inducē fibroblastu proliferāciju un ekstracelulārās matricēs komponentu sintēzi, tādējādi veicinot rētaudu veidošanos (Border and Ruoslahti, 1992; Schrementi et al., 2008).

Interesanti ir 2007. gadā publicēta pētījuma rezultāti, kuros zinātnieki apraksta TGFβ1 un NGF atradni zoba pulpas audos to bojājuma gadījumā, un domā, ka TGF regulē NGF ekspresiju (Yongchaitrakul and Pavasant, 2007). Abus minētos citokīnus atrod siekalās (Zelles et al., 1995)

2.3. Barx1 gēns

Barx1 pieder pie *homebox* gēnu saimes un ir plaši izplatīts tajos orgānos, kuru attīstības procesos notiek epitēlijaudu un mezenhīmas savstarpēja mijiedarbība. Peles embrionālās attīstības laikā nozīmīgu Barx1 ekspresiju novēro noteiktos galvas un kakla mezenhīmas rajonos un līdz brīdim, kad sākas šūnu histodiferenciacija. To redz aukšžokļa krokās laterāli ap primāro mutes dobumu. Izteikti spēcīgu pozitīvu reakciju redz zoba kārpīnā un aukslēju aizmetņos. Šī atradne norāda uz Barx1 gēna tiešu saistību ar šķeltnu veidošanos un zobu attīstības traucējumiem. Turklāt interesants ir fakts, ka minētā gēna ekspresiju novēro tieši molāru, bet ne incisīvu attīstības laikā (Tissier-Seta et al., 1995; Mitsiadis et al., 1998; Mitsiadis and Drouin, 2008).

Barx1 ekspresē peles kuņģa aizmetņa mezenhīma (Miletich et al., 2005). Minētā zinātnieku grupa secina, ka tieši šī gēna ietekmē notiek kuņģa epitēlija diferenciacija. Arī Kims un līdzautori (Kim et al., 2005) publicē datus, kuros pierāda minētā gēna nozīmi kuņģa epitēlija attīstībā. Zināms, ka gēna trūkums izraisa nepareizu liesas attīstību, kuras attīstības avots ir ap kuņģi esošā mezenhīma (Kim et al., 2007).

Barx1 ekspresiju novēro peles centrālās un perifērās nervu sistēmas, kā arī cāļa ekstremitāšu aizmetņos (Jones et al., 1997; Church et al., 2005). Turklāt arī cālim minēto gēnu ekspresē

mutes dobuma aukšžokļa un apakšžokļa aizmetņu epitēlijs un mezenhīma pēc nervu kores šūnu migrācijas uz žaunu lokiem, un to kontrolē FGF (Barlow et al., 1999).

Cilvēka Barx1 gēnam ir 91% strukturāla līdzība ar peles un 89% ar cāļa Barx1gēnu aminoskābju līmenī (Gould and Walter, 2000). Embrionālās attīstības laikā minēto gēnu ekspresē sejas un mutes dobuma apakšžokļa ektomezenhīma dažādās aizmetņu vietās, kas liecina par tā nozīmi šī reģiona attīstībā (Mina, 2001; Greene and Pisano, 2004). Pastāv uzskats, ka Barx1 piedalās šūnu adhēzijas molekulu regulēšanā (Edelman et al., 2000).

2.4. Proteīngēnviela 9.5

Proteīngēnviela 9,5 (PGP 9.5) ir 27 kDa proteīns, kurš pirmo reizi tika izolēts no smadzeņu audiem (Campbell et al., 2003). Tas ir lielākais neironu citoplazmas komponents gan centrālajā, gan perifērajā sistēmā, un ir plaši atrodama difūzās neuroendokrīnās sistēmas (DNES) šūnās (Thompson et al., 1983; Lauweryns and Van Ranst, 1988). Tā iekrāso visu veidu nervu elementus labāk par citiem neuroendokrīnās sistēmas marķieriem (Howarth et al., 1995). Nelielos daudzumos minēto proteīnu atrod arī olnīcās, sēkliniekā, sinoviālajās membrānās un nierēs (Diomedi-Camassei et al., 2005).

Literatūrā atrodami dati par dažādu neuropeptīdu atradni un lokalizāciju mutes dobuma gļotādā. Ar imūnhistoķīmijas metodēm ir noteiktas vazoaktīvo intestinālo peptīdu (VIP), helospektīnu, neuropeptīdu Y, P vielas un kalcitonīngēnam radniecīgo peptīdu (KGRP) saturošas nervšķiedras cilvēka mīksto aukslēju gļotādā, kuras veido blīvu tīklojumu ap dziedzeru sekretorajām daļām, to izvadiem un asinsvadiem, kā arī epitēlijā un subepitēlijā (Hauser-Kronberger et al., 1995). Kopumā šiem neuropeptīdiem ir regulatora nozīme asinsvadu tonusa, sekrēcijas, nocicepcijas un imūno procesu nodrošināšanā. Tā KGRP darbojas kā asinsvadu sašaurinātājs, bet VIP ne tikai atslābina gludo muskulatūru un ietekmē siekalu sekrēciju, bet arī modulē imūnās reakcijas, jo regulē gan pretiekaisuma, gan iekaisumu veicinošu citokīnu veidošanos. Dažādus neuropeptīdus saturošas nervu šķiedras ir atrodamas vesela cilvēka smaganu un periodonta audos, un to daudzums pieaug mutes dobuma iekaisumu gadījumos (Lundy and Linden, 2004).

Kato ar kolēģiem 1998. gadā publicē pētījuma rezultātus, kuros apraksta DNES struktūras žurku mutes dobuma gļotādā uz cieto un mīksto aukslēju robežas (Kato et al., 1998). Zinātnieki konstatē bagātīgu PGP 9.5 saturošo nervšķiedru daudzumu. Cita japāņu pētnieku grupa, arī lietojot minēto DNES marķieri, 2000. gadā konstatē bagātīgu inervāciju un nervgaļus visos žurku cieto aukslēju rajonos (Mitsui et al., 2000).

1994. gadā zviedru zinātnieku grupa imūnhistoķīmiski analizē veselu cilvēku vaigu gļotādu, un novēro PGP 9.5 imūnreaktīvas nervu šķiedras un nervu šķiedru kūlīšus ap asinsvadiem, muskuļiem un dziedzeriem (Hilliges et al., 1994). Turklāt minēto pētnieku publikācijā atrodamas ziņas par bagātīgu neuropeptīdu atradni cilvēka smaganu audos. 1996. gadā zinātniece Hilliges ar autoru kolektīvu analizē PGP 9.5 cilvēka gļotādas biopsijās no dažādām mutes dobuma vietām, novēro imūnreaktīvas struktūras praktiski visos paraugos un konstatē arī reģionālas atšķirības (Hilliges et al., 1996). Ziņots, ka dažādus neuropeptīdus, tai skaitā arī PGP 9.5 saturošs nervu šķiedru tīklojums atrodams arī cilvēka mīkstajās aukslējās (Albegger et al., 1991). Tas sakrīt ar citiem datiem par bagātīgu PGP 9.5 imūnreaktivitāti dažādos mutes dobuma gļotādas reģionos (Fantini et al., 1995). Tādējādi fakti liecina, ka kopumā mutes dobuma gļotāda ir labi inervēta.

PGP 9.5 ekspresē fibroblasti cilvēka ādas dzīšanas laikā. PGP 9.5 ir ubikvitīna sistēmas enzīms – ubikvitīna karboksiterminālhidrolāze (Wilkinson et al., 1989). Ubikvitīns ir no 76 aminoskābēm sastāvošs, filoģenētiski sens un stabils proteīns, kurām ir ne tikai būtiska nozīme olbaltumu degradēšanā, bet arī ar to saistītā šūnas cikla kontrolē. Turklāt, tam ir būtiska nozīme arī FGF–FGFR kompleksu degradācijā (Olerud et al., 1998).

Interesanti, ka daudz PGP 9.5 saturošas nervu šķiedras atrod jaundzimušas peles ceļa skrimšļa perihondra iekšējā daļā (Oliva et al., 2005), bet dati par cilvēku nav atrodami mums pieejamajā literatūrā.

2.5. Apoptoze

Apoptoze ir iepriekš programmēta un vairumā gadījumu normālos fizioloģiskos apstākļos eksistējošu pieauguša cilvēka un embrija šūnu nāve. Pieauguša cilvēka organismā apoptozi bieži novēro šūnās, kas nepārtraukti atjaunojas, piemēram, ādas epidermas keratinocītos (Zalcmane un Groma, 2004). Lai arī termins apoptoze pirmo reizi tika definēts 1972. gadā (Kerr et al., 1972), plašāku interesi tas izraisījis tikai pēdējos gados. Apoptoze ir nepieciešama gan embrionālās attīstības laikā, gan arī nobrieduša organisma šūnu populāciju homeostāzes nodrošināšanā. Tā intensificējas audu un orgānu atrofijas gadījumos un ir daudzu patoloģisku procesu sastāvdaļa (Ameisen, 2002).

Lai arī joprojām diskutabls ir jautājums par procesiem, kuri norisinās aukslēju aizmetņu saplūšanas laikā un ir tieši saistīti ar vidusšuves epitēlija šūnu likteni, apoptoze tomēr ir ļoti būtiska sekundāro aukslēju veidošanās laikā. Pilnīgs vai daļējs apoptozes trūkums var būt par cēloni dažādu šķeltnu izveidē (Burdī, 2006). Arī pēdējo gadu publikācijās ir akcentēta

programmēta šūnu nāve galvas sejas un mutes dobuma struktūru embrionālās attīstības laikā. To kā būtisku atzīst un imūnhistoķīmiski pierāda zinātnieku kolektīvs no Vācijas, analizējot žurku embriju zoda, vaigu un deguna-asaru vada attīstību. Viņi secina, ka sejas embrionālas attīstības pamatā ir precīzi koordinēta un saskaņota epitēlija apoptoze un mezenhīmas proliferācija (Lotz et al., 2006). Cita pētnieku grupa, detalizētāk pētot TGFβ3 nozīmi aukslēju attīstībā, atzīst šeit apoptozi kā neiztrūkstošu procesu (Ahmed et al., 2007).

Apoptozes agrīno fāzi raksturo šūnu nāvi ierosinošs signāls. Tas var būt ārējs, ar šūnas virsmas receptoriem saistīts, vai iekšējs – medikamentu, toksīnu vai radiācijas radīts. Nākošā fāze ietver signāla pārvadi. Efektorās jeb trešējās fāzes pamatā ir noteiktu proteāžu aktivācija, bet ceturtajā fāzē notiek hromatīna kondensācija un DNS degradācija (Vaux and Strasser, 1996). Zināms, ka vadošais apoptozes regulators ir intracelulārā proteāze kaspāze (Bantel et al., 2005).

Apoptozes morfoloģiskās pazīmes novēro galvenokārt šūnas kodolā. Hromatīns kondensējas perifērijā zem kodola membrānas, un kodols var fragmentēties. Mitohondriji cenšas saglabāt normālo struktūru. Šūna zaudē šūnu kontaktus, tajās veidojas dziļi virsmas iedobumi, kas noved pie šūnas fragmentācijas ar membrānā ietvertiem apoptotisko ķermenīšu veidojumiem. Apoptotiskos ķermenīšus fagocitē makrofāgi vai citas blakus esošas šūnas. Turklār, apoptoze nekādā gadījumā nesaistās ar iekaisuma reakcijām (Kaku and Abiko, 1997).

Mutes dobumu izklāj daudzkārtains plakans epitēlijs, kurā novēro reģionālas atšķirības. Smaganu epitēlijs dzīvo 41 – 57 dienas, bet vaigu epitēlijs apmēram 25. Mutes dobuma epitēlija nepārtrauktu atjaunošanos nodrošina bazālo šūnu mitotiska dalīšanās un pakāpeniska diferencēšanās. Diferenciācijas gaitā to kodols saplacinās un notiek šūnu deskvamācija. Deskvamācija ir ieprogrammēts process, bet tā norisē tipiskas apoptozes pazīmes nenovēro. Tomēr bazālie keratinocīti producē no kalcija atkarīgo endonukleāzi, kura, aktivējoties graudainajā slānī, šķel kodola DNS. Arī nobriedušos galvaskausa kaulos notiek nemitīga pārbūve, kuru nodrošina osteoblasti un osteoklasti. Tādējādi tas ir dinamisks process, kura pamatā ir šūnu proliferācija un programmēta šūnu nāve (Kaku and Abiko, 1997).

Programmēta šūnu nāve ir neiztrūkstoša mutes dobuma audu dzišanas un reģenerācijas procesā, īpaši, remodelēšanās fāzē, jo līdzsvaro neatbilstību starp šūnu proliferācijas palielināšanos un hiperplāzijas trūkumu (Kaku and Abiko, 1997). Lai arī pilnībā apoptozes indukcijas mehānismi šajā gadījumā nav izpētīti, tomēr kā veicinoši faktori minēti FGF un TGFβ (Von den Hoff et al., 2006). TGFβ inducē limfocītu, gludo miocītu un nervu sistēmas šūnu apoptozi (Schuster and Kriegstein, 2002).

2.6. Ādas un gļotādas dzīšana un augšanas faktori

Ķirurģiskas ievainojuma vai traumas rezultātā veidojas rētaudi, kā rezultātā normāli audi tiek aizvietoti ar ekstracelulāro matrici, kuru galvenokārt veido fibronektīns, I un III veida kolagēns (Ferguson and O'Kane, 2004). Audu dzīšana un rētaudu veidošanās ir divi galvenie procesi, kas izraisa sejas audu augšanas traucējumus pēc šķeltņu korekcijām (Von den Hoff et al., 2006). No otras puses, zināms, ka bērnu ar šķeltnēm aukslēju gļotādas audu reģenerācijas iespējas *in vitro* apstākļos ir identiskas kā bērniem bez šķeltnēm (Liu et al., 2008).

Audu dzīšanu iedala trīs fāzēs: iekaisuma, proliferācijas un remodelēšanās fāzēs (Von den Hoff et al., 2006).

2.6.1. Iekaisuma fāze

Iekaisuma fāze sākas tūlīt pēc audu ievainojuma, kura rezultātā sākas asiņošana, un ilgst dažas dienas. Asins šūnas saskaras ar subendotēlijā esošo kolagēnu, un šis process stimulē koagulāciju un dažādu citokīnu izdalīšanos no asins plātnītēm, endoteliocītiem un fibroblastiem (Faler et al., 2006). Tieši asins plātnītes ir augšanas faktoru krātuve, un pēc izdalīšanās šīs bioloģiski aktīvās vielas ietekmē iekaisuma šūnu, īpaši neitrofilo leukocītu un makrofāgu darbību (Von den Hoff et al., 2006). Paralēli citokīni veicina asinsvadu sašaurināšanos un leukocītu adhēzijas molekulu jeb integrīnu ekspresiju, kura sekmē to migrāciju ekstracelulārajā matricē. Migrācijas laikā leukocīti producē iekaisuma citokīnus un proteāzes (Faler et al., 2006). Veidojas asinsreklis, kurš nodrošina homeostāzi un sagatavo ekstracelulāro matrici šūnu migrācijai (Singer and Clark, 1999). Vienlaicīgi arī parenhīmas šūnās norit vazoaktīvu mediatoru, koagulācijas un hemotaksisku faktoru veidošana, kas veicina leukocītu kustību audos (Faler et al., 2006).

Zināms, ka ievainojuma brīdī asins plātnītes atbrīvo α granulās lokalizēto TGF β (Schrementi et al., 2008). Tas veicina monocītu infiltrāciju un transformāciju pēc saskares ar ekstracelulāro matrici, stimulē fagocitozi un granulācijas audu veidošanos. Minētās šūnas ekspresē koloniju stimulējošo faktoru, kurš autokrīni sekmē to izdzīvošanu, kā arī citus augšanas faktorus, to skaitā arī TGF β un bFGF (Faler et al., 2006; Singer and Clark, 1999). TGF β darbojas autokrīni un parakrīni, veicinot iekaisuma šūnu kustību audos un paša faktora ekspresiju (Schrementi et al., 2008).

2.6.2. Proliferācijas fāze

Proliferācijas fāzi raksturo reepitelizācija, ekstracelulārās matricēs komponentu akumulācija un angiogēnēze (Faler et al., 2006). Jauna stroma un granulācijas audi aizpilda bojāto vietu jau pēc četrām dienām. Šeit atceļo monocīti un makrofāgi, sākas šūnu proliferācija un ekstracelulārās matricēs komponentu sintēze, veidojas jauni asinsvadi, kuri apgādā audus ar skābekli. Turklāt jaunizveidoto audu strukturālās molekulas – fibronektīns, fibrīns, hialuronskābe ir labvēlīga vide un ceļš šūnu migrācijai (Singer and Clark, 1999).

Brūces malās esošie keratinocīti zaudē šūnu kontaktus, proliferē un migrē (Von den Hoff et al., 2006). Šūnās novēro fenotipiskas izmaiņas, tai skaitā arī aktīva filamentu veidošanos perifērijā. Epidermas šūnas ekspresē integrīna receptorus, kuri rada iespēju tām sadarboties ar ekstracelulārās matricēs proteīniem – vitronektīnu un fibronektīnu, kuri atrodas starp I tipa kolagēnu. Vienlaicīgi epidermas šūnas ražo kolagenāzi, kas degradē ekstracelulāro matrici un pieļauj šūnu migrāciju, kā arī producē plazminogēna aktivatoru, kas aktivē plazmīnu un kolagenāzes. Laikā, kad reepitelizācija beidzas, epidermas šūnas atgūst iepriekšējo fenotipu un nostiprinās pie bazālās membrānas (Singer and Clark, 1999). Vienlaicīgi notiek arī fibroblastu proliferācija un migrācija, kuru nodrošina integrīnu ekspresija. Fibroblasti producē ekstracelulārās matricēs komponentus – III tipa kolagēnu un fibronektīnu, bet neražo elastīnu (Faler et al., 2006). Minētās norises audos regulē lokāli augšanas faktori, tai skaitā arī FGF un TGFβ (Von den Hoff et al., 2006). Jāatzīmē, ka ziņas par TGFβ ietekmi uz keratinocītu proliferāciju ir pretrunīgas. *In vitro* apstākļos minētais peptīds sekmē šūnu migrāciju, bet nomāc proliferāciju, bet *in vivo* rezultāti ir dažādi (Faler et al., 2006).

Dzīšanas fāzes laikā notiek arī jaunu asinsvadu veidošanās jeb angiogēnēze. Galvenie faktori, kas to veicina, ir bFGF, TGFβ un vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF) (Singer and Clark, 1999; Presta et al., 2005). Minētais process ietver endoteliocītu migrāciju un proliferāciju (Faler et al., 2006). Makrofāgi pēc audu bojājuma atbrīvo bFGF. Minētā augšanas faktora ietekmē notiek asinsvadu bazālās membrānas degradācija (Singer and Clark, 1999). Bāziskais FGF kopā ar TGFβ veicina membrānu receptoru – integrīnu ekspresiju endoteliocītu šūnās, kas regulē to un ekstracelulārās matricēs proteīnu (fibronektīna, laminīna, kolagēna) mijiedarbību. Integrīni darbojas kā adhēziju veicinoši signāli endoteliocītu proliferācijas, migrācijas un invāzijas laikā saistīties ar fibronektīnu un ieeļot ekstracelulārajā matricē (Ensoli et al., 2003; Faler et al., 2006). Interesanti, ka TGFβ veicina VEGF veidošanos un bFGF funkcijas, bet inhibē endoteliocītu migrāciju, tādējādi nodrošinot

asiņsvadu tīklojuma integritāti (Prime et al., 2004). Savukārt, NGF veicina endoteliocītu proliferāciju vistas embrijos un žurkas aortas modelī (Micera et al., 2003).

2.6.3. Remodelēšanās fāze

Remodelēšanās fāze sākas vienu nedēļu pēc ievainojuma un to raksturo ekstracelulārās matricē reorganizācija. Tās laikā notiek fibroblastu diferenciācija miofibroblastos. Tās ir šūnas, kas ekspresē gludo miofibrīnu un rezultātā veic brūces kontrakciju (Faler et al., 2006). MMP degradē III tipa kolagēnu, bet deponējas I tipa kolagēns. Nobeigumā fibroblastu un endoteliocītu daudzums samazinās apoptozes ceļā (Von den Hoff et al., 2006). Kā vadošais regulators minētajos procesos darbojas TGF β (Singer and Clark, 1999).

Liels TGF β daudzums izraisa disregulāciju dzīšanas procesa laikā, kuras rezultātā veidojas ar kolagēnu bagāti acelulāri rētaudi un keloīdi (Singer and Clark, 1999; Chin et al., 2004). Palielināts minēta faktora daudzums minēts kā cēlonis arī dzīvnieku nieru, plaušu un aknu fibrozēm (Blobe et al., 2000).

Zināms, ka arī NGF līdzdarbojas dzīšanas noslēguma fāzē. Tas ietekmē cilvēka ādas fibroblastu migrāciju un diferenciāciju miofibroblastos (Micera et al., 2003).

2.6.4. Dažādu brūču dzīšanas atšķirības

Zināms, ka mutes dobuma brūces dzīst ātrāk nekā ādas ievainojumi un norit ar mazāku rētaudu veidošanos (Von den Hoff et al., 2006). Mutes dobuma gļotādai ir tiešs kontakts ar siekalām, kuras satur vairākus augšanas faktoros - NGF, TGF β , bFGF (Kagami et al., 2000). Mutes dobuma gļotādas un ādas fibroblasti ir fenotipiski atšķirīgas šūnas. Turklāt tajās, līdzīgi kā augļa brūcēs, ir mazāks iekaisumu un fibrozi veicinošo citokīnu līmenis (Von den Hoff et al., 2006). Augļa āda, savukārt, dzīst neveidojot rētaudus, un tajā novēro reducētas iekaisuma un neovaskularizācijas pazīmes (Cowin et al., 2001).

Pastāv uzskats, ka embrija brūces dzīst ātrāk, jo tās apskalo amnija šķidrums, kas ir sterīls, ar hialuronskābi un augšanas faktoriem bagāta vide (Adzick and Lorenz, 1994). Turklāt auglim ir primitīvāki fibroblasti un brūces novēro reducētu iekaisuma šūnu daudzumu (Ferguson and O'Kane, 2004). Minētajiem pieņēmumiem piekrīt arī citi zinātnieki 2005. gada publikācijā par mutes dobuma aukslēju dzīšanu (Van Beurden et al., 2005).

1988. gadā Krummels ar kolēģiem publicē rakstu par TGF β efektiem truša embriju ādā (Krummel et al., 1988). Ievietojot ar minēto faktoru piesūcinātus zemādas implantus un vēlāk

histoloģiski izpētot audus, tiek novērota fibroblastu un kolagēna akumulācija. Arī 1994. gadā publicētajā pētījumā ziņots, ka eksogēni pievienots TGFβ veicina rētaudu veidošanos gan augļa, gan nobriedušā organismā (Addzick and Lorenz, 1994). Transplantējot nobriedušas aitas ādu embrijam, minētie zinātnieki novēro rētaudu veidošanos. TGFβ atrod jaundzimušas un pieaugušas peles, bet nenovēro peles embrija brūcēs (Strutz et al., 2000). Daži zinātnieki gan novēro TGFβ ekspresiju dažos embrija brūces malās lokalizētos fibroblastos un iekaisuma šūnās, bet secina, ka salīdzinājumā ar atradni nobriedušā organismā, to daudzums ir niecīgs (Cowin et al., 2001). Citi apstiprina, ka embrija audos ir zemāks minētā faktora līmenis un, pievienojot eksogēnu TGFβ, arī auglim veidojas rētaudi (Szpaderska et al., 2003). Līdzīgus secinājumus publicē arī zinātnieku grupa no Ķīnas, izpētot TGFβ cilvēka embrija ādas biopsijas, kuras tika iegūtas spontāna aborta laikā, un salīdzinot datus ar atradni nobrieduša cilvēka ādā (Chen et al., 2005). Savukārt, eksperimentos ar dzīvniekiem konstatēts, ka, pievienojot TGFβ neutralizējošu antivielu neilgi pēc audu bojājuma, tiek novērsta rētaudu veidošanās (Ferguson and O’Kane, 2004). Tādējādi fibrotisku un ar kolagēnu bagātu rētaudu patoģenēzē vadošā nozīme ir TGFβ.

Amerikāņu zinātnieku grupa konstatē, ka mutes dobuma brūces satur zemāku minētā augšanas faktora līmeni nekā ādas brūces, tās dzīst ātrāk un praktiski neveido rētaudus (Schrementi et al., 2008).

3. MATERIĀLS UN METODEDES

3.1. Izmeklējamais materiāls

Materiāla savākšana tika veikta Rīgas Stradiņa Universitātes Stomatoloģijas institūta lūpu, aukslēju un sejas šķeltnu centrā laika posmā no 2003. līdz 2006.gadam. Savāktais materiāls tika apstrādāts Rīgas Stradiņa Universitātes Anatomijas un Antropoloģijas Institūta morfoloģijas laboratorijā, kur arī tika veiktas rutīnās histoloģijas un imūnhistoķīmijas metodes.

3.1.1. Pacientu materiāls un iedalījums grupās

Pētījumā tika iekļauti 52 pacienti ar lūpas un aukslēju šķeltnēm vecumā no trīs mēnešiem līdz 12 gadiem un sešiem mēnešiem. 37 bērniem bija viļņpusējas lūpas un aukslēju šķeltnes, bet 15 bērniem – divpusējas lūpas un aukslēju šķeltnes. Atkarībā no vecuma un diagnozes pacienti tika sadalīti četrās grupās:

1. grupa: zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar viļņpusējam lūpas un aukslēju šķeltnēm,
2. grupa: bērni ar maiņas sakodienu ar viļņpusējam lūpas un aukslēju šķeltnēm,
3. grupa: zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar divpusējam lūpas un aukslēju šķeltnēm,
4. grupa: bērni ar maiņas sakodienu ar divpusējam lūpas un aukslēju šķeltnēm.

3.1.1.1. Pirmās pacientu grupas - zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu ar viļņpusējam lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums

Pirmajā pacientu grupā tika iekļauti 15 zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar viļņpusējam lūpas un aukslēju šķeltnēm vecumā no trīs mēnešiem līdz četriem gadiem un astoņiem mēnešiem. No tiem 9 bija meitenes, bet 6 zēni. Sešiem bērniem materiāls tika paņemts lūpas primārās plastikas laikā, trijiem – mīksto aukslēju primārās plastikas, trijiem – mīksto un cieto aukslēju primārās plastikas, diviem – cieto aukslēju plastikas un vienam – piena zoba ekstrakcijas laikā.

Septiņiem šīs grupas pacientiem tika veiktas atkārtotas plastiskas ķirurģiskas korekcijas. No tiem – trijiem materiāls tika paņemts mīksto aukslēju primārās plastikas laikā, diviem – lūpas

primārās plastikas, vienam – cieto un vēl vienam – mīksto un cieto aukslēju primārās plastikas laikā. Sīkāka informācija par pacientiem apskatāma 1. tabulā.

1. tabula. Informācija par 1. grupas pacientiem.

N°	Dzimums	Materiāla šifrs	Bērna vecums materiāla ņemšanas laikā (gados, mēnešos)	Operācija, kuras laikā ņemts materiāls
1	M	73	0 g. 3 mēn.	Lūpas primārā plastika
2	Z	38	0 g. 3 mēn.	Piena zoba ekstrakcija
		46	0 g. 4 mēn.	Lūpas primārā plastika
3	M	149	0 g. 4 mēn.	Lūpas primārā plastika
		178	0 g. 10 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
4	M	52	0 g. 5 mēn.	Lūpas primārā plastika
		80	0 g. 10 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
5	Z	129	0 g. 7 mēn.	Lūpas primārā plastika
		144	0 g. 11 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
6	M	166	0 g. 10 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
		182	1 g. 2 mēn.	Lūpas primārā plastika
7	M	17	1 g. 0 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
8	M	37	1 g. 2 mēn.	Lūpas primārā plastika
		160	3 g. 4 mēn.	Cieto aukslēju primārā plastika
9	Z	59	1 g. 10 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
10	Z	25	2 g. 7 mēn.	Lūpas primārā plastika.
		104	3 g. 9 mēn.	Mīksto un cieto aukslēju primārā plastika
11	M	143	3 g. 5 mēn.	Cieto aukslēju primārā plastika
12	M	119	3 g. 7 mēn.	Cieto aukslēju primārā plastika
13	M	151	3 g. 7 mēn.	Mīksto un cieto aukslēju primārā plastika
14	Z	153	4 g. 3 mēn.	Mīksto un cieto aukslēju primārā plastika
15	M	170	4 g. 8 mēn.	Mīksto un cieto aukslēju primārā plastika

M – meitene; Z – zēns; g – gadi; mēn – mēneši

3.1.1.2. Otrās pacientu grupas - bērnu ar maiņas sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums

Otrajā pacientu grupā tika iekļauti 22 bērni ar maiņas sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm vecumā no pieciem gadiem un 11 mēnešiem līdz 12 gadiem un sešiem mēnešiem. No tiem 10 bija meitenes, bet 12 zēni. 10 bērniem materiāls tika paņemts deguna korekcijas laikā, vēl 10 bērniem – osteoplastikas, vienam – lūpas korekcijas un vienam - mīksto un cieto aukslēju primārās plastikas laikā.

Deviņiem šīs grupas pacientiem tika veiktas atkārtotas plastiskas ķirurģiskas korekcijas. Sešiem materiāls tika paņemts osteoplastikas, bet diviem – deguna korekcijas laikā. Sīkāka informācija par pacientiem atrodama 2. tabulā.

2. tabula. Informācija par 2. grupas pacientiem.

N ^o	Dzimums	Materiāla šifrs	Bērna vecums materiāla ņemšanas laikā (gados, mēnešos)	Operācija, kuras laikā ņemts materiāls
1	M	26	5 g. 11 mēn.	Deguna korekcija
		95	6. g. 10 mēn.	Osteoplastika
2	Z	6	6 g. 1 mēn.	Lūpas korekcija
		92	7 g. 1 mēn.	Osteoplastika
3	Z	93	6 g. 7 mēn.	Deguna korekcija
		146	7 g. 7 mēn.	Osteoplastika
4	Z	127	6 g. 7 mēn.	Deguna korekcija
5	Z	20	6 g. 8 mēn.	Deguna korekcija
		84	7 g. 7 mēn.	Osteoplastika
6	Z	176	6 g. 10 mēn.	Osteoplastika
7	Z	49	7 g. 3 mēn.	Osteoplastika
8	Z	1A	7 g. 6 mēn.	Osteoplastika
9	M	40	8 g. 3 mēn.	Osteoplastika
		97	9 g. 3 mēn.	Deguna korekcija
10	M	50	8 g. 3 mēn.	Deguna korekcija
		123	9 g. 6 mēn.	Osteoplastika
11	M	171	8 g. 8 mēn.	Miksto un cieto aukslēju primāra plastika
12	M	112	9 g. 1 mēn.	Osteoplastika
13	M	10	9 g. 2 mēn.	Osteoplastika
14	M	47	9 g. 6 mēn.	Deguna korekcija
15	Z	21	9 g. 7 mēn.	Deguna korekcija
16	Z	183	9 g. 7 mēn.	Osteoplastika
17	M	83	9 g. 9 mēn.	Deguna korekcija
18	M	8	10 g. 4 mēn.	Osteoplastika
		71	11 g. 1 mēn.	Deguna korekcija
19	Z	19	10 g. 7 mēn.	Osteoplastika
20	Z	155	10 g. 7 mēn.	Osteoplastika
		188	11 g. 6 mēn.	Deguna korekcija
21	Z	74	11 g. 0 mēn.	Deguna korekcija
22	M	64	11 g. 9 mēn.	Deguna korekcija
		113	12 g. 6 mēn.	Osteoplastika.

M – meitene; Z – zēns; g – gadi; mēn – mēneši

3.1.1.3. Trešās pacientu grupas - zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums

Trešajā pacientu grupā tika iekļauti septiņi zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm vecumā no sešiem mēnešiem līdz pieciem gadiem un diviem mēnešiem. No tiem viena bija meitene, bet seši - zēni. Trijiem bērniem materiāls tika paņemts cieto aukslēju primārās plastikas laikā, diviem – lūpas primārās plastikas, vienam – mīksto aukslēju primārās plastikas un vienam – mīksto un cieto aukslēju primārās plastikas laikā.

Diviem šīs grupas pacientiem tika veiktas atkārtotas plastiskas ķirurģiskas korekcijas. No tiem – vienam materiāls tika paņemts mīksto, bet otram – cieto aukslēju primārās plastikas laikā. Sīkāka informācija par pacientiem atrodama 3. tabulā.

3. tabula. Informācija par 3. grupas pacientiem.

N ^o	Dzimums	Materiāla šifrs	Bērna vecums materiāla ņemšanas laikā (gados, mēnešos)	Operācija, kuras laikā ņemts materiāls
1	Z	177	0 g. 6 mēn.	Lūpas primārā plastika
2	Z	168	0 g. 6 mēn.	Lūpas primārā plastika
		187	0 g. 10 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
3	Z	24	0 g. 10 mēn.	Mīksto aukslēju primārā plastika
		180	3 g. 5 mēn.	Cieto aukslēju primārā plastika
4	Z	150	3 g. 5 mēn.	Cieto aukslēju primārā plastika
5	Z	134	3 g. 6 mēn.	Cieto aukslēju primārā plastika
6	Z	81	5 g. 0 mēn.	Cieto aukslēju primārā plastika
7	M	79	5 g. 2 mēn.	Mīksto un cieto aukslēju primārā plastika

M – meitene; Z – zēns; g – gadi; mēn – mēneši

3.1.1.4. Ceturtās pacientu grupas - bērnu ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm raksturojums

Ceturtajā pacientu grupā tika iekļauti astoņi bērni ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm vecumā no sešiem gadiem un četriem mēnešiem līdz 12 gadiem un diviem mēnešiem. No tiem viena bija meitene, bet septiņi zēni. Četriem bērniem materiāls tika paņemts osteoplastikas laikā, trijiem bērniem – deguna korekcijas un vienam – divpusējas primārās lūpas plastikas laikā.

Diviem šīs grupas pacientiem (N^o1, N^o2) tika veiktas atkārtotas plastiskas ķirurģiskas korekcijas, un materiāls tika paņemts osteoplastikas laikā, bet pacientam N^o4 – no labās un kreisās puses šķeltnes rajona. Sīkāka informācija par pacientiem atrodama 4. tabulā.

4. tabula. Informācija par 4. grupas pacientiem.

N ^o	Dzimums	Materiāla šifrs	Bērna vecums materiāla ņemšanas laikā (gados, mēnešos)	Operācija, kuras laikā ņemts materiāls
1	Z	145	6 g. 4 mēn.	Osteoplastika
		172	6 g. 11 mēn.	Osteoplastika
2	Z	3	6 g. 7 mēn.	Deguna korekcija
		141	7 g. 7 mēn.	Osteoplastika
		186	9 g. 6 mēn.	Osteoplastika
3	Z	132	7 g. 1 mēn.	Osteoplastika
4	Z	55L	8 g. 5 mēn.	Primāra lūpas plastika – divpusēja
		55R		
5	Z	185	8 g. 11 mēn.	Osteoplastika
6	Z	100	9 g. 2 mēn.	Deguna korekcija
7	Z	35	9 g. 6 mēn.	Osteoplastika
8	M	125	12 g. 2 mēn.	Deguna korekcija

M – meitene; Z – zēns; g – gadi; mēn – mēneši

3.1.2. Kontroles pacienti

Kontroles materiālu ieguvām no 11 pacientiem sejas un muts dobuma traumu gadījumos un operācijās nesaistītās ar šķeltnēm (5. tabula). Materiāls tika ievākts Rīgas Stradiņa Universitātes Stomatoloģijas institūtā laika posmā 2004. līdz 2006. gadam.

Kontroles grupas pacienti – sešas meitenes un pieci zēni materiāla ņemšanas laikā bija vecumā no astoņiem gadiem un diviem mēnešiem līdz 14 gadiem un pieciem mēnešiem.

5. tabula. Kontroles pacientu raksturojums.

N ^o	Dzimums	Materiāla šifrs	Bērna vecums materiāla ņemšanas laikā (gados, mēnešos)	Operācija, kuras laikā ņemts materiāls
1	M	K10	6 g. 9 mēn.	Zobu ekstrakcija sakarā ar hronisku periodontītu
2	Z	K7	8 g. 2 mēn.	Retinēta virsskaita zobu izņemšana
3	Z	K6	8 g. 9 mēn.	Virsskaita zoba izņemšana

4	M	K8	9 g. 9 mēn.	Retinēta virsskaita zobu izņemšana
5	Z	K5	10 g. 2 mēn.	Retinēta virsskaita zobu izņemšana priekšzobu rajonā
6	M	K1	10 g. 5 mēn.	Retinētu zobu ekstrakcija
7	Z	K11	11 g. 7 mēn.	Retinēts un distopēts d21
8	Z	K2	11 g. 8 mēn.	Trauma
9	M	K9	12 g. 8 mēn.	Odontoma regio d23
10	M	K3	13 g. 8 mēn.	Retinēta d48 akmeņa ekstrakcija
11	M	K4	14 g. 5 mēn.	Retinēta dd 13; 23 atsegšana

M – meitene; Z – zēns; g – gadi; mēn – mēneši

3.2. Izmeklēšanas metodes

3.2.1. Rutīnās histoloģijas metode

No katra šķeltnes pacienta ķirurģisku korekciju laikā iegūtā audu materiāla tika sagatavoti griezumī, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu (Лилли, 1969). Materiāls 24 stundas tika fiksēts Stefanini šķīdumā. Pēc tam preparāts tika atūdeņots un ieguldināts parafīnā. No blokiem tika sagatavoti 5 μm biezi griezumī, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu. Pēc tam preparātus analizēja Leica mikroskopā (x 100, x 240, x 400).

3.2.2. Biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmijas metode un reaktīvi

Augšanas faktoru, augšanas faktoru receptoru, PGP 9.5 un Barx1 gēna noteikšanai lietojām biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmijas metodi (Hsu et al., 1981).

Operācijas materiāls 24 stundas tika fiksēts maisījumā, kurš sastāvēja no 2% formaldehīda un 0.2% pikrīnskābes 0.1 M fosfātu buferī (pH 7.2). Pēc tam audu gabaliņus skaloja 12 stundas tiroīda buferī, kas saturēja 10% saharozes, atūdeņoja, ieguldināja parafīnā, sagrieza, deparafinizēja un dehidratēja. Paraugi tika ievietoti turētājā, ko ievietoja konteinerā ar citrāta buferi. Konteineri ievietoja mikroviļņu krāsnī uz 20 minūtēm. Konteineri ar paraugiem izņēma no krāsnīgas un atdzesēja, pēc tam ievietoja mazgāšanas buferī TRIS. Tika veikta bloķēšana ar 3 % peroksidāzi desmit minūtes. Sekoja skalošana TRIS buferī piecas minūtes.

Tālāk audus apstrādāja ar primārām antivielām (skatīt 6. tabulu):

- bāzisko fibroblastu augšanas faktoru bFGF,
- pirmā fibroblastu augšanas faktora receptoriem FGFR1,
- nervu augšanas faktoru NGF,

- nervu augšanas faktora receptorus NGFR p75,
- transformējošo augšanas faktoru beta TGFβ,
- proteīngēnvielu 9.5 PGP 9.5,
- Barx1 gēnu Barx1 30 minūtes.

Sekoja mazgāšana TRIS buferī piecas minūtes. Pielietojām En Vision (Dako, Dānija) krāsojošo kompleksu 30 minūtes. Lietojām DAB+ (diaminobenzidīnu), kuru noskalojām un griezumus kontrastējām ar hematoksilīnu 2 minūtes. Par imūnozīvētām uzskatīja struktūras, kas ar diaminobenzidīnu krāsojās brūnas.

6. tabula. Dati par imūnhistoķīmijā lietoto antivielu.

N ^o	Faktors	Kods	No kā iegūts	Darba atšķaidījums	Ražotājs
1	bFGF	ab16828	truša	1:200	Abcam, UK
2	FGFR1	ab10646	truša	1:100	Abcam, UK
3	NGF	ab6199	tuša	1:500	Abcam, UK
4	NGFR	M3507	peles	1:150	DakoCytomation, Denmark
5	TGF beta	ab1279	peles	1:1000	Abcam, UK
6	PGP 9.5	Z 5116	truša	1:150	DakoCytomation, Denmark
7	BarX1	ab26156	truša	1:250	Abcam, UK

3.2.3. TUNEL metode

Tika izmantots apoptozes komplekts: *In Situ Cell Death Detection*, POD Cat. No. 11 684 817 910 Roche Diagnostics saskaņā ar Negoescu et al. (1998) aprakstīto tehniku. Deparafinizēti audu paraugi 10 minūtes tika turēti fosfātu bufera šķīdumā (kas saturēja 0,25% TritonX-100). Pēc tam 30 minūtes veica endogēnās peroksidāzes aktivitātes bloķēšanu ar 3% ūdeņraža peroksīdu, un trīs reizes skaloja fosfātu bufera šķīdumā. Tālāk audu griezumus tika ievietoti citrāta buferšķīdumā un ielikti mikroviļņu krāsnī uz 10 minūtēm (nolūkā fiksēt antigēnu), pēc tam tos atdzēsēja istabas temperatūrā. Audu griezumus pārklāja ar Dnase, pēc tam tos mazgāja fosfātu bufera šķīdumā un uz 10 minūtēm ievietoja 0,1 % govju seruma albumīna fosfātu bufera šķīdumā. Audu griezumus inkubēja ar TUNEL (angl. Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridinetriphosphate nick end-labelling; latv. T gala deoksīnukleotidiltransferāzes un dioksigenīda iezīmēto nukleotīdu maisījums) (primārā antivielā) 30 minūtes 37°C. Pēc skalošanas fosfātu bufera šķīdumā griezumus inkubēja ar POD (aitas antifuorescences antivielas ar mārūtku peroksidāzi saistītais Fab fragments) (sekundārā antivielā) 37°C 30 minūtes. Pēc skalošanas fosfātu bufera šķīdumā, griezumus uz

7 minūtēm pārklāja ar diaminobenzidīna hromogēnu šķīdumu peroksidāzes noteikšanai un skaloja destilētā ūdenī. Kontrastkrāsošana tika veikta ar hematoksilīnu un eozīnu. Preparāti tika izskatīti Leica mikroskopā.

3.2.4. Statistiskās metodes

Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma apzīmēšanai lietojām zinātniskajā literatūrā plaši pielietojamo puskvantitatīvo skaitīšanas metodi (Tobin et al., 1990; Pilmane, 1997). Struktūru daudzums tika analizēts viena griezuma piecos redzes laukos. Lietotie apzīmējumi paskaidroti 7. tabulā.

7. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma apzīmēšana (Tobin et al., 1990; Pilmane, 1997).

Lietotie apzīmējumi	Paskaidrojumi
-	Netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā
0/+	Retas pozitīvas struktūras redzes laukā
+	Maz pozitīvu struktūru redzes laukā
+/++	Maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā
++	Vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā
++/+++	Vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā
+++	Daudz pozitīvas struktūras redzes laukā
+++/++++	Ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

Grupu raksturošanai lietoja vispārpieņemtās aprakstošās statistikas metodes (Altman, 1991; Altman, 2000; Teibe, 2007). Datu izvērtēšanai izmantojām neparametriskās statistikas metodes. Divu neatkarīgu grupu salīdzināšanai, lietojot rangu skalas lielumus, izmantojām Manna-Vitnija (Mann-Whitney) testu. Rezultāti tika uzskatīti par ticamiem, ja $p < 0,05$. Vairāku izlašu salīdzināšanai lietojām Kruskola-Valisa (Kruskal Wallis) testu.

Korelācijas koeficientu r kā sakarības ciešuma kvantitatīvo rādītāju starp diviem vai vairākiem mainīgiem lielumiem aprēķināja rangu skalas lielumiem (Spīrmena korelācijas koeficients) (Christensen, 1996). Pētījumā kvalitatīvo sakarības ciešumu starp mainīgajiem, balstoties uz korelācijas koeficienta lielumu, vērtēja kā vāju, vidēju vai ciešu. Korelācijas

koeficienta sadalījums bija šāds: $r = 0 - 0,3$, vāja, maznozīmīga korelācija; $r = 0,4 - 0,7$, vidēja korelācija; $r = 0,7 - 0,9$, cieša korelācija.

Statistiskā analīze veikta ar SPSS (SPSS Inc., USA) palīdzību.

4. REZULTĀTI

4.1. Rutīnās histoloģijas atradne

Ar hematoksilīnu un eozīnu krāsoto griezumu gaismas mikroskopija tika veikta visiem vienpusējo un divpusējo lūpas un aukslēju šķeltņu pacientiem un kontroles grupas pacientiem. Pacientu audu materiālā atradām lūpas ādas un pārejas daļu, mutes dobuma gļotādu, skrimslī un kaulu.

4.1.1. Kontroles pacientu atradne

Kontroles pacientu mutes dobuma audos redzējām galvenokārt normālu histoloģisko ainu – neizmainītu dažāda biezuma košļāšanas funkciju nodrošinātājgļotādas un seggļotādas epitēliju, neizteiktu bazālo membrānu, neizmainītus zemāk esošos gļotādas saistaudus, kā arī normālus skrimšļaudus un kaulaudus. Tikai retos gadījumos novērojām neizteiktu iekaisuma šūnu infiltrāciju mīkstajos audos.

4.1.2. Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu atradne

Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu materiālā redzējām morfoloģiski izmainītus mutes dobuma gļotādas un lūpas audus. Mutes dobuma gļotādu veidoja daudzkārtains plakans epitēlijs, bazālā membrāna un gļotādas saistaudi. Visizteiktākās pārmaiņas atradām tieši epitēlijā.

Gan daudzkārtaina plakana nepārragota, gan daudzkārtaina plakana parakeratinizēta epitēlija biezums dažādu pacientu audos bija izteikti krasi atšķirīgs. Daļai bērniem ar šķeltnēm redzējām plānu un atrofisku, turpretim citiem novērojām biezu epitēliju ar izteiktu bazālo šūnu proliferāciju tajā (1. attēls un 2. attēls pielikumā). Turklāt, lielākajai daļai pacientu epitēlijaudi garu izaugumu veidā iestiepās dziļi gļotādas saistaudos (3. attēls un 4. attēls pielikumā).

Bērnu ar vienpusējām un divpusējām šķeltnēm epitēlijā novērojām arī vairāk vai mazāk izteiktu dzeloņainā slāņa šūnu vakuolizāciju (5. attēls pielikumā).

Sejas šķeltņu pacientu mutes dobuma gļotādas saistaudos nereti konstatējām izteikti daudz blīvi un dažkārt ļoti haotiski novietotus kolagēno šķiedru kūlīšus ar retām saistaudu šūnām starp tiem. Daļai bērnu redzējām ļoti daudz sīkus, bet nereti sklerotiskus asinsvadus, kuri

galvenokārt lokalizējās ap minētajiem epitēlija izaugumiem, kā arī praktiski neizmainītas mazo siekalu dziedzeru sekretorās daļas un izvadus (6. attēls un 7. attēls pielikumā).

Lielai daļai pacientu novērojām iekaisuma šūnu infiltrāciju gan gļotādas epitēlijā, gan zemāk esošajos saistaudos (8. attēls pielikumā).

Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu lūpas ādas daļā galvenokārt redzējām neizmainītu histoloģisko ainu - tipisku epidermu un dermu, tauku dziedzerus un mata folikulus. Dažu bērnu audos novērojām atipiskus mata folikulus un haotiski izvietotas, sklerotiskas muskuļu šķiedras.

Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu hialīnajā skrimslī redzējām visas tipiskās zonas – proliferācijas, nobriedušo un hipertrofēto šūnu zonu, bet to aptverošajā perihondrā konstatējām izteiktu un nereti arī pilnasinīgu asinsvadu tīklojumu. Galvenokārt novērojām bagātīgu hondroblastu daudzumu proliferācijas zonā, samērā mazas izogēno šūnu grupas un ļoti daudz hipertrofētus hondrocītus (9. attēls pielikumā). Atsevišķos gadījumos redzējām deģeneratīva skrimšļa fragmentus fibrozos audos (10. attēls pielikumā). Dažu pacientu audu materiālā konstatējām praktiski neizmainītu skrimslī.

Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu audu materiālā nereti redzējām deģeneratīva kaula fragmentus. Tos raksturoja niecīgs un neregulārs osteonu daudzums un izvietojums, kā arī maz un nereti arī tukšas lakūnas starp kaula plātnītēm.

4.2. Imūnhistoķīmisko pētījumu un apoptozes atradne

4.2.1. Kontroles grupas atradne

Bāziskā FGF ekspresija tika konstatēta deviņu pacientu audu materiālā (8. tabula). Divos gadījumos novērojām maz pozitīvas struktūras – neitrofilos leukocītus un saistaudu šķiedras, bet četros gadījumos - retas pozitīvas struktūras redzes laukā. Minēto augšanas faktoru šajos gadījumos ekspresēja galvenokārt retas iekaisuma šūnas (11. attēls pielikumā), epitēlija šūnas (12. attēls pielikumā), asinsvadu sienas šūnas un saistaudu šķiedras. Trijiem pacientiem bFGF saturošo struktūru relatīvais daudzums dažādos audos bija nedaudz atšķirīgs. Tā pacientam N°2 redzējām maz imūnreaktīvas šūnas epitēlija vidējā slānī un retas pozitīvas saistaudu šķiedras. Savukārt pacientam N°1 bFGF ekspresēja maz epiteliocīti un saistaudu šķiedras, bet kaulā imūnreaktivitāte netika konstatēta. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums kontroles pacientu audos redzams 9. tabulā.

8. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums kontroles grupas pacientiem.

N°	Šifs	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
1	K10	--+	+-+++	0/+ - ++	++	+ - +++	+ - +++	+	+ - +/+++
2	K7	0/+ - +	+++	-	+ - +++	+ - - +++	0/+	0/+	+ - ++
3	K6	0/+	++	+	+/++	+++	-	+	-
4	K8	+	++	+	++	+ - ++	+ - ++	+++	++
5	K5	0/+	+++	0/+ - ++	+ - +++	+ - - +++	-	+	0/+ - +/+++
6	K1	+	++ - +++	0/+ - ++	+ - +++	++/+++ - +++	+ - +++	+/++	++
7	K11	-- 0/+	+/++ - +++	++	+	+ - +++	-- ++	+	++ - +++
8	K2	-	+ - ++	0/+	++	+++	-- 0/+	-	+ /+++
9	K9	-	0/+	0/+	++	+ - ++	-- +	-	-- + /+++
10	K3	0/+	++	-	-	-- +++	-- 0/+	-	+ /+++
11	K4	0/+	+	+	++ - + /+++	0 /+ - ++	-- +	0 /+	0 /+

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/+ + maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/+++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

9. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums kontroles grupas pacientiem.

Noteiktie faktori / daudzums	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
Vidējais relatīvais daudzums	0/+	++	+	+ / ++	++	0/+	+	+ / ++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/++ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/+++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

FGFR1 tika novēroti visu kontroles grupas pacientu audos. Divu pacientu audu paraugos novērojām daudz pozitīvu struktūru. Minētā augšanas faktora receptorus bagātīgi ekspresēja gļotādas epiteliocīti (galvenokārt vidējo slāņu šūnas) (13. attēls pielikumā). Četriem bērniem imūnreaktīvo struktūru relatīvais daudzums dažādos audos variēja. Pacientam N°6 redzējām daudz imūnreaktīvas saistaudu šūnas, bet vidēji daudz epiteliocītus. Pacientam N°1 konstatējām bagātīgu FGFR1 ekspresiju osteocītos, bet vidēji daudz pozitīvus epiteliocītus un maz pozitīvus asinsvadu gludos miocītus. Pacientam N°7 savukārt FGFR1 izteiktāk ekspresēja epiteliocīti un saistaudu šūnas, bet mazāk – kaula šūnas. Trīs šķeltnu audu paraugos tika atrastas vidēji daudz pozitīvas struktūras, kuras divos gadījumos bija saistaudu šūnas un vienā gadījumā kaula šūnas. Tikai diviem pacientiem atradām maz un retas FGFR1 saturošas saistaudu un kaulu šūnas. Paralēli minētajam atsevišķos gadījumos konstatējām receptoru ekspresiju asinsvadu sienas endoteliocītos un nervu šķiedru kūlīšu perineirija šūnās un šķiedrās.

NGF ekspresiju novērojām deviņu kontroles grupas pacientu audos. Minēto augšanas faktoru saturošo struktūru relatīvais daudzums variēja no retām līdz vidēji daudz. Pacientam N°7 redzējām vidēji daudz imūnreaktīvas iekaisuma šūnas. Divos audu paraugos novērojām arī vidēji izteiktu faktora ekspresiju iekaisuma šūnās, bet retas pozitīvas šūnas gļotādas epitēlija vidējos slāņos. Savukārt pacientam N°5 bija vidēji daudz imūnreaktīvi epiteliocīti, bet retas pozitīvas saistaudu šūnas. Trijiem pacientiem novērojām maz, bet diviem retas pozitīvas struktūras. Šajos gadījumos NGF ekspresēja epiteliocīti (14. attēls pielikumā), iekaisuma šūnas – neitrofilie leikocīti, makrofāgi, tuklās šūnas un vienā gadījumā nervu šķiedras subepitēlijā.

NGFR atradām desmit pacientu audu materiālā. Vienā gadījumā redzējām maz, vienā – maz līdz vidēji daudz un četros gadījumos vidēji daudz pozitīvu struktūru. Vēl četriem cilvēkiem novērojām atšķirīgu minētā augšanas faktora receptoru ekspresiju epitēlijaudos un nervaudos. Turklāt, visiem desmit pacientiem bija raksturīga NGFR ekspresija bazālajos epiteliocītos (15. attēls pielikumā). Astoņiem no viņiem atradām imūnreaktīvas nervu šķiedras, kas lokalizējās asinsvadu sienās un nervu šķiedru kūlīšos.

TGFB novērojām visu kontroles grupas pacientu audos. Astoņiem tika atrastas daudz pozitīvas struktūras, kas piecos gadījumos bija kaula šūnas (16. attēls pielikumā), divos – epitēlija šūnas un vienā – epitēlija un saistaudu šūnas. Interesanti, ka pacientam N°10

redzējām daudz imūnreaktīvus osteocītus, bet mīkstajos audos pozitīvu reakciju neredzējām. Lielākajai daļai pacientu imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums epitēlijaudos, saistaudos un kaulaudos variēja no maz līdz daudz. Četriem pacientiem bija vērojamas TGFβ saturošas asinsvadu sienīgas šūnas.

Barx1 gēna ekspresija bija vērojama deviņu pacientu audu materiālā. Daudz pozitīvas šūnas atradām divos gadījumos. Vienā gadījumā tās bija kaula šūnas (17. attēls pielikumā), bet otrā – epitēlija šūnas. Galvenokārt tomēr novērojām retas un maz pozitīvas struktūras epitēlijā, gļotādas saistaudos un kaulā. Astoņiem pacientiem tika konstatēta samērā neizteikta un visbiežāk perēķļveidīga minētā gēna ekspresija epitēlijā. Četros gadījumos bija redzamas Barx1 saturošas iekaisuma šūnas.

PGP 9.5 saturošas nervšķiedras tika atrastas astoņiem pacientiem. Vienam redzējām daudz, vienam – maz līdz vidēji daudz, četriem – maz un diviem – retas PGP 9,5 imūnreaktīvas nervšķiedras un nervu šķiedru kūlītšus (18. attēls pielikumā). Trīs gadījumos minētās struktūras lokalizējās asinsvadu sienīgās un ap tiem.

Apoptotisko šūnu relatīvais daudzums tika konstatēts desmit pacientu audu materiālos. Piecos gadījumos tā relatīvais daudzums atšķīrās viena pacienta preparātā dažādos audos. Vienā no tiem apoptozi demonstrēja daudz un vēl vienā vidēji daudz līdz daudz pozitīvas saistaudu šūnas, bet attiecīgi mazāk vai praktiski nevienu pozitīvu šūnu kaulā. Pacientiem N°1 un N°5 redzējām maz līdz vidēji daudz apoptotiskus perēķļveidīgi lokalizētus epiteliocītus, kā arī saistaudu šūnas, bet mazāk izteiktu apoptotisko šūnu daudzumu kaulā. Savukārt bērnam N°2 apoptoze vairāk bija izteikta epiteliocītos, bet mazāk saistaudu šūnās, tostarp limfocītos. Sešiem pacientiem novērojām apoptotiskas šūnas epitēlijā un saistaudos. Kopumā vidēji izteiktu un visbiežāk perēķļveidīgu apoptozi novērojām deviņu pacientu epitēlijā (19. un 20. attēls pielikumā).

2.2. Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu grupas atradne

Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu jaunāko pacientu grupu veidoja 15 zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu. No pacientiem, septiņiem materiāls tika paņemts atkārtoti.

Bāzisko FGF saturošas struktūras atradām deviņu pacientu pirmreizēji paņemto šķeltnu audos (10. tabula). Vienā gadījumā novērojām retas, vienā – retas līdz maz, un trīs gadījumos maz pozitīvas struktūras, kas galvenokārt bija iekaisuma (21. attēls pielikumā) vai epitēlija šūnas. Diviem pacientiem tika konstatētas vidēji daudz imūnreaktīvas struktūras. Šo bērnu audos bFGF novērojām jau minētajās iekaisuma šūnās, tauku dziedzera šūnās (22. attēls pielikumā), asinsvadu sienīgas gludajos miocītos un nervšķiedru kūlīša perineirijā. Diviem pacientiem imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums dažādos audos ievērojami variēja (N°2, N°10), atšķiroties no kopējā vidējā faktora relatīvā daudzuma citiem pacientiem. Pirmajā gadījumā epitēlijā redzējām maz infiltrētus limfocītus, turpretim saistaudos novērojām daudz dažādas iekaisuma šūnas. Arī otrajā gadījumā bFGF ekspresija epitēlijā bija maz izteikta. Vidēji daudz pozitīvas struktūras šoreiz konstatējām tauku dziedzeros, nervšķiedru kūlīšos un asinsvadu sienīgas gludās muskulatūras šūnās. Vidējais relatīvais bFGF saturošo struktūru daudzums paņemtajos audos bija nedaudz lielāks nekā kontroles pacientu materiālā, tomēr šī atšķirība nebija statistiski ticama (11. tabula).

Atkārtoti paņemtajā audu materiālā bāziskā FGF ekspresiju novērojām četriem pacientiem. Vienā gadījumā pozitīvo struktūru relatīvais daudzums bija ievērojami palielinājies (N°5), un varējām vērot daudz imūnreaktīvas iekaisuma šūnas. Citu pacientu (N°2, N°4, N°8, N°10) audos konstatējām pretēju tendenci. Salīdzinot bFGF pozitīvo struktūru daudzumu atkārtoti paņemtajos audos ar atradni pirmreizēji paņemtajā un kontroles materiālā, statistiski ticamas atšķirības nekonstatējām.

FGFR1 ekspresija tika konstatēta visu pacientu pirmreizēji paņemtajos audu paraugos. Ļoti daudz FGFR1 pozitīvas struktūras novērojām viena, daudz - sešu, bet vidēji daudz – piecu pacientu audu materiālā. Šajos gadījumos minētos receptorus galvenokārt ekspresēja epiteliocīti (23. attēls pielikumā), endoteliocīti, saistaudu šūnas (24. attēls pielikumā), asinsvadu sienīgas gludie miocīti, tauku dziedzeru un mata folikulu šūnas, kā arī jaunās un nobriedušās skrimšļa šūnas (25. attēls pielikumā) un kaula šūnas. Maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvas struktūras redzējām viena, bet maz – tikai divu pacientu audu paraugos. Šajos gadījumos FGFR1 ekspresēja epiteliocīti, endoteliocīti, saistaudu šūnas un asinsvadu sienīgas gludie miocīti.

10. tabula. Imūnhistokīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu ar vienpusējam lūpas un auskslēju šķeltnēm.

N°	Šifrs	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
1	73	-	+++	+	0/+	+++	++	++/+++	+++/++++
2	38	+ - +++	+++	+++	+++	+/+	++/+++	+	+++/++++
3	46	-	+++	-	0/+	+/+	-	++	+
3	149	-	+++	0/+	+	++	0/+	++	++/+++
3	178	-	++ - +++	-	+ - ++	++ - +++	-	+	++/++++
4	52	+	+++	0/+	+	++	0/+	+++	+++
4	80	-	+++	-	++	++	-	+	++
5	129	0/+ - +	+++	-	-	+++	-	-	+++
5	144	+++	+++	-	+/+	-	-	+	+/+
6	166	++	++	-	++/+++	-	-	+	+ - +++
6	182	++	+++	+	++	++/+++	-	+	+/+
7	17	+	++	-	-	+/+ - +++	-	0/+	+++
8	37	++	+++	0/+	++	++	++	++	++/+++
8	160	+	+++	0/+	++/+++	+++	-	+	+
9	59	-	++	-	+	+++	-	+	0/+
10	25	+ - +++	+++/++++	0/+	++	+++	-	++/+++	-
10	104	0/+	+++/+++	-	++	+++	-	+	++
11	143	-	++	-	+++	+++/+++	+	+	++
12	119	-	+	-	++	+ - ++	+	+	+/+
13	151	-	+	-	-	+	0/+	+	0/+
14	153	0/+	++	-	+/+	+/+	0/+	+/+	++
15	170	+	+++	-	+++	+++	+++	+/+	++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/+ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/+++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/+++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

11. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm un kontroles grupas audos.

	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFb	Barx1	PGP9,5	TUNEL
pirmreizēji	0/+ - +	+/+++	0/+	+/+++	++	+	+/+++	++
atkārtoti	+	+++	- - 0/+	+/+++	++	-	+	+/+++
kontrolle	0/+	++	+	+/+++	++	0/+	+	+/+++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/+ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

Atkārtoti paņemtajos bērnu šķeltņu audos rezultāti būtiski neatšķīrās no tādiem pirmreizēji paņemtajos audos (26. attēls pielikumā). Salīdzinot savstarpēji vidējo FGFR1 pozitīvo struktūru daudzumu pirmreizēji un atkārtoti paņemtajos audos, statistiski ticamas atšķirības nenovērojām. Tomēr atkārtoti paņemtajā materiālā tas bija statistiski ticami lielāks, nekā kontroles audos ($z=2,492$; $p=0,013$).

NGF saturošas struktūras novērojām sešu pacientu pirmreizēji paņemtajos audos. Četros gadījumos tās bija retas, vienā gadījumā maz un vienā – daudz. Minētā augšanas faktora ekspresiju visbiežāk redzējām epitēlijā, kā arī novērojām nervu šķiedrās, asinsvadu sieniņas gludās muskulatūras šūnās, tauku dziedera un mata folikula šūnās. Vienā gadījumā ($N^{\circ}2$) konstatējām daudz pozitīvas iekaisuma šūnas un sīkas nervu šķiedras subepitēlijā (27. attēls pielikumā). Interesanti, ka NGF atradne šai gadījumā sakrita ar izteiktu bFGF atradni. Savā pētījumā konstatējām, ka NGF pozitīvo struktūru vidējais daudzums pirmreizēji paņemtajos audos bija tikai nedaudz mazāks, nekā kontroles grupas pacientu materiālā, tomēr atšķirība vērtējama kā statistiski ticama ($z=2,314$; $p=0,021$).

Atkārtoti paņemtajos pacientu audos NGF imūnreaktīvas struktūras redzējām divos gadījumos. Vienā gadījumā novērojām retas (28. attēls pielikumā), bet otrā – maz viegli pozitīvas epitēlija šūnas. Vidējais NGF saturošo struktūru daudzums arī atkārtoti paņemtajos audos bija statistiski ticami mazāks, nekā kontroles grupas pacientiem ($z=2,131$; $p=0,033$).

NGFR ekspresiju atradām 12 pacientu pirmreizēji paņemtajos audos. Trijiem redzējām daudz, vienam - vidēji daudz līdz daudz un trijiem vidēji daudz pozitīvas struktūras. Visiem minētajiem septiņiem bērniem novērojām imūnreaktīvas epitēlija bazālās šūnas. Interesanti, ka epitēlijs šajās vietās nereti dziļu izaugumu veidā iestiepās saistaudos (29. attēls pielikumā). Atsevišķos gadījumos NGFR ekspresēja nervu šķiedras un mata folikula šūnas un vienā gadījumā – makrofāgi un plazmocīti. Vienam pacientam konstatējām maz līdz vidēji daudz, trijiem – maz un tikai vienam – retas minēta augšanas faktora receptorus saturošas šūnas. Arī šajos gadījumos pozitīvu reakciju novērojām galvenokārt bazālajos epiteliocītos un perēkļveidīgi, kā arī nervu šķiedrās un nervu šķiedru kūlīšos.

Atkārtoti paņemtajos audu materiālos NGFR ekspresiju novērojām visos gadījumos un galvenokārt epitēlija bazālajās šūnās. Atsevišķos preparātos pozitīvu reakciju redzējām nervu šķiedrās pie asinsvadiem un to sieniņās, kā arī ap siekalu dziedzeriem. Vienam pacientam

(N^o8) imūnreaktīvās struktūras bija vidēji daudz līdz daudz (30. attēls pielikumā), trijiem – vidēji daudz, vienam - maz līdz vidēji daudz, un vēl vienam – retas. Pacienta N^o3 atkārtoti paņemtajos audos novērojām maz imūnreaktīvus epiteliocītus, bet vidēji daudz asinsvadu sienas šūnas un nervu šķiedru kūlīšus. Vidējais imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz, un būtiskas vai arī statistiski ticamas atšķirības tajā starp pirmreizēji paņemtajiem un kontroles grupas pacientu audiem nekonstatējām.

TGFβ ekspresija tika novērota visu pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. Daudz pozitīvas struktūras redzējām piecos, vidēji daudz līdz daudz – divos un vidēji daudz – trīs gadījumos. Minēto faktoru šajos gadījumos bagātīgi ekspresēja epiteliocīti, osteocīti, saistaudu un asinsvadu sienas šūnas, tauku dziedzeru glandulocīti un mata folikulocīti (31. attēls pielikumā). Trijiem bērniem TGFβ saturošo struktūru daudzums bija relatīvi mazāks, tomēr arī šajos audos redzējām pozitīvu reakciju epitēlijā, subepitēlijā un asinsvadu sienas šūnās. Divos gadījumos (N^o7, N^o12) novērojām atšķirīgu imūnreaktīvo struktūru daudzumu dažādos audos, bet visintensīvāko ekspresiju konstatējām tieši kaulā (32. attēls pielikumā).

Atkārtoti paņemtajos audos TGFβ ekspresiju neatradām vienam pacientam. Interesanti, ka tā pirmreizējā materiālā pozitīvu struktūru bija ļoti daudz. Bagātīgu faktora ekspresiju novērojām divu, bet vidēju – viena pacienta epitēlijā (33. attēls pielikumā), bet vēl vienam redzējām vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvus epiteliocītus, asinsvadu endoteliocītus un gludos miocītus, kā arī saistaudu šūnas. Pacientam N^o3 konstatējām daudz imūnreaktīvus hondrocītus, bet vidēji daudz perēkļveidīgi novietotus pozitīvus epiteliocītus.

Kopumā vidējais TGFβ saturošo struktūru relatīvais daudzums bija vidējs, un būtiskas atšķirības starp pirmreizēji un atkārtoti paņemtajiem, kā arī kontroles grupas pacientu audiem nenovērojām.

Barx1 ekspresiju novērojām desmit bērnu pirmreizēji paņemtajos audos. Daudz pozitīvas struktūras un vidēji daudz līdz daudz novērojām katru vienā gadījumā. Vidēji daudz minēto gēnu saturošas struktūras konstatējām divos, maz – divos, bet retas – četros gadījumos. Kopumā septiņos audu paraugos redzējām Barx1 saturošas epitēlija šūnas relatīvi atšķirīgos daudzumos (34. attēls pielikumā). Divos gadījumos Barx1 ekspresēja tauku un sviedru dziedzeru šūnas, un iekaisuma šūnas. Atsevišķiem bērniem pozitīva reakcija tika atrasta arī asinsvadu sienas šūnās, mata folikulocītos un saistaudu šūnās subepitēlijā. Līdzīgi kā kontroles grupas audu materiālā, arī šķeltņu skartajos audos minētā gēna ekspresija dominēja

epitēlijaudos. Lai arī pozitīvo struktūru vidējais daudzums šķeltņu audos bija nedaudz lielāks, atšķirība nav vērtējama ka statistiski ticama.

Atkārtoti ņemtajos audu paraugos Barx1 ekspresija netika konstatētā nevienā gadījumā. Salīdzinot vidējo pozitīvo struktūru daudzumu otrreizēji paņemtajos audos ar atradni kontroles ($z=3,086$; $p=0,002$) un pirmreizēji paņemtajos audos ($z=2,705$; $p=0,007$), novērojām statistiski ticamas atšķirības.

PGP 9.5 iekrāsoja difūzās neuroendokrīnās sistēmas (DNES) struktūras praktiski visu pacientu audos. Vidēji, vidēji daudz līdz daudz un daudz pozitīvas struktūras kopumā konstatējām piecu pacientu pirmreizēji paņemtajā materiālā. PGP 9,5 šajos audos bagātīgi iekrāsoja gan atsevišķas nervu šķiedras asinsvadu sienīnās, ap tauku dziedzeriem, matu folikuliem un epitēlijā (35. attēls pielikumā), gan nervu šķiedru kūlīšus. Atsevišķos gadījumos tā iezīmēja neuroendokrīnās šūnas epitēlija bazālajā slānī un mata folikulī. Pārējo pacientu materiālā redzējām samērā nedaudz pozitīvās un sīkas nervu šķiedras subepitēlijā, asinsvadu sienīnās un ap tiem, kā arī pie siekalu dziedzeriem.

Atkārtoti paņemto audu paraugos sešiem pacientiem konstatējām maz, bet vienam – vidēji daudz neuropeptīdus saturošas struktūras. To lokalizācija neatšķīrās no augstāk aprakstītās. Kopumā pirmreizēji paņemtajos audos vērojām nedaudz lielāku pozitīvo DNES struktūru daudzumu salīdzinājumā ar atkārtoti paņemtajiem un kontroles grupas pacientu audiem, tomēr šī atšķirība nebija vērtējama kā statistiski ticama.

TUNEL demonstrēja apoptozi praktiski visu pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. Daudz apoptotiskas šūnas novērojām pieciem bērniem, vidēji daudz līdz daudz – diviem, vidēji daudz – trijiem, maz līdz retas - vienam un retas – diviem bērniem. Vienā gadījumā (N°6) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums bija krasi atšķirīgs epitēlijā un saistaudos. Šūnu bojāeju visbiežāk redzējām epitēlijā un saistaudos (36. attēls pielikumā). Epitēlijā tā nereti bija perēķļveidīga. Retāk apoptozi varējā novērot tauku dziedzeru, matu folikulu un asinsvadu sienīnās šūnās. Vienā audu paraugā ar skrimšļa fragmentu redzējām totālu apoptozi visā skrimslī, izņemot malas zonu (37. attēls pielikumā). Citam pacientam konstatējām retas pozitīvas kaula šūnas. Pētījumā konstatējam, ka vidējais pozitīvo struktūru daudzums pirmreizēji paņemtajos vienpusēju šķeltņu audos bija statistiski ticami lielāks nekā kontroles grupas pacientu audos ($z=2,049$; $p=0,040$).

Atkārtotas operācijas laikā ņemtajos audos apoptotiskas šūnas novērojām visiem septiņiem pacientiem. Vienā gadījumā redzējām vidēji daudz līdz daudz, divos – vidēji daudz, divos – maz līdz vidēji daudz un vēl divos – maz TUNEL pozitīvas šūnas epitēlijā un saistaudos. Vidējais relatīvais pozitīvo struktūru daudzums bija līdzīgs kontroles grupai un nedaudz mazāks par pirmreizēji ņemtajos audos noteikto daudzumu.

4.2.3. Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu - bērnu ar maiņas sakodienu grupas atradne

Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu vecāko pacientu grupu veidoja 22 bērni ar maiņas sakodienu. Deviņiem pacientiem materiāls tika ņemts atkārtoti.

bFGF pozitīvas struktūras tika atrastas 17 pacientu pirmreizēji ņemtajos audos (12. tabula). Vienpadsmit gadījumos tās bija retas un maz. Šāda ekspresija tika novērota iekaisuma šūnās, epiteliocītos, tauku dziedzeru šūnās, asinsvadu gludās muskulatūras šūnās. Vēl vienam pacientam (N°2) konstatējām relatīvi atšķirīgu bFGF ekspresiju epitēlijā, saistaudos, tauku un siekalu dziedzeru šūnās. Citam redzējām maz līdz vidēji daudz pozitīvus asinsvadu sienā lokalizētus gludos miocītus. Bagātīgu bFGF ekspresiju atradām četriem pacientiem un tikai cietajos audos – skrimslī un kaulā (38. attēls pielikumā).

Atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā ņemtajos audos divos gadījumos novērojām retas un divos – maz pozitīvas iekaisuma šūnas. Vienam pacientam redzējām maz imūnreaktīvus epiteliocītus. Interesanti, ka bagātīgu bFGF ekspresiju atkal novērojām skrimslī (N°9) un kaulā (N°20). Salīdzinot minētā augšanas faktora relatīvo pozitīvo struktūru daudzumu pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos, kā arī kontroles grupas pacientu audos, būtiskas un statistiski ticamas atšķirības nenovērojām (13. tabula).

FGFR1 bagātīga ekspresija tika novērota 13 pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. Tajos redzējām daudz pozitīvas epitēlija, asinsvadu sienīgas un saistaudu šūnas, kā arī kaula un skrimšļa šūnas (39. attēls pielikumā). Interesanti, ka tieši cietajos audos gan bāziskā FGF, gan tā receptoru ekspresija bija relatīvi ļoti līdzīga. FGFR1 tika retāk konstatēts arī siekalu dziedzeru izvadū epitēlijā un saistaudu šķiedrās (40. attēls pielikumā). Vienam pacientam novērojām vidēji daudz imūnreaktīvus hondrocītus un vidēji daudz līdz daudz – osteocītus.

12. tabula. Imūnhistokīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bērniem ar maiņas sakodienu ar viopusējām lūpas un aukstīņu šķeltnēm.

N°	Šifrs	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFb	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
1	26	0/+	++	-	0/+	+ - +++	-	+	+++
	95	0/+	+++	-	+	++	-	0/+	++
2	6	+ - ++	+++	++	++	+++	+++	++	+++
	92	+	+++	0/+ - +	0/+	+++	+	+	0/+
3	93	-	+++	-	0/+	+++	-	0/+	++/+++
	146	0/+	+++	-	-	+ /+++	-	+	0/+
4	127	+++	+	0/+	-	+	-	+	++ - +++
5	20	+	+++	++/+++ - +++	+/++	++/+++	-	++	+++
	84	+	+++	-	+/++	++	-	-	+++
6	176	+	+	-	+/++	++/+++	-	0/+	+++
7	49	0/+	++	0/+	-	++/+++	+	+	+
8	1A	0/+	++	-	+/++	++	-	+	+++
9	40	0/+ - +	+++	+ - ++	+	++	++	+ /++	+++
	97	+++	+++	+	-	+++	+++	-	+
10	50	-	+++	-	-	+++	-	-	+ /++
	123	-	+++	0/+	-	++	+	+	++ - +++
11	171	0/+	+++	0/+	+/++	+++	-	0/+	++
12	112	+	++	+	+	++	++	+	0/+
13	10	-	+++	-	+	+++	-	+	+
14	47	-	++ - ++/+++	-	-	+	-	-	+
15	21	+ /++	+++	+ /++	++	++ - +++	++	+++	+ - +++
16	183	0/+	+++	++	+	++/+++	0/+	+	+++
17	83	+++	+++	-	-	++ - +++	+	-	+

18	8	+	+++	-	-	++	+	+	++
19	71	-	+	-	-	+ - +++++	-	-	+
20	19	+	-	-	-	++	-	-	-
	155	-	+	-	-	++	-	-	+++
	188	+++	+++	0/+	-	+++	-	+	++
21	74	+++	+++	0/+	-	++	0/+	+ /++	++
22	64	+++	+++	-	0/+	+ /+++ - +++++	++	+ /++	+
	113	+	++	0/+	-	++	+	-	-

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; + /+++ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ /++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

13. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums zīdaiņiem un bērniem ar maiņas sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm un kontroles grupas audos.

	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFb	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
pirmreizēji	+	++ /++++	0/+	0/+ - +	++ /++++	0/+	+	++
atkārtoti	+	+++	0/+	- - 0/+	++ /++++	0/+	0/+	+ /+++
kontrolē	0/+	++	+	+ /+++	++	0/+	+	+ /+++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; + /+++ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ /++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

Vidēji daudz minētos augšanas faktora receptorus ekspresēja epitēlija, saistaudu un asinsvadu sienas šūnas četrus pacientu audos. Tikai trīs gadījumos redzējām maz imūnreaktīvas struktūras. Divos tās bija perēkļveidīgi lokalizētas saistaudu šūnas, bet vienā – kaula šūnas. Interesanti, ka tieši šim bērnam (N°20) pirmreizēji paņemtajā kaula materiālā netika novērota bFGF ekspresija.

Atkārtoti paņemtajos audos FGFR1 imūnreaktīvas struktūras novērojām visu pacientu audu paraugos. Piecos gadījumos redzējām daudz pozitīvas struktūras epitēlijā un saistaudos, kur to ekspresēja epiteliocīti, fibroblasti, limfocīti un asinsvadu sienas šūnas (41. attēls pielikumā). Diviem pacientiem konstatējām bagātīgu minēto receptoru ekspresiju skrimšļa šūnās (42. attēls pielikumā). Vienā gadījumā redzējām vidēji daudz imūnreaktīvus epiteliocītus un saistaudu šūnas, bet vēl vienā – maz pozitīvas saistaudu šūnas.

Vidējais relatīvais pozitīvo struktūru daudzums pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos šķeltņu audos statistiski ticamas atšķirības neuzrādīja. Lai arī kopumā šķeltņu skartajos audos bija vērojams relatīvi lielāks imūnreaktīvo struktūru daudzums, nekā kontroles grupas audos, šīs atšķirības nebija statistiski ticamas.

NGF ekspresija tika novērota deviņu pacientu pirmreizēji paņemtajos audu paraugos. Tikai vienam pacientam redzējām daudz pozitīvas šūnas skrimšļa augšanas zonā, kā arī vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvus tauku dziedzeru glandulocītus, asinsvadu sienas gludos miocītus un matu folikulu bazālos epiteliocītus (43. un 44. attēls pielikumā). Divos gadījumos konstatējām vidēji daudz, vienā - maz līdz vidēji daudz un vienā - maz pozitīvas struktūras. Minēto augšanas faktoru ekspresēja iekaisuma šūnas, epiteliocīti, asinsvadu gludie miocīti un siekalu dziedzeru izvadū epitēlijšūnas (45. attēls pielikumā). Vienam pacientam redzējām vidēji daudz pozitīvas atrofiska epitēlija bazālās šūnas, bet maz imūnreaktīvus epiteliocītus siekalu dziedzera izvadā. Retas pozitīvas struktūras novērojām četrus pacientu audos. Divos gadījumos tie bija hondrocīti, bet vēl divos – asinsvadu sienā lokalizēti gludie miocīti.

Atkārtoti paņemtajā audu materiālā NGF ekspresiju redzējām piecu pacientu audos. Galvenokārt novērojām retas pozitīvas struktūras epitēlijā, saistaudos un skrimslī. Vienā gadījumā konstatējām maz imūnreaktīvus hondrocītus, un vēl vienā – relatīvi atšķirīgu pozitīvo struktūru atradni saistaudos un epitēlijā. Vidējais imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums gan pirmreizēji, gan atkārtoti ņemtajos audos bija līdzīgs, bet nedaudz atšķirīgs no kontroles grupas pacientu atradnes. Tomēr, salīdzinot pozitīvo struktūru

daudzumu atkārtoti ņemtajos un kontroles pacientu audos, konstatējām statistiski ticamu atšķirību ($z=2,107$; $p=0,035$).

NGFR atradām 13 bērnu pirmreizēji ņemtajā audu materiālā. Trīs gadījumos novērojām retas, četros – maz, četros - maz līdz vidēji daudz, bet divos – vidēji daudz pozitīvas struktūras. Minētā augšanas faktora receptorus galvenokārt ekspresēja epitēlija bazālās šūnas un nervu šķiedras asinsvadu sienīnās un ap tiem. Vienam pacientam pozitīvu reakciju redzējām siekalu dziedzera izvada epitelocītos (46. attēls pielikumā).

Atkārtoti ņemtajos audu paraugos NGFR ekspresiju konstatējām trīs gadījumos. Vienā redzējām retas, vienā – maz un vienā – maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras, kas visos minētajos gadījumos bija perēkļveidīgi lokalizētas epitēlija bazālās šūnas. Vidējais relatīvais imūnhistoķīmiski noteikto struktūru daudzums pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos audos bija atšķirīgs, kā arī salīdzinoši mazāks nekā kontroles grupas pacientiem. Savā pētījumā statistiski ticami mazāk NGFR pozitīvās struktūras konstatējām gan pirmreizēji ($z=3,241$; $p=0,001$), gan atkārtoti ņemtajos audos ($z=3,297$; $p=0,001$) salīdzinājumā ar kontroles grupas materiālu.

TGFβ ekspresija tika novērota visu pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. Daudz pozitīvas struktūras redzējām pieciem, vidēji daudz līdz daudz – četriem, un vidēji daudz – septiņiem bērniem. TGFβ šajos gadījumos ekspresēja jaunās un nobriedušās skrimšļa šūnas, osteocīti, epitelocīti, saistaudu šūnas, kā arī asinsvadu endotelocīti un gludie miocīti (47. attēls pielikumā). Trīs pacientiem konstatējām relatīvi atšķirīgu imūnreaktīvo struktūru daudzumu dažādos audos. Minētajos gadījumos novērojām bagātīgu augšanas faktora ekspresiju kaula šūnās, bet relatīvi mazāku – skrimšļa un saistaudu šūnās (48. attēls pielikumā). Maz pozitīvas struktūras atradām divu pacientu audos, un imūnreaktivitāti novērojām hondrogēnajās šūnās un osteocītos. Vienam pacientam redzējām vidēji daudz pozitīvas kaula šūnas, bet maz pozitīvus asinsvadu endotelocītus un gludos miocītus.

Atkārtoti ņemtajos audu paraugos TGFβ ekspresiju novērojām visos gadījumos. Trijiem pacientiem redzējām daudz, četriem – vidēji daudz, vienam – maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras. Bagātīgu minētā augšanas faktora ekspresiju konstatējām epitēlija, saistaudu un skrimšļa šūnās (49. un 50. attēls pielikumā), bet vidēji izteiktu – epitelocītos, fibroblastos, makrofāgos, plazmocītos un endotelocītos. Vienam pacientam (N°18) redzējām daudz

imunreaktīvas kaula šūnas, bet maz pozitīvas saistaudu šūnas. Kopumā vidējais TGFβ saturošo struktūru relatīvais daudzums pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos audos bija vidēji daudz līdz daudz. Minētā augšanas faktora ekspresija vienpusēju šķeltņu audos bērniem ar maiņas sakodienu bija relatīvi vairāk izteikta, nekā kontroles grupas pacientu audos, tomēr šī atšķirība nebija vērtējama kā statistiski ticama.

Barx1 ekspresiju novērojām deviņu pacientu pirmreizēji ņemto audu preparātos. Daudz pozitīvas struktūras redzējām vienā, vidēji daudz – četros un maz – divos gadījumos. Bagātīgu minētā gēna ekspresiju konstatējām epitēlijā, vidēji daudz imunreaktīvas šūnas atradām skrimslī (51. attēls pielikumā), epitēlijā (52. attēls pielikumā) un saistaudos, kā arī asinsvadu sienās un siekalu dziedzerī, bet retas pozitīvas šūnas redzējām divu pacientu epitēlijaudos un saistaudos.

Atkārtoti ņemtajos audos **Barx1** gēna ekspresiju konstatējām četriem pacientiem. Vienam bērnam redzējām daudz pozitīvas skrimšļa šūnas, bet trijiem – maz pozitīvus un biežāk perēkļveidīgi lokalizētus epiteliocītus. Kopumā **Barx1** imunreaktīvo struktūru relatīvais daudzums pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos, kā arī kontroles grupas pacientu audos bija līdzīgs.

PGP 9.5 iekrāsoja DNES struktūras 16 pacientu pirmreizēji ņemto audu materiālā. Vienā gadījumā novērojām daudz neuropeptīdus saturošas nervu šķiedras, kas lokalizējās asinsvadu sieniņās un nervšķiedru kūlīšos. Diviem pacientiem redzējām vidēji daudz un trijiem – maz līdz vidēji daudz pozitīvas nervu šķiedras asinsvadu sieniņās un ap tiem, un vienā no minētajiem gadījumiem (N°2) arī epitēlijā, subepitēlijā, mata folikulī un nervšķiedru kūlīšos (53. attēls pielikumā). Pārējiem pacientiem novērojām galvenokārt maz, kā arī trijiem retas neuropeptīdus saturošas struktūras. Šajos gadījumos **PGP 9.5** iekrāsoja retas nervu šķiedras epitēlijā, zem epitēlija esošajos saistaudos un asinsvadu sieniņās, kā arī smalkos nervšķiedru kūlīšos.

Atkārtoti ņemtajos audu paraugos DNES struktūras konstatējām pieciem pacientiem. To relatīvais daudzums galvenokārt bija mazs. Visu minēto bērnu audos novērojām retas nervu šķiedras asinsvadu sieniņās un ap tiem. Kopumā DNES struktūru relatīvais daudzums atkārtoti ņemtajos audos bija mazāks, nekā pirmreizēji ņemtajos un kontroles pacientu audos, bet to lokalizācijā būtiskas atšķirības neatradām.

TUNEL parādīja apoptozi 21 pacienta pirmreizēji ņemtajos audu paraugos. Pozitīvo struktūru relatīvais daudzums bija ļoti variabls. Daudz pozitīvas šūnas novērojām astoņu pacientu audos – epitēlijā (54. attēls pielikumā), saistaudos, kaulā un skrimslī. Vienam pacientam (N°4) konstatējām izteiktu apoptozi skrimšļa nobriedušo šūnu zonā, bet novērojām vidēji daudz pozitīvas šūnas proliferācijas zonā. Citam (N°15) vērojām daudz pozitīvas šūnas skrimslī, bet maz – saistaudos. Vidēji daudz līdz daudz apoptotiskas šūnas redzējām viena pacienta skrimslī. Trīs pacientiem konstatējām vidēji daudz, vienam – maz līdz vidēji daudz, un četriem – maz pozitīvas šūnas. Arī šajos gadījumos apoptotiskas šūnas atradām epitēlijā, saistaudos un asinsvadu sienās, kaulā un skrimslī, un to lokalizācija nereti bija perēkļveidīga. Tikai vienam pacientam (N°12) novērojām retas apoptotiskus osteocītus.

Atkārtoti paņemtajos audos TUNEL demonstrēja apoptozi astoņos gadījumos. Arī šajos audos apoptotisko šūnu relatīvais daudzums variēja no retām līdz daudz pozitīvām šūnām redzes laukā. Izteiktu apoptozi novērojām viena pacienta saistaudu šūnās. Bērnam N°10 konstatējām daudz TUNEL pozitīvas šūnas saistaudos un asinsvadu sienā, bet vidēji daudz – epitēlijā. Vidēji daudz apoptotiskus osteocītus redzējām divos gadījumos. Maz apoptotiskas skrimšļa un saistaudu šūnas novērojām katru vienā gadījumā. Pacientam N°2 redzējām apoptozi retos osteocītos, bet bērnam N°3 – retās saistaudu šūnās. Vidējais relatīvais pozitīvo struktūru daudzums atkārtoti ņemto audu materiālā bija maz līdz vidēji daudz. Savā pētījumā relatīvi nedaudz biežāk apoptotiskas šūnas redzējām pirmreizēji paņemtajos šķeltņu audos nekā atkārtoti paņemtajos vai kontroles paraugos, tomēr šīs atšķirības nebija vērtējamās kā statistiski ticamas.

4.2.4. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu - zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu grupas atradne

Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu jaunāko pacientu grupu veidoja septiņi zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu. Diviem pacientiem audi tika paņemti arī atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā.

Bāziskā FGF ekspresija tika novērota sešu bērnu pirmreizēji paņemto audu preparātos (14. tabula). Minēto augšanas faktoru bagātīgi ekspresēja epiteliocīti (N°6) un iekaisuma šūnas (N°5) (55. attēls pielikumā). Diviem pacientiem redzējām vidēji daudz pozitīvas struktūras – epiteliocītus un tauku dziedzeru glandulocītus. Vēl diviem pacientiem bFGF ekspresija dažādos audos variēja no maz līdz vidēji daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā. Pacientam

N^o2 ļoti vieglu minētā augšanas faktora ekspresiju redzējām tauku dziedzeru šūnās, bet relatīvi izteiktāka tā bija vakuolizētajās epitēlija šūnās. Turpretim, bērnam N^o7 maz imūnreaktīvas struktūras konstatējām asinsvadu sienās, bet vidēji daudz – saistaudos. Vidējais imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bija vidējs (++) , un tas bija būtiski lielāks nekā kontroles grupas pacientiem (15. tabula). Šī atšķirība vērtējama kā statistiski ticama ($z=2,640$; $p=0,008$).

Atkārtoti paņemtajos audos vienam pacientam novērojām bagātīgu bFGF ekspresiju asinsvadu sienas gludajos miocītos, bet otram atradām tikai retas pozitīvas saistaudu šūnas.

FGFR1 tika konstatēti visu bērnu pirmreizēji ņemto audu paraugos. Divos gadījumos tos bagātīgi ekspresēja epiteliocīti un saistaudu šūnas. Pieciem pacientiem novērojām relatīvi atšķirīgu pozitīvo struktūru daudzumu dažādos audos. Interesanti, ka visos šajos gadījumos īpaši daudz pozitīvas struktūras atkal redzējām epitēlijā (56. attēls pielikumā). Galvenokārt FGFR1 ekspresiju konstatējām visos epitēlija slāņos, tomēr pacientam N^o2 tā vairāk izteikta bija bazālo šūnu slānī, bet pacientam N^o3 – virsējos šūnu slāņos. Vidēji daudz līdz daudz vai visbiežāk vidēji daudz pozitīvas struktūras redzējām saistaudos un asinsvadu sienās, kur FGFR1 ekspresēja saistaudu šūnas un gludie miocīti, kā arī vienā gadījumā mata folikulu un tauku dziedzeru šūnas. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums bija liels (+++), tomēr salīdzinot to ar atradni kontroles pacientu audos, statistiski ticamas atšķirības nekonstatējām ($z=1,936$; $p=0,053$).

Atkārtoti paņemto audu materiālā minētos receptorus abos audu paraugos ekspresēja epitēlija un saistaudu šūnas. Vienam pacientam redzējām vidēji daudz, bet otram – daudz pozitīvas struktūras.

NGF ekspresiju novērojām trīs pacientu pirmreizēji paņemto audu preparātos. Divos gadījumos redzējām vidēji daudz minēto augšanas faktoru saturošus un perēkļveidīgi lokalizētus epiteliocītus (57. attēls pielikumā). Vienā gadījumā NGF ekspresēja maz saistaudu un mazo siekalu dziedzeru šūnas.

Atkārtoti paņemto audu paraugos konstatējām retas pozitīvas šūnas saistaudos un asinsvadu sienās. Vidējais imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bija 0/+ (retas struktūras redzes laukā).

14. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm.

N°	Šifrs	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
1.	177	++	++/+++ - +++	++	+++	-	+/++	++	++/+++
2.	168	+/+++	++ - +++	++	++/+++	-	+/++	++	++
3.	187	0/+	+++	0/+	++	-	++	0/+	++ - +++
4.	24	++	+++	-	++	-	+/+++ - ++	++	++/+++ - +++
5.	180	+++	++	0/+	++	-	-	+	++ - +++
6.	150	-	+/+++ - +++	-	++	-	-	+	++/+++ - +++
7.	134	+++	++ - +++	-	++/+++	-	+	+	+++
8.	81	+++	++ - +++	-	+++	-	++	+	+++
9.	79	+ - ++	+++	+	++	-	++	+/++	++ - +++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/++ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/+++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

15. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm un kontroles grupas audos.

	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFb	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
pirmreizēji atkārtoti	++	+++	0/+	++/+++	-	+/++	+/+++	++/+++
kontrolē	0/+	++	0/+	++	-	+	0/+	++/+++
			+	+/+++	++	0/+	+	+/+++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/++ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/+++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

NGFR atradām visu bērnu pirmreizēji paņemtajos audu paraugos. Divos gadījumos tos bagātīgi ekspresēja bazālie epiteliocīti (58. attēls pielikumā) un nervu šķiedras asinsvadu sienās un ap tiem (59. attēls pielikumā), kā arī pie tauku dziedzeriem. Diviem pacientiem novērojām vidēji daudz līdz daudz un trijiem – vidēji daudz pozitīvas struktūras. Arī šiem pacientiem minētā augšanas faktora receptorus ekspresēja epitēlija bazālās šūnas, nervu šķiedras asinsvadu sienās un ap tiem, kā arī vienā gadījumā mata folikula bazālie epiteliocīti (60. attēls pielikumā). Interesanti, ka NGFR ekspresija izteiktāka bija tieši epitēlija izaugumos. Vidējais imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bija vidēji daudz līdz daudz, un tas statistiski ticami atšķīrās no atradnes kontroles pacientu audos ($z=2,787$; $p=0,005$).

Atkārtoti paņemtajos audos novērojām vidēji daudz NGFR saturošus bazālos epiteliocītus un nervu šķiedras asinsvadu sienās un ap tiem. Interesanti, ka minēto receptoru ekspresiju pacientam N°2 redzējām tieši iekaisuma vietās (61. attēls pielikumā).

TGF β neatradām neviena pacienta pirmreizēji un atkārtoti paņemtajos audos. Salīdzinājumā ar kontroles grupas audiem, atšķirības bija statistiski ticamas ($z=3,612$; $p=0,001$; $z=2,205$; $p=0,027$).

Barx1 gēna ekspresija bija vērojama sešu pacientu pirmreizēji paņemtajos audos. Divos gadījumos atradām vidēji daudz pozitīvas epitēlija bazālās šūnas, un vienā no šiem gadījumiem Barx1 ekspresēja arī iekaisuma šūnas. Pacientam N°3 redzējām vidēji daudz Barx1 saturošas iekaisuma šūnas un maz līdz vidēji daudz epiteliocītus (62. attēls pielikumā). Maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvas šūnas konstatējām divu bērnu, bet maz – viena bērna audos. Arī šajos gadījumos Barx1 ekspresēja epiteliocīti (63. attēls pielikumā), kā arī tauku dziedzeru glandulocīti. Vidējais relatīvais Barx1 saturošo struktūru daudzums bija maz līdz vidēji daudz. Lai arī tas bija lielāks nekā kontroles grupas pacientu audos, statistiski ticamu atšķirību nenovērojām ($z=1,479$; $p=0,139$).

Atkārtoti ņemtajos audos minēto gēnu ekspresēja vidēji daudz šūnas viena pacienta epitēlijā.

PGP 9.5 saturošas struktūras tika konstatētas visu pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. Vidēji daudz imūnreaktīvas nervu šķiedras redzējām trijos gadījumos. Tās lokalizējās galvenokārt

asinsvadu sienās un ap tiem (64. attēls pielikumā), pie matu folikuliem, kā arī intraepiteliāli (65. attēls pielikumā), subepitēlijā vai nervu šķiedru kūlīšos. Maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras novērojām viena bērna audos, kas šajā gadījumā bija ne tikai nervu šķiedras, bet arī bazālajā epitēlija slānī lokalizētas šūnas. Maz sīkas PGP 9.5 saturošas nervšķiedras atradām trīs gadījumos. Vidējais relatīvais DNES struktūru daudzums pirmreizēji paņemtajos audos bija statistiski ticami lielāks nekā kontroles grupā ($z=2,064$; $p=0,039$).

Atkārtotu operāciju laikā ņemto audu paraugos vienā gadījumā redzējām maz sīkas PGP 9.5 saturošas nervšķiedras pie asinsvadiem un ap siekalu dziedzeriem, bet otrā – retas struktūras epitēlijā.

Apoptotiskas šūnas novērojām visu pacientu pirmreizēji paņemtajos audos. TUNEL metode parādīja daudz apoptotiskus epiteliocītus (66. attēls pielikumā) un saistaudu šūnas divu bērnu audu materiālā. Arī pārējos gadījumos apoptotisko šūnu relatīvais daudzums bija liels, un viena pacienta epitēlijaudos un saistaudos variēja no vidēji daudz līdz daudz. Nereti apoptoze bija perēklveidīga, un to varēja vērot arī asinsvadu sienas un dziedzerepitēlija šūnās (67. attēls pielikumā).

Līdzīgus rezultātus ieguvām analizējot **atkārtoti paņemtos audu paraugus**. Abos gadījumos redzējām vidēji daudz apoptotiskas šūnas epitēlijā un daudz – saistaudos, bet vienam pacientam arī mazajā siekalu dziedzerī. Relatīvi vidēji gan pirmreizēji, gan atkārtoti ņemtajos audos konstatējām vidēji daudz līdz daudz apoptotiskas šūnas. Savā pētījumā konstatējām, ka pirmreizēji ($z=3,251$; $p=0,001$) un atkārtoti paņemtajos audos ($z=2,019$; $p=0,044$) ir lielāks apoptotisko šūnu daudzums, nekā kontroles pacientu materiālā, un šīs atšķirības ir vērtējamas kā statistiski ticamas.

4.2.5. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu - bērnu ar maiņas sakodienu grupas atradne

Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu grupā bija astoņi bērni ar maiņas sakodienu. Diviem pacientiem (N°1, N°2) audi tika paņemti atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā, bet pacientam N°4 – no labās un kreisās puses šķeltnes rajona.

Bāziskā FGF ekspresija tika konstatēta visu pacientu pirmreizēji paņemto audu paraugos (16. tabula). Minēto augšanas faktoru saturošo struktūru daudzums izteikti variēja bērnu dažādās audu grupās. Bagātīgu bFGF ekspresiju redzējām viena pacienta (N°2) asinsvadu gludajos miocītos un vēl viena pacienta (N°5) tauku dziedera glandulocītos (68. attēls pielikumā). Bērnam N°2 novērojām relatīvi mazāk (++) pozitīvas iekaisuma šūnas – limfocītus un neitrofilos segmentkodolainos leukocītus, kā arī citas saistaudu šūnas, bet pacientam N°5 minēto pozitīvo šūnu relatīvais daudzums bija vēl mazāks (+). Vidēji daudz līdz daudz minēto augšanas faktoru saturošas šūnas novērojām divu pacientu (N°6, N°8) skrimslī, un vienam no tiem - pacientam N°6 atradām maz pozitīvus gludos miocītus asinsvadu sienīņā. Vidēji daudz imūnreaktīvas šūnas konstatējām divu pacientu epitēlijā, un vienam no tiem (N°4) redzējām retas un maz pozitīvas iekaisuma šūnas un tauku dziedzeru glandulocītus. Vienā gadījumā tika atrasti vidēji daudz pozitīvi siekalu dziedera glandulocīti un maz imūnreaktīvas iekaisuma šūnas un vēl vienā – vidēji daudz pozitīvi osteocīti. Relatīvi vidēji šajā pacientu grupā pirmreizēji ņemtajos audos redzējām vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā (17. tabula). Savā pētījumā konstatējām, ka bFGF pozitīvo struktūru daudzums ir ievērojami lielāks divpusēju šķeltņu pirmreizēji paņemtajos audos, nekā kontroles grupas pacientu materiālā, un šī atšķirība ir statistiski ticama ($z=3,750$; $p=0,001$).

Analizējot atkārtoti paņemto audu preparātus, bFGF ekspresiju novērojām viena pacienta audos, kuros redzējām vidēji daudz pozitīvas perēkļveidīgi lokalizētas epitēlija šūnas. Salīdzinājumā ar kontroles audiem statistiski ticamas atšķirības nekonstatējām.

FGFR1 ekspresija tika novērota visu pacientu pirmreizēji paņemtajā audu materiālā. Vienā gadījumā redzējām ļoti daudz pozitīvus epiteliocītus, tauku dziedera glandulocītus, asinsvadu sienā lokalizētus gludos miocītus, kā arī muskuļu šķiedras, nervšķiedru kūlīša endoneirija šūnas un iekaisuma šūnas (69. attēls pielikumā). Pacientam N°8 konstatējām ļoti daudz pozitīvas šūnas skrimslī nobriedušo šūnu zonā, bet vidēji daudz – proliferācijas zonā. Trīs bērnu audu preparātos novērojām daudz FGFR1 saturošas struktūras – epiteliocītus, saistaudu šūnas un šķiedras, asinsvadu gludās muskulatūras šūnas. Atšķirīgu minētā augšanas faktora receptorus ekspresējošu osteocītu relatīvo daudzumu konstatējām trīs gadījumos (N°5, N°6, N°7). Pētījuma konstatējām, ka FGFR1 pozitīvo struktūru daudzums pirmreizēji paņemtajos divpusējo šķeltņu audos ir statistiski ticami lielāks nekā kontroles grupas pacientu materiālā ($z=2,602$; $p=0,009$).

16. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bērniem ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukušļu šķeltnēm.

N°	Šifrs	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
1.	145	++	+++	0/+	+++	-	-	0/+	+++
	172	-	+++	-	++	-	-	-	-
2.	3	++ - +++	+++	+	+++	-	-	++/+++	+++ / ++++
	141	++	+++		0/+	-	-	-	+++
	186	++	+++	+++	++	+	0/+ - +	+++	++/+++
3.	132	+ - ++	+++	-	+++ / ++++	-	0/+	+	++ - +++ / ++++
4.	55L	+	+++ / ++++	-	++	0/+	0/+	++ / +++	+++
	55R	0/+ - ++	+++ / ++++	-	+++	0/+	0/+	++ / +++	+++
5.	185	+ - +++	++	+	-	-	-	-	-
6.	100	+ - ++ / +++	++ / +++	-	++	-	0/+	++	+++
7.	35	++	+++	-	-	-	-	-	+++
8.	125	++ / +++	++ - +++ / ++++	++	+++ / ++++	+	++	++ / ++	+++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/+ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/+++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

17. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums bērniem ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm un kontroles grupas audos

	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFb	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
pirmreizēji	++	+++	0/+	++	0/+	0/+	+ /+++	+++
atkārtoti	+	+++	0/+	++	0/+	0/+	0/+	++
kontrolle	0/+	++	+	+ /+++	++	0/+	+	+ /+++

- netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/+ + maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

Atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā paņemtajos audos bija vērojamas daudz pozitīvas šūnas epitēlijā un saistaudos, un arī šajā gadījumā šķeltņu audos pozitīvās struktūras vērojām statistiski ticami vairāk, nekā kontroles audos ($z=2,175$; $p=0,030$).

NGF ekspresiju novērojām četrus pacientus pirmreizēji ņemtajos audos. Pozitīvo struktūru lokalizācija galvenokārt bija perēkļveidīga. Vidēji daudz minēto augšanas faktoru ekspresēja viena pacienta hondrocīti, maz – divu pacientu bazālie epiteliocīti (70. attēls pielikumā) un saistaudu šūnas, bet vienam pacientam konstatējām retas pozitīvas šūnas epitēlija bazālajā slānī.

Atkārtoti ņemto audu preparātos redzējām bagātīgu NGF ekspresiju viena pacienta epitēlijā (71. attēls pielikumā), bet maz pozitīvas šūnas saistaudos. Gan pirmreizēji, gan atkārtoti ņemto audu materiālā vidējais relatīvais NGF pozitīvo struktūru daudzums bija nedaudz atšķirīgs, nekā kontroles grupas pacientu materiālā, tomēr šīs atšķirības nav vērtējamas kā statistiski ticamas.

NGFR atradām sešu pacientu audu materiālā. Divos gadījumos redzējām ļoti daudz un vēl divos – daudz pozitīvas struktūras. Minētā augšanas faktora receptorus šajos audos ekspresēja bazālie epiteliocīti (72. attēls pielikumā) un nervu šķiedras, kas vienā gadījumā bija lokalizētas asinsvadu sienās vai ap tiem (73. attēls pielikumā). Pacientam N°4 imūnreaktīvo struktūru relatīvais daudzums audu paraugos bija nedaudz atšķirīgs, un NGFR ekspresija bija vērojama epitēlija un mata folikula bazālajās šūnās, siekalu dziedzeru izvadu epiteliocītos, nervu šķiedrās asinsvadu sienās un ap tiem, kā arī nervšķiedru kūlīšos. Vidēji daudz pozitīvas nervu šķiedras konstatējām vienā gadījumā.

Atkārtoti ņemto audu materiālā NGFR ekspresējošo struktūru relatīvais daudzums variēja no retām līdz vidēji daudz. Šajos gadījumos redzējām pozitīvas un galvenokārt perēkļveidīgi lokalizētas epitēlija šūnas, kā arī nervu šķiedras asinsvadu sienās, ap tiem un kūlīšos. Lai arī pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos šķeltņu audos pozitīvas struktūras atradām nedaudz vairāk nekā kontroles materiālā, šīs atšķirības nebija vērtējamas kā statistiski ticamas.

TGFβ novērojām divu pacientu pirmreizēji paņemtajos audos. Vienā gadījumā tika atrastas retas pozitīvas saistaudu un mata folikula šūnas, bet otrā – maz pozitīvi hondrocīti.

Atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā ņemtajos audos minēto faktoru konstatējām vienā gadījumā perēkļveidīgi lokalizētās epitēlija šūnās (74. attēls pielikumā). Mūsu pētījumā konstatējam, ka TGF- β pozitīvas struktūras gan pirmreizēji ($z=3,684$; $p=0,001$), gan atkārtoti ņemtajos šķeltņu audos ($z=2,601$; $p=0,009$) ir statistiski ticami mazāk, nekā kontroles pacientu materiālā.

Barx1 gēna ekspresija bija vērojama četrus pacientu audos. Galvenokārt redzējām retas pozitīvas epitēlija, saistaudu un tauku dziedzeru šūnas. Vienā gadījumā Barx1 ekspresēja vidēji daudz skrimšļa šūnas.

Atkārtoti paņemtajos audos vienā gadījumā konstatējām retus pozitīvus epiteliocītus un maz pozitīvas saistaudu šūnas. Mūsu pētījumā būtiskas atšķirības starp vidējo Barx1 pozitīvo struktūru daudzumu pirmreizēji un atkārtoti paņemtajiem šķeltņiem, kā arī kontroles grupas pacientu audiem nekonstatējam.

PGP 9.5 saturošas DNES struktūras tika atrastas sešu pacientu pirmreizēji paņemtajos audos. Diviem redzējām vidēji daudz līdz daudz, vienam – vidēji daudz, vienam – maz līdz vidēji daudz, vienam – maz un vienam retas pozitīvas struktūras redzes laukā. PGP 9.5 iekrāsoja nervu šķiedras, kas galvenokārt bija lokalizētas asinsvadu sienās un ap tiem, subepitēlijā vai nervu šķiedru kūlīšos. Retāk neuropeptīdus saturošās nervšķiedras redzējām intraepitēliālā vai saistaudos ap siekalu dziedzeriem.

Atkārtoti paņemtajos audos vienam pacientam redzējām daudz pozitīvas sīkas nervšķiedras. Mūsu pētījuma statistiski ticamas atšķirības salīdzinot vidējo pozitīvo DNES struktūru daudzumu un pirmreizēji un atkārtoti paņemtajos un kontroles pacientu audos nenovērojām.

Šūnu apoptozi novērojām septiņu pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. TUNEL metode parādīja ļoti daudz pozitīvas saistaudu šūnas un gludās muskulatūras šūnas asinsvadu sienā pacienta N°2 audu preparātā (75. attēls pielikumā). Bērnam N°3 apoptotisku šūnu daudzums dažādos audos ļoti variēja: saistaudos bija ļoti daudz, epitēlijā – vidēji daudz, siekalu dziedzerepitēlijā – maz pozitīvas šūnas. Pārējos piecos gadījumos redzējām daudz apoptotiskas šūnas epitēlijā, saistaudos, skrimslī (76. attēls pielikumā) un kaulā, kā arī asinsvadu sienas šūnās, siekalu un tauku dziedzeros. Savā pētījuma konstatējam, ka

pirmreizēji paņemtajos šķeltņu audos ir statistiski ticami vairāk apoptotiskas šūnas nekā kontroles grupas pacientu materiālā ($z=3,018$; $p=0,003$).

Atkārtoti paņemtajos audos apoptotiskas šūnas konstatējām viena pacienta epitēlijā, saistaudos un asinsvadu sienas vidējā apvalkā.

4.3. Augšanas faktoru, Barx1 gēna un apoptozes savstarpēja korelācija

Bāziskā FGF ekspresiju novērojām visu šķeltņu pacientu grupās (18. tabula). Kopumā vidējais relatīvais bFGF saturošo struktūru daudzums zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm bija neliels (retas līdz maz pozitīvas struktūras). Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu vecāko pacientu grupā konstatējām vidēji relatīvi maz pozitīvas struktūras, turklāt, tieši šai pacientu grupai bija raksturīga bagātīga minētā augšanas faktora ekspresija tikai cietajos audos – kaulā un skrimslī. Bērniem ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm abās vecuma grupās bFGF ekspresija bija vairāk izteikta, turklāt, vidējais relatīvais bFGF saturošo struktūru daudzums pirmreizēji paņemtajos audos bija statistiski ticami lielāks nekā kontroles materiālā. Apstrādājot datus ar Kruskola-Valisa (Kruskal Wallis) testu, konstatējām, ka bFGF pacientu grupās svārstās statistiski ticami ($\chi^2=15,907$; $df=4$; $p=0,003$).

FGFR1 ekspresiju konstatējām visu šķeltņu pacientu grupās. Bērniem ar vienpusējām šķeltnēm abās vecuma grupās vidējais relatīvais FGFR1 struktūru daudzums bija līdzīgs. Minēto pacientu atkārtoti paņemtajos audos tas bija nedaudz lielāks. Interesanti, ka tieši bērnu ar maiņas sakodienu cietajos audos gan bāziskā FGF, gan tā receptoru ekspresija bija relatīvi bagātīga un ļoti līdzīga. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu abās vecuma grupās FGFR1 ekspresija bija vēl vairāk izteikta, un vidējais relatīvais FGFR1 struktūru daudzums galvenokārt bija liels (+++). Lai arī statistiski ticami lielāka ekspresija salīdzinājuma ar kontroli bija vērojama tikai divpusējo šķeltņu vecāko pacientu pirmreizēji un atkārtoti paņemtajos audos, tomēr Kruskola-Valisa tests parādīja, ka FGFR1 pacientu grupās svārstās statistiski ticami ($\chi^2=9,873$; $df=4$; $p=0,043$). Pacientu materiālā novērojām arī ticamu pozitīvu vāju korelāciju starp vidējo relatīvo bFGF un FGFR1 daudzumu ($p=0,032$; $r=0,233$).

Vidējais relatīvais NGF saturošo struktūru daudzums visās šķeltņu pacientu grupās bija neliels (retas pozitīvas struktūras), un tas bija relatīvi mazāks nekā kontroles materiālā. Atradām pozitīvu ticamu vāju korelāciju starp vidējo relatīvo NGF un bFGF daudzumu šķeltņu pacientu audos ($p=0,028$; $r=0,242$).

18. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums vienpusēju un divpusēju lūpas un aukušēju šķeltnu un kontroles grupās.

pacientu grupa/faktors	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	Barx1	PGP 9.5	TUNEL
zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukušēju šķeltnēm	0/+ - +	++/+++	0/+	+/++	++	+	+/++	++
bērniem ar maiņas sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukušēju šķeltnēm	+	+++	-- 0/+	+/++	++	-	+	+/++
zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un aukušēju šķeltnēm	+	+++	0/+	0/+ - +	++/+++	0/+	+	++
bērniem ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukušēju šķeltnēm	+	+++	0/+	-- 0/+	++/+++	0/+	0/+	+/++
zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un aukušēju šķeltnēm	++	+++	0/+	++/+++	-	+++	+/++	++/+++
bērniem ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukušēju šķeltnēm	+/++	+++	0/+	++	-	+	0/+	++/+++
bērniem ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un aukušēju šķeltnēm	++	+++	0/+	++	0/+	0/+	+/++	+++
kontrolē	0/+	++	+	+/++	++	0/+	+	+/++

■ – faktori, kuru korelācija pacientu grupās ir statistiski ticama, un to vidējais relatīvais daudzums

– netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā; 0/+ retas pozitīvas struktūras redzes laukā; + maz pozitīvu struktūru redzes laukā; +/+ maz līdz vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++ vidēji daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

NGFR ekspresiju novērojām visu šķeltņu pacientu grupās. Vidējais relatīvais NGFR saturošo struktūru daudzums variēja, un jaunākajiem pacientiem ar viopusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm tas, līdzīgi kā kontrolei, bija maz līdz vidēji daudz. Vecākajiem viopusēju šķeltņu pacientiem vidējais relatīvais NGFR saturošo struktūru daudzums bija statistiski ticami mazāks nekā kontroles pacientiem. Savukārt divpusējo šķeltņu pacientu grupās NGFR ekspresija salīdzinājumā ar kontroli bija lielāka, turklāt tieši zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu pirmreizēji paņemtajos audos vidējais relatīvais NGFR saturošo struktūru daudzums bija statistiski ticami lielāks. Kruskola-Valisa tests demonstrēja, ka NGFR pacientu grupās svārstās statistiski ticami ($\chi^2=33,324$; $df=4$; $p=0,001$).

TGF β ekspresija šķeltņu audos bija ļoti variabla. Vidējais relatīvais pozitīvo struktūru daudzums jaunāko pacientu ar viopusējam šķeltnēm grupā līdzīgi kā kontroles audos bija vidējs (++) , bet bērnu ar maiņas sakodienu grupā – nedaudz lielāks. Divpusējo šķeltņu jaunāko pacientu audos minētā augšanas faktora ekspresiju nekonstatējām, bet bērniem ar maiņas sakodienu vidējais relatīvais TGF β saturošo struktūru daudzums bija niecīgs (0/+). Tieši bērniem ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm abās vecuma grupās salīdzinājumā ar kontroli atšķirības vērtējamas ka statistiski ticamas. Apstrādājot datus ar Kruskola-Valisa testu, konstatējām, ka TGF β pacientu grupās svārstās statistiski ticami ($\chi^2=44,791$; $df=4$; $p=0,001$).

Vidējais relatīvais Barx1 gēnu saturošo struktūru daudzums pacientu grupās neizteikti variēja. Zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu neatkarīgi no šķeltnes tipa galvenokārt Barx1 imūnreaktīvo struktūru vidējais relatīvais daudzums bija nedaudz lielāks nekā kontroles pacientiem, tomēr atkārtoti paņemtajos audos viopusējo šķeltņu gadījumā minētā gēna ekspresija netika konstatēta. Tieši šī atšķirība salīdzinājumā ar kontroles grupa vērtējama kā statistiski ticama. Kruskola-Valisa parādīja, ka Barx1 gēna svārstība pacientu grupās nav statistiski ticama.

PGP 9.5 saturošo struktūru vidējais relatīvais daudzums šķeltņu pacientu grupās bija variabls, un būtiski neatšķīrās no kontroles grupas vidējā relatīvā rādītāja. Minētā faktora svārstība grupās nav vērtējama kā statistiski ticama.

Šūnu apoptozi novērojām lielākajā daļā audu materiālā. Bērniem ar viopusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm abās vecuma grupās pirmreizēji paņemtajos audos vidējais relatīvais pozitīvo struktūru daudzums bija līdzīgs, kā arī nedaudz lielāks salīdzinājumā ar kontroli. Atkārtoti paņemtajos šķeltnes skarto audu paraugos būtiskas atšķirības salīdzinājumā ar kontroli nekonstatējām. Divpusējo lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu materiālā bija vērojams apoptotisko šūnu vidējā relatīvā daudzuma pieaugums. Turklāt, pacientu grupās tas statistiski

ticami pozitīvi vāji korelē ar NGFR ($p=0,007$; $r=0,291$). Kruskola-Valisa tests parādīja, ka apoptozes skarto šūnu vidējais relatīvais daudzums pacientu grupās svārstās statistiski ticami ($\chi^2=13,779$; $df=4$; $p=0,000$).

5. DISKUSIJA

Bāziskā FGF ekspresiju konstatējām visās šķeltņu pacientu grupās. Kopumā imūnhistokīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu abu vecuma grupu pacientiem gan pirmreizēji, gan atkārtoti ņemtajos audos uzskatāmi būtiskas atšķirības neuzrādīja, tomēr tas bija nedaudz lielāks nekā kontroles grupas pacientiem. Bērniem ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm abu vecumu grupās pirmreizēji ņemtajos audos bFGF ekspresija bija vairāk izteikta. Turklāt, šī atšķirība, salīdzinājumā ar kontroles audiem, vērtējama kā statistiski ticama. Iespējams, to varētu skaidrot ar iedzimtās anomālijas smaguma pakāpi, kā arī ar literatūras apskatā minēto faktu, ka minētais augšanas faktors izdalās šūnu bojājuma rezultātā (Ensoli et al., 2003).

Šķeltņu skartajos sejas ādas audos redzējām imūnreaktīvus keratinocītus, gludos miocītus un tauku dziedzeru glandulocītus, tomēr to relatīvais daudzums dažādu pacientu audos visbiežāk variēja. Turklāt, tauku dziedzeri varējām novērot tikai nelielas pacientu daļas audu materiālā. Tas sakrīt ar vairāku zinātnieku publicētajiem datiem par bFGF atradni vesela cilvēka ādā (Akimoto et al., 1999; Gibran et al., 1994). Viņi norāda, ka minēto augšanas faktoru ekspresē keratinocīti, sviedru un tauku dziedzeru glandulocīti, mata folikula šūnas un endoteliocīti. Arī Cardon-Cardo ar līdzautoriem (Cardon-Cardo et al., 1990) ziņo par bFGF ekspresiju kapilāru sienas šūnās un vidēja lieluma asinsvadu sienas gludajos miocītos. Zināms, ka bFGF veicina epitēlija bazālo šūnu proliferāciju cilvēka ādā (Yaguchi et al., 1993). Lai arī peles ādā brūces rajonā novēro bFGF ekspresiju epidermas bazālajās šūnās (Werner and Grose, 2003), mēs šādu sakarību nekonstatējām.

Bāziskā FGF ekspresija mutes dobumā gļotādas audos vienpusēju šķeltņu pacientiem galvenokārt bija neizteikta, bet divpusēju šķeltņu gadījumos redzējām vidēji daudz un arī vienā gadījumā daudz pozitīvus epiteliocītus, kuri galvenokārt lokalizējās perēkļveidīgi. No literatūras avotiem zināms, ka mutes dobuma brūces dzīst ātrāk nekā ādas brūces, jo, iespējams, dažādi ekspresē bFGF (Nukumi et al., 2004). Tā pētījumos ar pelēm noskaidrots, ka reģenerācijas procesus mutes dobuma gļotādā novēro jau pēc pirmās dienas, bet ādā – tikai trešajā pēoperācijas dienā, savukārt reepitelizācijas process mutes dobumā beidzas piektajā dienā, bet ādā – septītajā. bFGF saturošo šūnu daudzums mutes dobuma audos maksimumu sasniedza piektajā dienā, bet ādā – septītajā (Nukumi et al., 2004).

Visās pacientu grupās novērojām bFGF ekspresiju iekaisuma šūnās, un pozitīvo šūnu daudzums variēja no retām līdz daudz. Literatūrā atrodami dati, ka minēto augšanas faktoru

producē leikocīti, makrofāgi un tuklās šūnas (Oda et al., 2004; Akimoto et al., 1999). Turklāt, Kanda ar līdzautoriem (Kanda et al., 2003) atzīmē, ka bagātīga bFGF ekspresija iekaisuma šūnās – makrofāgos un monocītos raksturīga audos no desmitās līdz četrpadsmitajai pēcoperācijas dienai. Aktivēti makrofāgi ekspresē sindekānu-2 un saista heparīnsulfātu pie CD44 proteīniem, tādējādi stimulējot bFGF piesaistīšanos FGFR (Ensoli et al., 2003). Tā kā mūsu gadījumā audi tika paņemti šķeltnes korekcijas laikā, domājams, ka būtiska minētā augšanas faktora ekspresija sekos. To daļēji apstiprina dati, ka visintensīvākā minētā faktora ekspresija apdeguma brūces audos ir no ceturtais līdz vienpadsmitajai dienai (Gibran et al., 1994). Savukārt, literatūrā aprakstītā bFGF veidošanās tuklajās šūnās novērota hroniski iekaisušos audos (Qu et al., 1998).

Tā kā šķeltnu korekcija ietver vairākkārtējas ķirurģiskas operācijas, daļai bērnu, īpaši vecāko pacientu grupās, redzējām rētaudiem raksturīgu resnu kolagēno šķiedru kūlīšu akumulāciju, tomēr tālāk tekstā aprakstītās sakarības nenovērojām.

Literatūrā atrodami pētījuma rezultāti par bFGF ekspresiju veselas ādas audos un rētaudos (Akimoto et al., 1999). Zinātnieki konstatē, ka tieši rētaudus raksturo minēto augšanas faktoru saturoši makrofāgi. Tā kā pozitīvo tuklo šūnu skaits būtiski neatšķiras, tad autori izsaka domu, ka tieši makrofāgu un fibroblastu izdalītajam bFGF ir nozīme rētaudu attīstībā (Akimoto et al., 1999). Daļēji to apstiprina cita pētījuma rezultāti, kuri tika iegūti ar imūnhistoķīmijas metodi analizējot fibrozus mutes dobuma zemgļotādas audos. Arī šajos gadījumos tika konstatēta bagātīga bFGF ekspresija, bet tikai fibroblastos un endoteliocītos, un tā bija raksturīga minētās patoloģijas agrīnai attīstības stadijai (Bishen et al., 2008). Nedaudz pretrunīgi ir citas zinātnieku grupas 1992. gadā publicētie rezultāti (Kurita et al., 1992). Peles ādas dzīšanas laikā autori novēro bagātīgu minētā augšanas faktora ekspresiju bazālā slāņa keratinocītos, bet neatrod dermas fibroblastos, makrofāgos un endoteliocītos.

Mūsu pētījumā šobrīd aktuāls paliek jautājums par konkrētu saistaudu šūnu un to ekspresētā bFGF nozīmi iespējamo rētaudu veidošanā šķeltnu skartajos audos. Perspektīvē, novērojot, cik ātri un kā notiek audu dzīšana pēcoperācijas periodā tiem pacientiem, kuru materiālā jau ķirurģiskās korekcijas laikā bija daudz imūnreaktīvas iekaisuma šūnas, varētu izvērtēt minētā augšanas faktora darbību šķeltnes skartajos audos un vajadzības gadījumā to neitralizēt. Turklāt, ir zināms, ka brūces audos iekaisuma šūnu kustību izraisa TGF β , kurš izdalās no asins plātnītēm (Werner and Grose, 2003). Minētās šūnas savukārt izdala virkni faktoru, tai skaitā bFGF, kuri stimulē fibroblastu darbību un veicina kolagēnu un citus ekstracelulārās matrices proteīnu sintēzi (Wagner and Wehrmann, 2007).

Lai arī mūsu pētījumā pacienti tika sadalīti divās vecuma grupās, būtisku saikni starp bFGF ekspresiju un bērnu vecumu nekonstatējām. Literatūrā atrodami dati par dažādu augšanas faktoru ekspresiju indivīdu vecuma aspektā. Interesanti ir pētījumi par bFGF un TGFβ lokalizāciju peles lūpas brūcēs. Tos novēro jaundzimušas un pieaugušas peles audos, bet neatrod augļa audos. Šie fakti, pēc autoru domām, liecina par minēto faktoru spēju veidot rētaudus (Whitby and Ferguson, 1991; Strutz et al., 2000). Arī Belfords dažus gadus vēlāk publicē rakstu, kurā akcentē embrija audu spēju dzišanas procesā neveidot rētaudus (Belford, 1997). Kā skaidrojums tam ir fakts, ka augļa brūcēs iekaisuma šūnu ir maz, un, tādējādi, hemotakse un citokīnu producēšanas kaskāde netiek iniciēta (Ensoli et al., 2003; Wagner and Wehrmann, 2007).

2007. gadā divi vācu zinātnieki publicē sava pētījuma rezultātus par dažādu citokīnu, tai skaitā arī bFGF un TGFβ, ekspresiju jaundzimušas un nobriedušas žurkas ādā. Pielietojot imūnhistoķīmijas metodi un pozitīvās struktūras summējot puskvantitatīvi, pētnieki norāda uz būtiski izteiktāku ekspresiju nobrieduša organisma audos. Jaundzimuša dzīvnieka ādā tie novēro rūpīgāku reepitelizāciju un morfoloģiski neizmainītu audu reģenerāciju (Wagner and Wehrmann, 2007). Turklāt rakstā minēti fakti, ka veicot intrauterīnas ķirurģiskas korekcijas pelēm, aitām un pērtiķiem, kuriem iepriekš tika izraisītas šķeltnes, to audi dzīst strauji, tajos praktiski nenovēro iekaisumu un neveidojas rētaudi.

Tā kā šķeltņu korekciju laikā nereti audi tika paņemti tieši no aukslējām, interesanti būtu pievērst uzmanību tālāk aprakstītajam pētījumam. Injicējot žurkām bFGF mutes dobuma aukslēju gļotādas saistaudos pēc ķirurģiskām manipulācijām un salīdzinot datus ar kontroles dzīvnieku grupu, atrasts, ka bFGF ne tikai būtiski paātrina reepitelizācijas procesu, un morfoloģiski atšķirības epitēlija struktūrā starp abām grupām netiek novērotas, bet arī sekmē ātrāku kolagēna nobriešanu (Oda et al., 2004).

Praktiski visos šķeltņu cietajos audos – kaulā un skrimslī redzējām vidēji daudz vai daudz bFGF saturošas šūnas. To daļēji varētu izskaidrot tas, ka hondrocīti producē minēto augšanas faktoru, uzglabā to ekstracelulārajā matricē un atbrīvo to tieši bojājuma brīdī (Li et al., 2008). Tāpat varētu domāt, ka tieši cietie audi, sevišķi skrimslis, ir viselastīgākie šķeltņu audu remodelēšanās procesā, jo šādi mēģina kompensēt masīvo apoptozi, kuru novērojām lielākajā daļā cieto audu paraugus. Tomēr, zināms, ka bFGF mitogēnais efekts skrimslī korelē ar FGFR receptoru aktivāciju. Saistoties ar FGFR1, minētais augšanas faktors veicina hondrocītu proliferāciju (Li et al., 2008). Sejas šķeltņu skrimšļaudos novērojumi bija ļoti individuāli. Dažkārt materiālā ar bagātīgu bFGF ekspresiju redzējām arī daudz FGFR1 pozitīvas šūnas, piemēram, divpusējo lūpas un aukslēju šķeltņu pacientam maiņas sakodiena

vecumā (N° 8), bet dažkārt novērojumi bija pretēji. Tā bērnam maiņas sakodiena vecumā ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm (N°14), nekonstatējām bFGF imūnreaktīvus hondrocītus, bet redzējām vidēji daudz FGFR1 ekspresējošas šūnas. Lai arī Spīrmena rangu korelācija parādīja ticamu pozitīvu vāju korelāciju starp FGFR1 un bFGF ($p=0.032$; $r=0.242$), pilnīgāku secinājumu veikšanai par bFGF ietekmi uz skrimslī nepieciešama individuāla pieeja, kā arī minēto audu papildus izpēte, jo arī paši skrimšļaudi bija redzami tikai nelielā daļā audu materiāla.

bFGF veicina skrimšļa šūnu mitozī *in vitro* (Fujivara et al., 2005; Shida et al., 1996). Tas regulē šūnu proliferāciju un ekstracelulārās matricē sintēzi un degradāciju nobriedušā locītavu skrimslī (Im et al., 2007), un ar imūnhistoķīmijas metodēm ir demonstrēts vairāku dzīvnieku, tai skaitā arī cāļa, augšanas skrimšļa proliferācijas un hipertrofēto šūnu zonā (Twal et al., 1996). Žurku apakšžokļa *condylar* skrimslī bFGF lokalizējas visu skrimšļa zonu šūnās, bet ievērojamāka tā ir tieši proliferācijas un nobriedušo šūnu zonā (Tajima et al., 1998). Tādējādi aktuāli ir pēdējo gadu pētījumi par bFGF nozīmi skrimšļa reģenerācijas procesā. Vincents ar līdzautoriem publicē vairāku pētījumu rezultātus, kuros ziņo par bFGF nozīmi traumētā skrimslī remodelēšanās procesā (Vincent et al., 2002; Vincent and Saklatvala, 2006). Injicējot minēto augšanas faktoru četras nedēļas vecu žurku un trušu locītavu skrimslī, dažādas zinātnieku grupas no Japānas secina, ka tas veicina šūnu proliferāciju, skrimšļa augšanu un atveseļošanu (Shida et al., 1996; Tanaka et al., 2004). Cits pētnieku kolektīvs ievieto ar bFGF impregnētu implantu traumētā suņu trahejas skrimslī un pierāda tā stimulējošo nozīmi reģenerācijas procesā, norādot, ka jaunizveidotie skrimšļaudi ir fibrozi (Igai et al., 2007). Injicējot bFGF vērša starpskriemeļu disku šūnu kultūrās, tiek veicināta šūnu proliferācija un samazināta ekstracelulārās matricē producēšana, kā rezultātā formējas šķiedrains skrimslis (Li et al., 2008). Turklāt daļa zinātnieku akcentē eksogēnā augšanas faktora noteiktas koncentrācijas būtisko nozīmi. Pēdējos gados aktuāls ir augšanas faktoru pielietojums audu inženierijā. Literatūrā aprakstīti pētījumi par cilvēka deguna starpsienas hondrocītu šūnu kultūrām, kurām pievienojot bFGF un TGF, tie katrs atsevišķi vai kombinācijā veicina šūnu proliferāciju, kas vēlāk sekmīgi varētu tikt pielietotas sejas rekonstrukcijā (Richmond et al., 2005; Chua et al., 2007).

Bāziskais FGF ietekmē gan kaula veidošanos, gan reabsorbciju, var darboties kā lokāls regulators kaula pārbūves laikā un inducēt osteoblastu apoptozi (Bikfalvi et al., 1997; Sabbieti et al., 1999; Mansukhani et al., 2000). Interesanti, ka bFGF veicina nenobriedušu kaula šūnu proliferāciju, bet inducē apoptozi nobriedušos osteocītos (Mansukhani et al., 2000). Kopā ar TGF β to sintezē hondroblasti un osteoblasti dzišanas procesā (Bolander, 1992).

Šķeltņu ķirurģijā mukoperiosta atsegšana ir būtisks inhibējošs faktors aukšžokļa augšanā. Lokāli injicējot brūcē bFGF un histoloģiski analizējot audus to dzīšanas laikā, zinātnieki secina, ka minētais augšanas faktors sekmē periosta reģenerāciju un kaula apasiņošanu (Kawanabe et al., 2004). Gadu vēlāk minētais zinātnieks ar kolēģiem publicē pētījuma rezultātus, kuros pierāda bFGF stimulējošo ietekmi uz aukšžokļa laterālo augšanu (Kawanabe et al., 2005). Vēl vēlākā publikācijā minētais zinātnieks ar citu pētnieku grupu pārliecinoši demonstrē, ka bFGF injekcijas uzlabo operētās aukslēju gļotādas un zemāk esošā kaula apasiņošanu un izsaka domu, ka tas varētu veicināt audu remodelēšanos aukslēju augšanas laikā (Hata et al., 2008). Tādējādi, ilgstošā periodā novērojot ne tikai sejas un mutes dobuma mīksto audu reģenerācijas iespējas, bet arī cieto audu pārmaiņas, īpaši, aukšžokļa augšanu, varētu izvērtēt mūsu pētījumā konstatētā endogēnā bFGF efektu šķeltņu audos. Tālākā nākotnē, pēc šķeltņu audu morfoloģiskās izmeklēšanas rezultātiem, varētu izvērtēt arī eksogēnā bFGF kā terapeitiska līdzekļa nepieciešamību.

Dažos gadījumos bFGF novērojām šķeltņu pacientu siekalu dziedzeros. *In vitro* pētījumos pierādīts, ka minētais augšanas faktors veicina dziedzera šūnu mitozī, neietekmējot to morfoloģiju (Kagami et al., 2000). Turklāt, autors uzskata, ka minētais augšanas faktors veicina traumētas aukslēju gļotādas reģenerāciju jo ir siekalās.

FGFR1 konstatējām praktiski visu šķeltņu un kontroles grupas pacientu audos. Ar imūnhistoķīmijas metodi krāsotajos kontroles grupas pacientu materiālā vidējais relatīvais pozitīvo struktūru daudzums bija mazāks.

Visās šķeltņu pacientu grupās bija vērojama samērā bagātīga minēto receptoru ekspresija epitēlija, saistaudu, tauku dziedzeru un matu folikulu šūnās. Epitēlijā novērojām perēķveidīgi, difūzi un retāk arī bazāli lokalizētas pozitīvas šūnas. Literatūrā ir atrodami dati par FGFR1 lokalizāciju cilvēka ādā. Lietojot imūnhistoķīmijas metodi un pozitīvo struktūru daudzumu apzīmējot puskvantitatīvi, Hughes novēro bagātīgu minēto receptoru ekspresiju epidermā, tauku dziedzeru un matu folikulu šūnās, dermas vidējajos un mazajos asinsvados (Hughes, 1997). Analizējot vēl arī citus orgānus, zinātnieks uzsver, ka FGFR1 ekspresija vairāk raksturīga epitēlija bazālo šūnu līmenī. Sadarbībā ar kolēģi minētais zinātnieks 1993. gadā ir publicējis pētījuma rezultātus par intensīvu šī receptora ekspresiju kakla, aukslēju mandeles un elpceļu epitēlija bazālajās šūnās (Hughes and Hall, 1993). Līdzīgus datus par FGFR1 ekspresiju ādā publicē Akimoto ar kolēģu grupu, uzsverot, ka imūnreaktīvo šūnu skaits pieaug rētaudos (Akimoto et al., 1999). Cits zinātnieku kolektīvs novēro ievērojamu minēto receptoru ekspresiju visos epidermas slāņos, mata folikula šūnās, asinsvadu gludajos

miocītos, sviedru dziedzeru glandulocītos, kā arī mazāk izteiktu dziedzeru izvadu epitēlijā (Takenaka et al., 2002).

Iespējams, ka šķeltņu skartajos audos bagātīgu FGFR1 ekspresiju varētu skaidrot ar šūnu spēju demonstrēt ievērojamu proliferācijas potenciālu jau ķirurģiskās korekcijas laikā, lai gan ir zināms, ka FGFR1 ekspresija aukslēju epitēlijā būtiski pieaug trešajā pēcoperācijas dienā (Kanda et al., 2003). Minētā augšanas faktora receptorus žurkas ādas dzīšanas laikā ekspresē keratinocīti un brūces rajonā infiltrēti leukocīti (Oda et al., 2004). Interesanti, ka FGFR1 ekspresija pieaug proporcionāli injicētajam bFGF. Zinātnieki uzskata, ka minētais FGF inducē receptoru ekspresiju.

Bērnu šķeltņes skartajos cietajos audos galvenokārt redzējam bagātīgu FGFR1 ekspresiju. Interesanti, ka tieši cietajos audos nereti novērojām vienlīdz izteiktu bFGF un FGFR1 saturošo struktūru relatīvo daudzumu. Literatūrā ir atrodami nedaudzi dati par minēto receptoru ekspresiju skrimslī. Zināms, ka FGFR1 regulē hondrocītu proliferāciju un diferenciāciju (Smith et al., 2007). Hughes cilvēka plaušu skrimšļos to neatrod (Hughes, 1997). Tā kā FGF receptoriem ir vadošā nozīme skrimšļaudu attīstībā un augšanā un to ekspresija ir aprakstīta vairāku dzīvnieku skrimšļos dažādās vecuma stadijās (Wilke et al., 1997; Hamada et al., 1999), skrimšļa remodelēšanās procesā varētu sagaidīt vēlamu terapeitisko rezultātu.

No literatūras avotiem zināms, ka FGFR1 būtiski ietekmē dažādas osteoblastu nobriešanas stadijas. Nenobriedušām kaula šūnām FGFR1 trūkums veicina proliferāciju, kavē diferenciāciju un matricas mineralizāciju, kamēr diferencētiem osteoblastiem FGFR1 trūkums sekmē kaula mineralizācijas procesu (Jacob et al., 2006). Tā kā minēto receptoru ekspresija kaulā raksturīga arī pēc lūzumiem (Rundle et al., 2002), domājams, ka arī šķeltņu skartie kaulaudi ir potenciāli spējīgi pilnvērtīgi reģenerēt.

NGF ekspresiju novērojām visās pacientu grupās, un imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums bija niecīgs. Kontroles grupas pacientu audos konstatējam relatīvi nedaudz vairāk pozitīvas struktūras.

Visās šķeltņu pacientu grupās novērojām NGF ekspresiju epitēlijā un saistaudos. Galvenokārt tā bija ļoti vāja un nereti arī perēkļveidīga. Tikai četriem bērniem redzējam vidēji daudz vai daudz pozitīvas šūnas epitēlijā, un trijiem no minētā pacientu skaita bija divpusējas lūpas un aukslēju šķeltnes. Saistaudos biežāk konstatējam retas un maz pozitīvas saistaudu šūnas, tajā skaitā arī iekaisuma šūnas. Atsevišķos gadījumos bija vērojama bagātīga NGF ekspresija iekaisuma šūnās. Mūsu rezultātus daļēji apstiprina citu zinātnieku publicētie materiāli. Tā, no

literatūras avotiem zināms, ka normā NGF sintezē un atbrīvo keratinocīti, kas ir lokalizēti galvenokārt bazālajā slānī, kā arī fibroblasti, tuklās šūnas, limfocīti un eozinofīlie leukocīti (Dou et al., 2006; Sugaya and Maeda, 2007). Interesanti, ka viens no minētajiem autoru kolektīviem vesela cilvēka ādā novēro vāju ekspresiju bazālajos epitelocītos, bet atipiska dermatīta gadījumā tā ir izteikta bazālā un dzeloņainā slāņa epitelocītos (Dou et al., 2006).

Zināms, ka NGF sintezē ādas, plaušu un konjunktīvas fibroblasti (Iannone et al., 2002; Micera et al., 2003). NGF veicina minēto šūnu migrāciju un diferenciaciju miofibroblastos, bet neietekmē kolagēna sintēzi (Micera et al., 2003). Tā kā fibroblastu migrācija un diferenciacija ir neiztrūkstoši procesi audu dzīšanas sākuma un beigu fāzēs, relatīvi niecīgā NGF un tā receptoru imūnhistoķīmiski noteiktā atradne šķeltņu audos ir vērtējama kā negatīvs signāls turpmākajā saistaudu reģenerācijā.

NGF imūnreaktīvas iekaisuma šūnas novērojām galvenokārt vienpusējo šķeltņu pacientu audos. NGF veicina limfocītu, tuklo šūnu, neitrofilo un eozinofilo leukocītu izdzīvošanu un funkcijas cilvēku audos (Matsuda et al., 1998). Minētajam augšanas faktoram ir būtiska nozīme iekaisuma uzturēšanā un audu dzīšanā. Deguna blakusdobumu šūnu kultūrās tas veicina brūces slēgšanos (Tan et al., 2008). Savukārt, traumējot žurkas ādu konstatēts, ka NGF ekspresija pieaug jaundzimuša dzīvnieka epitelocītos brūces malās un granulācijas audu fibroblastos, bet to nenovēro nobrieduša indivīda audos (Werner and Grose, 2003). Autori izsaka domu, ka neatkarīgi no iedarbības mehānisma lielāks minētā faktora daudzums veicina ātrāku audu sadzīšanu. Kā negatīvs augšanas faktora efekts ir alerģisku reakciju patoģenēze. Alerģiska rinīta gadījumā pētnieki konstatē bagātīgu NGF atradni deguna epitēlijā un gļotādas dziedzeros un tikai nelielu daudzumu tuklajās šūnās (Wu et al., 2006). Cits zinātnieku kolektīvs secina, ka peles ādas ievainojuma gadījumā pieaug NGF līmenis serumā un brūces audos, ka rezultātā tiek veicināta ādas dzīšana (Matsuda et al., 1998).

Arī traumu un ortodontisku zobu kustību gadījumā pieaug NGF sintēze periodontālās saites šūnās, tātad, ortodontiskas traumas inducē augšanas faktora produkciju periodontālajās saites šūnās pie kaula trabēkulām un pulpā (O'Hara et al., 2009).

NGF novērojām piecu pacientu skrimslī. Imūnreaktīvo struktūru relatīvais daudzums variēja no retām līdz daudz. Hondrocīti audu homeostāzi nodrošina sabalansētā ekstracelulārās matricēs komponentu sintēzē un to degradācijā (Iannone et al., 2002). Skrimšļa ekstracelulārā matricē darbojas kā augšanas faktoru rezervuārs (Saha et al., 2004). No literatūras avotiem zināms, ka NGF kopā ar bFGF un TGFβ piedalās skrimšļa remodelēšanā, turklāt tā sintēze locītavu skrimšļa šūnās pieaug proporcionāli artrītu smaguma pakāpei (Iannone et al., 2002). Ar imūnhistoķīmijas metodi izpētot NGF ekspresiju žurkas kaula lūzuma gadījumā, faktora

ekspresija hondrocītos dokumentēta tikai daļēji (Grills and Schuijers, 1998). Autori norāda, ka minētais process, iespējams, atkarīgs no šūnu diferenciācijas pakāpes. Mūsuprāt, šo pieņēmumu varētu attiecināt arī uz šķeltņu audiem, jo vienā redzējām vidēji daudz pozitīvas perēkļveidīgi lokalizētas skrimšļa šūnas, kā arī atsevišķos gadījumos daudz imūnreaktīvas struktūras skrimšļa augšanas zonā.

NGF ekspresiju kaulā neredzējām praktiski nevienā gadījumā. Tā kā kaulaudus redzējām tikai dažu pacientu materiālā, un arī tad NGF izdale bija ļoti niecīga, iepriekš minēto novērojumu, domājams, nevar uzskatīt par objektīvu un šķeltņu audus raksturojošu.

Zināms, ka veselā žurkas kaulā NGF imūnreaktivitāti novēro periosta mazdiferencētajās šūnās, bet jau vienu nedēļu pēc kaula lūzuma to redz ne tikai minētajās periosta šūnās, bet arī kaula smadzeņu stromas šūnās, osteoblastos, jaunajos osteocītos un jaunizveidoto kapilāru endotēlijā. Interesanti, ka, sestajā nedēļā pēc kaula bojājuma, NGF ekspresē atkal tikai mazdiferencētās šūnas periostā (Grills and Schuijers, 1998). Implantējot žurkas galvaskausa kaulā ar minēto augšanas faktoru piesūcinātu biomateriālu, konstatēts, ka tas uzlabo kaulaudu reģenerāciju bojājumā (Letic-Gavrilovic et al., 2003). Arī lokāli injicējot NGF truša apakšžokļa kaula modelī, pierādīts, ka šis faktors lūzuma gadījumā stimulē osteoblastu diferenciāciju, uzlabo kaula reģenerāciju un inervāciju (Wang et al., 2006). Tādējādi autori akcentē NGF kā nozīmīgu terapeitisku aģentu audu inženierijā, tai skaitā arī aukslēju šķeltņu gadījumos.

NGFR ekspresiju epitēlijā un saistaudos novērojām visās pacientu grupās. Divpusējo šķeltņu audos tā bija vairāk izteikta. Minēto receptoru ekspresēja bazālie epiteliocīti, kā arī retas nervu šķiedras saistaudos un atsevišķos gadījumos iekaisuma šūnas. Mūsu rezultāti ir līdzīgi citu zinātnieku publicētajiem rezultātiem. Zināms, ka NGFR ekspresē mutes dobuma gļotādas epitēlija bazālās šūnas un mata folikula bazālās šūnas (Thompson et al., 1989). Autoru kolektīvs Di Marco vadībā novēro NGFR ekspresiju epidermas bazālā slāņa šūnās, bet neatrod citos slāņos (Di Marco et al., 1993). Veselas mutes dobuma gļotādas biopsiju materiālā ir konstatēta minēto receptoru ekspresija bazālajos epiteliocītos un NGF atradne graudainā un virsējās dzeloņainā slāņa šūnās (Hayashi et al., 2007). Pamatojoties uz augšanas faktora un tā receptoru dažādo lokalizāciju, autori akcentē to kā autokrīnas sistēmas nozīmi epiteliocītu diferenciācijas procesā. Arī jaunākajos literatūras avotos ir atrodami dati, kur minēta NGF atradne deguna gļotādas epitēlijā un dziedzeros, kā arī NGFR lokalizācija tieši bazālajos epiteliocītos (Tan et al., 2008). Tādējādi, svarīgi būtu izvērtēt reepitelizācijas gaitu

individuāli tiem pacientiem, kuru audos atradām relatīvi daudz vai vismaz vidēji daudz imūnreaktīvas ne tikai epitēlija bazālās šūnas, bet arī augstāk novietoto epitēlija slāņu šūnas.

NGFR novērojām galvenokārt relatīvi maz vai retos ādas un gļotādas fibroblastos. Zināms, ka minēto augšanas faktora receptorus ekspresē ādas, plaušu un konjunktīvas fibroblasti (Iannone et al., 2002; Micera et al., 2003).

Vesela cilvēka ādā NGFR ekspresē nervu šķiedras ap mata folikuliem, sviedru dziedzeriem un asinsvadiem (Dou et al., 2006). Līdzīgus rezultātus ieguvām arī mēs, analizējot no šķeltnes rajona ņemtus audus.

Traumu un ortodontisku zobu kustību gadījumā p75 ekspresē šūnas uz cementa un periodontālās saites robežas (O'Hara et al., 2009).

TGFβ ekspresiju konstatējām galvenokārt viopusējo šķeltņu pacientu grupās. Kopumā imūnhistoķīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums viopusēju lūpas un aukslēju šķeltņu abu vecuma grupu pacientiem gan pirmreizēji, gan atkārtoti ņemtajos audos, gan arī kontroles grupas pacientu audos būtiskas atšķirības neuzrādīja, tomēr tas bija nedaudz lielāks bērniem ar maiņas sakodienu. Šīs atšķirība nav vērtējamas kā statistiski ticamas.

Bērniem ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm jaunāko pacientu audos TGFβ ekspresiju nekonstatējām, bet bērniem ar maiņas sakodienu maz vai retas pozitīvas struktūras redzējām tikai dažos gadījumos. Salīdzinot iegūtos datus abu vecumu grupu pirmreizēji un atkārtoti ņemto audos ar kontroli, novērojām statistiski ticamas atšķirības.

Kopumā viopusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu grupās TGFβ ekspresiju novērojām 33 bērnu audu materiālā, un vairumā gadījumu tā bija izteikti perēkļveidīga. Literatūrā atrodami dati, ka keratinocītos un vesela cilvēka mutes dobuma epitēlija šūnās novēro TGFβ, turklāt minētā proteīna ekspresija pieaug mutes plakanšūnu karcinomas gadījumos (Welker et al., 1998; Jin et al., 2001). Arī elpceļu epiteliocīti producē minēto faktoru, tādējādi veicinot fibroblastu proliferāciju (Hostettler et al., 2008). Astmas un hronisku bronhītu gadījumos bronhu gļotādas biopsijās epitēlijā atrod pieaugošu TGFβ ekspresiju (Vignola et al., 1997). Savukārt, neizteiktu TGFβ ekspresiju peles embrija veselā ādā novēro ārējos epitēlija slāņos un ap mata folikuliem (Cowin et al., 2001). Tādējādi, samērā bagātīgo minētā augšanas faktora atradni viopusējo šķeltņu epitēlijaudos varētu skaidrot ar literatūrā aprakstītiem datiem, ka TGFβ ir noteicošā nozīme organisma homeostāzes procesa nodrošināšanā, kurā ir būtisks līdzsvars starp šūnu proliferāciju un programmētu šūnu nāvi (Howe, 2003). No otras puses, neatbildēts paliek jautājums par retu un niecīgu atradni divpusējo šķeltņu epitēlijā.

Interesanti, ka apkopojot vairāku zinātnieku pētījumu rezultātus, Sabīne Wernere un Ričards Grose (Werner and Grose, 2003) norāda uz samērā paradoksāliem datiem. Lokāla audu bojājuma gadījumā asins plātnītes atbrīvo TGF β , tālākā gaitā to producē keratinocīti, leukocīti, fibroblasti, makrofāgi, kas veicina iekaisuma šūnu infiltrāciju, ekstracelulārās matricē veidošanos un angiogēnēzi. Tomēr, endogēnais TGF inhibē reepitelizāciju un principā nav nepieciešams reepitelizācijas procesā. Turpretim, vienlaicīgi TGF inducē integrīnu ekspresiju, kas ir nepieciešama keratinocītu migrācijā ap fibronektīna bagāto brūces teritoriju. Savukārt, eksogēns TGF reepitelizāciju stimulē.

TGF β ekspresiju novērojām galvenokārt vienpusēju šķeltņu pacientu saistaudos. Tikai viena bērns ar divpusēju šķeltņi materiālā redzējām dažas imūnreaktīvas saistaudu šūnas. Literatūrā atrodami pētījumu rezultāti par TGF β ekspresiju dažādu orgānu un struktūru saistaudos. Minētais faktors stimulē fibroblastu darbību, veicinot ekstracelulārās matricē proteīnu - kolagēnu, fibronektīnu, integrīnu sintēzi. Tas inhibē ekstracelulāro matrici degradējošu enzīmu, piemēram - kolagenāžu, heparināžu un stromelizīna, sintēzi (Blobe et al., 2000; Cowin et al., 2001). Savukārt minētā peptīda pārprodukcija veicina ādas, plaušu un acu fibrozi, aknu cirozi (Border and Ruoslahti, 1992; Vignola et al., 1997; Takehara, 2000; Govinden and Bhoola, 2003).

Tā kā viens no šķeltņu veidošanās iemesliem ir nepietiekoša šūnu proliferācija un audu veidošanās, tad relatīvi izteikto faktora ekspresiju mūsu pētītā vienpusējo šķeltņu materiāla mīkstajos audos varētu izskaidrot ar novēlotu kompensatoru reakciju, kura, mūsaprāt, atkarīga arī no patoloģijas smaguma pakāpes. Tieši pēdējais minētais fakts varētu izskaidrot TGF β trūkumu praktiski visos divpusējo šķeltņu gadījumos.

No otras puses, izteikta TGF β ekspresija ir cēlonis pārmērīgai kolagēna akumulācijai un audu fibrozei, kura, iespējams, tad arī veidosies pēc vienpusēju šķeltņu korekcijām. Tomēr kā pozitīvu signālu var minēt relatīvi līdzīgu minētā augšanas faktora atradni pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos audos. Turklāt, vairāki zinātnieki pētījumos ar pelēm ir konstatējuši, ka mutes dobuma gļotāda reģenerē ātrāk, fibrotiskas pārmaiņas audos ir minimālas un to skaidro ar reducētām iekaisuma pazīmēm (Szpaderska et al., 2003).

Vienpusējo šķeltņu audus raksturoja arī TGF β ekspresija asinsvadu sienas šūnās. Praktiski nav datu par šī citokīna atradni sejas audu asinsvados. Zināms, ka to producē elpceļu gludās muskulatūras šūnas, un ekspresija pieaug astmas gadījumā (Xie et al., 2005).

Galvenokārt daudz pozitīvas šūnas redzējām vienpusējo šķeltņu cietajos audos - kaulā un skrimslī. Literatūrā atrodami dati par TGF β atradni un nozīmi skrimslī (Lee et al., 2001; Issa et al., 2006). Minētais augšanas faktors regulē šūnu augšanu, diferenciaciju un ekstracelulārās

matrices proteīnu sintēzi. Tas stimulē proteoglikānu sintēzi un skrimšļa šūnu augšanu. Injicējot trušu ceļa locītavā fibroblastus, kuri aktīvi ekspresē TGFβ, ir demonstrēta faktora nozīme pilnvērtīgā un kvalitatīvā skrimšļa reģenerācijā (Lee et al., 2001). Turklāt, trahejas modelī tieši skrimslis var modulēt TGFβ ekspresiju epitēlijā (Hicks et al., 1999).

TGFβ producē kaula šūnas, un tam ir nozīme kaulu metabolismā (Centrella et al., 1988). Literatūrā minēti dati, ka bFGF inducē TGFβ veidošanos osteoblastos (Bikfalvi et al., 1997). To novēro kaula lūzuma vietās, tūlīt pēc traumas to ekspresē periosta mazdiferencētās šūnas un vēlāk arī osteocīti. Zināms, ka šūnu kultūrās tas stimulē kolagēna un citu ekstracelulārās matrices proteīnu sintēzi (Issa et al., 2006). TGFβ uzlabo kaula dzīšanu un atbrīvojas no kaulu matrices kaula resorbcijas laikā, kad darbojas osteoklasti (Fujimoto et al., 1999; Chin et al., 2004;). Tādējādi, lokāla minētā faktora atradne, mūsaprāt, ir pozitīvs signāls skrimšļa un kaula reģenerācijā vienpusējo šķeltņu pacientiem pēcoperācijas periodā.

Barx1 ekspresiju novērojām abās vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu vecuma grupās. Vidēji relatīvi vairāk pozitīvas struktūras konstatējām jaunāko pacientu grupās. Statistiski ticamu atšķirību novērojām gan tikai jaunāko pacientu grupā, salīdzinot relatīvo imūnreaktīvo struktūru daudzumu vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu atkārtoti paņemtos audus ar līdzīgu atradni pirmreizēji paņemtajos ($z=2,705$; $p=0,007$) un kontroles audos ($z=3,086$; $p=0,002$).

Barx1 ekspresiju biežāk novērojām šķeltņu pacientu epitēlijā. Nereti redzējām imūnreaktīvas un perēkļveidīgi lokalizētas tieši bazālās šūnas. Interesanti, ka epitēlijs šajās vietās bija izlocīts un dziļu cilpu veidā iespiedās saistaudos. Iespējams, šādi lokalizēta gēna ekspresija šķeltņu audos līdzīgi kā sejas un mutes dobuma aizmetņos embriogēnēzē, ir svarīgs šūnu proliferāciju un diferenciāciju veicinošs faktors, kuram ir tendence izpausties jaunāko šķeltņu pacientu grupās. Literatūrā ir maz datu par **Barx1** gēna ekspresiju. Jankovska ar kolēģiem 2008. gadā publicē materiālu, kurā ziņo par **Barx1** ekspresiju ortognātiskās ķirurģijas pacientu epiteliocītos, kamēr saistaudos to nenovēro (Jankovska et al., 2008). Periodontīta pacientiem ļoti variabla **Barx1** ekspresija konstatēta smaganu epitēlijā, bet vidēji daudz līdz daudz pozitīvas šūnas atrastas rievās epitēlijā (Laurina et al., 2008).

Interesanti, ka vidēji daudz un daudz pozitīvas šūnas novērojām lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu skrimslī. Lai arī kopumā skrimslis bija redzams tikai dažu bērnu audu paraugos, tie visi bija maiņas sakodiena vecumā.

Zināms, ka zivīm **Barx1** ir būtisks žaunu loku skrimšļa šūnu diferenciācijā agrīnās hondroģenēzes laikā. Minētais gēns kontrolē žaunu loku skrimšļa un kaula priekšteču

proliferāciju, bet paša gēna ekspresiju regulē FGF. Sākoties hidroģenēzei, Barx1 ekspresija samazinās, un tas ir kā signāls šūnu diferenciācijai. Skrimslī Barx gēni, tajā skaitā arī Barx1, regulē šūnu adhēzijas molekulu ekspresiju, kuras ekspresē hondrocīti (Sperber and Dawid, 2008). Tādējādi, šķeltņu skartajos audos minētā proteīna ekspresija, iespējams, ir kā nepietiekošu šūnu proliferāciju un diferenciāciju apliecinošs novēlots signāls.

PGP 9.5 imūnreaktivitāti novērojām visās šķeltņu pacientu grupās. Visbiežāk to novērojām asinsvadu sienas nervu šķiedrās, nereti redzējām arī subepitēlijā, ap mata folikuliem un intraepitēliāli. Vidējais relatīvais imūnreaktīvo struktūru daudzums šķeltņu un kontroles pacientu audu grupās krasas atšķirības neuzrādīja. Tas variēja no retām (+) līdz maz līdz vidēji daudz (+/+++). Tas nesakrīt ne tikai ar literatūrā atrodamajiem datiem par bagātīgu žurkas mutes dobuma inervāciju (Kato et al., 1998; Mitsui et al., 2000), ko šajā gadījumā varētu skaidrot kā atšķirību starp dažādām dzīvnieku sugām un cilvēku, bet arī ar literatūras apskatā minētajiem citu zinātnieku rezultātiem par PGP 9.5 saturošo nervu šķiedru daudzumu un lokalizāciju cilvēka mutes dobuma gļotādā (Albegger et al., 1991; Fantini et al., 1995; Hilliges et al., 1996).

Tomēr, salīdzinot datus, konstatējām statistiski ticamu atšķirību starp PGP 9.5 imūnreaktīvu struktūru relatīvo daudzumu kontroles un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu jaunāko pacientu grupas pirmreizēji paņemtajā materiālā ($Z=2.064$; $p=0.039$).

PGP 9.5 tiek plaši lietots kā ādas inervācijas marķieris. Turklāt, cilvēka ādas brūcēs minēto proteīnu ekspresē fibroblasti (Olerud et al., 1998). Veselā cilvēka ādā un brūcēs tas iekrāso nervu šķiedras epidermā un dermā. Pirmajās dienās pēc ievainojuma praktiski nenovēro imūnreaktīvas šūnas. Retas pozitīvas šūnas parādās ceturtajā dienā pēc ievainojuma, un to daudzums pieaug 14. un 21. postraumatisma dienā. Praktiski identisku rezultātu uzrāda arī ubikvitīna marķieris. Paralēli lietojot TUNEL metodi, zinātnieki novēro apoptozi dažās epidermas graudainā slāņa šūnās, bet praktiski to nekonstatē saistaudu šūnās. Minētā pētījuma autori neatrod saikni starp apoptozi un PGP 9.5 ekspresiju granulācijas audos, tomēr atzīst to kā raksturīgu dziļšānās vēlīnajām fāzēm (Olerud et al., 1998). Mēs, savukārt, imūnreaktīvas šūnas šķeltņu audos praktiski neatradām.

Lai arī trīs pacientiem redzējā bagātīgu PGP 9.5 saturošu nervu šķiedru tīklojumu, kopumā lūpas un aukslēju šķeltņu audus raksturo DNES elementu trūkums, kura pamatā, mūsuprāt, ir mutes dobuma struktūru un inervācijas nepilnīga attīstība.

Visu pacientu grupu audos novērojām apoptozi, kura bija relatīvi vairāk izteikta nekā kontroles grupas pacientu audos. Vidējais relatīvais apoptotisko šūnu daudzums divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu gadījumā bija lielāks, nekā vienpusēju šķeltņu skartajos audos. Turklāt, atšķirības, salīdzinājuma ar kontroli, bija vērtējamās kā statistiski ticamas. Tādējādi, programmētas šūnu nāves intensitāte, iespējams, ir relatīvi proporcionāla iedzimtās anomālijas smaguma pakāpei.

TUNEL iezīmēja pozitīvas šūnas lielākās daļas šķeltņu pacientu ādas un mutes dobuma gļotādas epitēlijā un saistaudos. Epitēlijā tās lokalizējās gan perēķļveidīgi, gan arī masīvi visos epitēlija slāņos, nereti izņemot tikai bazālās šūnas.

Literatūrā praktiski nav datu par apoptozi jebkādas ar mutes dobumu saistītas iedzimtas patoloģijas gadījumā. Zināms, ka pastiprināta fibroblastu proliferācija un pazemināta apoptoze sekmē smaganu hipertrofiju (Kantarci et al., 2007). Ir aprakstīta tās nozīme audzēju un periodontālu saslimšanu gadījumos (Kaku and Abiko, 1997). Tā kā programmēta šūnu nāve ir ļoti svarīga mutes dobuma formēšanās laikā, iespējams, šī ir pārlietu novēlota apoptozes realizācija patoloģijas skartajos audos.

Apoptozi novērojām arī šķeltņu skartajos cietajos audos – skrimslī un kaulā. Nereti apoptoze skāra praktiski visas šūnas redzes laukā, turklāt to redzējām arī viena pacienta skrimšļa proliferācijas zonā. Vienpusēju šķeltņu gadījumā paralēli vērojām arī izteiktu TGFβ ekspresiju. Tādējādi, apoptoze vienpusēju šķeltņu skartajos audos, iespējams, ir veids, kādā skrimšļaudi cenšas saglabāt nemainīgu šūnu populāciju pretstatā TGFβ proliferāciju stimulējošajam efektam.

Divpusējo šķeltņu gadījumā cietos audus redzējām tikai divu pacientu materiālā, un daudz apoptotiskas šūnas redzējām kaulā un skrimslī katru vienā gadījumā. Paralēli TGFβ ekspresija bija vērojama tikai samērā retās skrimšļa šūnās. To varētu skaidrot ar iedzimtās anomālijas smaguma pakāpi, turklāt, mūsaprāt, tas ir negatīvs signāls cieto audu reģenerācijai pēcoperācijas periodā. No otras puses, šajos skrimšļa audos novērojām vidēji daudz līdz daudz bFGF saturošas šūnas, un arī minētajam faktoram ir reģenerāciju veicinošas īpašības.

Pastāv viedoklis, ka masīva hondrocītu nāve ir dominējošais artrīta patoģenēzē. Zināms, ka veselā cilvēka locītavas skrimslī apoptozi novēro 2 – 5 % šūnu, bet artrīta gadījumā to redz 18 – 21 % šūnu (Heraud et al., 2000). Savukārt, pielietojot TUNEL metodi, cits autoru kolektīvs ziņo, ka vesela cilvēka locītavas skrimslī pozitīvas šūnas neredz, bet artrīta gadījumā novēro neizteiktu apoptozi vidējās un kalcificētās zonas šūnās (Aigner et al., 2001).

Traumēta cilvēka deguna starpsienas skrimslī novēro būtisku apoptozi, un pēc šāda skrimšļa pielietojuma plastiskajā ķirurģijā nereti veidojas nepilnvērtīgi audi (Görür et al., 2007). Līdzīgus rezultātus dokumentē plastisko ķirurģu kolektīvs no Turcijas (Arslan et al., 2007). Turklāt, mehānisks dažādu cilvēka skrimšļu ievainojums ir programmētu skrimšļa šūnu nāvi ierosinošs stimulants (D'Lima et al., 2001).

Kauli ir dinamiski audi, kuru šūnas mijiedarbojas ne tikai savstarpēji, bet arī ar hemopoētiskajām un kaula smadzeņu stromas šūnām. Lai arī osteocīti ir stabīlas un ilgi dzīvojošas šūnas, to apoptoze ir demonstrēta ne tikai kaula saslimšanu gadījumos, bet arī jaunas žurkas augšžoklī (Boabaid et al., 2001; Hughes and Boyce, 1997).

Mūsuprāt, pilnīgā iedzimto anomāliju, tostarp lūpas un aukslēju šķeltnu izpētes gaitā būtiska ir ne tikai augšanas faktoru, augšanas faktoru receptoru un procesu molekulārā izpēte, kuri embrionālās attīstības laikā tieši ietekmē konkrēta reģiona defektīvu veidošanos. Vienlīdz svarīga nozīme ir arī anomālijas skarto audu izmeklēšanai pacientu **dažādos vecuma periodos**, lai konstatētu intrauterīnās attīstības laikā anomāliju sekmējošo gēnu, augšanas faktoru un to receptoru ekspresijas lokālās īpatnības. Iegūtie dati radītu iespēju izvērtēt, kuriem faktoriem, iespējams, ir nozīme noteiktu šķeltnu tipu patoģenēzē un terapijas prognozē.

Pēdējo divu desmitu gadu laikā pastiprināta uzmanība tiek pievērsta audu dzīšanas mehānismu izpētei un akcentēta tieši augšanas faktoru nozīme tajos. Injicējot minētos citokīnus dažādu tipu brūcēs, tiek panākta adekvāta šūnu proliferācija un diferenciācija, sekmīga audu remodelēšanās un kopumā kvalitatīva reģenerācija. Izvērtējot šķeltnu skartajos audos faktoru trūkumu vai esamību un to savstarpējās korelācijas, ir iespējams akcentēt dažus no tiem kā konkrētās iedzimtās anomālijas diagnostiski prognostiskos marķierus un, iespējams, nākotnes medicīnā arī kā terapeitiskus līdzekļus.

Tādējādi esam konstatējuši, ka šķeltnu skartos audus raksturo ne tikai **palielināta un nereti arī variabla augšanas faktoru un augšanas faktoru receptoru ekspresija**, bet arī izteiktāka šūnu **apoptoze**. Kopumā pacientu materiālā novērojām tendenci, ka bFGF un FGFR1 ekspresija vienlaicīgi ar programmētu šūnu bojāeju palielinās smagākas anomālijas gadījumā jeb bērniem ar divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm. Tā kā minētais augšanas faktors un receptori stimulē dažādu šūnu proliferāciju un veicina audu remodelēšanos, tad mūsu iegūtie dati vērtējami kā pozitīvs prognostisks signāls šķeltnu sekmīgai korekcijai, kurai paralēli būtu tomēr jāizvērtē audu kvalitāte. Turklāt, šāda tendence, mūsuprāt, liecina par kompensatorā mehānisma darbību iedzimtās patoloģijas skartajos audos. Vienpusēju un

divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audos visās pacientu grupās novērojām mazāku NGF ekspresiju nekā kontroles audos. NGFR ekspresija bija variabla, bet arī šoreiz tā bija izteiktāka tieši bērniem ar divpusējam lūpas un aukslēju šķeltēm. Tādējādi minētā augšanas faktora trūkums lielākajai daļai pacientu varētu būt nepilnvērtīgas reepitelizācijas, epiteliocītu diferenciācijas un proliferācijas cēlonis. TGFβ ekspresiju galvenokārt konstatējām vienusējo šķeltņu pacientiem. Minētajam augšanas faktoram, mūsuprāt, ir nozīme noteiktu šķeltņu tipu patoģenēzē. Kopumā Barx1 ekspresija pacientu grupās bija variabla. Tomēr, neatkarīgi no šķeltnes smaguma pakāpes, izteiktāka tā bija zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu. Minētā gēna ekspresija raksturīga embrionālās attīstības laikā, un tā veicina šūnu, tai skaitā arī epiteliocītu diferenciāciju. Mūsu pētījumā tas, iespējams, liecina par jaunāko pacientu mutes dobuma audu nepietiekamu attīstības pakāpi, un ir vērtējams kā pozitīvs un diferenciāciju veicinošs faktors.

6. SECINĀJUMI

1. Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu audos gaismas mikroskopija konstatētās raksturīgākās pārmaiņas ir plāns un atrofisks vai ļoti biezs epitēlijs, sklerotiski asinsvadi ar kolagēno šķiedru kūlīšiem bagātos gļotādas saistaudos, iekaisuma šūnu infiltrācija, plaša hipertrofēto hondrocītu zona skrimslī un neregulārs osteonu izvietojums kaulā.
2. Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu audiem raksturīga palielināta bFGF un FGFR1 lokāla ekspresija ar tendenci pieaugt vecāko pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu grupā, kā arī atkārtoti paņemtajos audu paraugos. Statistiski ticami atšķiras FGFR1 saturošo struktūru relatīvais daudzums atkārtoti paņemtajos zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audos salīdzinājumā ar kontroli. Kopumā tas liecina par minēta faktora un tā receptora stimulējošo ietekmi uz šķeltnes skarto audu šūnu proliferāciju un sekmīgu remodelēšanos.
3. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audiem raksturīga pieaugoša bFGF un FGFR1 lokāla ekspresija pirmreizēji paņemtajos audos ar neizteiktu tendenci samazināties atkārtoti paņemtajā materiālā. Statistiski ticami lielāks vidējais relatīvais bFGF saturošo struktūru daudzums salīdzinājumā ar kontroli ir zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu un bērnu ar maiņas sakodienu pirmreizēji paņemtajos audos. Statistiski ticami vairāk FGFR1 pozitīvas struktūras ir bērnu ar maiņas sakodienu gan pirmreizēji), gan atkārtoti paņemtajā materiālā. Tas, iespējams, norāda uz lielākām audu kompensatorām iespējām smagākas iedzimtas anomālijas – divpusēju šķeltņu gadījumos.
4. Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audos kopumā vērojama neizteikta NGF un variabla NGFR ekspresija. Statistiski ticami mazāk NGF pozitīvas struktūras salīdzinājumā ar kontroli raksturīgas zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu pirmreizēji paņemtajos audos un bērnu ar maiņas sakodienu atkārtoti paņemtajā materiālā. Statistiski ticami mazāka NGFR ekspresija raksturo gan pirmreizēji, gan atkārtoti paņemtus bērnu ar maiņas sakodienu audus. Kopumā tas norāda uz mutes dobuma gļotādas epitēlija zemajām autokrīnās regulācijas iespējām, kā rezultāts ir aizkavēta reepitelizācija un palēnināta brūces slēgšanās.

5. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audus raksturo joprojām neizteikta NGF ekspresija, bet stabilizācija NGFR ekspresijā. Statistiski ticami vairāk NGFR pozitīvas struktūras, kas galvenokārt bija bazālie epiteliocīti, konstatētas zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu pirmreizēji paņemtajos audos. Tas norāda uz epiteliocītu autokrīnās regulācijas sistēmas stabilizāciju, bet ne kvalitatīvu epitēlijaudu reģenerāciju.
6. Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audus līdzīgi kā kontroli raksturo vidēji izteikta TGFβ ekspresija, kura nedaudz palielinās pieaugot pacientu vecumam un ir relatīvi bagātīgāka tieši cietajos audos. Tas norāda TGFβ nelielo regulatoro nozīmi vienpusējo šķeltņu mīksto audu homeostāzē.
7. Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audos zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu TGFβ lokāla ekspresija netika konstatēta, bet pacientiem maiņas sakodiena vecumā tā bija viegla un neizteikta, kas norāda uz iespējamu minētā faktora nozīmi noteikta tipa šķeltņu patoģenēzē. Gan pirmreizēji, gan atkārtoti no šķeltnes rajona paņemtajos audos TGFβ pozitīvas struktūras salīdzinājuma ar kontroli ir statistiski ticami mazāk.
8. Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audus raksturo variabls un kontrolei līdzīgs DNES struktūru daudzums ar tendenci samazināties atkārtotas operācijas laikā paņemtajos materiālā, kas liecina par šķeltnes skarto audu inervācijas pavājināšanos vairākkārtējām ķirurģiskām korekcijām pakļautajos audos.
9. Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu audos vērojama salīdzinājumā ar kontroli izteiktāka Barx1 gēna ekspresija abu šķeltņu tipu jaunāko pacientu pirmreizēji paņemtajā materiālā un stabilizācija gēna ekspresijā bērniem maiņas sakodiena vecumā. Minētā gēna ekspresija tieši zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu vērtējama kā novēlots, bet tomēr šūnu proliferāciju un diferenciaciju veicinošs signāls.
10. Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu skartajos audos kopumā raksturīga izteiktāka šūnu apoptoze ar tendenci palielināties smagākas patoloģijas jeb divpusēju

šķeltņu gadījumos un, iespējams, pretēji audos noteiktajiem proliferāciju veicinošajiem augšanas faktoriem nodrošina šķeltņu skartā rajona šūnu populācijas homeostāzi.

11. Kopumā šķeltņu skartajos audos raksturīga palielināta bFGF un FGFR1, bet pazemināta NGF lokāla ekspresija, pastiprināta šūnu apoptoze, variabla NGFR, TGF β un Barx1 ekspresija un relatīvi atšķirīgs DNES struktūru daudzums.

7. LITERATŪRAS SARAKSTS

Angļu valodā

1. Adzick N.S., Lorenz H.P. Cells, matrix, growth factors, and the surgeon. The biology of scarless fetal wound repair. *Ann Surg*, 1994; 220: 10 - 18
2. Ahmed S., Liu C.C., Nawshad A. Mechanisms of palatal epithelial seam disintegration by transforming growth factor (TGF) β 3. *Dev Biol*, 2007; 309: 193 – 207
3. Aigner T., Hemmel M., Neureiter D., Gebhard P.M., Zeiler G., Kirchner T., McKenna L. Apoptotic cell death is not a widespread phenomenon in normal aging and osteoarthritic human articular knee cartilage. *Arthritis Rheum*, 2001; 44 (6): 1304 – 1312
4. Akasaka Y., Ono I., Yamashita T., Jimbow K., Ishii T. Basic fibroblast growth factor promotes apoptosis and supresses granulation tissue formation in acute incisional wounds. *J Pathol*, 2004; 203 (2): 710 - 720
5. Akimoto S., Ishikawa O., Iijima C., Miyachi Y. Expression of basic fibroblast growth factor and its receptor by fibroblast, macrophages and mast cells in hypertrophic scar. *EJD*, 1999; 9 (5): 357 – 362
6. Albegger K., Hauser-Kronberger C.E., Saria A., Graft A.H., Bernatzky G., Hacker G.W. Regulatory peptides and general neuroendocrine markers in human nasal mucosa, soft palate and larynx. *Acta Oto-laryngologica*, 1991; 11 (2): 373 – 378
7. Altman D.G. *Practical Statistics for Medical research*. London: Chapman & Hall, 1991; – 611 pp.
8. Altman D.G. *Statistics with confidence*. London, BMJ, 2000: – 240 pp.
9. Ameisen J.C. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death Differ*, 2002; 9: 367 – 393
10. Arslan E., Majka C., Polat A. The fate of diced cartilage grafts of traumatized versus nontraumatized origin. *Aesth Plast Surg*, 2007; 31: 365 – 371
11. Bantel H., Beikler T., Flemming T.F., Schulze-Osthoff K. Caspase activation is involved in chronic periodontitis. *FEBS Lett*, 2005; 579 (25): 5559 - 5564
12. Barlow A.J., Bogardi J.P., Ladher R., Francis-West P.H. Expression of chick Barx-1 and its differential regulation by FGF-8 and BMP signalling in the maxillary premordia. *Dev Dyn*, 1999; 214: 291 – 302

13. Belford D.A. The mechanism of excisional fetal wound repair in vitro is responsive to growth factors. *Endocrinology*, 1997; 138 (9): 3987 – 3996
14. Bikfalvi A., Klein S., Pintucci G., Rifkin D.B. Biological roles of fibroblast growth factor - 2. *Endocr Rev*, 1997; 18 (1): 26 – 37
15. Bishen K.A., Radhakrishnan R., Satyamoorthy K. The role of basic fibroblast growth factor in oral submucous fibrosis pathogenesis. *J Oral Pathol Med*, 2008; 37 (7): 383 – 446
16. Blobel G.C., Schiemann W.P., Lodish H.F. Role of transforming growth factor β in human disease. *N Engl J Med*, 2000; 342 (18): 1350 – 1357
17. Boabaid F., Cerri P.S., Katchburian E. Apoptotic bone cells may be engulfed by osteoclasts during alveolar bone resorption in young rats. *Tissue Cell*, 2001; 33 (4): 318 – 325
18. Bodo M., Baroni T., Carinci F., Becchetti E., Bellucci C., Pezzetti F., Conte C., Evangelisti R., Carinci P. TGF β isoforms and decorin gene expression are modified in fibroblasts obtained from non-syndromic cleft lip and palate subjects. *J Dent Res*, 1999; 78 (12): 1783 – 1790
19. Bolander M.E. Regulation of fracture repair by growth factor. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1992; 200 (2): 165 – 170
20. Border W.A., Brees D., Noble N.A. Transforming growth factor - beta and extracellular matrix deposition in the kidney. *Contrib Nephrol*, 1994; 107: 140 – 145
21. Border W.A., Ruoslahti E. Transforming growth factor- β in disease: the dark side of tissue repair. *J Clin Invest*, 1992; 90: 1 – 7
22. Botchkareva N.V., Botchkarev V.A., Albers K.M., Metz M., Paus R. Distinct roles for nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in controlling the rate of hair follicle morphogenesis. *J Invest Dermatol*, 2000; 114: 314 – 320
23. Branton M.H., Kopp J.B. TGF- β and fibrosis. *Microbes Infect*, 1999; 1 (15): 1349 – 1365
24. Britto J.A., Evans R.D., Hayward R.D., Jones B.M. Toward pathogenesis of Apert cleft palate: FGF, FGFR and TGF β genes are differentially expressed in sequential stages of human palatal shelf fusion. *Cleft Palate Craniofac J*, 2002; 39 (3): 332 – 340
25. Brodie C., Gelfand E.W. Functional nerve growth factor receptors on human B lymphocytes. Interaction with IL-2. *J Immunol*, 1992; 148 (11): 3492 – 3497

26. Brodie C., Gelfand E.W. Regulation of immunoglobulin production by nerve growth factor: comparison with anti-CD40. *J Neuroimmunol*, 1994; 52 (1): 87 – 96
27. Burdi A.R. Cleft lip and palate, 2nd ed. Berlin, Springer-Verlag, 2006, – 833 pp.
28. Byers M.R., Schattemen G.C., Bothwell M. Multiple functions for NGF receptor in developing, aging and injured rat teeth are suggested by epithelial, mesenchymal and neural immunoreactivity. *Development*, 1990; 109: 461 – 471
29. Campbell L.K., Thomas R., Lamps L.W., Smoller B.R., Folpe A.L. Protein gene product 9.5 (PGP 9.5) is not a specific marker of neural and nerve sheath tumors: an immunohistochemical study of 95 mesenchymal neoplasms. *Mod Pathol*, 2003; 16 (10): 963 – 969
30. Cardon-Cardo C., Vlodayvsky I., Haimovitz-Friedman A., Hicklin D., Fuks Z. Expression of basic fibroblast growth factor in normal human tissues. *Lab Invest*, 1990; 63 (6): 832 – 840
31. Carinci P., Becchetti E., Baroni T., Carinci F., Pezzetti F., Stabellini G., Locci P., Scapoli L., Tognon M., Volinia S., Bodo M. Extracellular matrix and growth factors in the pathogenesis of some craniofacial malformation. *Eur J Histochem*, 2007; 51 (1): 105 – 116
32. Centrella M., McCarthy T.L., Canalis E. Skeletal tissue and transforming growth factor β . *FASEB J*, 1988; 2: 3066 – 3073
33. Chen W., Fu X., Ge S., Sun T., Zhou G., Jiang D., Sheng Z. Ontogeny of expression of transforming growth factor-beta and its receptors and their possible relationship with scarless healing in human fetal skin. *Wound Repair Regen*, 2005; 13 (1): 68 – 75
34. Chikazu D., Hakeda Y., Ogata N., Nemoto K., Itabashi A., Takato T., Kumegawa M., Nakamura K., Kawaguchi H. Fibroblast growth factor (FGF) - 2 directly stimulates mature osteoclast function through activation of FGF receptor 1 and p42/p44 MAP kinase. *J Biol Chem*, 2000; 275 (40): 31444 – 31450
35. Chin D., Boyle G.M., Parsons P.G., Coman W.B. What is transforming growth factor-beta (TGF- β)? *Br J Plast Surg*, 2004; 57: 215 – 221
36. Christensen R. Analysis of variance. Design and Regression. Applied statistical methods. London, Chapman & Hall, 1996, – 584 pp.
37. Chua K.H., Aminuddin B.S., Fuzina N.H., Ruszymah B.H.I. Basic fibroblast growth factor with human serum supplementation: enhancement of human chondrocyte

- proliferation and promotion of cartilage regeneration. *Singapore Med J*, 2007; 48 (4): 324 – 332
38. Church Y., Yamaguchi K., Tsang P., Akita K., Logan C., Francis-West P. Expression and function of Bapx1 during chick limb development. *Anat Embryol*, 2005; 209: 461 – 469
 39. Coutts J.C., Gallagher J.T. Receptors for fibroblast growth factors. *Immunol Cell Biol*, 1995; 73 (6): 584 – 589
 40. Cowin A.J., Holmes T.M., Brosnan P., Ferguson M.W.J. Expression of TGF - beta and its receptors in murine fetal and adult dermal wounds. *Eur J Dermatol*, 2001; 11 (5): 424 – 431
 41. Crisera C., Teng E., Wasson K.L., Heller J., Gabbay J.S., Sedrak M.F., Bradley J.P., Longaker M.T. Formation of in vitro murine cleft palate by abrogation of fibroblast growth factor signalling. *Plast Reconstr Surg*, 2008; 121 (1): 218 – 224
 42. Cuervo R., Covarrubias L. Death is the major fate of medial edge epithelial cells and the cause of basal lamina degradation during palatogenesis. *Development*, 2004; 131 (1): 15 – 24
 43. Diomedi-Camassei F., Rava L., Lerut E., Callea F., Van Damme B. Protein gene product 9.5 and ubiquitin are expressed in metabolically active epithelial cells of normal and pathologic human kidney. *Nephrol Dial Transplant*, 2005; 20: 2714 – 2719
 44. Di Marco E., Mathor M., Bondanza S., Cutuli N., Marchisio P.C., Cancedda R., De Luca M. Nerve growth factor binds to normal human keratinocytes through high and low affinity receptors and stimulates their growth by a novel autocrine loop. *J Biol Chem*, 1993; 268 (30): 22838 – 22846
 45. D’Lima D.D., Hashimoto S., Chen P.C., Lotz M.K., Colwell C.W. Cartilage injury induces chondrocyte apoptosis. *J Bone Joint Surg*, 2001; 83: 19 – 21
 46. Dou Y.C., Hagströmer L., Emtestam L., Johansson O. Increased nerve growth factor and its receptors in atopic dermatitis: an immunohistochemical study. *Arch Dermatol Res*, 2006; 298: 31 – 37
 47. Du Cros D. L., Isaacs K., Moore G. P. M. Distribution of acidic and basic fibroblast growth factors in ovine skin during follicle morphogenesis. *J Cell Sci*, 1993; 105: 667 – 674

48. Dudas M., Li W. Y., Kim J., Yang A., Kaartinen V. Palatal fusion – Where do the midline cells go? A review on cleft lip palate, a major human birth defect. *Acta Histochem*, 2007; 109: 1 – 14
49. Edelman D.B., Meech R., Jones F.S. The homeodomain protein Barx2 contains activator and repressor domains and interacts with members of the CREB family. *J Biol Chem*, 2000; 275 (28): 21737 – 21745
50. Eickelberg O. Endless healing: TGF - β , SMADs, and fibrosis. *FEBS Lett*, 2001; 506: 11 – 14
51. Ensoli B., Sgadari C., Barillari G., Monini P. The fibroblast growth factors. *The Cytokine Handbook*, 4th edition, 2003; 747 – 781
52. Eswarakumar V.P., Lax I., Schlessinger J. Cellular signalling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005; 16 (2): 139 – 149
53. Faler B.J., Macsata R.A., Plummer D., Mishra L., Sidawy A.N. Transforming growth factor - β and wound healing. *Pers Vasc Surg Endovasc Ther*, 2006; 18 (1): 55 – 62
54. Fantini F., Giannetti A., Benassi L., Cattaneo V., Magnoni C., Pincelli C. Nerve growth factor receptor and neurochemical markers in human oral mucosa: an immunohistochemical study. *Dermatology*, 1995; 190: 186 – 191
55. Ferguson M. W. Palate development. *Development*, 1988, 103: 41 – 60
56. Ferguson M.W., O’Kane S. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention. *Phil Trans R Soc Lond*, 2004; 359: 839 – 850
57. Filho A.M.D., Aguiar J.L.A., Rocha L.R.M., Azevedo I.M., Ramalho E., Medeiros A.C. Effects of the basic fibroblast growth factor and its anti-factor in the healing and collagen maturation of infected skin wound. *Acta Cir Bras*, 2007; 22(1): 64 -71
58. Flanders K.C., Burmester J.K. Medical applications of transforming growth factor- β . *Clin Med Res*, 2003; 1 (1): 13 – 20
59. Fujimoto R., Tanizawa T., Nishida S., Yamamoto N., Soshi S., Endo N., Takahashi H.E. Local effects of transforming growth factor - β 1 on rat calvaria: changes depending on the dose and injection site. *J Bone Miner Metab*, 1999; 17: 11 – 17
60. Fujiwara Y., Masaaki U., Saito T. Down - regulation of basic fibroblast growth factor production from cartilage by excessive mechanical stress. *J Orthop Sci*, 2005; 10: 608 – 613
61. Galzie Z., Kinsella A.R., Smith J.A. Fibroblast growth factors and their receptors. *Biochem Cell Biol* 1997; 75 (6): 669 – 85

62. Gibran N.S., Isik F.F., Heimbach D.M., Gordon D. Basic fibroblast growth factor in the early human burn wound. *J Surg Res*, 1994; 56 (3): 226 – 234
63. Gonzalez A.M., Buscaglia M., Ong M., Baird A. Distribution of basic fibroblast growth factor in 18-day old rat fetus: localization in the basement membranes of diverse tissue. *J Cell Biol*, 1990; 110: 753 – 765
64. Gould D.B., Walter M.A. Cloning, characterization, localization, and mutational screening of the human BARX1 gene. *Genomics*, 2000; 68: 336 – 342
65. Govinden R., Bhoola K.D. Genealogy, expression, and cellular function of transforming growth factor - β . *Pharmacol Ther*, 2003; 98 (2): 257 – 265
66. Görür K., Gürbüz P., Cengiz Ö., Emrah A., Yusuf V., Görüroglu Ö., Özlen B. The role of apoptosis in traumatic versus nontraumatic nasal septal cartilage. *Plast Reconstr Surg*, 2007; 119 (6): 1773 – 1776
67. Greene R.M., Pisano M.M. Perspectives on growth factors and orofacial development. *Current Pharmaceutical Design*, 2004; 10: 2701 – 2717
68. Grills B.L., Schuijers J.A. Immunohistochemical localization of nerve growth factor in fractured and unfractured rat bone. *Acta Orthopaedica*, 1998; 69 (4): 415 – 419
69. Gritli – Linde A. Molecular control of secondary palate development. *Dev Biol*, 2007; 301: 309 – 326
70. Hamada T., Suda N., Kuroda T. Immunohistochemical localization of fibroblast growth factor receptors in the rat mandibular condylar cartilage and tibial cartilage. *J Bone Miner Metab*, 1999; 17: 274 – 282
71. Harmer N.J. Insights into the role of heparan sulphate in fibroblast growth factor signalling. *Biochem Soc Trans*, 2006; 34: 442 – 445
72. Hata Y., Kawanabe H., Hisanaga Y., Taniguchi K., Ishikawa H. Effects of basic fibroblast growth factor administration on vascular changes in wound healing of rat palates. *Cleft Palate Craniofac J*, 2008; 45 (1): 63 – 72
73. Hauser-Kronberger C., Hacker G.W., Kummer W., Albegger K. Regulatory peptides in the human soft palate. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 1995; 252: 478 – 484
74. Hayashi K., Storesund T., Schreurs O., Khuu C., Husvik C., Karatsaidis A., Helgeland K., Martin-Zanca D., Schenck K. Nerve growth factor β /pro-nerve growth factor and their receptors in normal human oral mucosa. *Eur J Oral Sci*, 2007; 115 (5): 344 – 354
75. Heraud F., Heraud A., Harmand M.F. Apoptosis in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Ann Rheum Dis*, 2000; 59: 959 – 965

76. Hicks W., Sigurdson L., Gabalski E., Hard R., Hall L., Gardella J., Powers C., Kumar N., Lwebuga - Mukasa J. Does cartilage down - regulate growth factor expression in traheal epithelium? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1999; 125: 1239 – 1243
77. Hilliges M., Astbäck J., Wang L., Arvidson K., Johansson O. Protein gene product 9.5 - immunoreactive nerves and cells in human oral mucosa. *Anat Rec*, 1996; 245 (4): 621 – 632
78. Hilliges M., Hellman M., Ahlström U., Johansson O. Immunohistochemical studies of neurochemical markers in normal human oral buccal mucosa. *Histochemistry*, 1994; 101: 235 – 244
79. Holtgrave E. A., Stoltenburg – Didinger G. Apoptotic epithelial cell death: a prerequisite for palatal fusion. An in vivo study in rabbits. *J Craniomaxillofac Surg*, 2002; 30: 329 – 336
80. Horwitz D.A. Transforming growth factor - β : taking control of T cells life and death. *Immunity*, 2006; 25: 399 – 402
81. Hostettler K.E., Roth M., Burgess J.K., Gencay M.M., Gambazzi F., Black J.L., Tamm M., Borger P. Airway epithelium - derived transforming growth factor - beta is a regulator of fibroblast proliferation in both fibrotic and normal subjects. *Clin Exp Allergy*, 2008; 38 (8): 1309 – 1317
82. Howarth P.H., Springall D.R., Redington A.E., Djukanovic R., Holgate S.T., Polak J.M. Neuropeptide - containing nerves in endobronchial biopsies from asthmatic and nonasthmatic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1995; 13 (3): 288 – 296
83. Howe P.H. Transforming growth factor β . *The Cytokine Handbook*. London, Angus W. Thomson & Michael T. Lotze, 2003, – 1572 pp.
84. Hsu S., Raine L., Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am J Clin Pathol*, 1981; 75: 816
85. Hughes D.E., Boyce B. Apoptosis in bone physiology and disease. *J Clin Pathol: Mol Pathol*, 1997; 50: 132 - 137
86. Hughes S.E. Differential expression of fibroblast growth factor receptor (FGFR) multigene family in normal human adult tissue. *J Histochem Cytochem*, 1997; 45 (7): 1005 – 1019
87. Hughes S.E., Hall P.A. Immunolocalization of fibroblast growth factor receptor 1 and its ligands in human tissue. *Lab Invest*, 1993; 69 (2): 173 – 182

88. Igai H., Yamamoto Y., Sung S.C., Yamamoto M., Tabata Y., Yokomise H. Tracheal cartilage regeneration by slow release of basic fibroblast growth factor from a gelatin sponge. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2007; 134 (1): 170 – 175
89. Im H.J., Muddasani P., Natarajan V., Schmid T.M., Block J.A., Davis F., Wijnen A.J., Loeser R.F. Basic fibroblast growth factor stimulates matrix metalloproteinase - 13 via the molecular cross - talk between the mitogen - activated protein kinases and protein kinase C δ pathways in human adult articular chondrocytes. *J Biol Chem*, 2007; 282 (15): 11110 – 11121
90. Inoue Y., King T.E., Tinkle S.S., Dockstader K., Newman L.S. Human mast cell basic fibroblast growth factor in pulmonary fibrotic disorders. *Am J Pathol*, 1996; 149 (6): 2037 – 2052
91. Iannone F., De Bari C., Dell'Acio F., Covelli M., Patella V., Lo Bianco G., Lapadula G. Increases expression of nerve growth factor (NGF) and high affinity NGF receptor (p140 TrkA) in human osteoarthritic chondrocytes. *Rheumatology*, 2002; 41: 1413 – 1418
92. Issa M.J.P., Tiozzi R., Pitol D.L., Mello S.A.S. TGF - β and new bone formation. *Int J Morphol*, 2006; 24 (3): 399 – 405
93. Itoh N. The Fgf families in humans, mice, and zebrafish: their evolutionary processes and roles in development, metabolism, and disease. *Biol Pharm Bull*, 2007; 30 (10): 1819 – 1825
94. Jacob A., Smith C., Partanen J., Ornitz D.M. Fibroblast growth factor receptor 1 signaling in the osteo-chondrogenic cell lineage regulates sequential steps of osteoblast maturation. *Dev Biol*, 2006; 296 (2): 315 – 328
95. Jin X., Li J., Li Z., Li Y. Expression of transforming growth factor beta (TGF- β) subtypes in oral squamous cell carcinoma. *West China Journal of Stomatology*, 2001; 19 (6): 377 – 379
96. Johnston A.L., Lun X., Rahn J.J., Liacini A., Wang L., Hamilton M.G., Parney I.F., Hempstead B.L., Robbins S.M., Forsyth P.A., Senger D.L. The p75 neurotrophin receptor is a central regulator of glioma invasion. *PloS Biology*, 2007; 5 (8): e212
97. Jones F.S., Kioussi C., Copertino D.W., Kallunki P., Holst B.D., Edelman G.M. Barx2, a new homeobox gene of the Bar class, is expressed in neural and craniofacial structures during development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 2632 – 2637

98. Jugessur A., Murray J.C. Orofacial clefting: recent insights into a complex trait. *Curr Opi Genet Dev*, 2005; 15: 270 – 278
99. Kagami H., Hiramatsu Y., Hishida S., Okazaki Y., Horie K., Oda Y., Ueda M. Salivary growth factors in health and disease. *Adv Dent Res*, 2000; 14: 99 – 102
100. Kaku T., Abiko Y. Cell death in oral tissues and diseases. *Oral Med Pathol*, 1997; 2: 1 – 10
101. Kanda T., Funato N., Baba Y., Kuroda T. Evidence for fibroblast growth factor receptors in myofibroblasts during palatal mucoperiosteal repair. *Arch Oral Biol*, 2003; 48: 213 – 221
102. Kang P., Svoboda K.K. Epithelial-mesenchymal transformation during craniofacial development. *J Dent Res*, 2005; 84: 678 - 690
103. Kantarci A., Augustin P., Firatli E., Sheff M.C., Hasturk H., Graves D.T., Trackman P.C. Apoptosis in gingival overgrowth tissues. *J Dent Res*, 2007; 86 (9): 888 -892
104. Kato J., Uddman R., Sundler F., Kurisu K. Immunohistochemical study of the innervation of the boundary area of the hard and soft palates of the rat. *Acta Anatomica*, 1998; 163 (2): 92 – 98
105. Kawanabe H., Hata Y., Wookjin C., Ishikawa H., Taniguchi K. Pharmaceutical modulation of scar tissue formation after cleft palate surgery. *J Hard Tissue Biology*, 2005; 14 (2): 271 – 272
106. Kawanabe H., Ishikawa H., Okamura K., Taniguchi K. Basic fibroblast growth factor increase the number and size of vascular pores on bone surface during palatal wound healing. *J Hard Tissue Biol*, 2004; 13 (2): 73 – 80
107. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 1972; 26(4): 239 – 257
108. Kerrigan J. J., Mansell J. P., Sengupta A., Brown N., Sandy J. R. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. *J R Coll Surg Edinb*, 2000; 45 (6): 351 – 358
109. Kim B.M., Buchner G., Miletich I., Sharpe P.T., Shivdasani R.A. The stomach mesenchymal transcription factor Barx1 specifies gastric epithelial identity through inhibition of transient Wnt signaling. *Developmental Cell*, 2005; 8: 611 – 622
110. Kim B.M., Miletich I., Mao J., McMahon A.P., Sharpe P.A., Shivdasani A. Independent functions and mechanisms for homeobox gene Barx1 in patterning mouse stomach and spleen. *Development*, 2007; 134: 3603 – 3613
111. Kiritsy C.P., Lynch S.E. Role of growth factors in cutaneous wound healing: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1993; 4 (5): 729 – 760

112. Kohama K., Nonaka K., Hosokawa R., Shum L., Ohishi M. TGF – beta - 3 promotes scarless repair of cleft lip in mouse fetuses. *J Dent Res*, 2002; 81 (10): 688 – 694
113. Krapels I.P.C., van Rooij I.A.L.M., Ocke M.C., West C.E., van der Horst C.M.A.M., Steegers - Theunissen R.P.M. Maternal Nutritional Status and the Risk for Orofacial Cleft Offspring in Humans. *J Nutr*, 2004; 134: 3106 – 3113
114. Krummel T.M., Michna B.A., Thomas B.L., Sporn M.B., Nelson J.M., Salzberg A.M., Cohen K., Diegelmann R.F. Transforming growth factor beta (TGF- β) induces fibrosis in a fetal wound model. *J Pediatr Sur*, 1988; 23 (7): 647 – 652
115. Kurita Y., Tsuboi R., Ueki R., Rifkin D.B., Ogawa H. Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor in wounded healing sites mouse skin. *Arch Dermatol Res*, 1992; 284 (4): 193 – 197
116. LaGamba D., Nawshad A., Hay E.D. Microarray analysis of gene expression during epithelial – mesenchymal transformation. *Dev Dyn*, 2005; 234: 132 - 142
117. Laurina Z., Pilmane M., Care R. Genes, transcription factors and periodontal pathologies. *Acta Chirurgica Latviensis*, 2008; 8: 23 – 27
118. Lauweryns J.M., Van Ranst L. Protein gene product 9.5 expression in the lungs of humans and others mammals. Immunocytochemical detection in neuroepithelial bodies, neuroendocrine cells and nerves. *Neurosci Lett*, 1988; 85 (3): 311 – 316
119. Lazarus J.E., Hegde A., Andrade A.C., Nilsson O., Baron J. Fibroblast growth factor expression in the postnatal growth plate. *Bone*, 2007; 40 (3): 577 – 586
120. Lee K.H., Song S.U., Hwang T.S., Yi Y., Oh I.S., Lee J.Y., Choi K.B., Choi M.S., Kim S.J. Regeneration of hyaline cartilage by cell - mediated gene therapy using transforming growth factor β 1 - producing fibroblast. *Hum Gene Ther*, 2001; 12 (14): 1805 – 1813
121. Letic-Gavrilovic A., Piattelli A., Abe K. Nerve Growth factor β (NGF β) delivery via a collagen/hydroxyapatite (Col/HAp) composite and its effects on new bone ingrowth. *J Mater Sci Mater Med*, 2003; 14 (2): 95 – 102
122. Li X., An H.S., Ellman M., Phillips F., Thonar E.J., Park D.K., Udayakumar R.K., Im H.J. Action of fibroblast growth factor - 2 on the intervertebral disc. *Arthritis Research & Therapy*, 2008; 10 (2): R48
123. Liu J., Lamme E.N., Steegers-Theunissen R.P.M., Krapels I.P.C., Bian Z., Marres H., Spauwen P.H.M., Kuijpers-Jagtman A.M., Von den Hoff J.W. Cleft palate cells can regenerate a palatal mucosa in vitro. *J Dent Res*, 2008; 87 (8): 788 – 792

124. Lotz K., Proff P., Beinengraeber V., Fanghaenel J., Gedrange T., Weingaertner J. Apoptosis as a creative agent of embryonic development of bucca, mentum and nasolacrimal duct. An in vivo study in rats. *J Craniomaxillofac Surg*, 2006; 34 (2): 8 – 13
125. Lundy F.T., Linden G.J. Neuropeptides and neurogenic mechanisms in oral and periodontal inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004; 15 (2): 82 – 98
126. Magnusson M., Pyykkö I., Setten G., Norlander T., Nastri A., Westermarck A. Basic fibroblast growth factor (bFGF) in saliva and oral mucosa in patients with oral lichen planus: preliminary observations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004; 98: 324 – 326
127. Mansukhani A., Bellosta P., Sahni M., Basilico C. Signaling by fibroblast growth factors (FGF) and fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) - activating mutations blocks mineralization and induces apoptosis in osteoblasts. *J Cell Biol*, 2000; 149 (6): 1297 – 1308
128. Martinez-Alvarez C., Tudela C., Perez -Miguelsanz J., Kane O., Puerta J., Ferguson M.W.J. Medial edge epithelial cell fate during palatal fusion. *Dev Biol*, 2000; 220: 343 - 357
129. Matsuda H., Koyama H., Sato H., Sawada J., Itakura A., Tanaka A., Matsumoto M., Konno K., Ushio H., Matsuda K. Role of nerve growth factor in cutaneous wound healing: Accelerating effects in normal and healing – impaired diabetic mice. *J Exp Med*, 1998; 187 (3): 297 – 306
130. Mavroudi S., Rekopoulou L., Papadopulos N.A., Papadopoulos M.A. Etiology, classification, diagnosis and treatment of cleft lip and palate. *Hell Orthod Rew*, 2007; 10: 103 – 128
131. McIntosh I., Bellus G.A., Jabs E.W. The pleiotropic effects of fibroblast growth factor receptors in mammalian development. *Cell Struct Funct*, 2000; 25: 85 – 96
132. Meng L., Bian Z., Torensma R., Von den Hoff J. W. Biological mechanisms in palatogenesis and cleft palate. *J Dent Res*, 2009, 88 (1): 22 – 33
133. Micera A., Puxeddu I., Aloe L., Levi-Schaffer F. New insights on the involvement of nerve growth factor in allergic inflammation and fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rew*, 2003; 14: 369 – 374
134. Miletich I., Buchner G., Sharpe P.T. Barx1 and evolutionary changes in feeding. *J Anat*, 2005; 207: 619 – 622

135. Mina M. Regulation of mandibular growth and morphogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2001; 12 (4): 276 – 300
136. Mitsiadis T.A., Dicou E., Joffre A., Magloire H. Immunohistochemical localization of nerve growth factor (NGF) and NGF receptor (NGF-R) in the developing first molar tooth of the rat. *Differentiation*, 1992; 49 (1): 47 – 61
137. Mitsiadis T.A., Drouin J. Deletion of the Pitx1 genomic locus affects mandibular tooth morphogenesis and expression of the Barx1 and Tbx1 genes. *Dev Biol*, 2008; 313: 887 – 896
138. Mitsiadis T.A., Mucchielli M.L., Raffo S., Proust J.P., Koopman P., Goridis C. Expression of the transcription factors Otx2, Barx1 and Sox9 during mouse odontogenesis. *Eur J Oral Sci*, 1998; 106 (1): 112 – 116
139. Mitsui C., Iwanaga T., Yoshida S., Kawasaki T. Immunohistochemical demonstration of nerve terminals in the whole hard palate of rats by use of an antiserum against protein gene product 9.5 (PGP 9.5). *Arch Histol Cytol*, 2000; 63 (5): 401 – 410
140. Mogi M., Kondo A., Kinpara K., Togari A. Anti - apoptotic action of nerve growth factor in mouse osteoblastic cell line. *Life Sci*, 2000; 67 (10): 1197 – 1206
141. Mohammadi M., Olsen S.K., Ibrahimi O.A. Structural basis for fibroblast growth factor receptor activation. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005; 16 (2): 107 – 137
142. Mundy G.R. The effects of TGF - β on bone. *Ciba Found Symp*, 1991; 157: 137 - 143
143. Murray J.C. Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clin Genet*, 2002; 61: 248 – 256
144. Nam J.W., Chung J.W., Kho H.S., Chung S.C., Kim Y.K. Nerve growth factor concentration in human saliva. *Oral Diseases*, 2007; 13 (2): 187 – 192
145. Naski M.C., Ornitz D.M. FGF signalling in skeletal development. *Front Biosci*, 1998; 3: 781 – 794
146. Nawshad A., LaGamba D., Hay E. D. Transforming growth factor beta (TGF beta) signalling in palatal growth, apoptosis and epithelial mesenchymal transformation (EMT). *Arch Oral Biol*, 2004; 49 (9): 675 – 689
147. Negoescu A., Guillerment C., Lorimier P., Brambilla E., Labat-Moleur F. Importance of DNA fragmentation in apoptosis with regard to TUNEL specificity. *Biomed Pharmacother*, 1998; 52(6): 252 - 258

148. Nie X., Luukko K., Kettunen P. FGF signalling in craniofacial development and developmental disorders. *Oral Dis*, 2006; 12 (2): 102 - 111
149. Nukumi K., Masuda M., Obata A., Yumoto E. Differences in expression of basic fibroblast growth factor during wound healing between oral mucosa and skin. *Wound Repair and Regeneration*, 2004; 12 (1): A7 - A7(1)
150. Oda Y., Kagami H., Ueda M. Accelerating effects of basic fibroblast growth factor on wound healing of rat palatal mucosa. *J Oral Maxillofac Surg*, 2004; 62: 73 – 80
151. O'Hara A.H., Sampson W.J., Dreyer C.W., Pierce A.M., Ferguson I.A. Immunohistochemical detection of nerve growth factor and its receptors in the rat periodontal ligament during tooth movement. *Arch Oral Biol*, 2009; 54: 871 -878
152. Olerud J.E., Chiu D.S., Usui M.L., Gibran N.S., Ansel J.C. Protein gene product 9.5 is expressed by fibroblasts in human cutaneous wounds. *J Invest Dermatol*, 1998; 111 (4): 565 – 572
153. Oliva F., Tarantino U., Maffulli N. Immunohistochemical localization of calcitonin gene-related peptide and substance P in the rat knee cartilage at birth. *Physiol Res*; 2005; 54: 549 – 556
154. Ono I. The effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on the breaking strength of acute incisional wounds. *J Dermatol Sci*, 2002; 29 (2): 104 – 113
155. Ono I., Akasaka Y., Kikuchi R., Sakemoto A., Kamiya T., Yamashita T., Jimbow K. Basic fibroblast growth factor reduces scar tissue formation in acute incisional wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 2007; 15 (5): 617 – 623
156. Ono T., Fischer-Hansen B., Nolting D., Kjer I. Nerve growth factor receptor immunolocalization during human palate and tongue development. *Cleft Palate Craniofac J*, 2003; 40 (2): 116 – 125
157. Ornitz D.M. FGFs, heparin sulphate and FGFRs: complex interactions essential for development. *Bioessays*, 2000; 22 (2): 108 - 112
158. Ornitz D.M., Itoh N. Fibroblast growth factors. *Genome Biology*, 2001; 2 (3): 3005.1 - 3005.12
159. Piek E., Heldin C.H., Dijke P.T. Specificity, diversity, and regulation in TGF- β superfamily signalling. *FASEB J*, 1999; 13: 2105 – 2124
160. Pincelli C., Marconi A. Autocrine nerve growth factor in human keratinocytes. *J Dermatol Sci*, 2000; 22 (2): 71 – 79

161. Plath A., Einspanier R., Gabler C., Peters F., Sinowatz F., Gospodarowicz D., Schams D. Expression and localization of members of the fibroblast growth factor family in the bovine mammary gland. *J Dairy Sci*, 1998; 81: 2604 – 2613
162. Presta M., Dell’Era P., Mitola S., Moroni E., Ronca R., Rusnati M. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rew*, 2005; 16: 159 – 178
163. Prime S.S., Pring M., Davies M., Paterson I.C. TGF- β signal transduction in oro - facial health and non - malignant disease (part I). *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004; 15 (6): 324 – 336
164. Qu Z., Kayton R.J., Ahmadi P., Liebler J.M., Powers M.R., Planck S.R., Rosenbaum J.T. Ultrastructural immunolocalization of basic fibroblast growth factor in mast cell secretory granules: morphological evidence for bFGF release through degranulation. *J Histochem Cytochem*, 1998; 46: 1119 – 1128
165. Rabizadeh S., Bitler C.M., Butcher L.L., Bredesen D.E. Expression of low-affinity nerve growth factor receptor enhances beta-amyloid peptide toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; 91 (22): 10703 – 10706
166. Rabizadeh S., Oh J., Zhong L., Yand J., Bitler C.M., Butcher L.L., Bredesen D.E. Induction of apoptosis by low – affinity NGF receptor. *Science*, 1993; 261: 345 – 348
167. Reis-Filho J.S., Steele D., Di Palma S., Jones R.L., Savage K., James M., Milanezi F., Schmitt F.C., Ashworth A. Distribution and significance of nerve growth factor receptor (NGFR/p75NTR) in normal, benign and malignant breast tissue. *Mod Pathol*, 2006; 19: 307 – 319
168. Richmond J.D., Sace A.B., Shelton E., Schumacher B.L., Sah R.L., Watson D. Effect growth factors on cell proliferation, matrix deposition, and morphology of human nasal septal chondrocytes cultured in monolayer. *Laryngoscope*, 2005; 115 (9): 1553 – 1560
169. Riley B.M., Mansilla M.A., Jinghong M., Daack-Hirsch S., Maher B.S., Raffensperger L.M., Russo E.T., Vieira A.R., Dode C., Mohammadi M., Marazita M.L., Murray J.C. Impaired FGF signalling contributes to cleft lip and palate. *Proc Natl Acad Sci*, 2007; 104 (11): 4512 – 4517
170. Rundle C.H., Miyakoshi N., Ramirez E., Wergedal J.E., Lau K.H. W., Baylink D. Expression of fibroblast growth factor receptor genes in fracture repair. *Clin Orthop*, 2002; 403: 253 – 263

171. Sabbieti M.G., Marchetti L., Abreu C., Montero A., Hand A.R. Prostaglandins regulate the expression of fibroblast growth factor-2 in bone. *Endocrinology*, 1999; 140 (1): 434 – 444
172. Sadler T.W. Langman's medical embryology, 11th ed.; Baltimore, Williams & Wilkins, 2009; - 380 pp.
173. Saha A.K., Mazumdar J., Kohles S.S. Prediction of growth factor effects on engineered cartilage composition using deterministic and stochastic modeling. *Ann Biomed Eng*, 2004; 3 (6): 871 – 879
174. Sato J., Segami N., Yoshitake Y., Nishikawa K. Correlations of the expression of fibroblast growth factor – 2, vascular endothelial growth factor, and their receptors with angiogenesis in synovial tissues from patients with internal derangement of the temporomandibular joint. *J Dent Res*, 2003; 82 (4): 272 – 277
175. Schor N. The p75 neurotrophin receptor in human development disease. *Prog Neurobiol*, 2005; 77: 201 - 214
176. Schrementi M.E., Ferreira A.M., Zender C., DiPietro L.A. Site-specific production of TGF- β in oral mucosa and cutaneous wounds. *Wound Rep Reg*, 2008; 16: 80 – 86
177. Schuler C.F. Programmed cell death and cell transformation in craniofacial development. *CROBM*, 1995; 6: 202 – 217
178. Schuster N., Krieglstein K. Mechanism of TGF- β mediated apoptosis. *Cell Tissue Res*, 2002; 307: 1 – 14
179. Sharpe P. M., Ferguson M. W. Mesenchymal influence on epithelial differentiation in developing systems. *J Cell Sci Suppl*, 1988; 10: 195 - 230
180. Shida J.I., Jingushi S., Izumi T., Iwaki A., Sugioka Y. Basic fibroblast growth factor stimulates articular cartilage enlargement in young rats in vivo. *J Orthop Res*, 1996; 14 (2): 265 – 272
181. Singer A.J., Clark R.A.F. Cutaneous Wound Healing. *N Engl J Med*, 1999; 341 (10): 738 – 746
182. Smith S.M.L., West L.A., Govindraj P., Zhang X., Ornitz D.M., Hassell J.R. Heparan and chondroitin sulfate on growth plate perlecan mediate binding and delivery of FGF-2 to FGF receptors. *Matrix Biol*, 2007; 26: 175 – 184
183. Sogos V., Balaci L., Ennas M.G., Dell'Era P., Presta M., Gremo F. Developmentally regulated expression of fibroblast growth factor receptors in the human muscle. *Dev Dyn*, 1998; 211: 362 – 373

184. Solomon A., Luigi A., Pe'er J., Frucht-Pery, Bonini S., Bonini S., Levi-Schaffer F. Nerve growth factor is preformed in and activates human peripheral blood eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*, 1998; 102: 454 – 460
185. Sonar S., Schwinge D., Kilic A., Yildirim A., Achenbach S., Fehrenbach H., Nockher A., Renz H. NGF (nerve growth factor): a key player in events ensuing lung epithelium injury and repair. *J Allergy Clin Immunol*, 2007; S300
186. Spears R., Svoboda K.H. Growth factors and signalling proteins in craniofacial development. *Semin Orthod*, 2005; 11: 184 – 198
187. Sperber G.H. Cleft lip & palate. From origin to treatment. Oxford University Press, 2000, – 518 pp
188. Sperber S.M., Dawid I.B. Barx1 is necessary for ectomesenchyme proliferation and osteochondroprogenitor condensation in zebrafish pharyngeal arches. *Dev Biol*, 2008; 321 (1): 101 - 110
189. Stanier P., Moore G.E. Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes contribute to the incidence of non-syndromic clefts. *Hum Mol Genet*, 2004; 13 (1): 73 – 81
190. Strutz F., Zeisberg M., Hemmerlein B., Sattler B., Hummel K., Becker V., Müller G. Basic fibroblast growth factor expression is increased in human renal fibrogenesis and may mediate autocrine fibroblast proliferation. *Kidney International*, 2000; 57: 1521 – 138
191. Sugaya A., Maeda T. Regeneration of nerve fibers in the rat gingival epithelium following gingivectomy. *J Oral Tissue Engin*, 2007; 4 (3): 129 – 136
192. Szebenyi G., Fallon J.F. Fibroblast growth factors as a multifunctional signalling factors. *Int Rev Cytol*, 1999; 185: 45 – 106
193. Szpaderska A.M., Zuckerman J.D., DiPietro L.A. Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. *J Dent Res*, 2003; 82 (8): 621 – 626
194. Tajima Y., Kawasaki M., Kurihara K., Ueha T., Yokose S. Immunohistochemical profile of basic fibroblast growth factor and heparan sulphate in adult rat mandibular condylar cartilage. *Arch Oral Biol*, 1998; 43 (11): 873 – 877
195. Takahara S., Takigawa T., Shiota K. P. Programmed cell death is not necessary prerequisite for fusion of the fetal mouse palate. *Int J Dev Biol*, 2004, 48 (1): 39 – 46
196. Takehara K. Growth regulation of skin fibroblasts. *J Dermatol Sci*, 2000; 24 (1): 70 – 77

197. Takenaka H., Yasuno H., Kishimoto S. Immunolocalization of fibroblast growth factor receptors in normal and wounded human skin. *Arch Dermatol Res*, 2002; 294 (7): 331 – 338
198. Tan L., Hatzirodos N., Wormald P.J. Effect of nerve growth factor and keratinocyte growth factor on wound healing of the sinus mucosa. *Wound Rep Reg*, 2008; 16: 108 – 116
199. Tanaka H., Mizokami H., Shiigi E., Murata H., Ogasa H., Mine T., Kawai S. Effects of basic fibroblast growth factor on repair of large osteochondral defects of articular cartilage in rabbits: dose – response effects and long - term outcomes. *Tissue Engineering*, 2004; 10 (3 - 4): 633 – 641
200. Thompson R.J., Doran J.F., Jackson P., Dhillon A.P., Rode J. PGP 9.5 – a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells. *Brain Res*, 1983; 278 (1 - 2): 224 – 228
201. Thompson S.J., Schatteman G.C., Gown A.M., Bothwell M. A monoclonal antibody against nerve growth factor receptor. Immunohistochemical analysis of normal and neoplastic human tissue. *Am J Clin Pathol*, 1989; 92 (4): 415 – 423
202. Tissier-Seta J.P., Mucchielli M.L., Mark M., Mattei M.G., Goridis C., Brunet J.F. Barx1, a new mouse homeodomain transcription factor expressed in cranio-facial ectomesenchyme and the stomach. *Mech Dev*, 1995; 51: 3 – 15
203. Tobin G., Luts A., Sundler F., Ekström J. Peptidergic innervation of the major salivary glands of the ferret. *Peptides*, 1990; 11: 863 - 867
204. Torcia M., Bracci-Laudiero L., Lucibello M., Nencioni L., Labardi D., Rubartelli A., Cozzolino F., Aloe L., Garaci E. Nerve growth factor is an autocrine survival factor for memory B lymphocytes. *Cell*, 1996; 85: 345-356
205. Twal W.O., Wu J., Gay C.V., Leach R.M. Immunolocalization of basic fibroblast growth factor in avian tibial dyschondroplastic cartilage. *Poult Sci*, 1996; 75 (1): 130 – 134
206. Underwood C.K., Coulson E.J. The p75 neurotrophin receptor. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008; 40: 1664 – 1668
207. Van Beurden H.E., Von den Hoff J.W., Torensma R., Maltha J.C., Kuijpers – Jagtman A.M. Myofibroblasts in palatal wound healing: prospects for the reduction of wound contraction after cleft palate repair. *J Dent Res*, 2005; 84 (10): 871 - 880
208. Van Winterswijk P.J., Nout E. Tissue engineering and wound healing: an overview of the past, present, and future. *Wounds*, 2007; 19 (10): 277 – 284

209. Vaux D.L., Strasser A. The molecular biology of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci*, 1996; 93: 2239 – 2244
210. Vaziri Sani F., Hallberg K., Harfe B. D., McMahon A. P., Linde A., Gritli-Linde A. Fate – mapping of epithelial seam during palatal fusion rules out epithelial – mesenchymal transformation. *Dev Biol*, 2005; 285: 490 – 495
211. Verrecchia F., Mauviel A. Transforming growth factor- β signaling through the Smad Pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol*, 2002; 118 (2): 211 – 215
212. Vignola A.M., Chanez P., Chiappara G., Merendino A., Pace E., Rizzo A., la Rocca A.M., Bellia V., Bonsignore G., Bousquet J. Transforming growth factor- β expression in mucosal biopsies in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997; 156: 591 – 599
213. Vincent T., Hermansson M., Bolton M., Wait R., Saklatvala J. Basic FGF mediates an immediate response of articular cartilage to mechanical injury. *Proc Natl Acad Sci*, 2002; 99 (12): 8259 – 8264
214. Vincent T., Saklatvala J. Basic fibroblast growth factor: an extracellular mechanotransducer in articular cartilage? *Biochem Soc Trans*, 2006; 34 (13): 456 – 457
215. Von den Hoff J.W., Maltha J.C., Kuijpers – Jagtman A.M. Cleft lip and palate, 2nd ed., Springer-Verlag, Berlin, 2006; -800 pp.
216. Wagner W., Wehrmann M. Differential cytokine activity and morphology during wound healing in the neonatal and adult rat skin. *J Cell Mol Med*, 2007; 11 (6): 1342 – 1351
217. Wang L., Zhou S., Liu B., Lei D., Zhao Y., Lu C., Tan A. Locally applied nerve growth factor enhances bone consolidation in a rabbit model of mandibular distraction osteogenesis. *J Orthop Res*, 2006; 24 (12): 2238 – 2245
218. Wang Z., Spittau B., Behrendt M., Peters B., Kriegstein K. Human TIEG2/KLF11 induces oligodendroglial cell death by downregulation of Bcl-XL expression. *J Neural Transm*, 2007; 114 (7): 867 – 875
219. Wehrman T., He X., Raab B., Dukipatti A., Blau H., Garcia C. Structural and mechanistic insights into nerve growth factor interactions with the TrkA and p75 receptors. *Neuron*, 2007; 53: 25 – 38

220. Welker P., Grabbe J., Grützkau A., Henz B.M. Effects of nerve growth factor (NGF) and other fibroblast-derived growth factors on immature human mast cells (HMC-1). *Immunology*, 1998; 94: 310 – 317
221. Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*, 2003; 83: 835 – 870
222. Wheeler E.F., Bothwell M. Spatiotemporal patterns of expression of NGF and low-affinity NGF receptor in rat embryos suggest functional roles in tissue morphogenesis and myogenesis. *J Neurosci*, 1992; 12 (3): 930 – 945
223. Whitby D.J., Ferguson M.W. Immunohistochemical localization of growth factors in fetal wound healing. *Dev Biol*, 1991; 147 (1): 207 – 215
224. White K.E., Cabral J.M., Davis S.I., Fishburn T., Evans W.E., Ichikawa S., Fields J., Yu X., Shaw N.J., McLellan N.J., McKeown C., Fitzpatrick D., Yu K., Ornitz D.M., Econs M.J. Mutations that cause osteoglophonic dysplasia define novel roles for FGFR1 in bone elongation. *Am J Hum Genet*, 2005; 76 (2): 361 – 367
225. Wiesmann C. And de Vos A.M. Nerve growth factor: structure and function. *Cell Mol Life Sci*, 2001; 58: 748 - 759
226. Wilke T.A., Gubbels S., Schwartz J., Richman J.M. Expression of fibroblast growth factors (FGFR1, FGFR2, FGFR3) in the developing head and face. *Dev Dyn*, 1997; 210: 41 – 52
227. Wilkinson K.D., Lee K.M., Deshpande S., Duerksen-Hughes P., Boss J.M., Pohl J. The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase. *Science*, 1989; 246: 670 – 673
228. Wong F.K., Hägg U. An update on the aetiology of orofacial clefts. *Hong Kong Med J*, 2004; 10 (5): 331 – 336
229. Wu X., Myers A.C., Goldstone A.C., Togias A., Sanico A.M. Localization of nerve growth factor and its receptors in the human nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol*, 2006; 118: 428 – 433
230. Wyatt L., Wadham C., Crocker L.A., Lardelli M., Khew-Goodall Y. The protein tyrosine phosphatase Pez regulates TGF β , epithelial-mesenchymal transition, and organ development. *J Cell Biol*, 2007; 178 (7): 1223 – 1235
231. Yaguchi H., Tsuboi R., Ueki R., Ogawa H. Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor in skin diseases. *Acta Derm Venereol*, 1993; 73 (2): 81 – 83

232. Yamashita T., Fujitani M., Hata K., Mimura F., Yamagishi S. Diverse functions of the p75 neurotrophin receptor. *Anatomical Science International*, 2005; 80: 37 – 41
233. Yongchaitrakul T., Pavasant P. Transforming growth factor-beta1 up-regulates the expression of nerve growth factor through mitogen-activated protein kinase signaling pathways in dental pulp cells. *Eur J Oral Sci*, 2007; 115 (1): 57 – 63
234. Yu W., Ruest L.B., Svoboda K.K.H. Regulation of epithelial – mesenchymal transition in palate fusion. *Experimental biology and medicine*, 2009, 234: 483 – 491
235. Zelles T., Purushotham K.R., Macauley S.P., Oxford G.E., Humphreys-Beher M.G. Saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. *J Dent Res*, 1995; 74 (12): 1826 – 1832
236. Zhang J., Cousens L.S., Barr P., Sprang S.R. Three-dimensional structure of human basic fibroblast growth factor, a structural homolog of interleukin 1 β . *Proc Natl Acad Sci*, 1991; 88: 3446 – 3450
237. Zhang X., Ibrahim O. A., Olsen S. K., Umemori H., Mohammadi M., Ornitz D., M. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family: the complete mammalian FGF family. *J Biol Chem*, 2006; 281 (23): 15694 – 15700
238. Zittermann S.I., Issekutz A. Basic fibroblast growth factor (bFGF, FGF-2) potentiates leukocyte recruitment to inflammation by enhancing endothelial adhesion molecule expression. *Am J Pathol*, 2006; 168: 835 – 846
239. Xie S., Sukkar M.B., Issa R., Oltmanns U., Nicholson A.G., Chung K.F. Regulation of TGF- β 1-induced connective tissue growth factor expression in airway smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005; 288: L68 - L76

Latviešu valodā

1. Akota I., Barkāne B., Grasmane N. Iedzimto sejas šķeltņu biežuma rādītāji Latvijā no 1960. līdz 1997. gadam. *Proc Latv Med Acad*, 2001; 166 – 170
2. Jankovska I., Urtāne I., Šalms Ģ., Bigestāns A., Lauskis G., Pilmane M. Barx1, Msx2 un wnt1 gēni ortognātiskās ķirurģijas pacientu žokļa kaulos un mīkstajos audos. 2008. gada zinātniskās konferences tēzes, RSU, 2008; 187
3. Pilmane M. Plaušu difūzās neuroendokrīnās sistēmas (PDNES) imūnhistoķīmiskie un radioimūnhistoķīmiskie pētījumi cilvēkiem ar dažādām elpceļu slimībām. *Latvijas Medicīnas akadēmija, Rīga*, 1997; 13.lpp

4. Pilmane M., Šūmahers G.H. Medicīniskā embrioloģija. Rīgas Stradiņa Universitāte, Rīga, 2006; - 335 lpp.
5. Teibe U. Bioloģiskā statistika. LU akadēmiskais apgāds, Rīga 2007; – 156 lpp.
6. Zalcmane V., Groma V. Šūnas ultrastruktūra. Rīgas Stradiņa Universitāte, 2004; - 269 lpp.

Krievu valodā

1. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистология . Мир, 1969; 645с

PUBLIKĀCIJAS UN PREZENTĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Zinātniskie raksti

1. Pilmane M., I. Akota, B. Barkāne, B. Krivicka. Morphofunctional methods in investigations of hard tissue in children with complete lip palate cleft. Trends in Biomedicine in Finland, XVIII, 2003; 1/2:14-19. **Paper.**
2. Krivicka B., M. Pilmane. Augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar šķeltnēm. RSU zinātniskie raksti, 2007: 298-301. **Paper.**
3. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota. Barx1, growth factors and apoptosis in facial tissue of children with clefts. Stomatologija, 2008; 10 (2): 62-66. **Paper.**
4. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota. Current understanding of cleft lip and palate pathogenesis. Acta Chirurgica Latviensis, 2008; (8): 28-33. **Paper.**
5. Pilmane M., B. Krivicka, I. Akota. Morphopathogenesis of complete uni- and bilateral cleft lip and palate. 11th International congress on cleft lip and palate and related craniofacial anomalies. Medimond International Proceedings, Monduzzi editor, 2009: 189-193. **Paper.**

Vietējās tēzes un prezentācijas

1. M. Pilmane, I. Akota, B. Barkāne, B. Krivicka. Cieto audu morfofunkcionālās izmeklēšanas metodes ar caurejošām sejas šķeltnēm slimojošiem bērniem. RSU 2004. gada Medicīnas nozares zinātniskās konferences tēzes. Rīga, 2004:142. Tēzes un prezentācija.
2. Krivicka B., K. Zepa, M. Pilmane, I. Akota, B. Barkāne. Growth, degeneration and apoptosis in tissue of children with lip palate cleft. RSU 2006. gada zinātniskās konferences tēzes. Rīga, 2006: 123. Tēzes un prezentācija.

3. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota, B. Barkāne. Barx1, augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar šķeltnēm. RSU 2007. gada zinātniskās konferences tēzes. Rīga, 2007: 207. Tēzes un prezentācija.
4. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota. Barx1, augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar vienpusējām un divpusējām šķeltnēm. RSU 2008. gada zinātniskās konferences tēzes. Rīga, 2008:196. Tēzes un prezentācija.
5. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota. Barx1, augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar šķeltnēm. Latvijas Ārstu kongress. Rīga, 2009: 44-45. Tēzes un prezentācija.
6. Krivicka B., M. Pilmane. Augšanas faktori un to receptori sejas audos bērniem ar šķeltnēm. RSU 2010. gada zinātniskās konferences tēzes. Rīga, 2010: 306 . Tēzes un prezentācija.

Starptautiskās tēzes un prezentācijas

1. Pilmane M., I. Akota, B. Barkāne, S. Boka, B. Krivicka. Morphofunctional changes in facial soft and hard tissue of children with complete lip palate cleft. *Anatomical Science International*, 2004, vol. 79 SUPPL:404. Thesis.
2. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota, B. Barkāne. Growth factors and apoptosis in facial tissue of children with clefts. *Stomatologija*, 2006, SUPPL.1:25. Thesis and presentation (8th Joint Symposium Riga – Rostock, May, 11 – 14, 2006, Latvia).
3. Pilmane M., B. Krivicka, I. Akota, B. Barkāne, B. Rone, R. Kundziņa. Growth factors (GF) and matrix metalloproteinases (MMP) in tissue of children with facial clefts. COST 23 meeting, May, 4-7, 2006, Helsinki. Abstract book: Growth factors in craniofacial development and repair, 2006: 76.
4. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota, B. Barkāne. Growth factors, apoptosis and matrix metalloproteinases in facial tissue of children with clefts. *Stomatologija*, 2006,

- SUPPL.3:20-21. Thesis and presentation (The 1st Baltic Scientific conference in Dentistry, October, 19 – 21, 2006, Estonia).
5. Pilmane M., B. Krivicka, I. Akota, B. Barkāne. Distribution and appearance of barx1, growth factors (GF) and apoptosis in facial tissue of children with clefts. Abstract book: Comparative evolution, development and regeneration of epidermal-mesenchymal organs, 2006: 25. Thesis and presentation (COST B23 symposium, December, 7-8, 2006, France).
 6. Krivicka B., B. Barkane, I. Akota, M. Pilmane. Correlation between different growth factors (GF) and gene expression in children with cleft lip and palate. Stomatologija, 2007, SUPPL.1(4):21. Thesis and presentation (The 2nd Baltic Scientific conference of Dentistry, November, 8-10, 2007, Latvia).
 7. Krivicka B., M. Pilmane. Growth factors, barx1 and defensin in facial tissue of children with clefts. Abstract book, 2007:42. Thesis and presentation. (Baltic Morphology 4th Scientific Conference, November, 19-20, 2007, Latvia).
 8. Krivicka B., M. Pilmane. Barx1, growth factors and apoptosis in facial tissue of children with unilateral and bilateral clefts. Proceedings of the 5th Tampere Tissue Engineering Symposium. Thesis and presentation (5th Tissue Engineering Symposium, April, 22 – 25, 2008, Tampere)
 9. Pilmane M., B. Krivicka, I. Akota, B. Barkane. Possible morphopathogenesis of complete uni- and bilateral cleft lip and palate. Abstract book, 2008: 152-153. Thesis (5th congress of international cleft lip and palate foundation, September 22-26, 2008, USA).
 10. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota. Genes, growth factors (GF) and apoptosis in facial tissue of children with clefts. Abstract book, 2009: 17. Thesis and presentation (5th Scientific conference „Baltic morpholog 2009”, August 27-28, 2009, Lithuania).
 11. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota. Growth factors, growth factor receptors and apoptosis in children with clefts. Abstract book, 2010: 84. Thesis (ABSTD 5th European meeting, April 15-17, 2010, Romania).

PATEICĪBAS

Izsaku vislielāko pateicību mana darba vadītājai Dr. habil. med., profesorei Mārai Pilmanei par kompetento darba vadīšanu, pacietību, ieteikumiem un atbalstu jebkurā laikā.

Paldies profesorei Ilzei Akotai un docentei Birutai Barkānei par palīdzību šī darba tapšanā.

Pateicos darba recenzentiem Dr. habil. med., profesoram Andrejam Skaģeram, Dr. habil. med., profesoram Jānim Gaujēnam un Dr. med., assoc. profesorei Marinai Aunapuu.

Pateicos RSU zinātniskajai prodekānei asociētajai profesorei Ivetai Ozolantai un zinātniskajai sekretārei Ingrīdai Kreilei par sniegtajiem padomiem doktorantūras laikā.

Paldies profesoram Uldim Teibem par konsultācijām un palīdzību datu statistiskajā apstrādē.

Paldies Anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoģijas laboratorijas laborantei Natālijai Morozai par praktisko palīdzību reakciju veikšanā.

Sirsnīgs paldies maniem jaukajiem kolēģiem un darba biedriem par uzmundrinājumiem un ieteikumiem.

PIELIKUMS

Ar hematoksilīnu un eozīnu krāsoto vienpusējo un divpusējo lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu audu mikrofotogrāfijas.

Kontroles pacientu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas.

Apoptoze kontroles pacientu audos.

Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas.

Apoptoze vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audos.

Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas.

Apoptoze vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audos.

Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas.

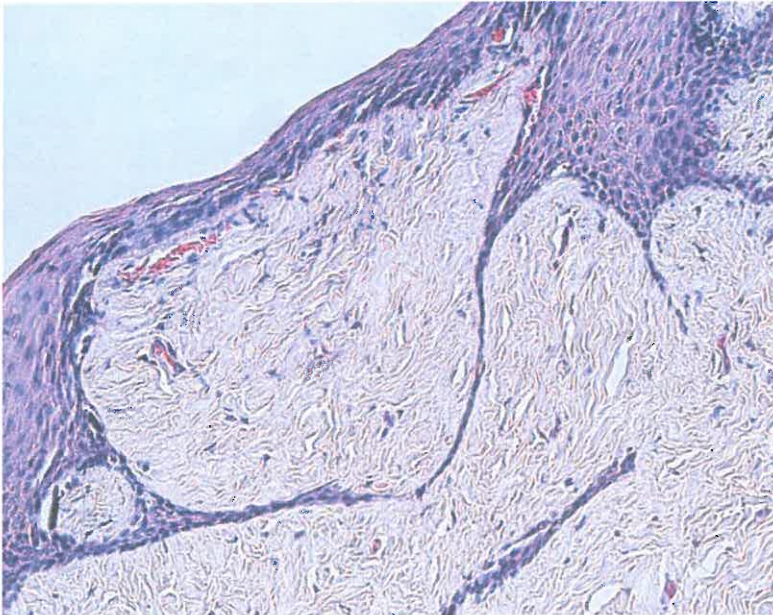
Apoptoze divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audos.

Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas.

Apoptoze divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audos.

**Ar hematoksilīnu un eozīnu krāsoto vienaspusējo un divpusējo lūpas un aukslēju šķeltnu
pacientu audu mikrofotogrāfijas**

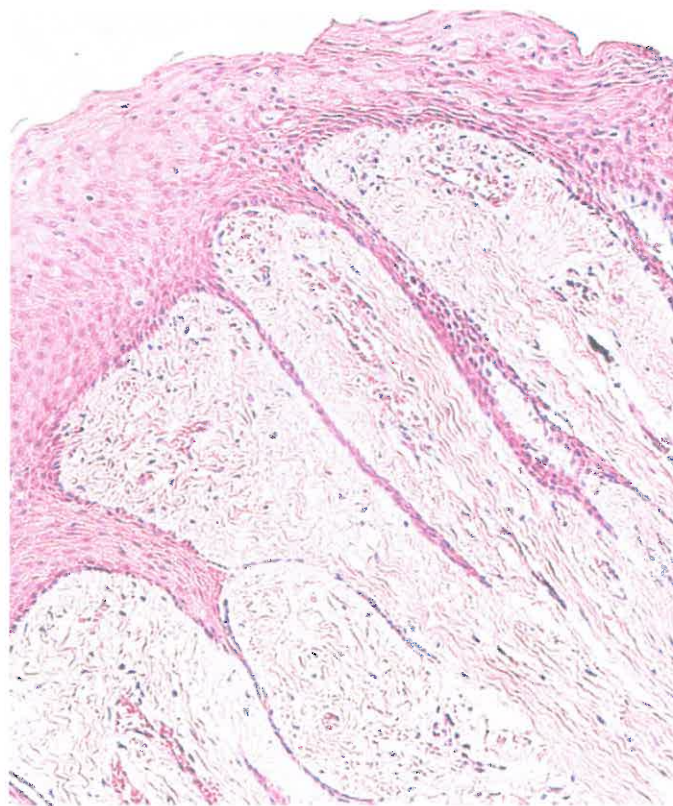
1. attēls. Plāns, atrofisks mutes dobuma gļotādas epitēlijs. X 200.



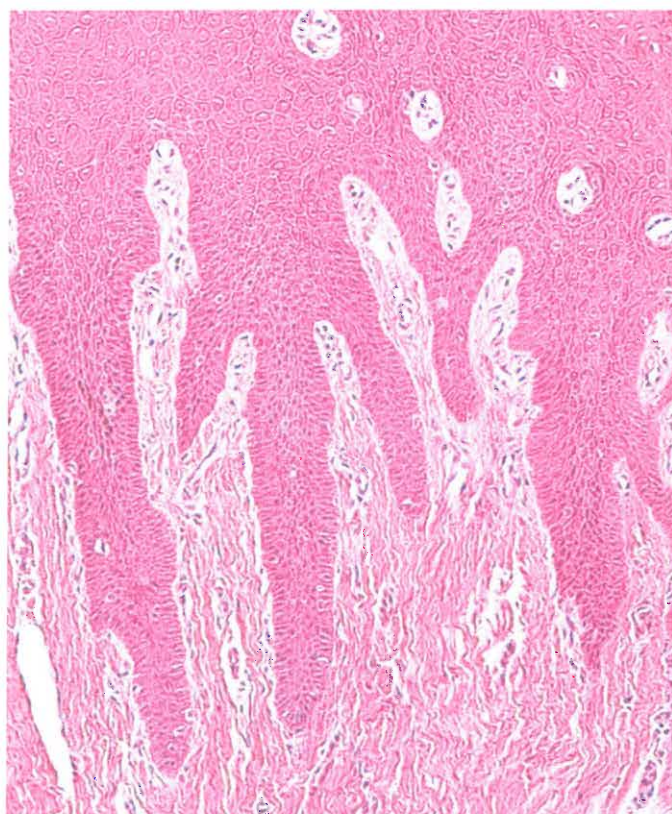
2. attēls. Biezs mutes dobuma gļotādas epitēlijs ar izteiktu bazālo šūnu proliferāciju un vidējo slāņu šūnu vakuolizāciju. X 200.



3. attēls. Gari epitēlija izaugumi gļotādas saistaudos. X 200.



4. attēls. Gari epitēlija izaugumi gļotādas saistaudos. X 200.



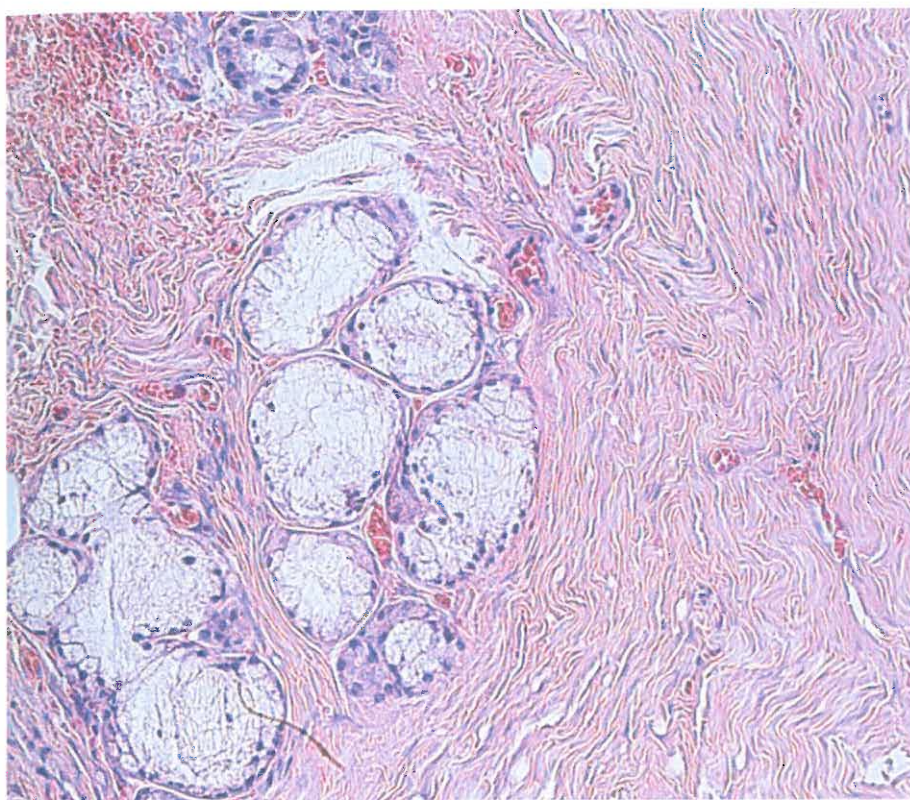
5. attēls. Epitēlija dzeloņainā slāņa šūnu vakuolizācija. X 200.



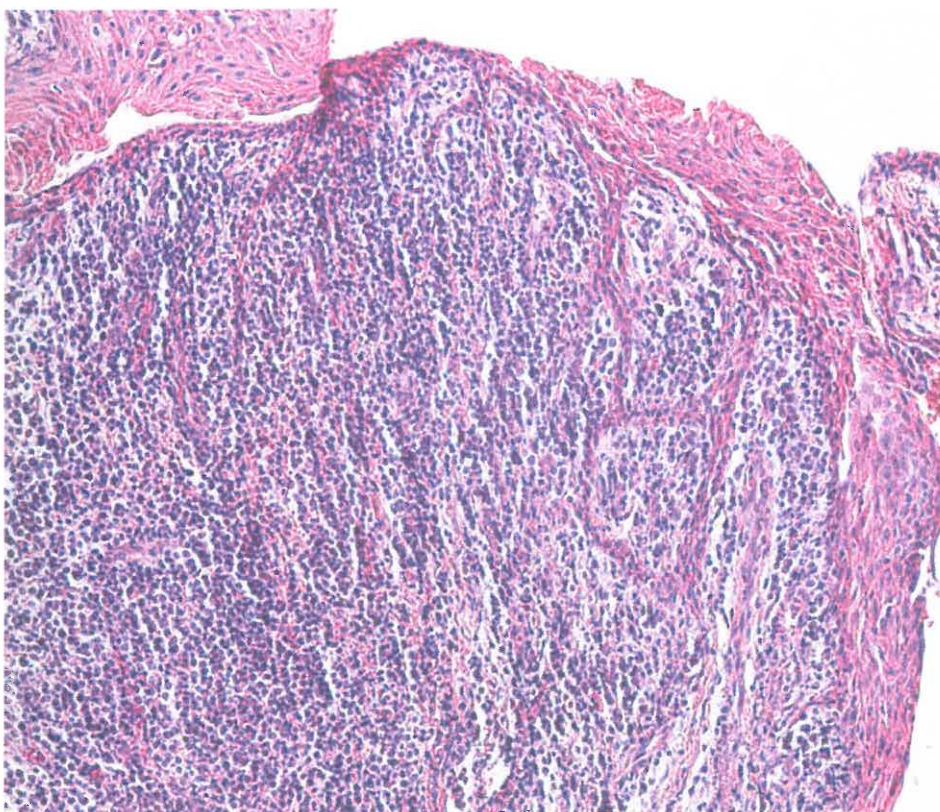
6. attēls. Daudz sīki un sklerotiski ap epitēlija izaugumiem lokalizēti asinsvadi. X 250.



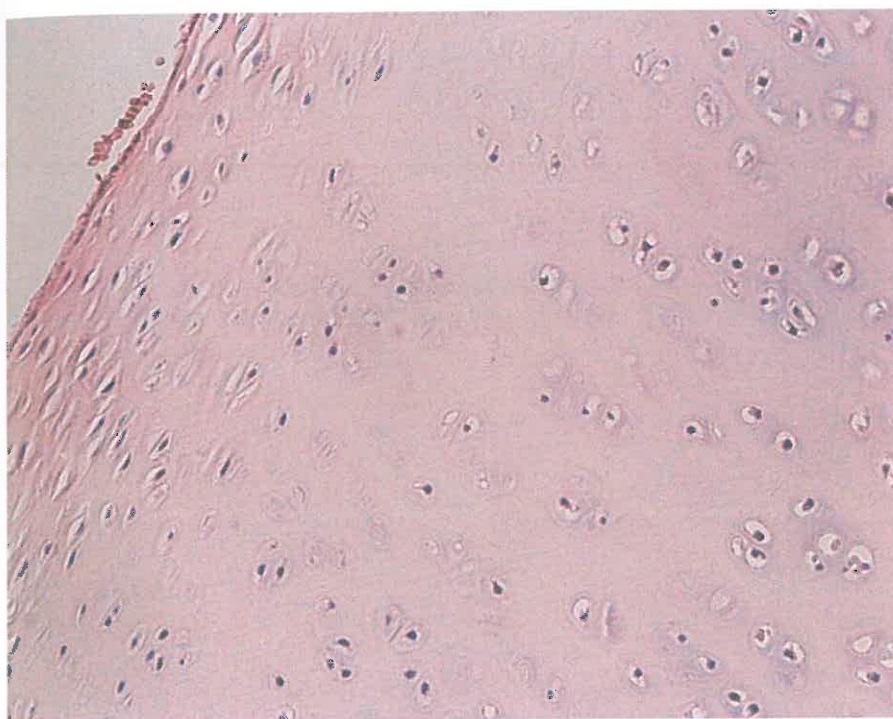
7. attēls. Neizmainītas mazo siekalu dziedzeru sekretorās daļas un blīvi kolagēno šķiedru kūlīši ap tām. X 250.



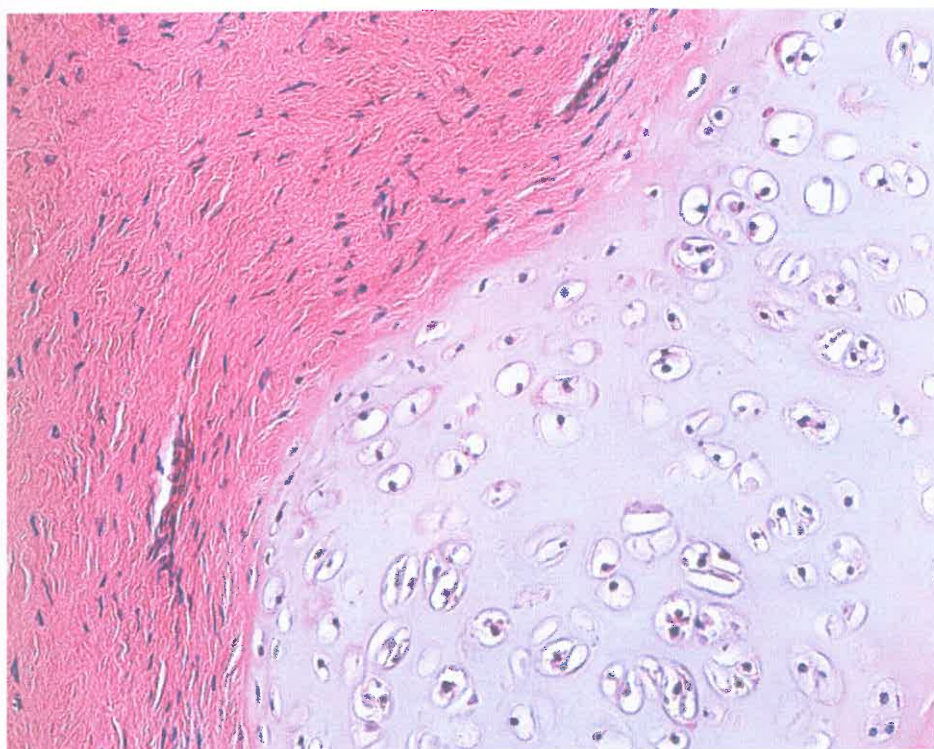
8. attēls. Iekaisuma šūnu infiltrācija gļotādā. X 200.



9. attēls. Daudz hondroblastu hialīnā skrimšļa proliferācijas zonā, mazas izogēno šūnu grupas nobriedušo šūnu zonā. X 250.

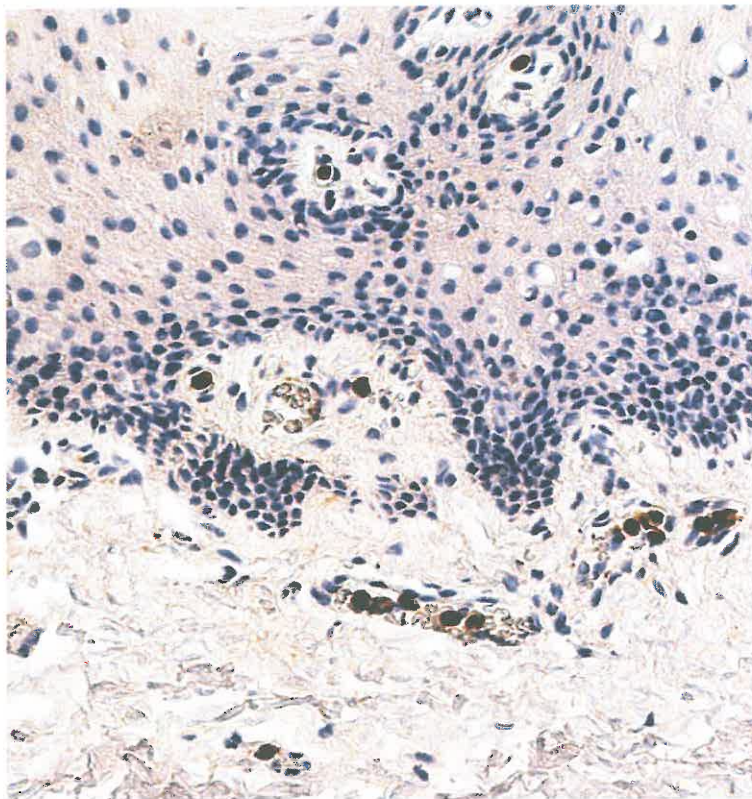


10. attēls. Degeneratīvs skrimslis fibrozos saistaudos. X 250.

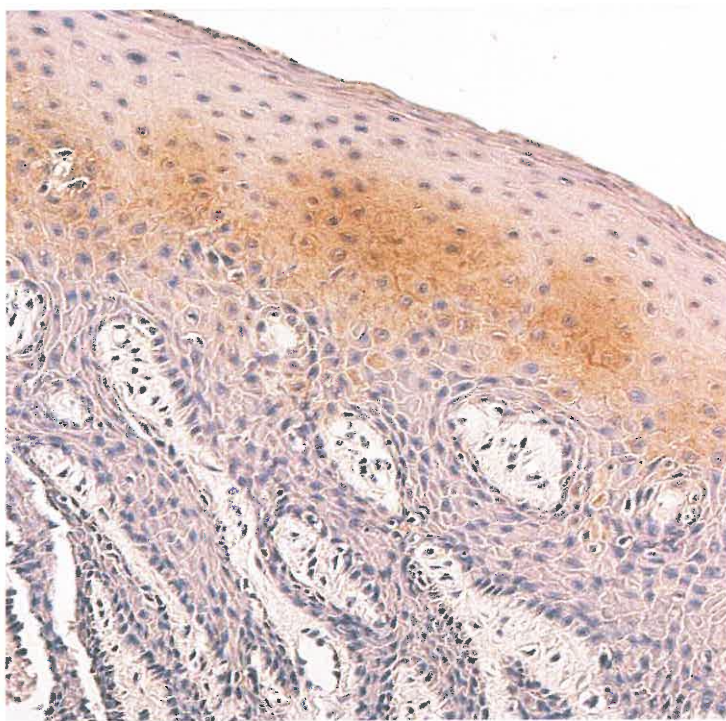


Kontroles pacientu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas

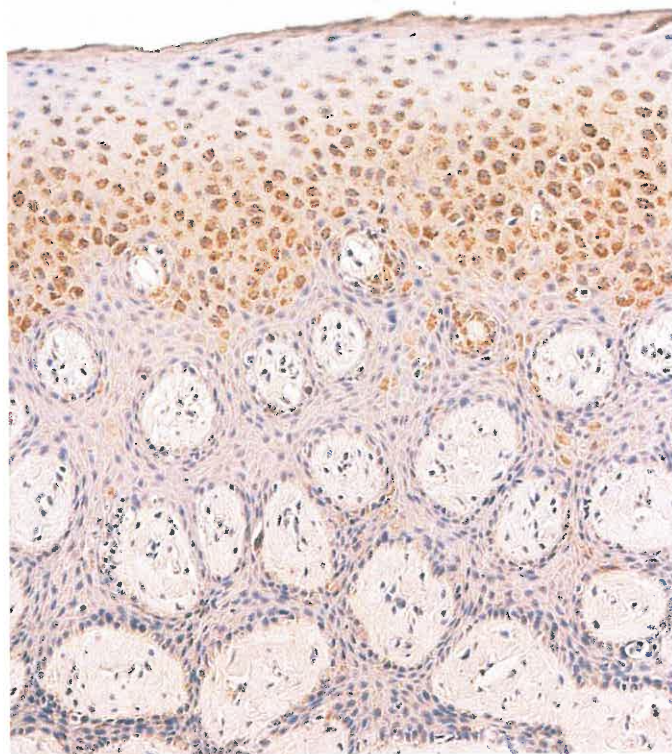
11. attēls. bFGF ekspresija retās iekaisuma šūnās. bFGF IMH, X 400.



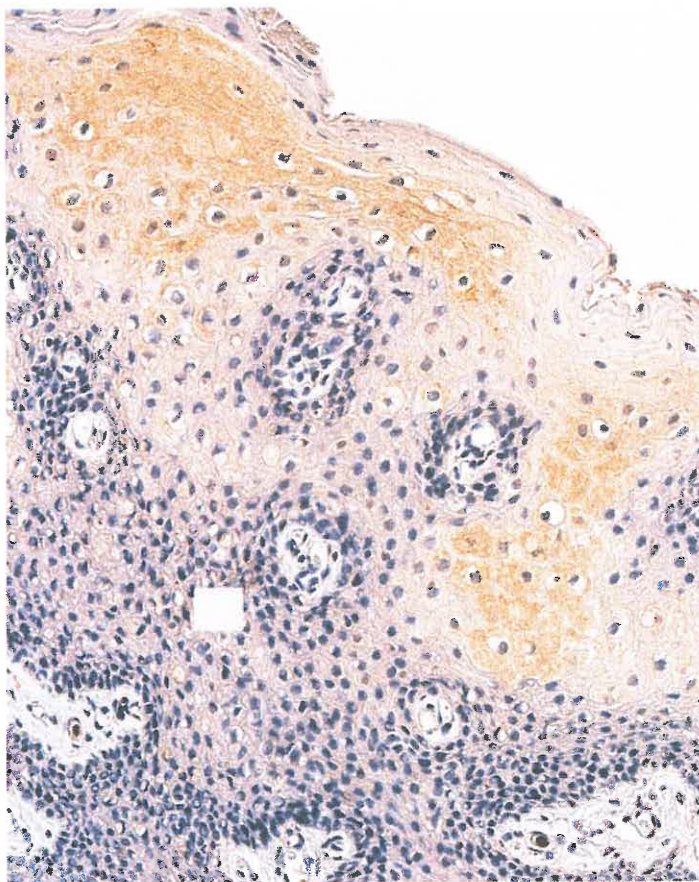
12. attēls. Perēkļveidīga bFGF ekspresija epitēlijā. bFGF IMH, X 250.



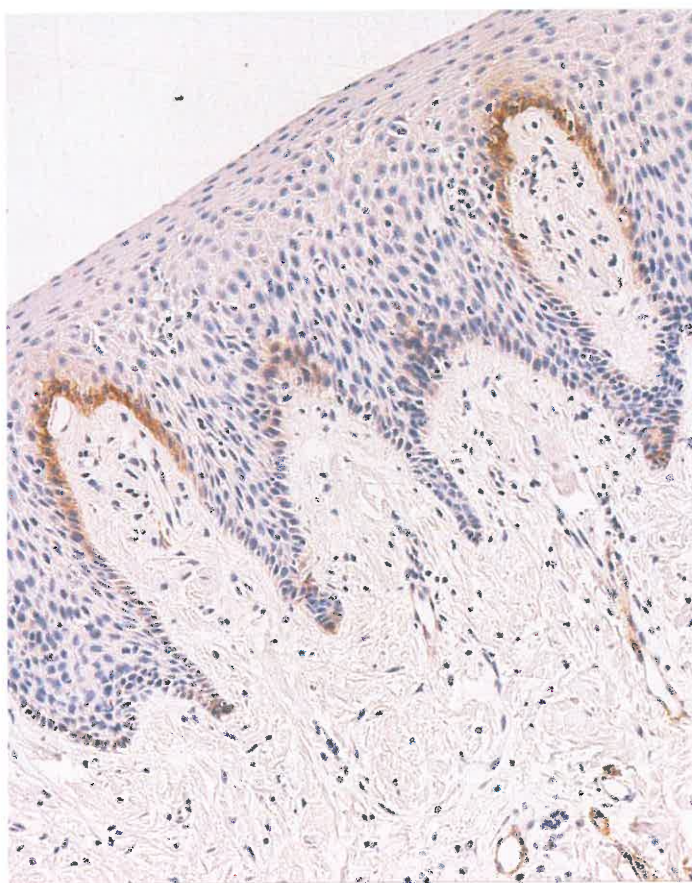
13. attēls. FGFR1 ekspresija gļotādas epitēlija vidējos slāņos. FGFR1 IMH, X 250.



14. attēls. Perēkļveidīgi lokalizēti NGF saturoši epiteliocīti. NHG IMH, X 250.



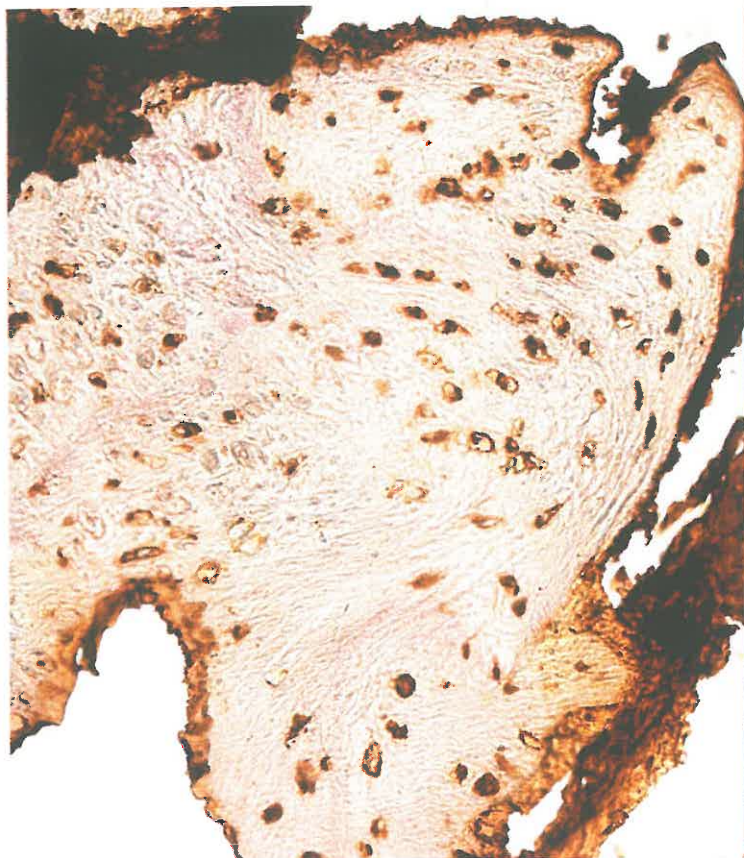
15. attēls. Perēkļveidīga NGFR ekspresija epitēlija bazālās šūnās un nervu šķiedrās ap asinsvadiem. NGFR IMH, X 200.



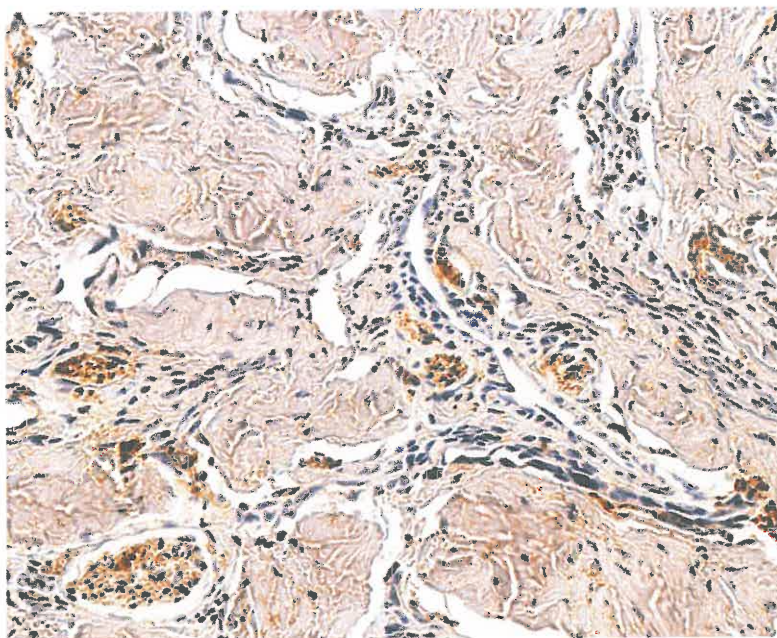
16. attēls. Bagātīga TGF β ekspresija kaula šūnās. TGF β IMH, X 400.



17. attēls. Bagātīga Barx1 gēna ekspresija osteocītos. Barx1 IMH, X 400.

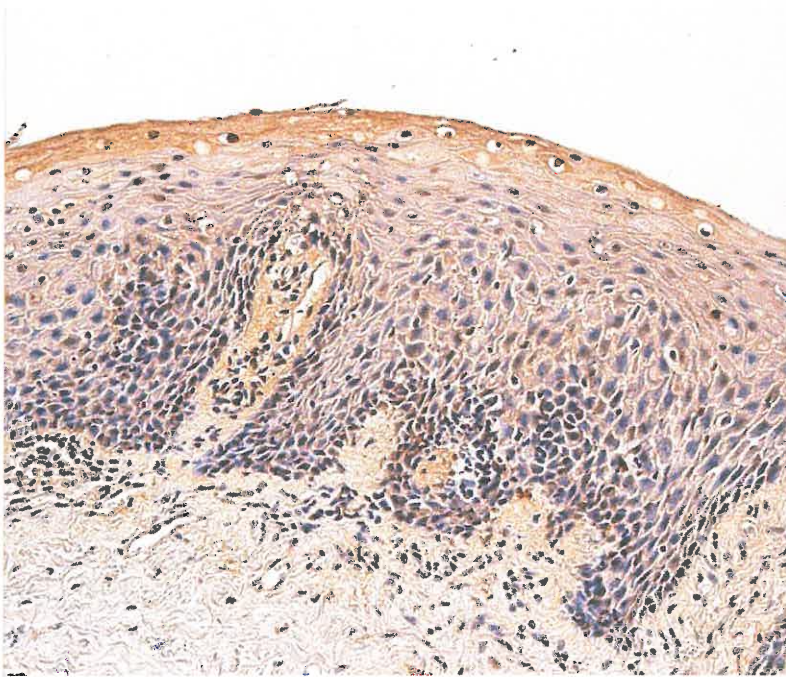


18. attēls. Daudz sīki PGP 9.5 saturoši nervu šķiedru kūlīši gļotādas saistaudos. PGP 9.5 IMH, X 400

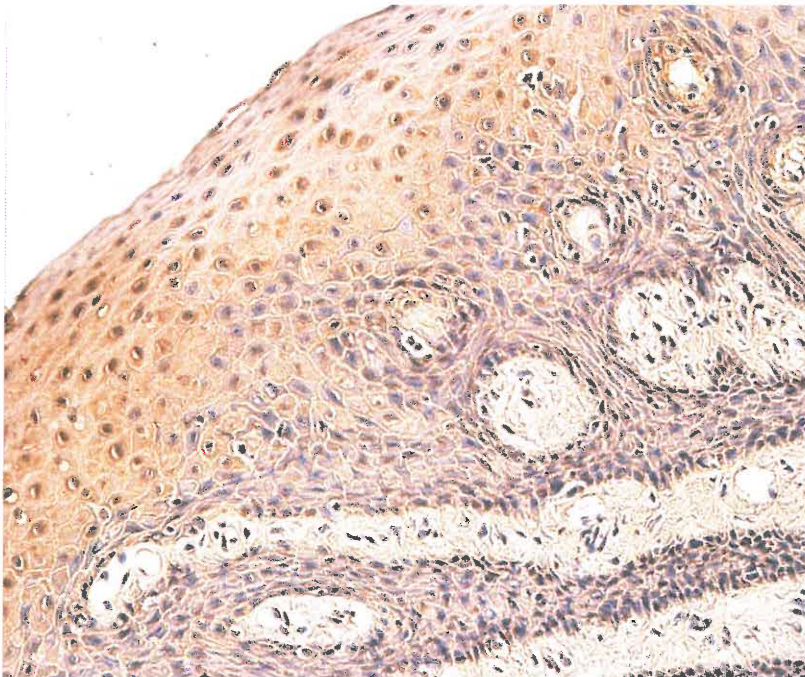


Apoptoze kontrolēs pacientu audos

19. attēls. Apoptotiskas šūnas gļotādas epitēlija virsējos slāņos. TUNEL, X 250

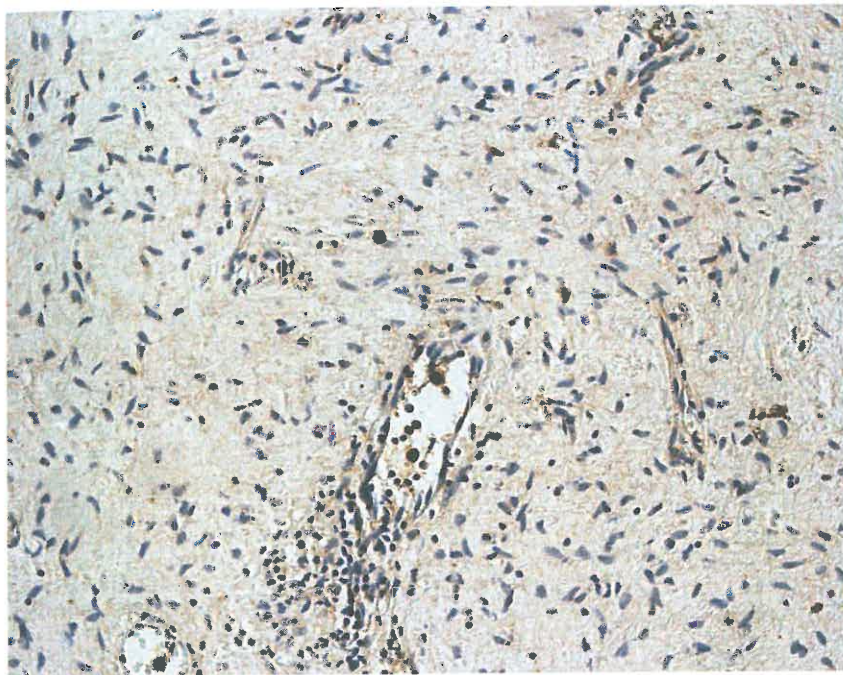


20. attēls. Apoptoze gļotādas epitēlija virsējo šūnu slāņos. TUNEL, X 250

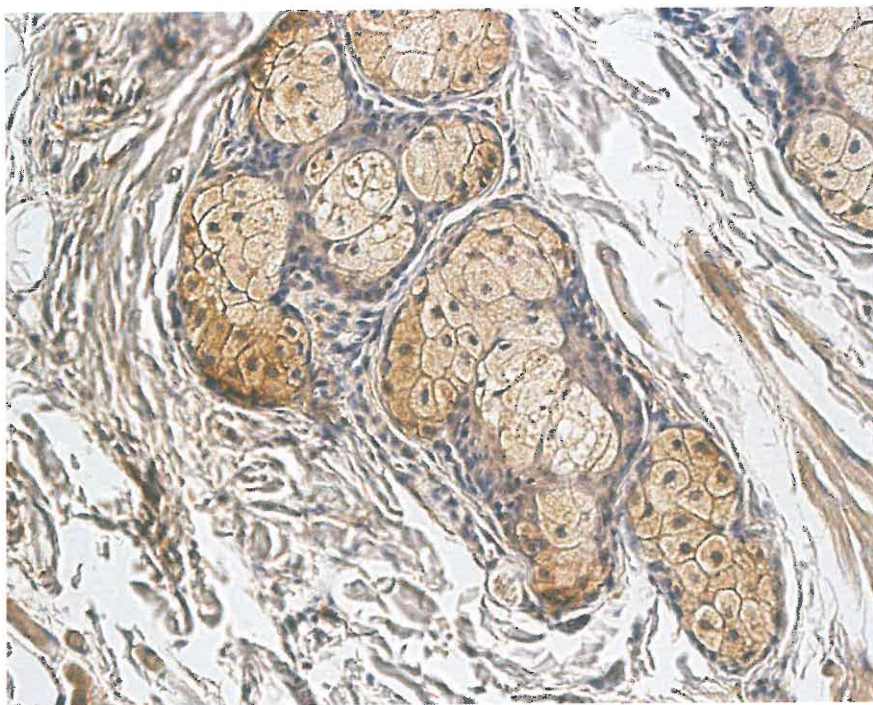


**Vienpusēju lūpas un ausklēju šķeltnu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu
audu imūnhistokīmijas mikrofotogrāfijas**

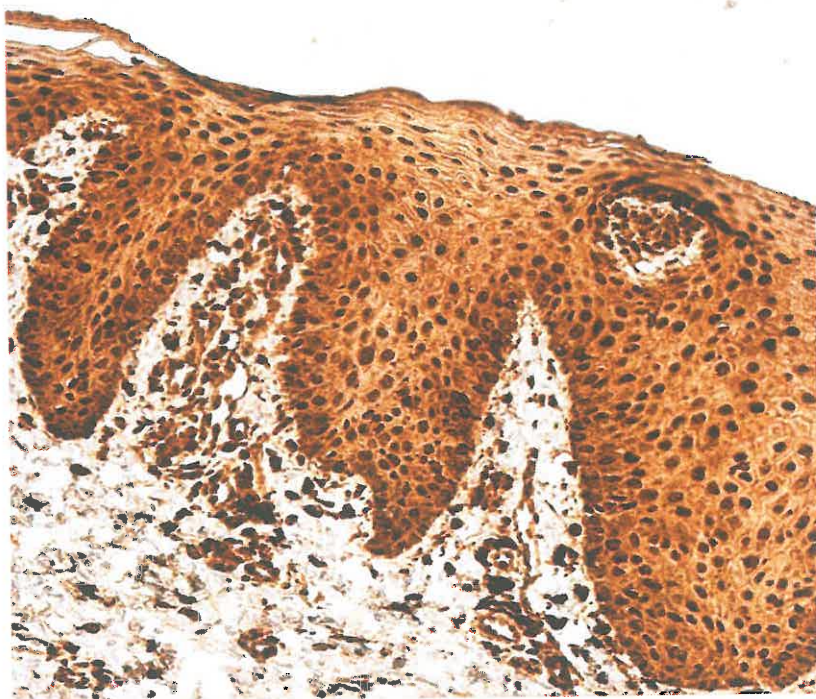
21. attēls. bFGF saturoši neitrofilie leukocīti asinsvados. bFGF IMH, X 250.



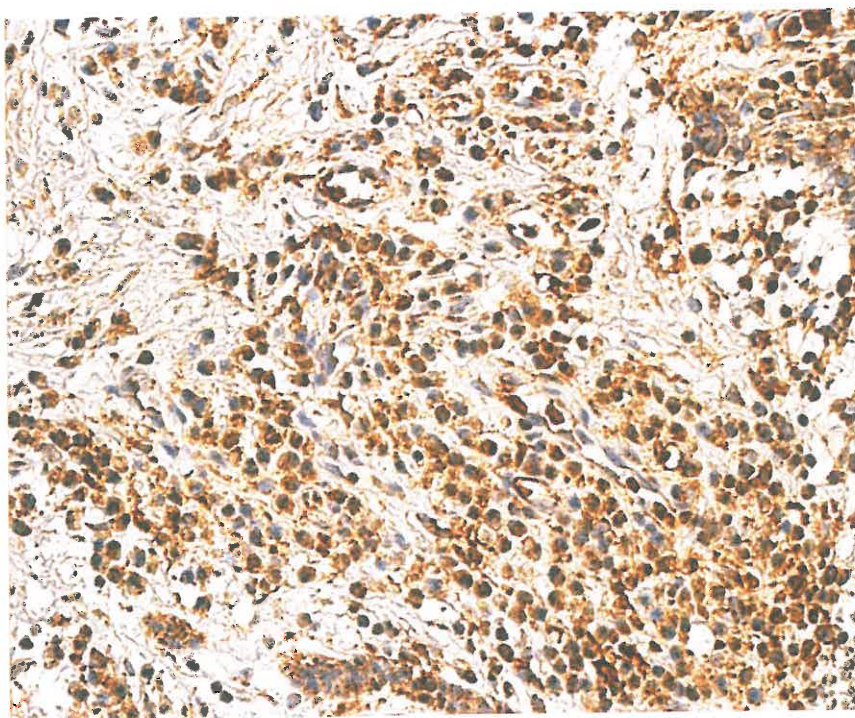
22. attēls. bFGF ekspresija tauku dziedzeru glandulocītos. bFGF IMH, X 250.



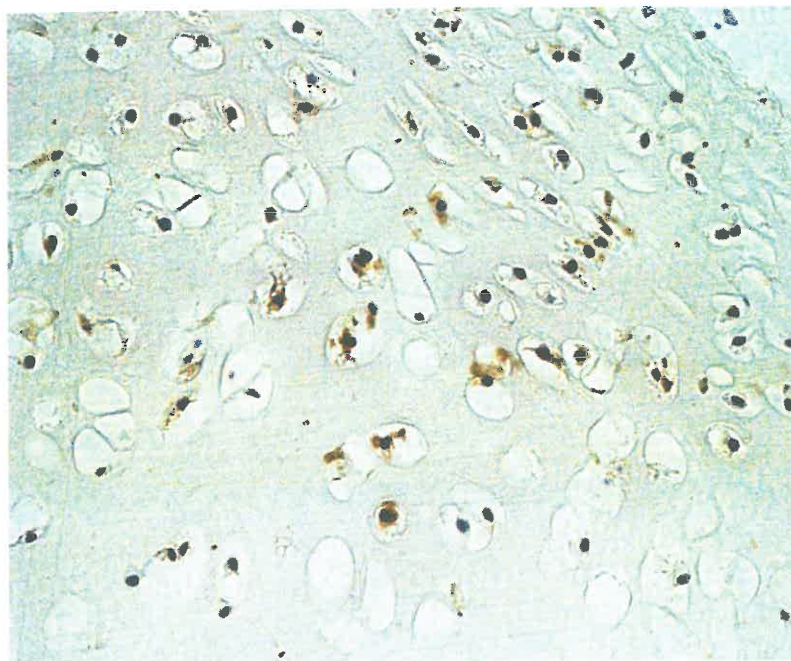
23. attēls. Bagātīga FGFR1 ekspresija visā gļotādas epitēlijā un saistaudu šūnās. FGFR1 IMH, X 250.



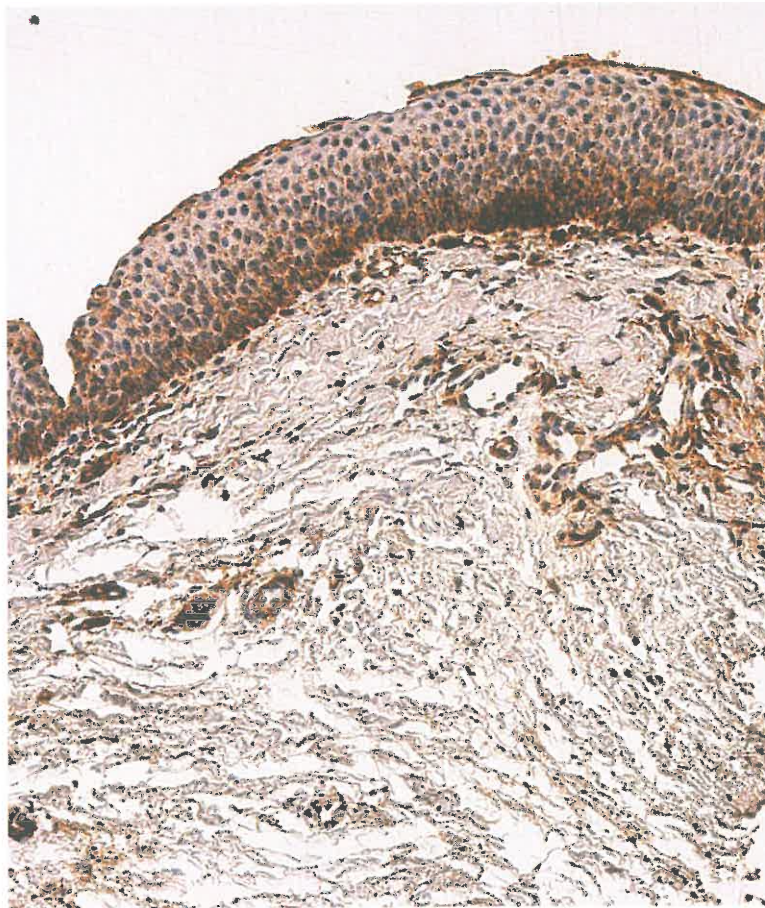
24. attēls. Bagātīga FGFR1 ekspresija saistaudu šūnās un limfocītos. FGFR1 IMH, X 400.



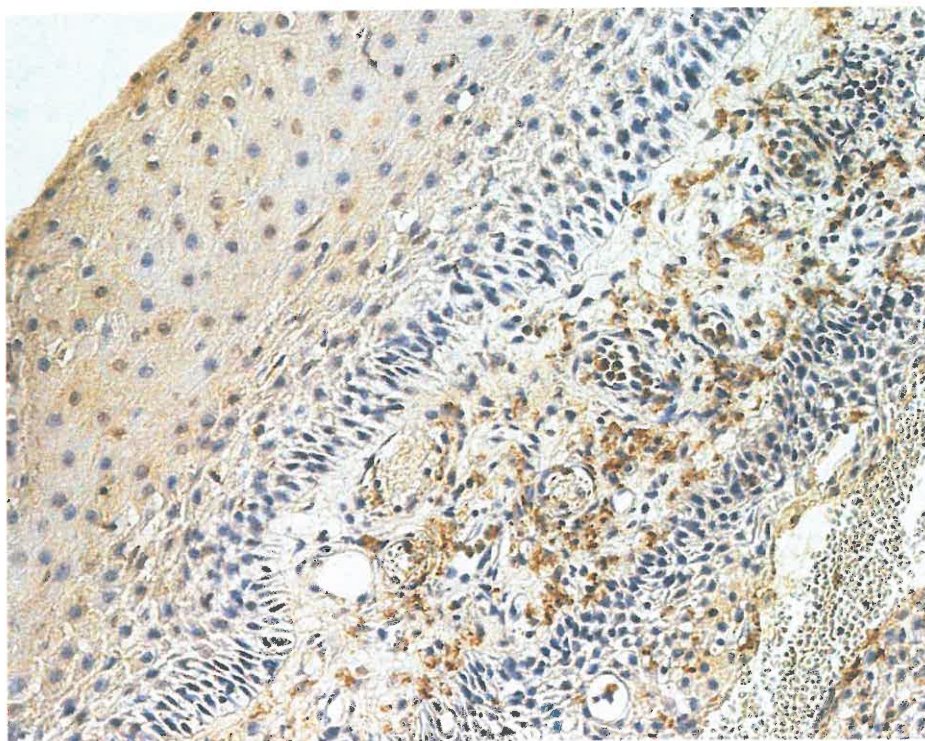
25. attēls. FGFR1 ekspresija jaunās un nobriedušās hialīnā skrimšļa šūnās. FGFR1 IMH, X 400.



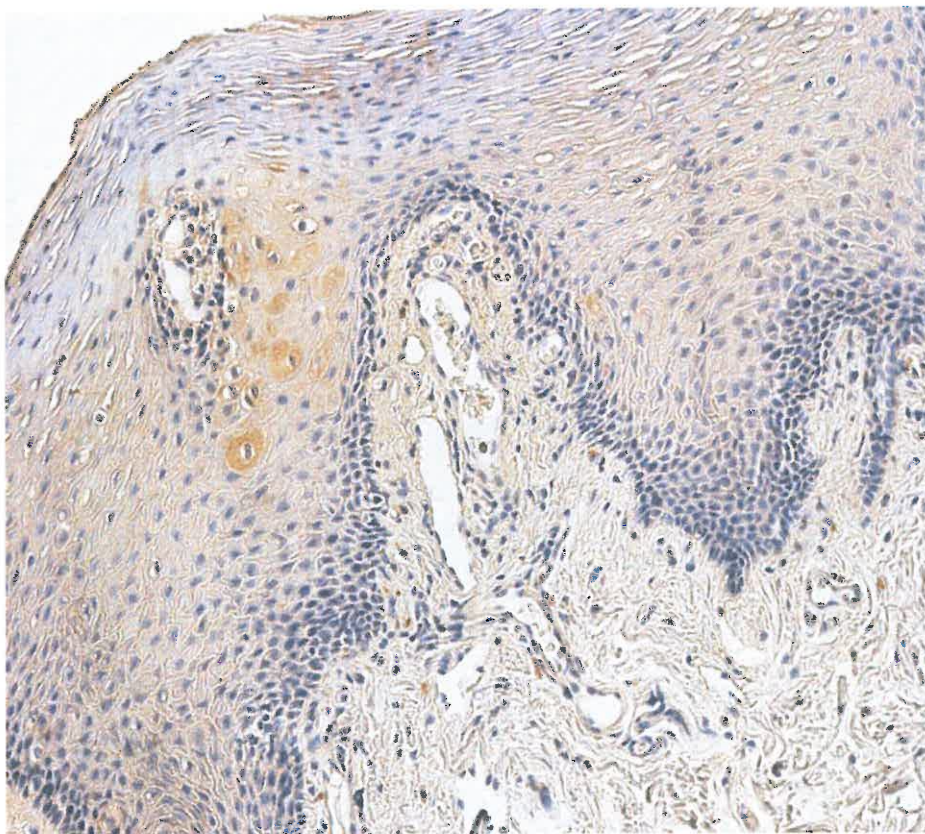
26. attēls. Bagātīga FGFR1 ekspresija epitēlijā (vairāk epitēlija bazālajās šūnās), saistaudu šūnās un asinsvadu gludajos miocītos. FGFR1 IMH, X 250.



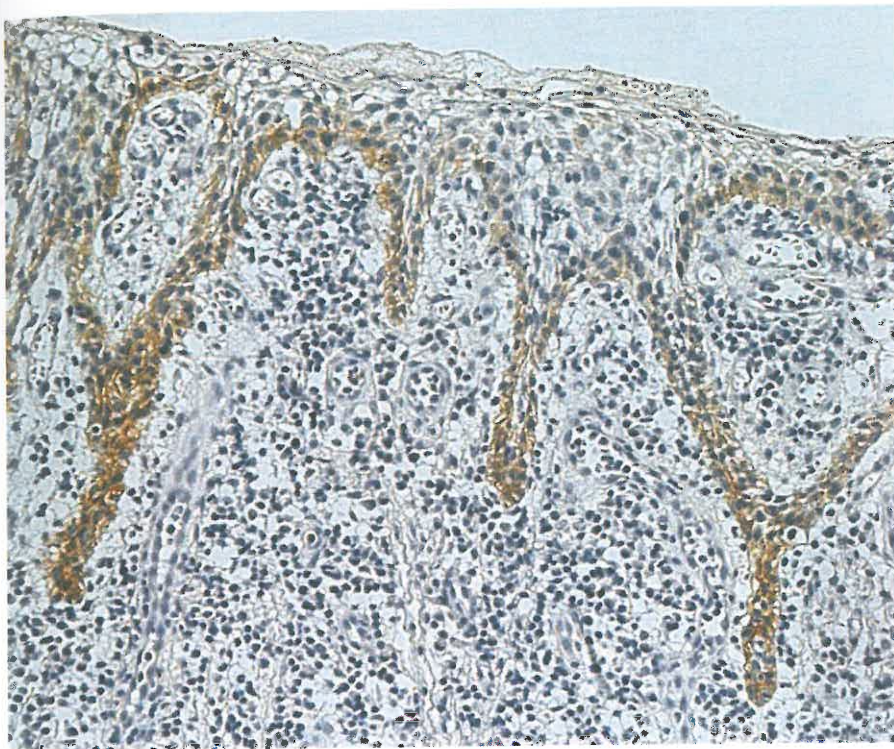
27. attēls. NGF ekspresija subepitēlija saistaudu šūnās, sīkās nervu šķiedrās un neizteikta – epitelociētos. NGF IMH, X 250.



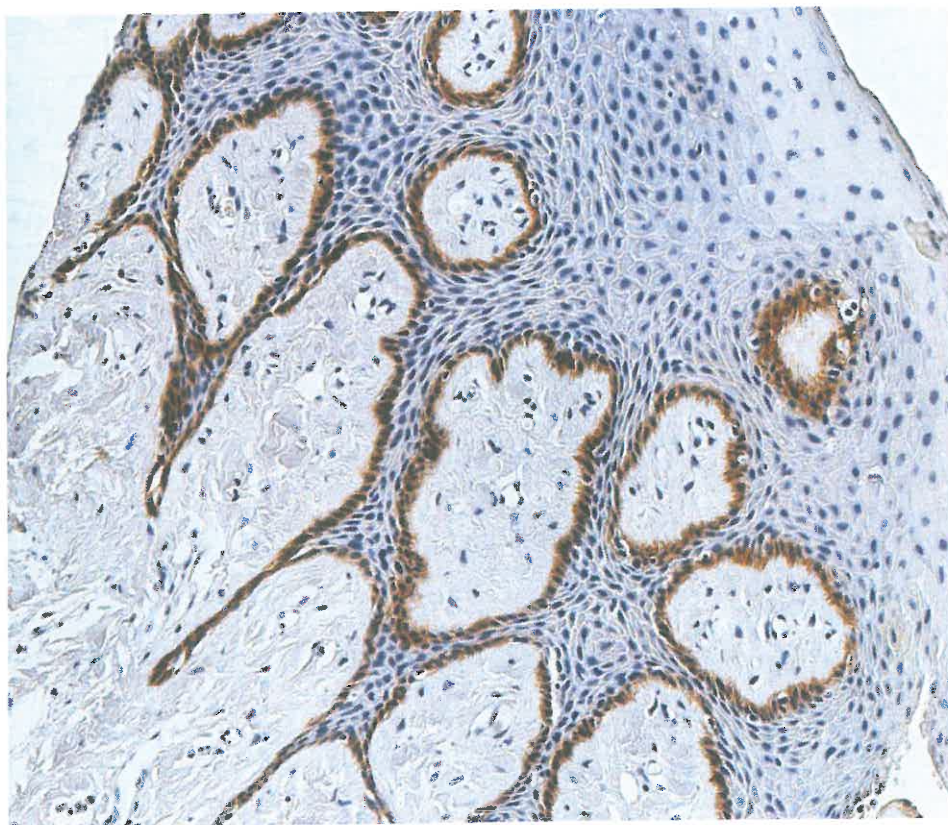
28. attēls. Perēķ]veidīgi lokalizēti NGF saturoši epitelociēti. NGF IMH, X 200.



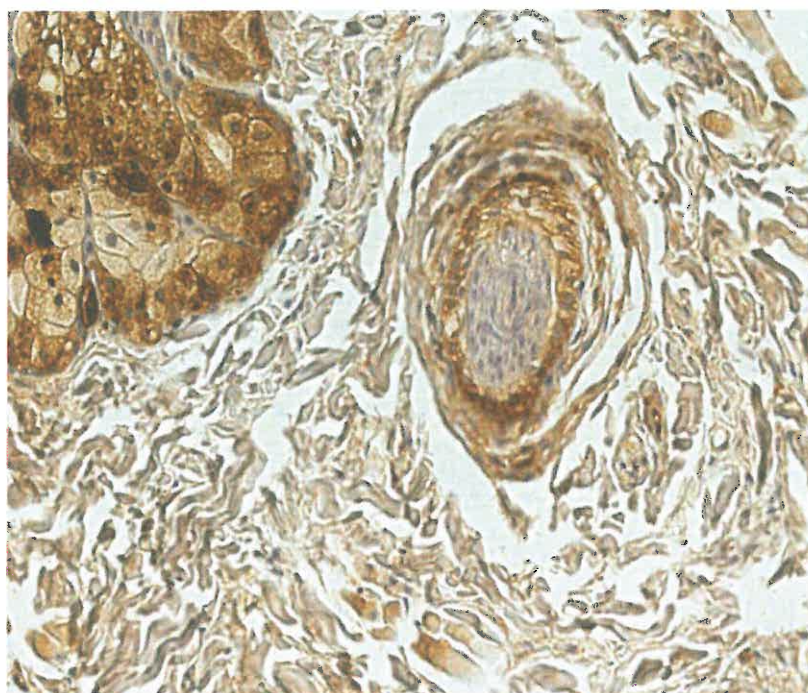
29. attēls. NGFR ekspresija izlocītā epitēlija bazālajās šūnās. NGFR IMH, X 250.



30. attēls. Bagātīga NGFR ekspresija bazālajos epiteliocītos. NGFR IMH, X 200.



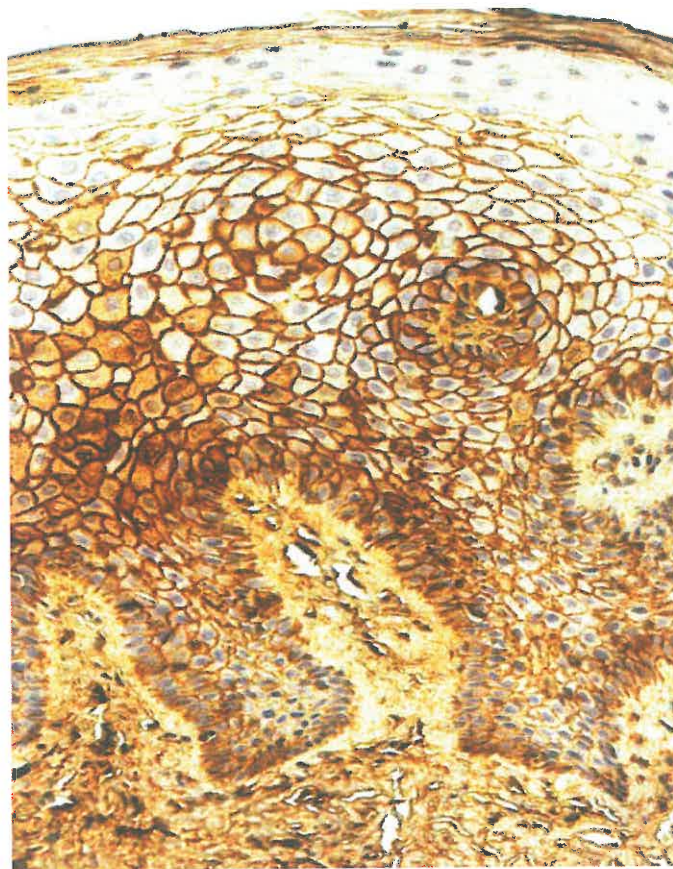
31. attēls. Bagātīga TGF β ekspresija tauku dziedzeru glandulocītos un mata folikula šūnās.
TGF β IMH, X 250.



32. attēls. TGF β saturoši osteocīti. TGF β IMH, X 250.



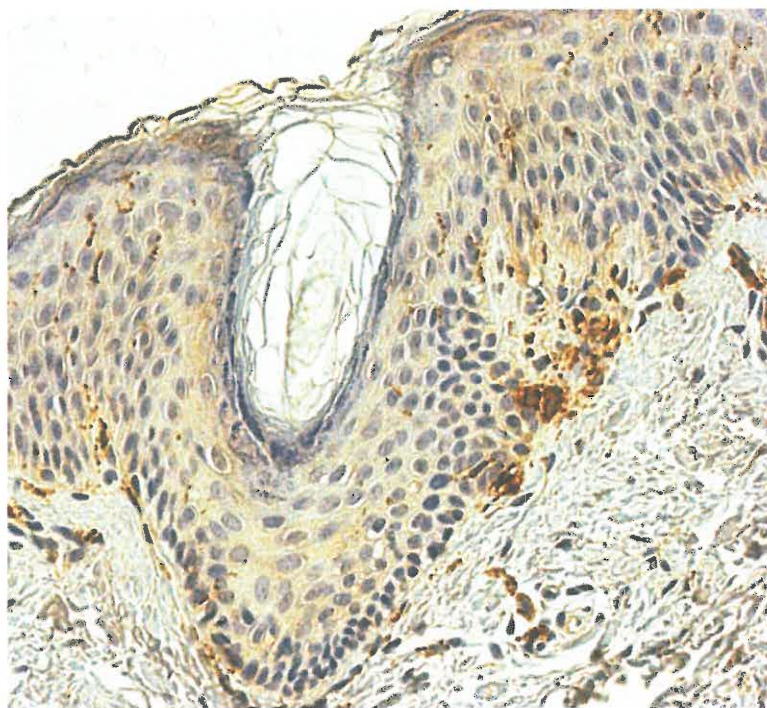
33. attēls. Bagātīga TGFβ ekspresija epitēlija šūnās. TGFβ IMH, X 200.



34. attēls. Vidēji daudz līdz daudz Barx1 imūnreaktīvi epitēliocīti. Barx1 IMH, X 250.

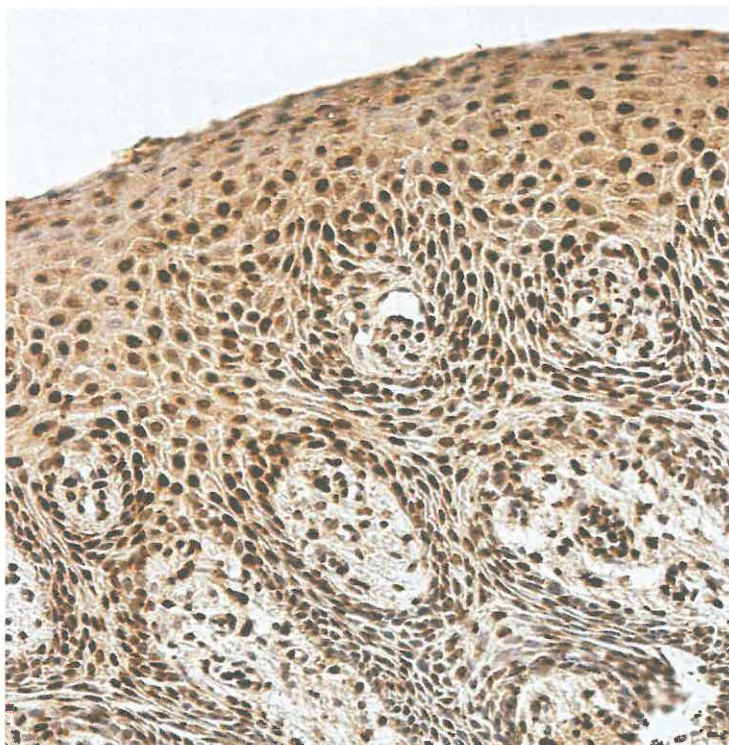


35. attēls. Intraepiteliāli un subepitēlijā lokalizētas PGP 9.5 saturošas nervu šķiedras, arī atsevišķas PGP 9.5 pozitīvas neuroendokrīnās šūnas epitēlijā. PGP 9.5 IMH, X 400.

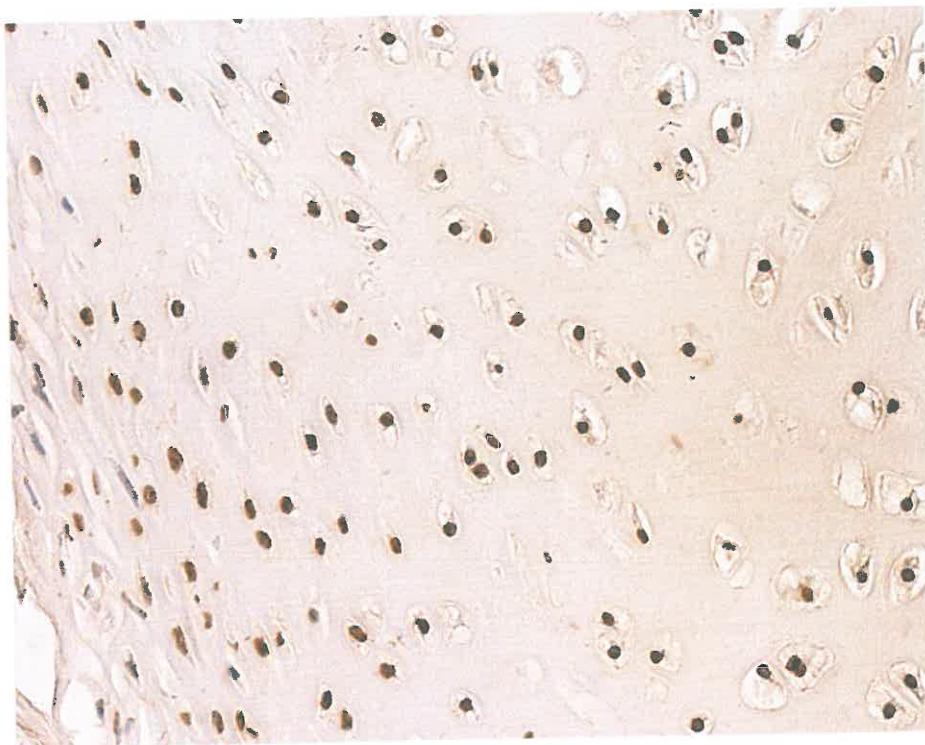


**Apoptoze vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar
piena sakodienu audos**

36. attēls. Daudz apoptotiskas epitēlija un saistaudu šūnas. TUNEL, X 250.

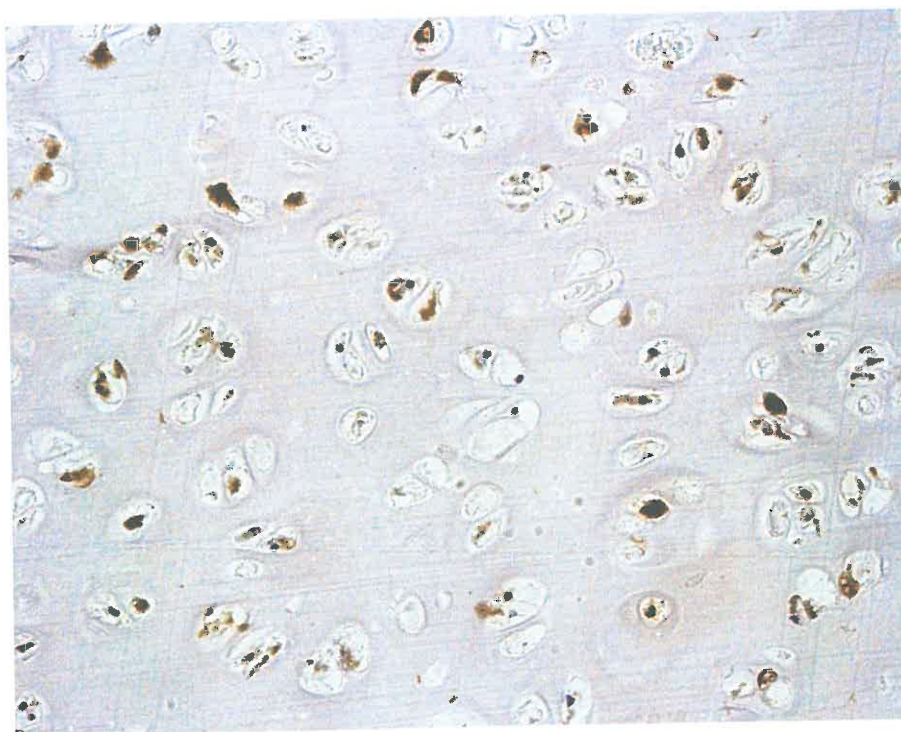


37. attēls. Daudz apoptotiski hondrocīti. TUNEL, X 400.

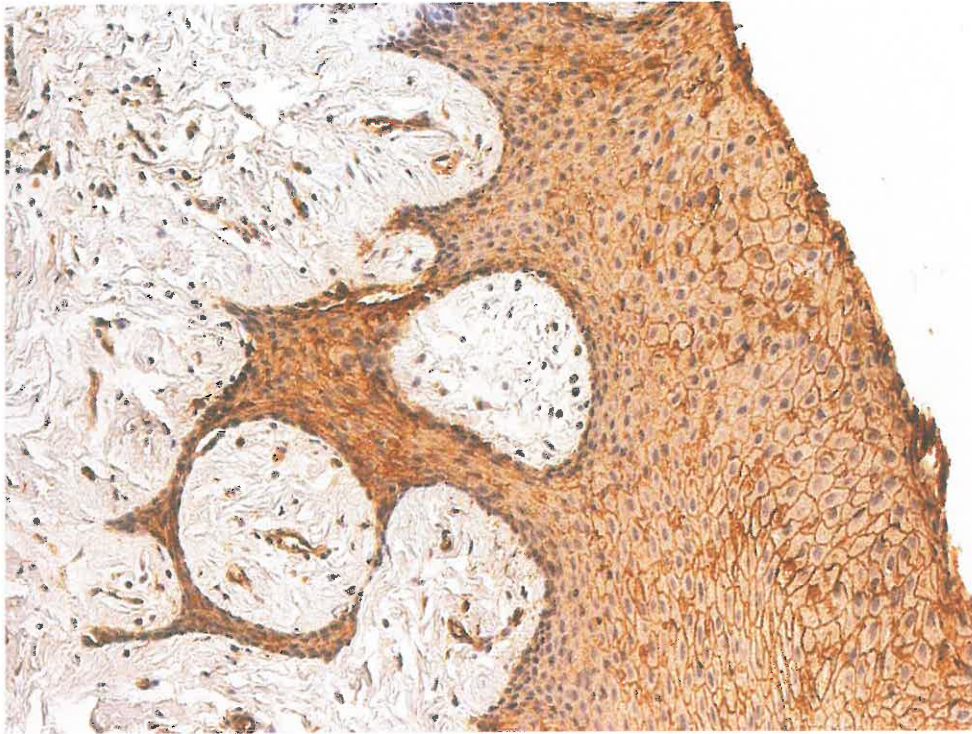


**Vienpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu
audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas**

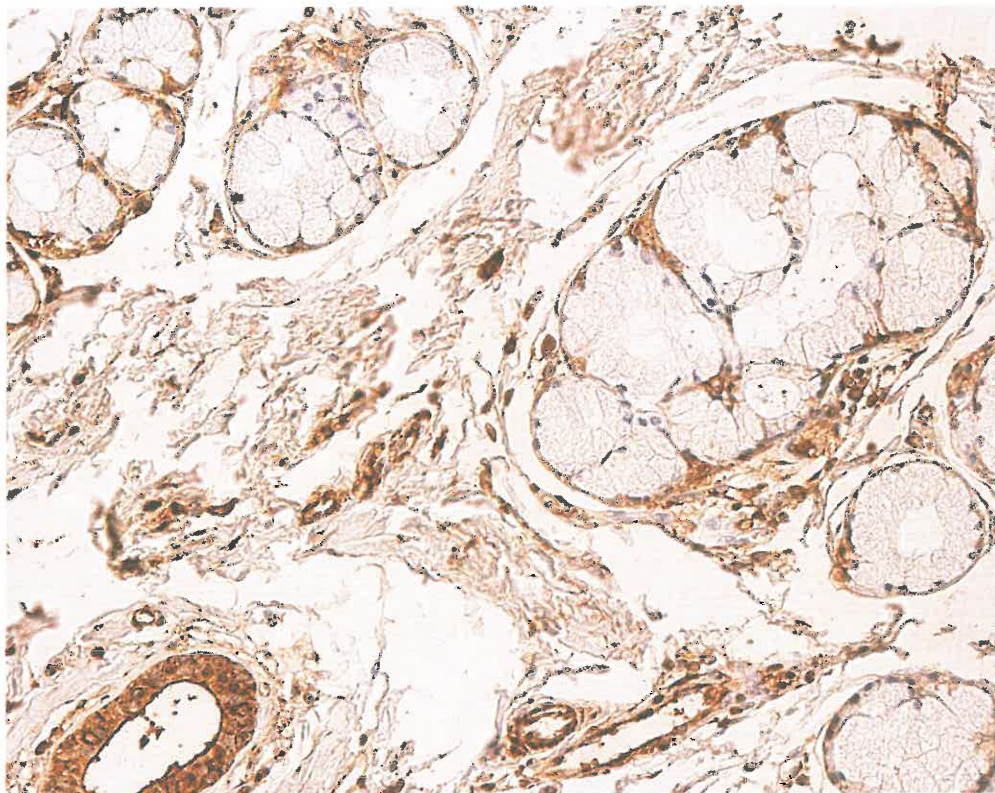
38. attēls. Bagātīga bFGF ekspresija skrimšļa šūnās. bFGF IMH, X 250.



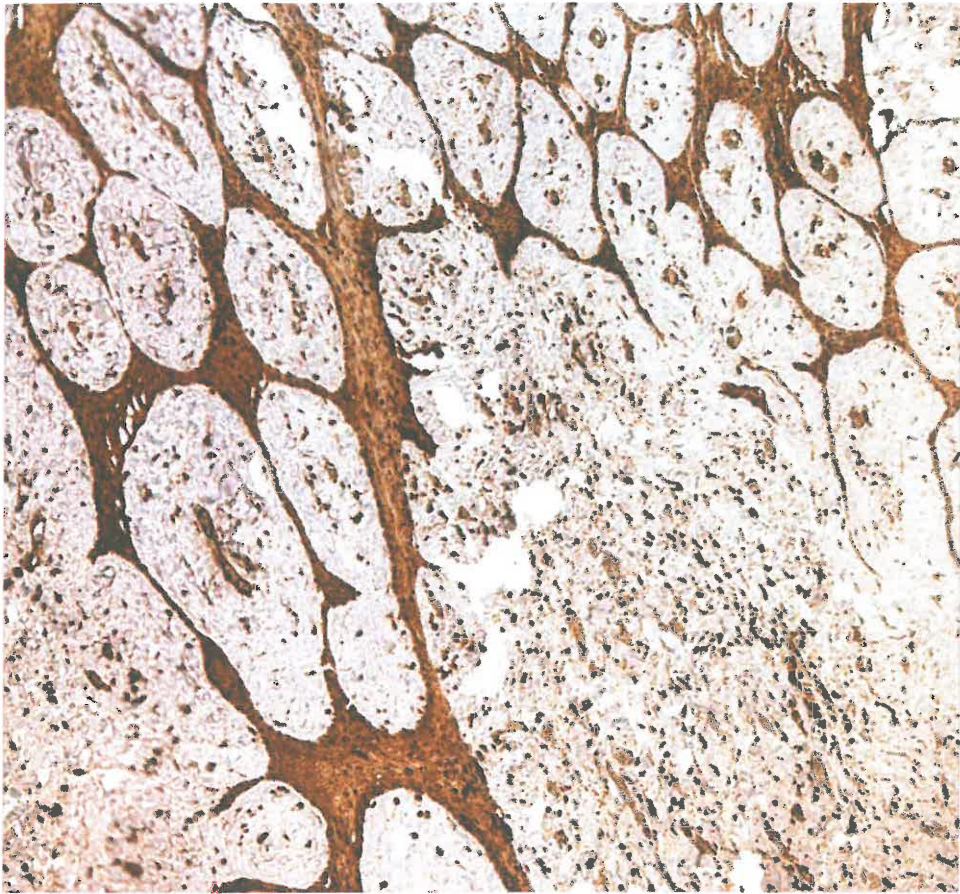
39. attēls. Bagātīga FGFR1 ekspresija visā epitēlijā. FGFR1 IMH, X 200.



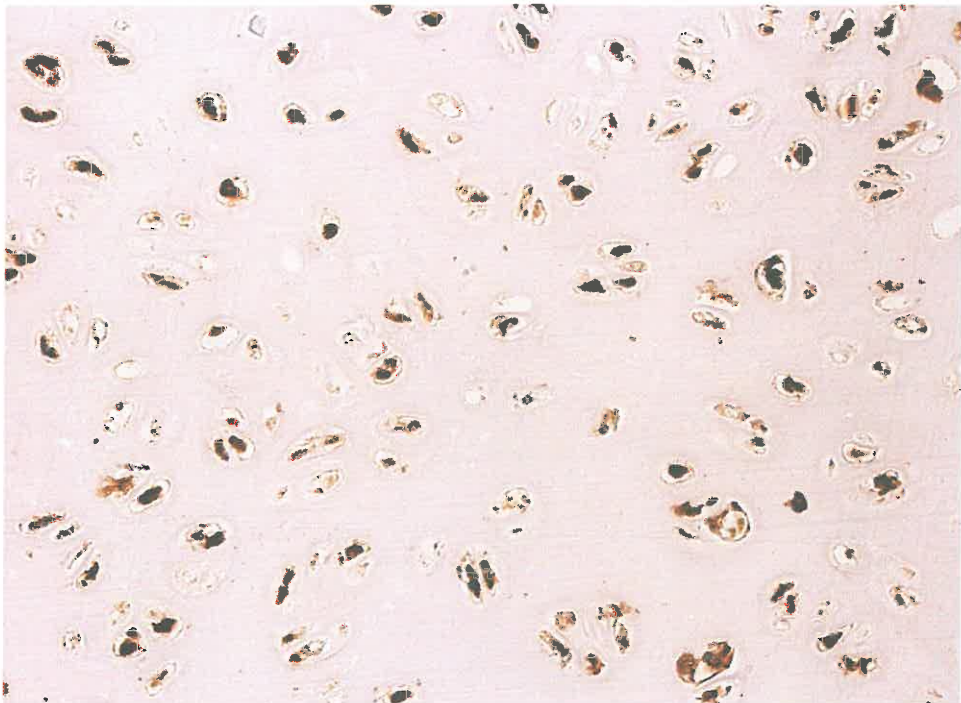
40. attēls. Bagātīga FGFR1 ekspresija siekalu dziedzeru glandulocītos, izvada epiteliocītos un apkārtējo saistaudu šūnās. FGFR1 IMH, X 250.



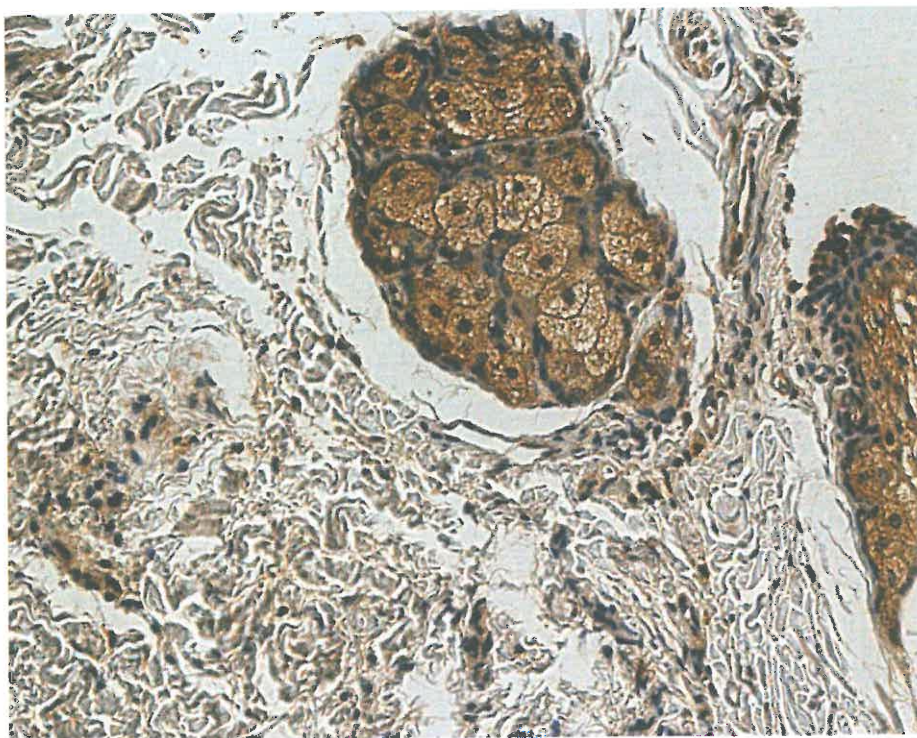
41. attēls. Difūza FGFR1 ekspresija izlocītajā epitēlijā un saistaudu šūnās. FGFR1 IMH, X 400.



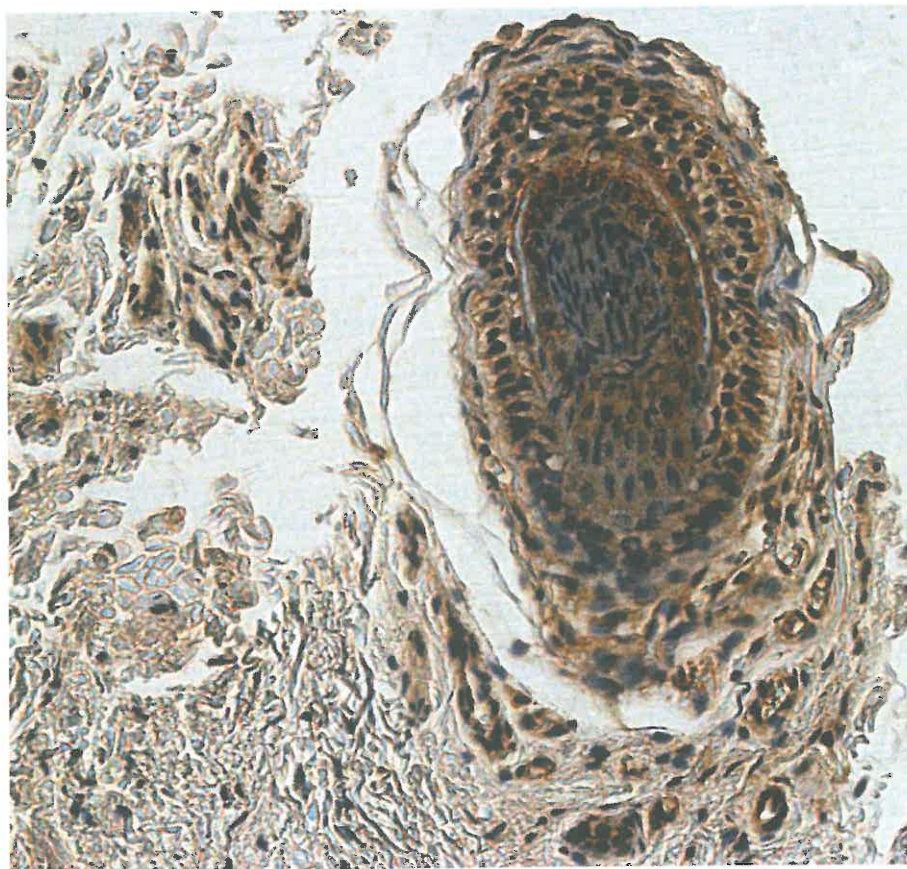
42. attēls. Bagātīga FGFR1 ekspresija hondrocītos. FGFR1 IMH, X 250.



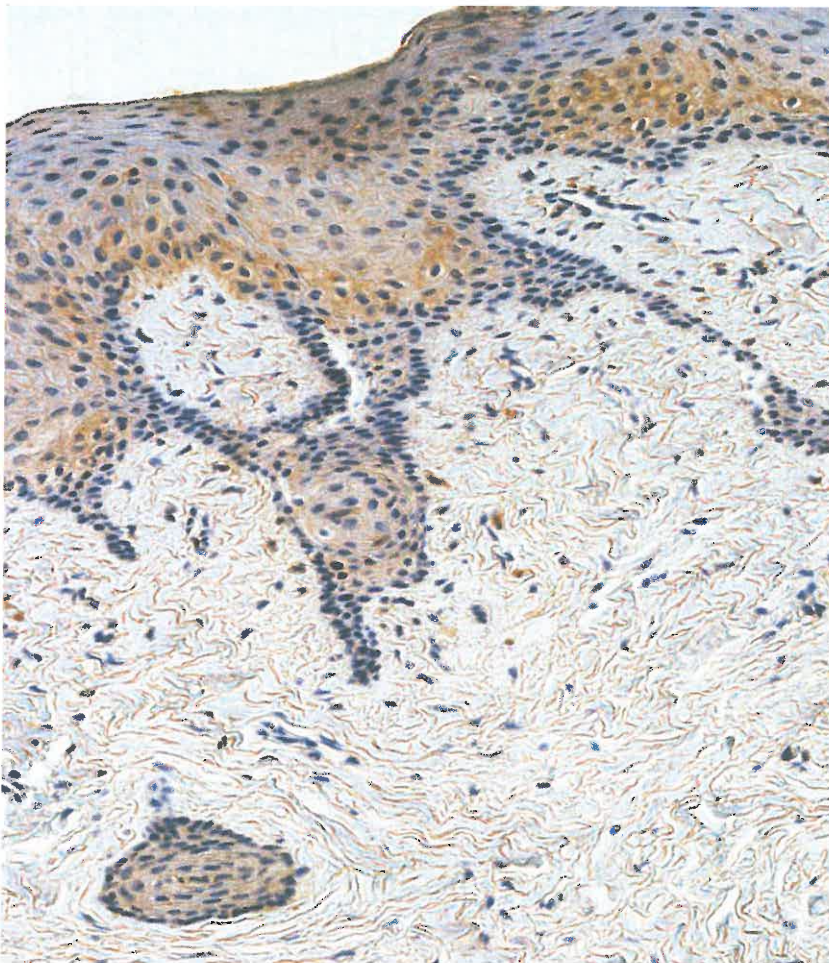
43. attēls. NGF saturoši tauku dziedzeru glandulocīti un atsevišķas saistaudu šūnas. NGF IMH, X 250.



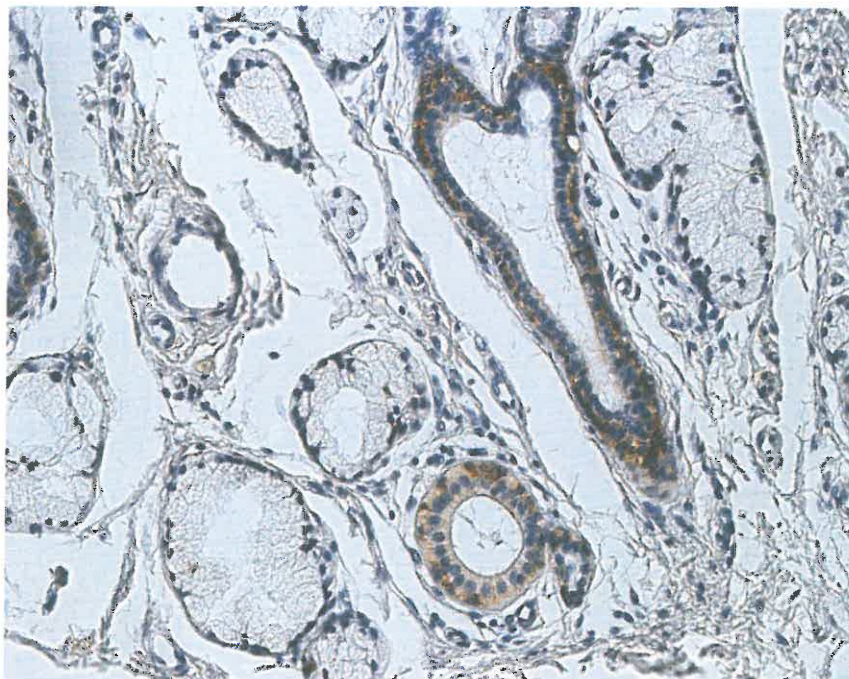
44. attēls. Bagātīga NGF ekspresija mata folikula šūnās. NGF IMH, X 250.



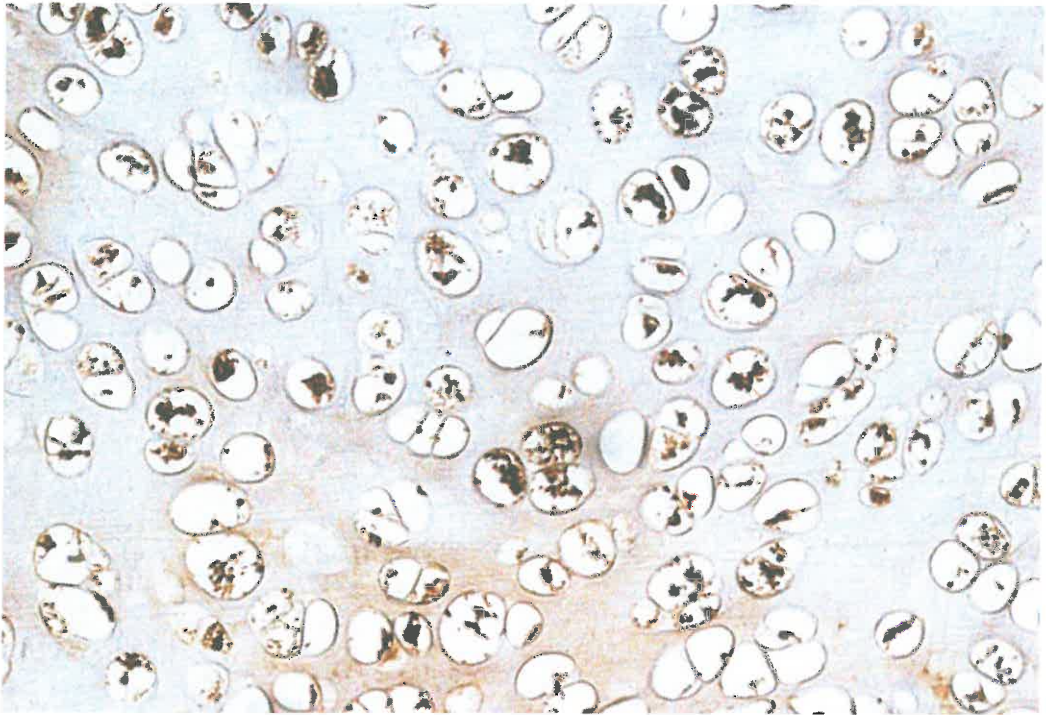
45. attēls. Maz NGF saturoši perēkļveidīgi lokalizēti epitelioīti. NGF IMH, X 250.



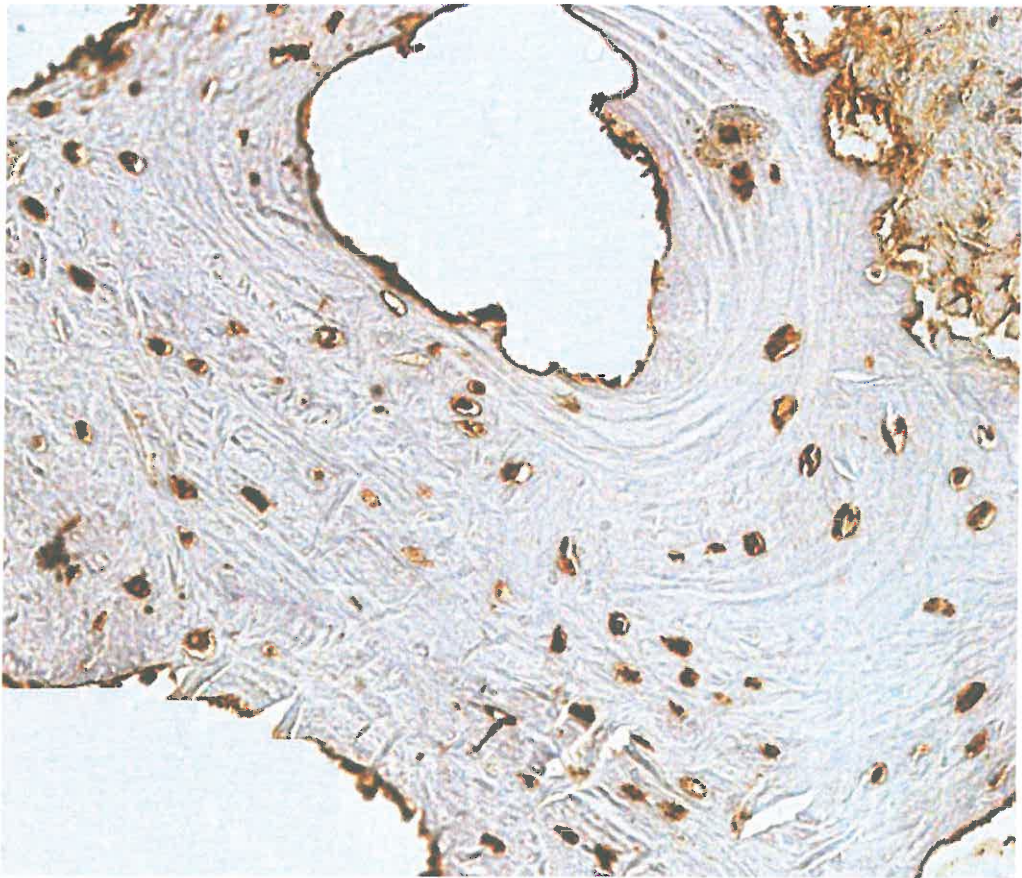
46. attēls. NGFR ekspresija siekalu dziedzeru izvadā epitelioītos. NGFR IMH, X 250.



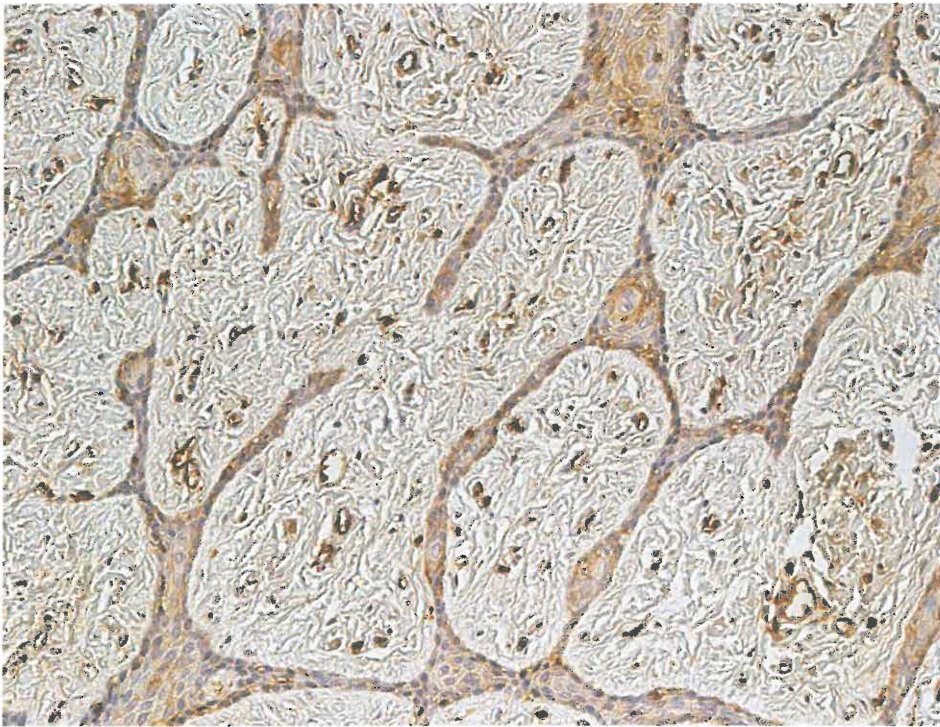
47. attēls. Daudz TGF β saturoši hondrocīti. TGF β IMH, X 200.



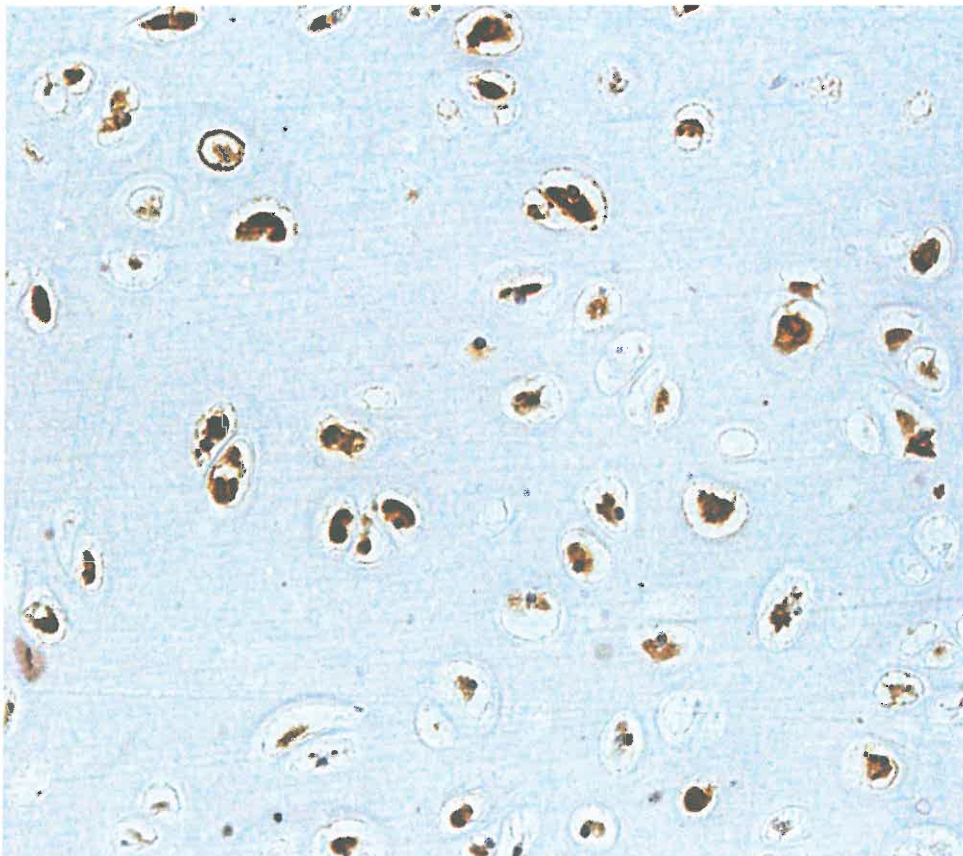
48. attēls. Bagātīga TGF β ekspresija kaula šūnās. TGF β IMH, X 250.



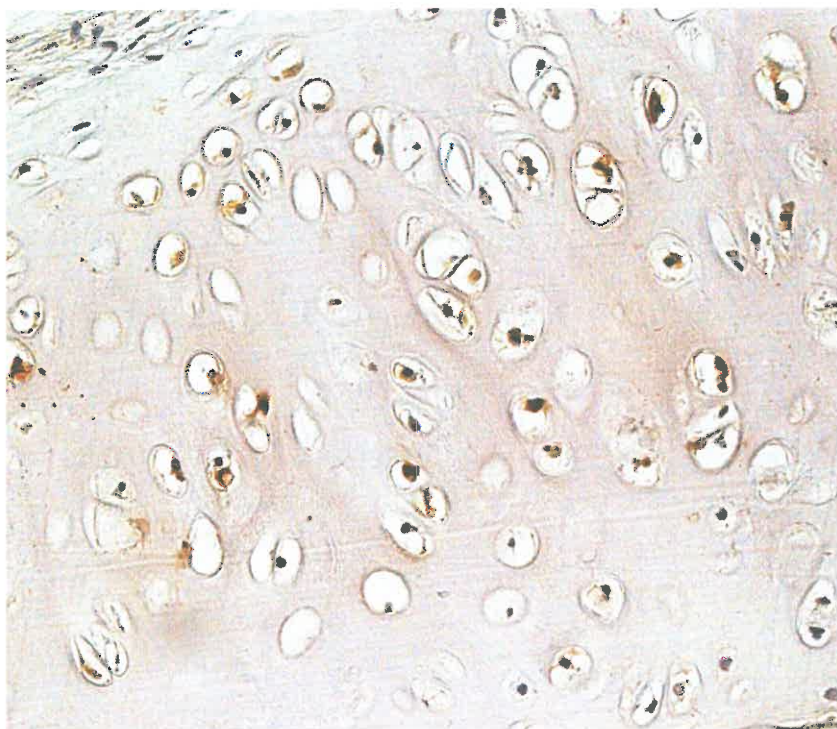
49. attēls. Daudz TGF β saturošas izlocītā epitēlija un zemāk novietoto saistaudu šūnas.
TGF β IMH, X 250.



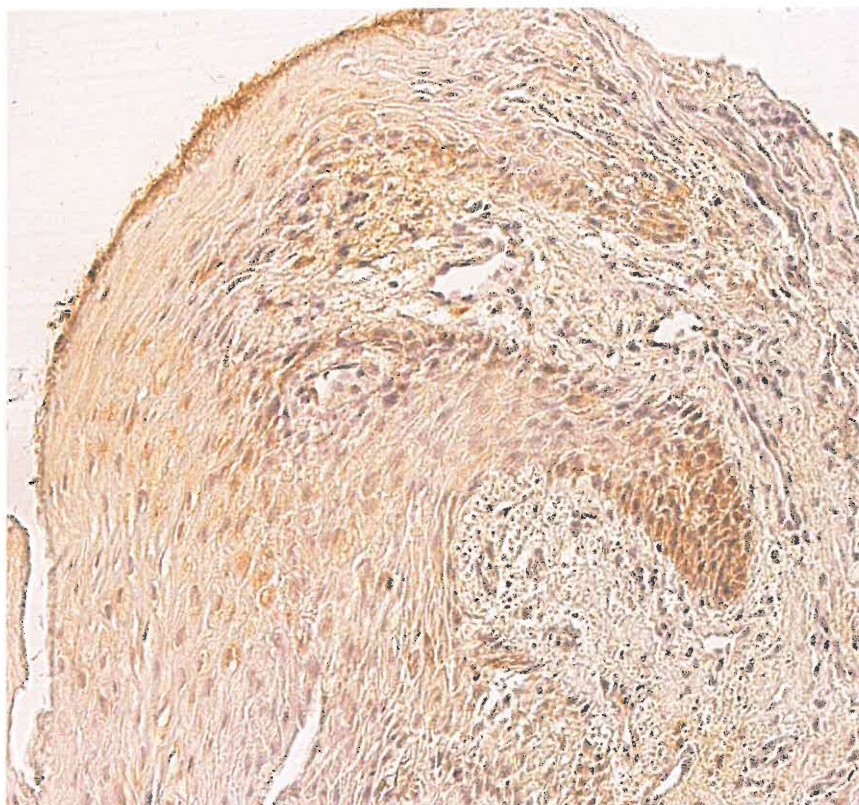
50. attēls. Bagātīga TGF β ekspresija hondrocītos. TGF β IMH, X 250.



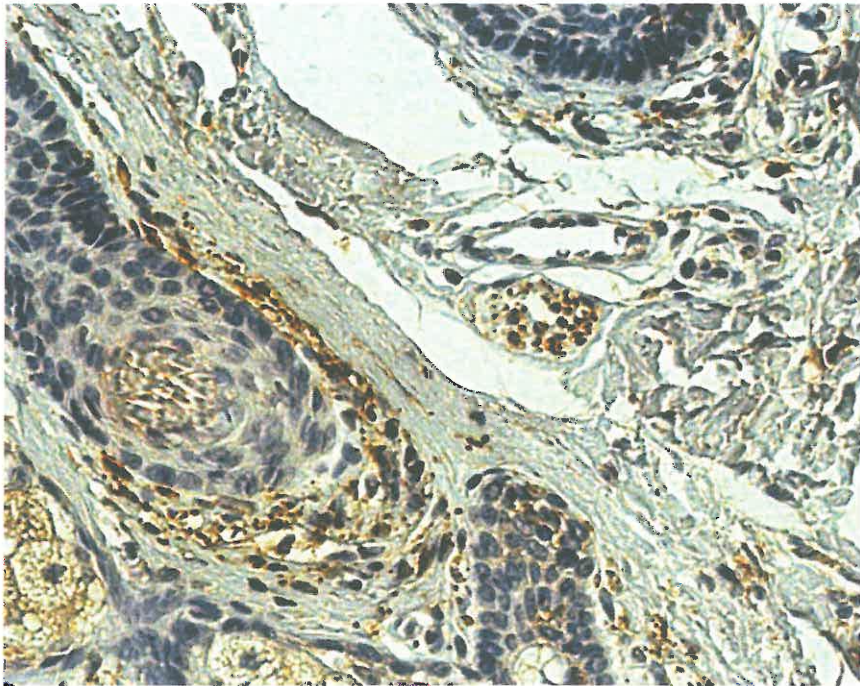
51. attēls. Vidēji daudz Barx1 imūnreaktīvas jaunas un nobriedušas hialīnā skrimšļa šūnas.
Barx1 IMH, X 250.



52. attēls. Barx1 gēna ekspresija vidēji daudz epitelociētos. Barx1 IMH, X 250.

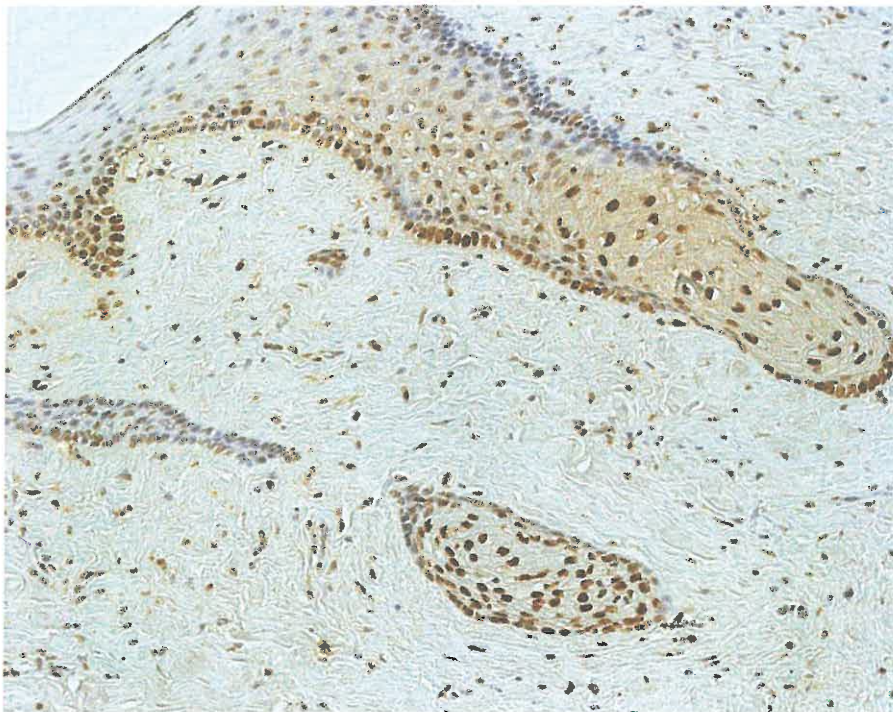


53. attēls. PGP 9.5 saturošas mata folikula neuroendokrīnās šūnas, nervšķiedras ap to un nervu šķiedru kūlītis. PGP 9.5 IMH, X 400.



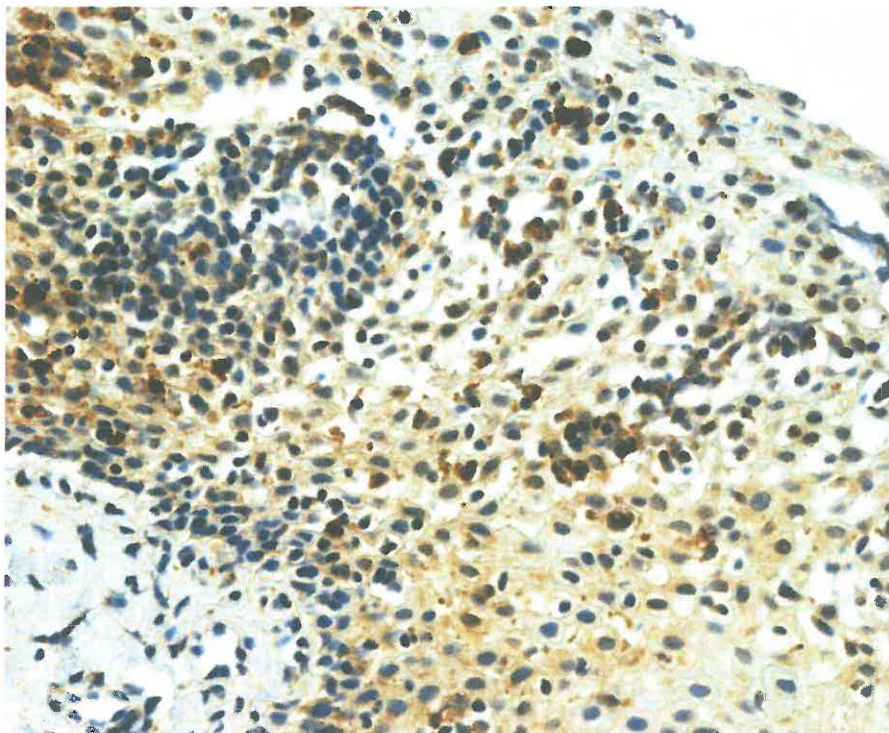
Apoptoze vienaspusēju lūpas un auskšlāju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audos

54. attēls. TUNEL pozitīvas šūnas epitēlija izaugumos. TUNEL, X 200.

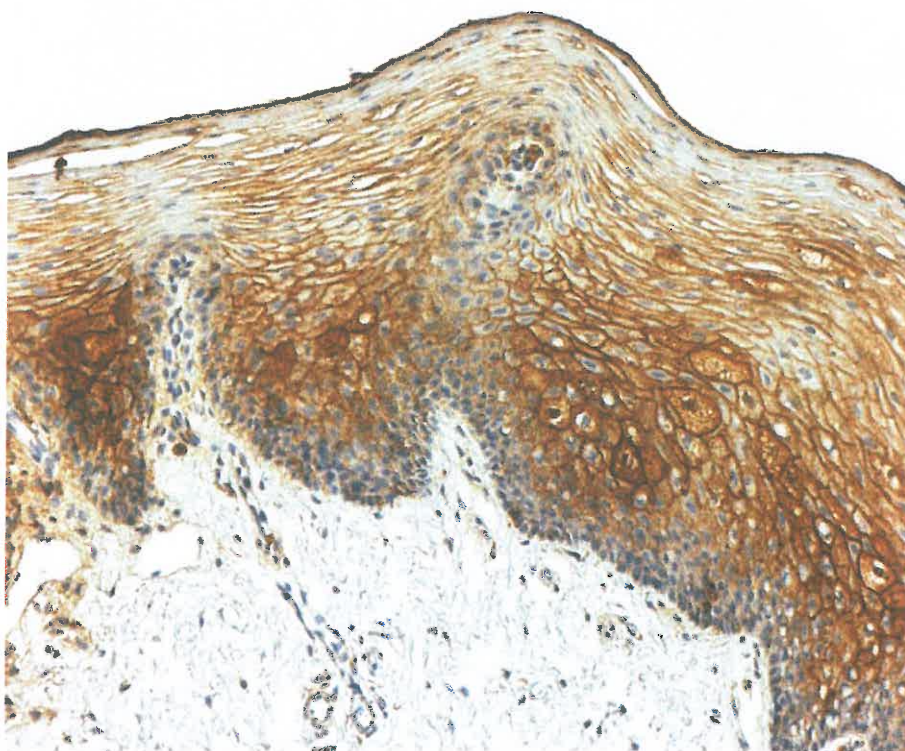


Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar piena sakodienu audu imūnhistoķīmijas mikrofotogrāfijas

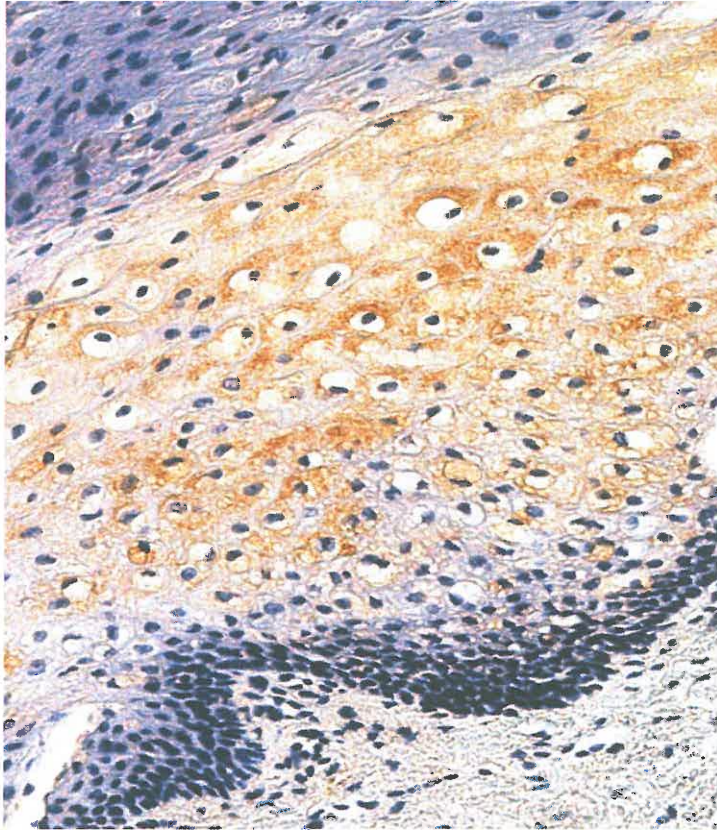
55. attēls. Daudz bFGF saturoši intraepiteliāli limfocīti. bFGF IMH, X 400.



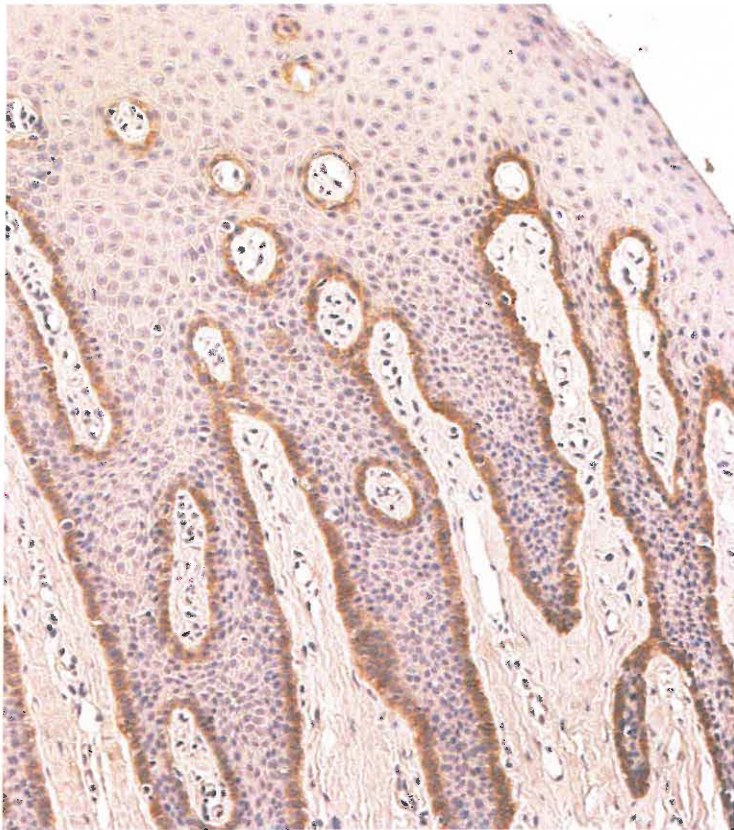
56. attēls. Bagātīga FGFR1 ekspresija epitēlijā. FGFR1 IMH, X 200.



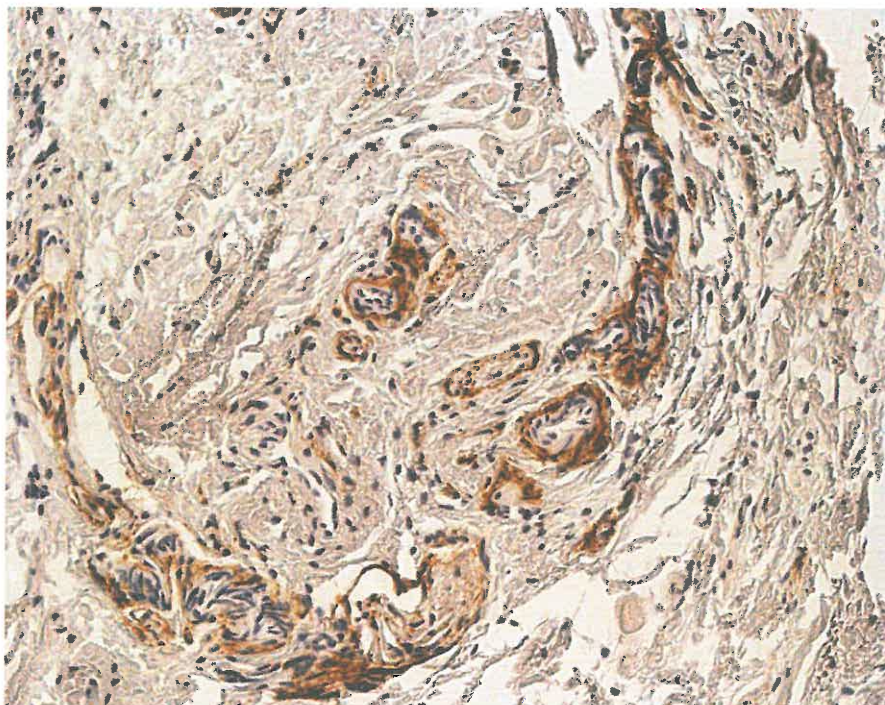
57. attēls. Perēkļveida NGF ekspresija epitēlijā. NGF IMH, X 250.



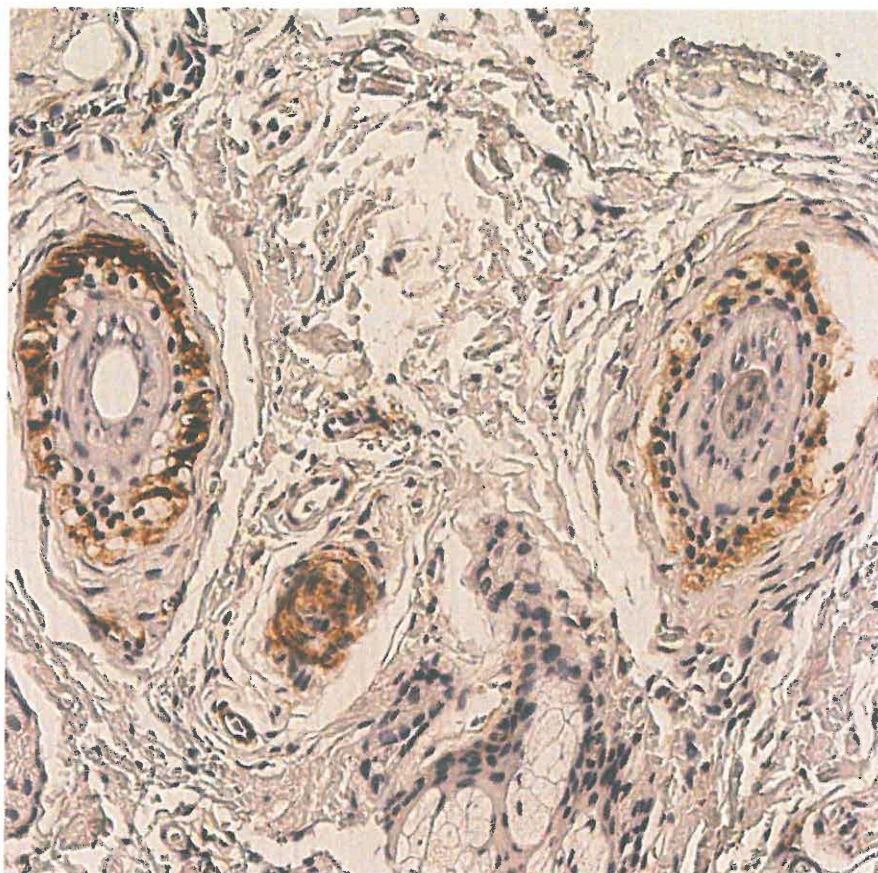
58. attēls. Bagātīga NGFR ekspresija bazālajos epiteliocītos. NGFR IMH, X 200.



59. attēls. Izteikta NGFR ekspresija nervu šķiedrās asinsvadu sienās un ap tiem. NGFR IMH, X 250.



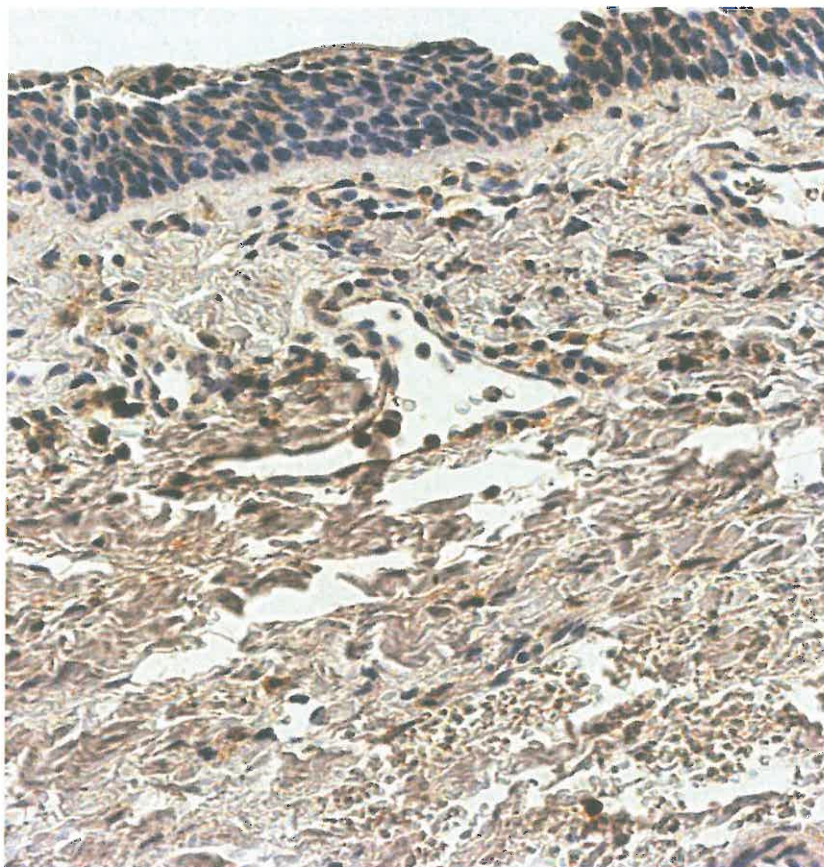
60. attēls. NGFR saturošas mata folikula šūnas un nervšķiedras ap to. NGFR IMH, X 250.



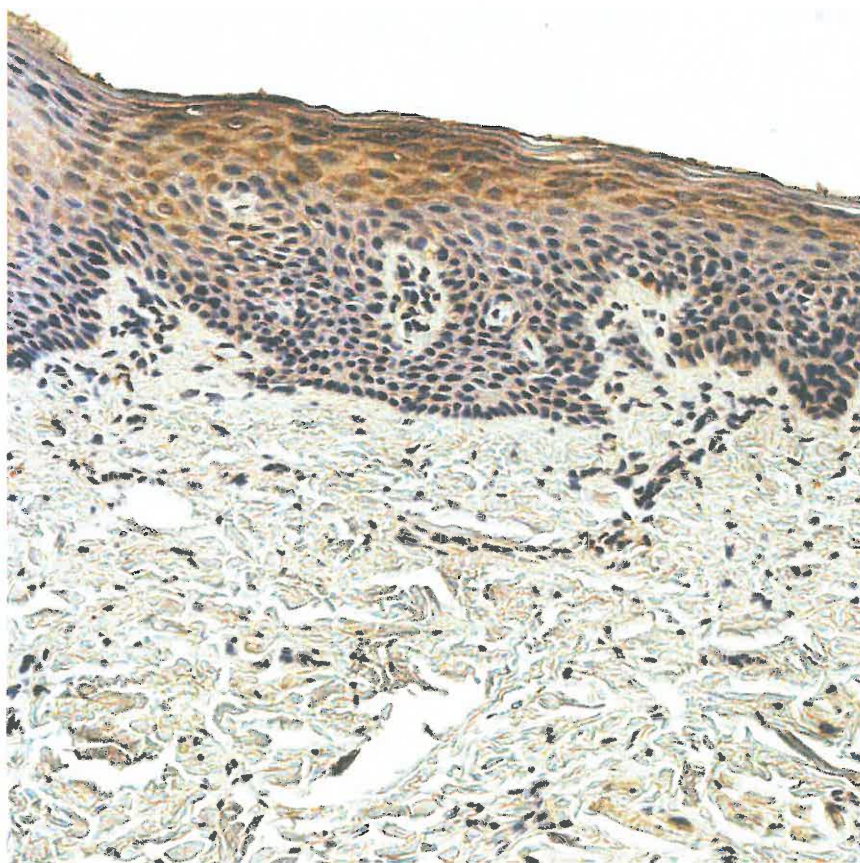
61. attēls. NGFR ekspresija bazālajos epiteliocītos. NGFR IMH, X 250.



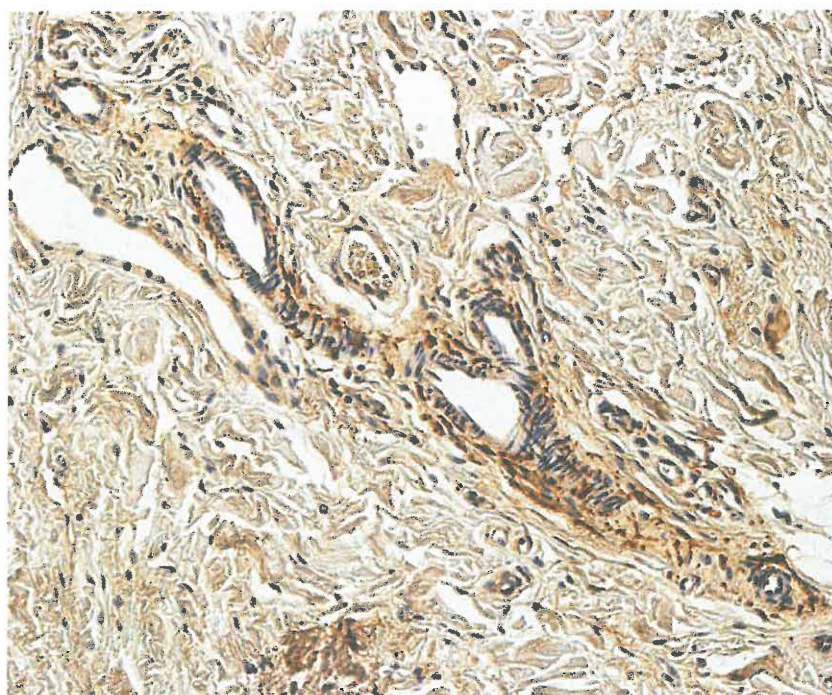
62. attēls. Perēkļveidīgi lokalizētas Barx1 saturošas iekaisuma šūnas un epiteliocīti. Barx1 IMH, X 400.



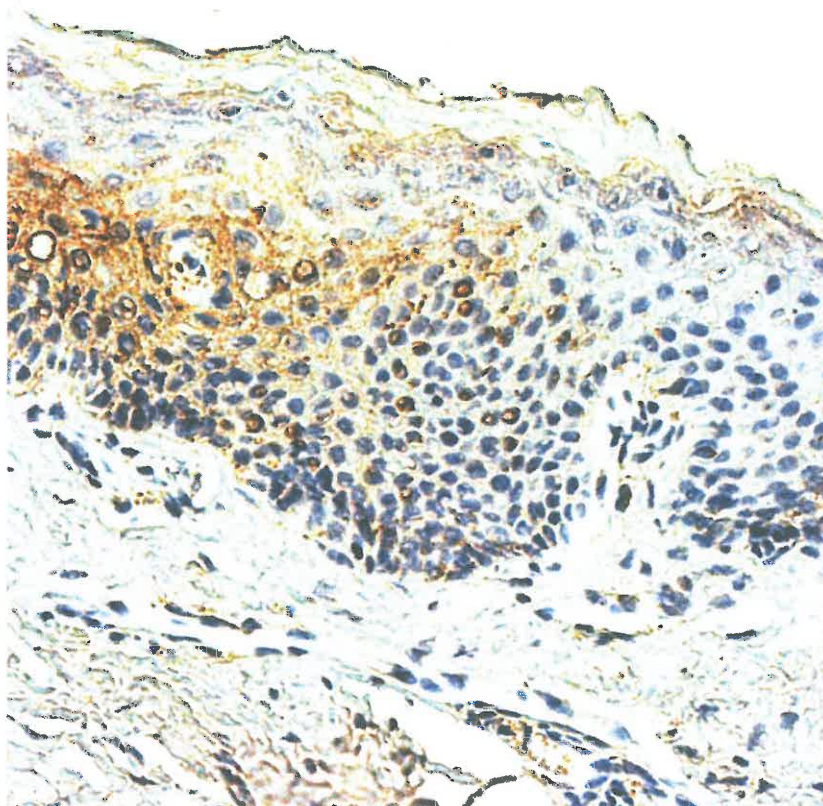
63. attēls. Maz līdz vidēji daudz Barx1 pozitīvas perēkļveidīgi virsējos slāņos lokalizētas epitēlija šūnas. Barx1 IMH, X 250.



64. attēls. Vidēji daudz PGP 9.5 saturošas nervu šķiedras asinsvadu sienā. PGP 9.5 IMH, X 250.

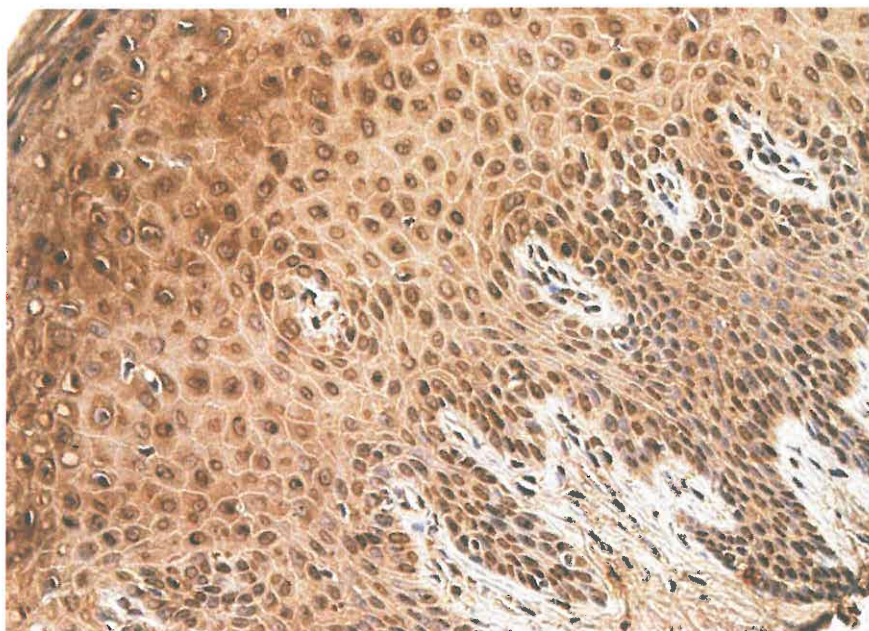


65. attēls. PGP 9.5 saturošas intraepiteliālas nervu šķiedras. PGP 9.5 IMH, X 400.

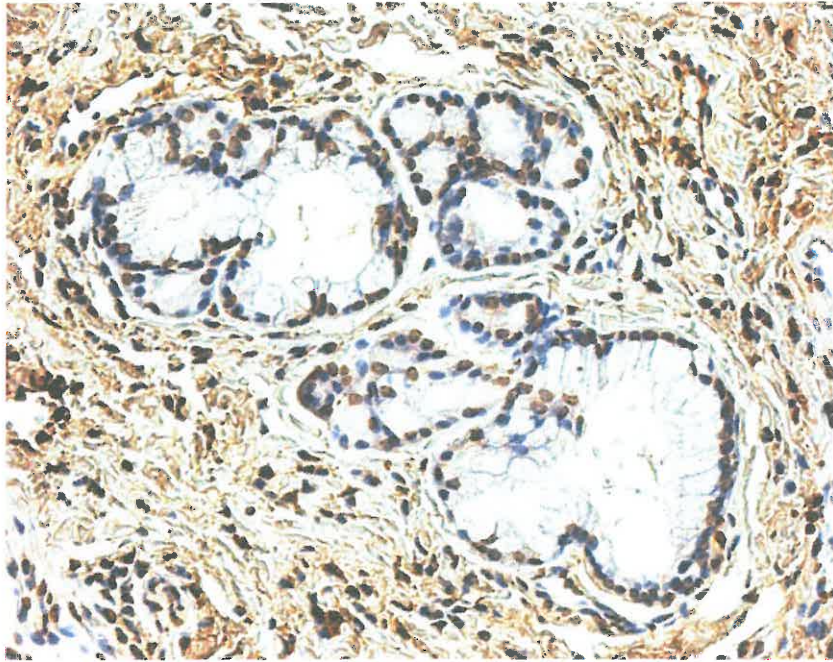


**Apoptoze divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – zīdaiņu un bērnu ar
piena sakodienu audos**

66. attēls. Apoptoze visā epitēlijā. TUNEL, X 250.

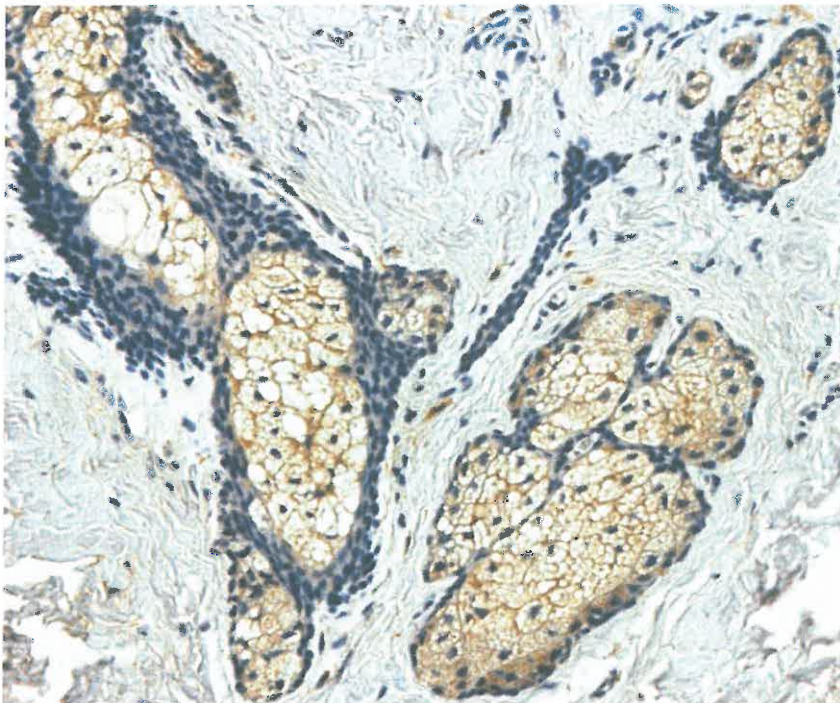


67. attēls. Daudz apoptotiski siekalu dziedzeru glandulocīti un apkārt esošās saistaudu šūnas. TUNEL, X 400.

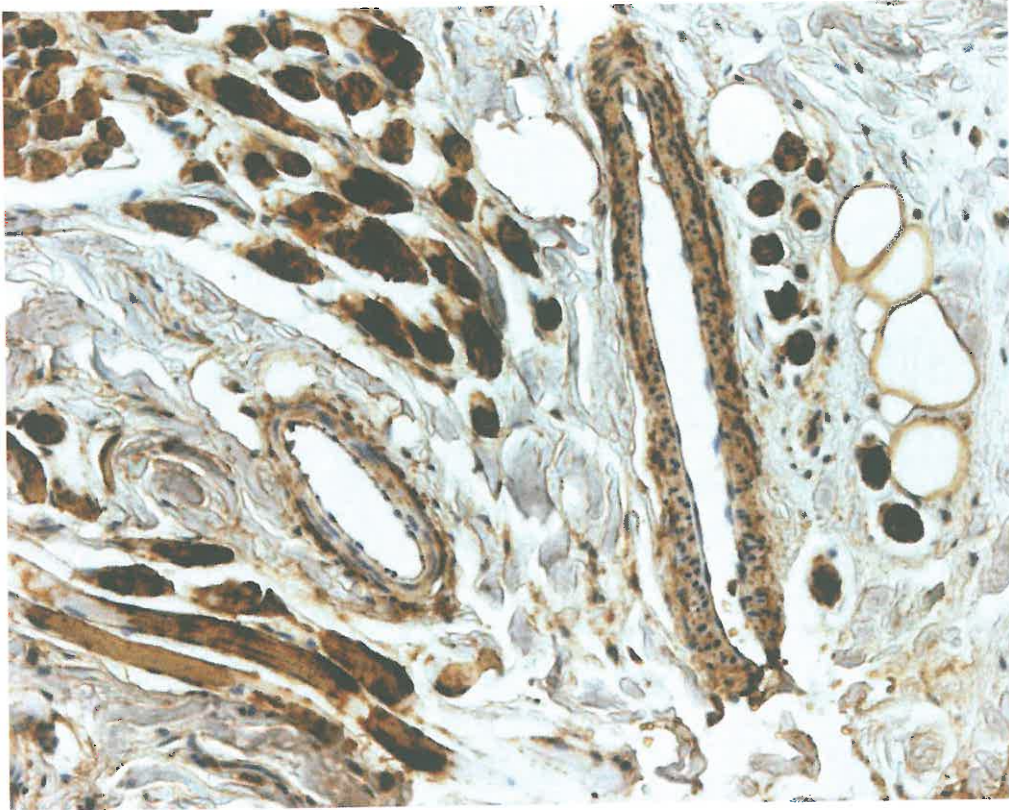


Divpusēju lūpas un aukslēju šķeltņu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audu imūnhistokīmijas mikrofotogrāfijas

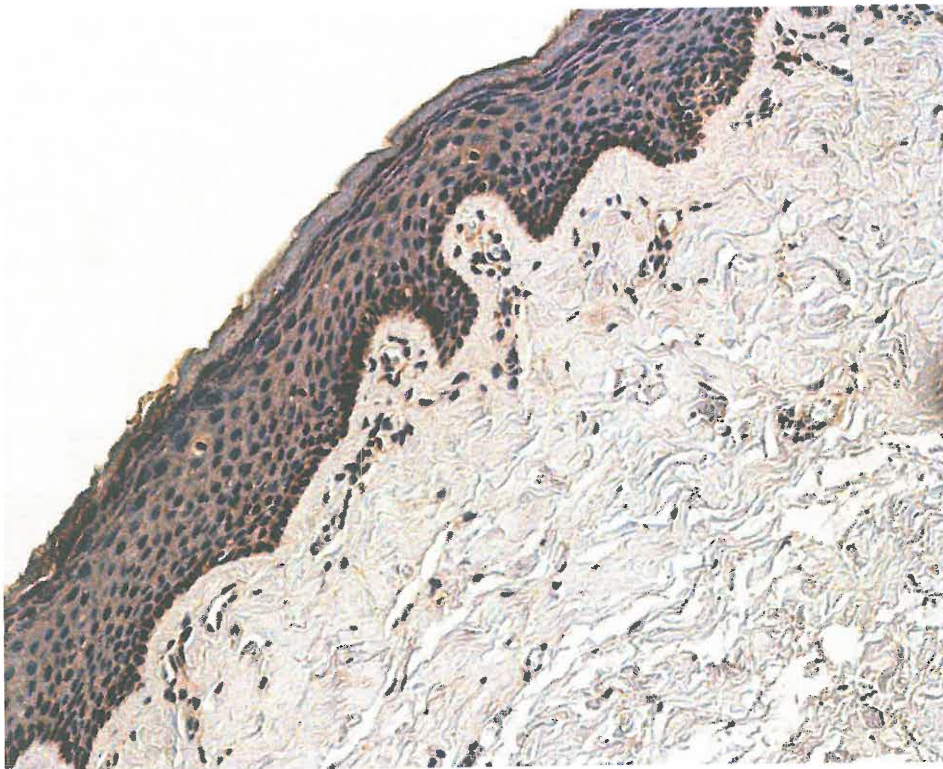
68. Bagātīga bFGF ekspresija tauku dziedzeru glandulocītos. bFGF IMH, X 250.



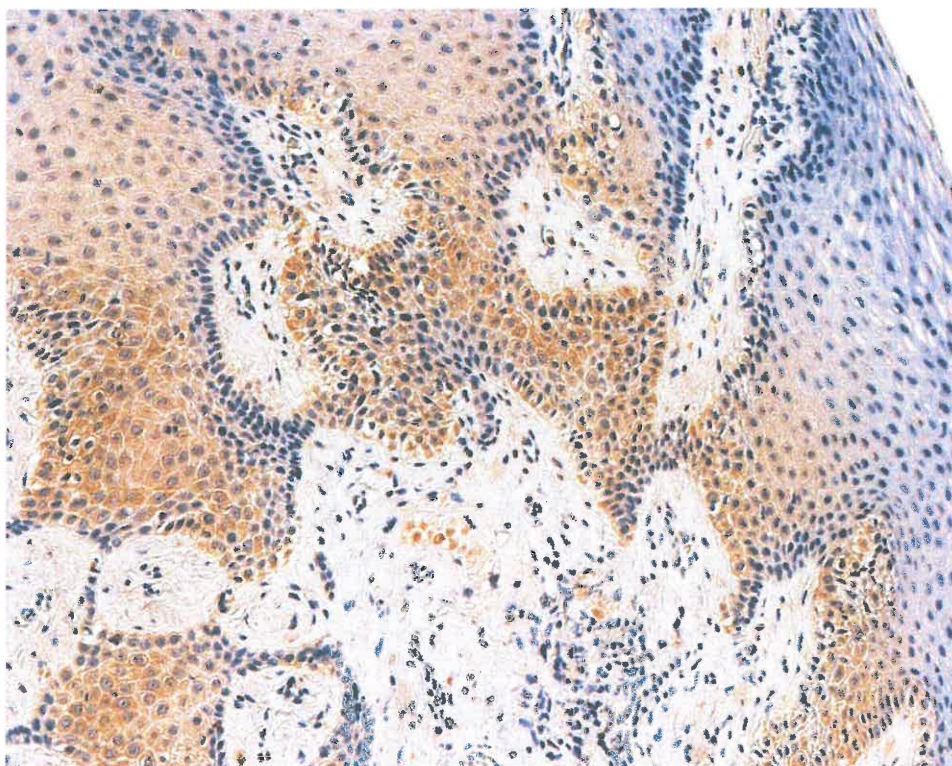
69. Bagātīga FGFR1 ekspresija asinsvadu gludajos miocītos un muskuļu šķiedrās. FGFR1 IMH, X 250.



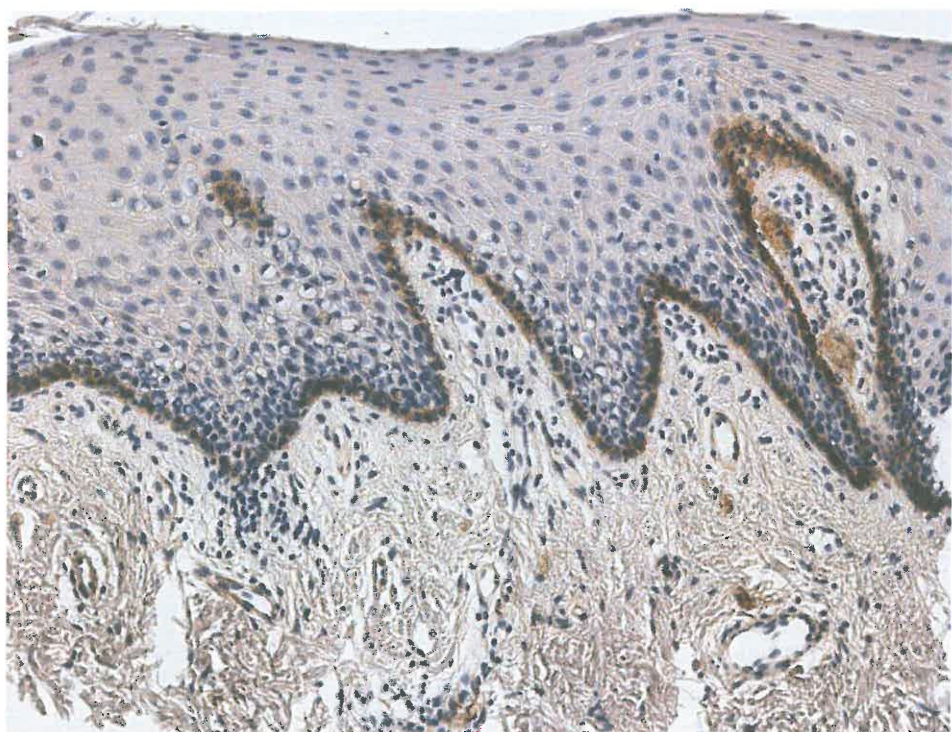
70. Perēķ]veidīga NGF ekspresija bazālajos epiteliocītos. NHG IMH, X 250.



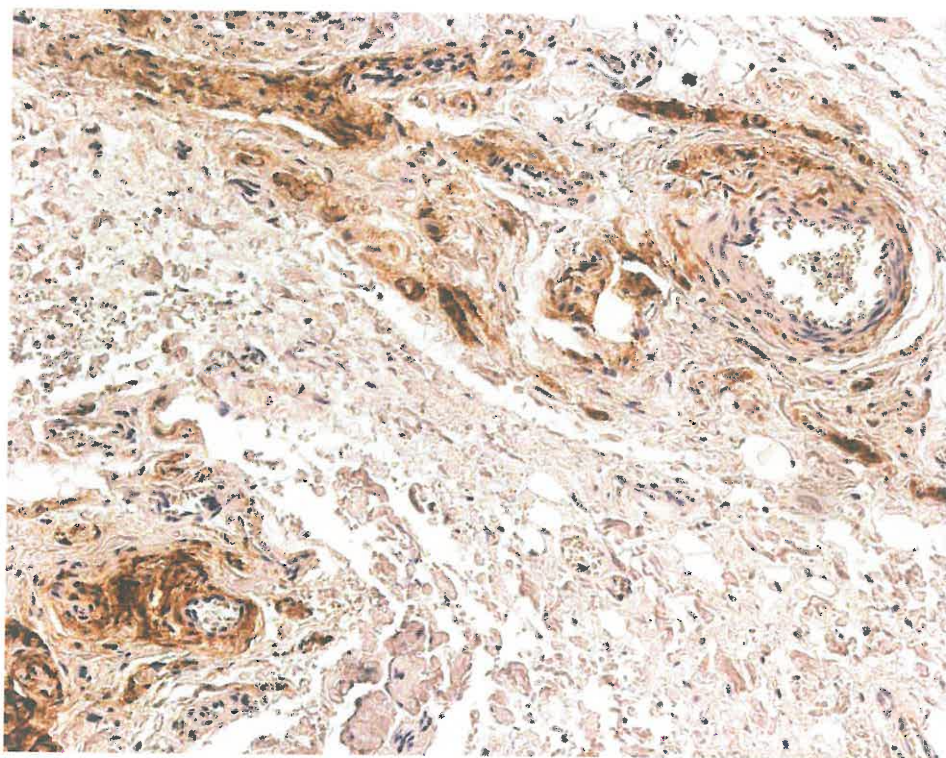
71. Bagātīga NGF ekspresija epitēlijā. NGF IMH, X 200.



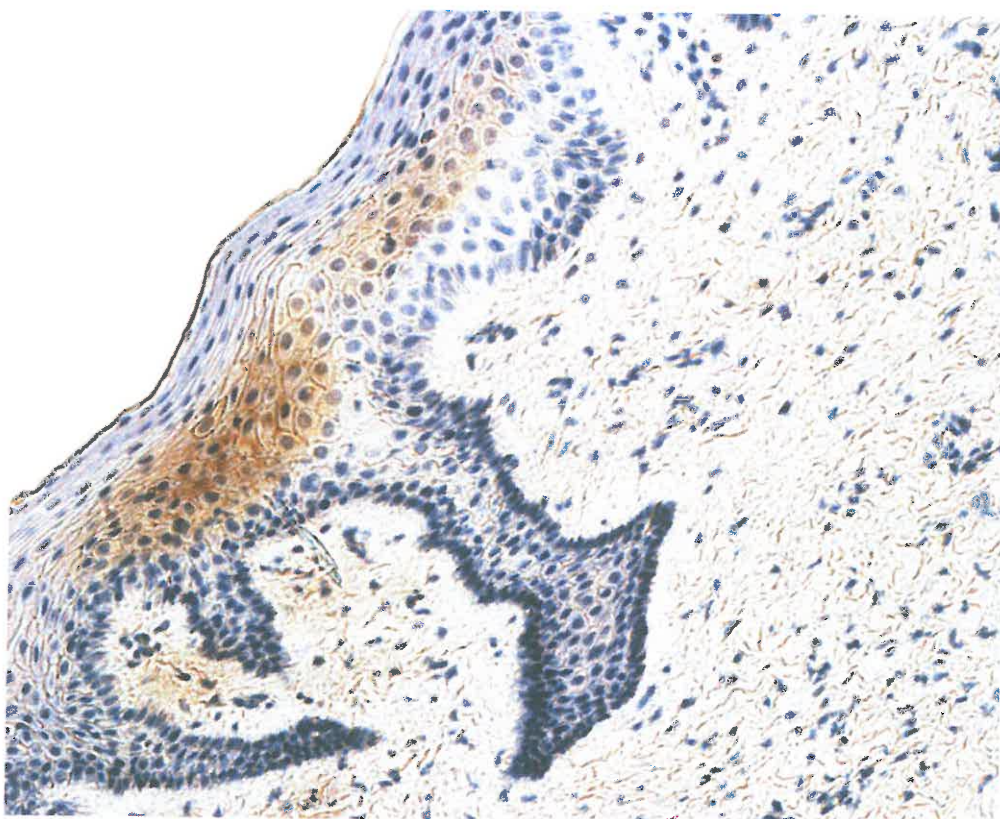
72. Daudz NGFR saturošas bazālās epitēlija šūnas. NGFR IMH, X 200.



73. Bagātīga NGFR ekspresija asinsvadu sienās un ap tiem lokalizētajās nervu šķiedrās.
NGFR IMH, X 200.

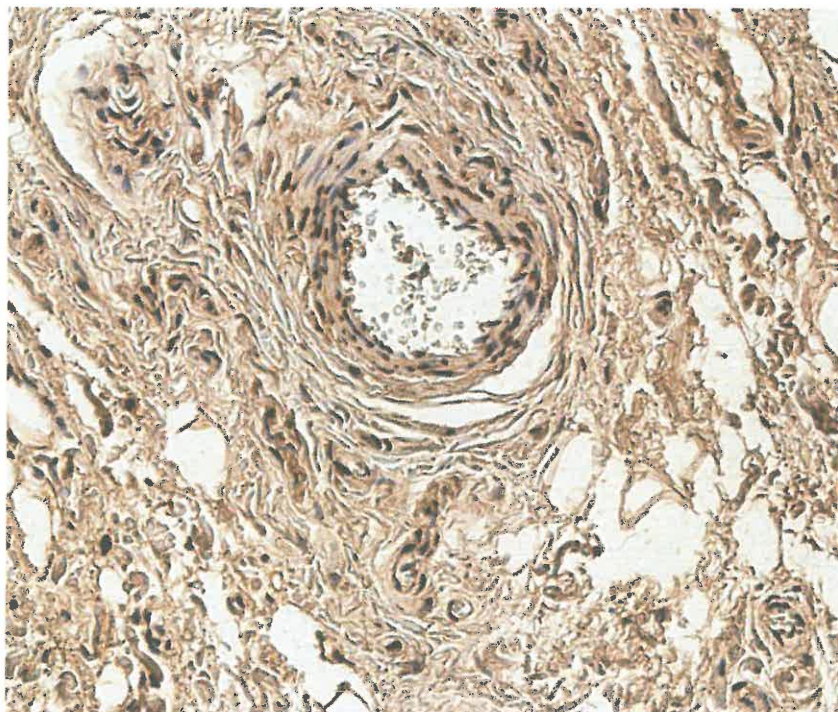


74. Perēkļveida TGF β ekspresija epitēlijā. TGF β IMH, X 250.



Apoptoze divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu – bērnu ar maiņas sakodienu audos

75. attēls. Daudz apoptotiski asinsvadu sienas gludie miocīti un apkārt esošo saistaudu šūnas. TUNEL, X 250.



76. attēls. Skrimšļa šūnu apoptoze. TUNEL, X 250.

