

**RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE
ANATOMIJAS UN ANTROPOLOĢIJAS INSTITŪTS**

BENITA KRIVICKA-UŽKURELE

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

(Specialitāte-morfoloģija)

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

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

PRK - 3767

139305

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE
ANATOMIJAS UN ANTROPOLOĢIJAS INSTITŪTS

BENITA KRIVICKA-UŽKURELE

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

(Specialitāte-morfoloģija)

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

Darba zinātniskā vadītāja:

Dr. med., Dr. habil. med., profesore Māra Pilmāne



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

Rīga - 2010

0221002493

Promocijas darbs veikts Rīgas Stradiņa Universitātes
Anatomijas un antropoloģijas institūtā Morfoloģijas katedrā

Darba zinātniskā vadītāja:

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

Oficiālie recenzenti:

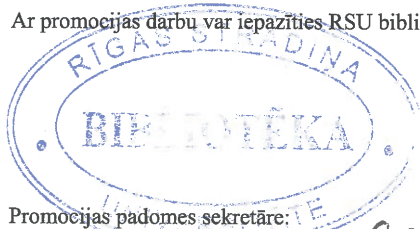
Dr. habil. med., profesors **Andrejs Skaģers**

Dr. habil. med., profesors **Jānis Gaujēns**

Dr. med., assoc. profesore **Marina Aunapuu** (Igaunija)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2010. gada 28. jūnijā plkst. 15.00
Rīgas Stradiņa universitātes promocijas padomes atklātajā sēdē Hipokrāta auditorijā,
Rīgā, Dzirciema ielā 16

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā.



Promocijas padomes sekretāre:

Dr. habil. med., profesore

Līga Aberberga - Augškalne

Copyright © Benita Krivicka-Užkurele 2010

All right reserved. No part of this publication may be reproduced in any form without permission in writing from the author, except for scientific citations.

Pētījuma 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 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).

Sejas un mutes dobuma attīstības pamatā ir secīga piecu sejas kroku saplūšana, kas notiek no ceturrtās līdz 12. embrionālās attīstības nedēļai. Tā ir precīzi koordinētu procesu kaskāde, kas ietver ne tikai šūnu augšanu, diferenciāciju, šūnas ar šūnu un šūnas ar ekstracelulāro matrici mijiedarbību, bet arī programmētu šūnu nāvi. Minētās pārvērtības embrija audos izraisa un regulē dažādi faktori. Būtisku vietu starp tiem ieņem tieši augšanas faktori un noteikti gēni, kuru izpēte ir intensificējies pēdējo divu gadu desmitu laikā un aktīvi turpinās vēl joprojām. Turklāt pat viena noteikta faktora trūkums vai pārlietu liela esamība var izraisīt neatgriezeniskas izmaiņas, kuru rezultātā attīstās iedzimtas anomālijas - sejas šķeltnes.

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. 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 ietekmē normālu šūnu augšanu un diferenciāciju (Hughes,

1997; Greene and Pisano, 2004). FGFR ir būtiska nozīme normālu zīdītāju aukslēju attīstībā (Crisera et al., 2008). Transformējošais augšanas faktors beta (TGF- β) ir multifunkcionāls citokīns, kas regulē 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 šķeltņu skartajos audos. Lai arī nereti tiek skatīta atsevišķa faktora nozīme (Kohama et al., 2002), rezultātu analīzei trūkst kompleksas pieejas. Literatūrā nav kompleksu datu par dažādu gēnu, augšanas faktoru un to receptoru novietojumu un sadalījumu šķeltņu skartajos audos.

Pēdējo gadu laikā īpaši aktuāli ir pētījumi par augšanas faktoru nozīmi veiksmīgā audu reģenerācijā un dziļānā pēcoperāciju periodā (Werner and Grose, 2003; Akasaka et al., 2004; Ono, 2007). Dati par lokālu minēto faktoru, to receptoru un gēnu ekspresiju, kā arī apoptozes relatīvo daudzumu šķeltņu skartajos audos ir nozīmīgi sekmīgā vai mazāk sekmīgā terapijas prognozē.

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 viopusējām un divpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm ontogēnētiskā aspektā ar to faktoru noteikšanu, kuri visbūtiskāk raksturo šķeltņu morfopatogēzi.

Darba hipotēze

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.

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 šķeltnju 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 šķeltnju izveidē un terapijas prognozē.

Darba novītāte

Ar imūnhistoķīmijas un TUNEL metodēm izpētīti 52 vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnju pacientu audi no šķeltnes korekcijas rajona. Ir 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. Pilnīgi jauni ir mūsu pētījumā iegūtie dati, ka vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnju skartos audos raksturo 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. Ir pierādīta pieaugoša šūnu apoptoze un relatīvi variablāka faktoru ekspresija smagākas anomālijas - divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnju audos.

Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs sarakstīts latviešu valodā. Darbam ir 7 daļas: ievads, literatūras apskats, materiāli un metodes, rezultāti, diskusija, secinājumi, literatūras saraksts. Promocijas darba apjoms ir 113 lappuses, ieskaitot 18 tabulas un 2 attēlus. Pielikumā ir 76 mikrofotogrāfijas. Literatūras sarakstu veido 246 atsauces. Par promocijas darbu ir 22 publikācijas.

Materiāls un metodes

Pētījuma pamatā ir lūpas un aukslēju šķeltnu pacientu materiāls, kas tika savākts laika posmā no 2003. līdz 2006. gadam SIA „Rīgas Stradiņa Universitātes Stomatoloģijas Institūts” Lūpu, aukslēju un sejas šķeltnu centrā.

Ētikas komisijas atļauja: RSU Ētikas komitejas lēmums 2003. gada 22. maijā.

Pētījumā tika iekļauti 52 pacienti ar lūpas un aukslēju šķeltnēm vecumā no trīs mēnešiem līdz 12 gadiem un sešiem mēnešiem. 37 bērniem bija vienpusējas lūpas un aukslēju šķeltnes, bet 15 bērniem – divpusējas lūpas un aukslēju šķeltnes. Daļai pacientu materiāls tika paņemts ne tikai primāras, bet arī atkārtotas plastiskas ķirurģiskas korekcijas laikā. Atkarībā no vecuma un diagnozes pacienti tika sadalīti četrās grupās:

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

Kontroles materiāls tika iegūts no 11 pacientiem sejas un mutes dobuma traumu gadījumos un ar šķeltnēm nesaistītās operācijās. Materiāls tika ievākts Rīgas Stradiņa Universitātes Stomatoloģijas institūtā laika posmā 2004. līdz 2006. gadam.

Audi tika sagatavoti, lai ar biotīna – streptavidīna imūnhistoķīmijas metodi noteiktu bāziskā fibroblastu augšanas faktora (bFGF), pirmā fibroblastu augšanas faktora receptora (FGFR1), nervu augšanas faktora (NGF), nervu augšanas faktora receptora p75 (NGFRp75), transformējošā augšanas faktora beta (TGFβ), Barx1 gēna (Barx1) un proteīngēnvielas 9.5 (PGP 9.5) ekspresiju (1. tabula).

1. tabula. Dati par imūnhistoķīmijā lietoto antivielu.

Nº	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

Apoptozes noteikšanai audos tika pielietota TUNEL metode (POD Cat. No. 11 684 817 910 Roche Diagnostic).

Pārskata ainas iegūšanai tika pielietota rutīnā histoloģijas metode, paraugi krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu.

Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma apzīmēšanai lietotajām 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 2. tabulā.

2. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma apzīmēšana.

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 lietotajām 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.

Rezultāti

Rufinās histoloģijas atradne

Kontroles pacientu mutes dobuma audos redzējām galvenokārt normālu histoloģisko ainu – neizmainītu dažāda biezuma košļāšanas funkciju nodrošinātā gļotādas 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.

Vienpusēju un divpusēju lūpas un aukslēju šķeltnu 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. Turklāt, lielākajai daļai pacientu epitēlijādi garu izaugumu veidā iestiepās dziļi gļotādas saistaudos. Bērnu ar vienpusējām un divpusējām šķeltnēm epitēlijā novērojām arī vairāk vai mazāk izteiktu dzeloņainā slāņa šūnu vakuolizāciju.

Sejas šķeltnu pacientu mutes dobuma gļotādas saistaudos nereti konstatējām izteikti daudz blīvi un dažkārt ļoti haotiski novietotus kolagēno šķiedru kūlītšus 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. Lielai daļai pacientu novērojām iekaisuma šūnu infiltrāciju gan gļotādas epitēlijā, gan zemāk esošajos saistaudos.

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 novērojām bagātīgu hondroblastu daudzumu proliferācijas zonā, samērā mazas izogēno šūnu grupas un ļoti daudz hipertrofētus hondrocītus. Atsevišķos gadījumos redzējām deģeneratīva skrimšļa fragmentus fibrozos audos. Dažu pacientu audu materiālā konstatējām praktiski neizmainītu skrimsli.

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 tukšas lakūnas starp kaula plātnītēm.

Imūnhistoķīmisko pētījumu un apoptozes atradne Kontroles grupas atradne

Bāziskā FGF ekspresija tika konstatēta deviņu pacientu audu materiālā (3. tabula). Divos gadījumos novērojām maz pozitīvas struktūras – neitrofilos leikocītus un saistaudu šķiedras, bet četros gadījumos - retas pozitīvas struktūras redzes laukā. Minēto augšanas faktoru šajos gadījumos ekspresēja galvenokārt retas iekaisuma šūnas, epitēlija šūnas, asinsvadu sienas šūnas un saistaudu šķiedras. Trijiem pacientiem bFGF saturošo struktūru relatīvais daudzums dažādos audos bija nedaudz atšķirīgs. Tā pacientam N^o2 redzējām maz imūnreaktīvas šūnas epitēlija vidējā slānī un retas pozitīvas saistaudu šķiedras. Savukārt pacientam N^o1 bFGF ekspresēja maz epiteliocīti un saistaudu šķiedras, bet kaulā imūnreaktivitāte netika konstatēta.

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). Četriem bērniem imūnreaktīvo struktūru relatīvais daudzums dažādos audos variēja.

3. tabula. Imūnistojāmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums kontroles grupas pacientiem.

N°	Šifrs	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; +++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

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 šķeltņu 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 glotādas 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, iekaisuma šūnas – neitrofile 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. Astoņiem no viņiem atradām imūnreaktīvas nervu šķiedras, kas lokalizējās asinsvadu sienās un nervu šķiedru kūlīšos.

TGFβ novērojām visu kontroles grupas pacientu audos. Astoņiem tika atrastas daudz pozitīvas struktūras, kas piecos gadījumos bija kaula šūnas, 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, 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 perēkļveidīga 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 kūlīšus. Trīs gadījumos minētās struktūras lokalizējās asinsvadu sienīņās un ap tiem.

Apoptotisko šūnu relatīvais daudzums tika konstatēts desmit šķeltņu 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 perēkļveidīgi 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 perēkļveidīgu apoptozi novērojām deviņu pacientu epitēlijā.

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 šķeltņu audos (4. tabula). Vienā gadījumā novērojām retas, vienā – retas līdz maz, un trīs gadījumos maz pozitīvas struktūras, kas galvenokārt bija iekaisuma vai epitēlija šūnas. Diviem pacientiem tika konstatētas vidēji daudz imūnreaktīvas struktūras. Šo

4. tabula. Imūnhistoloģiski noteikto struktūru relatīvais daudzums zīdaiņiem un bērniem ar piena sakodienu ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm.

N°	Šifrs	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	Barx1	PGP 9,5	TUNEL
1	73	-	+++	+	0/+	+++	++	+++/++++	+++/++++
2	38	+ - +++	+++	+++	+++	+/+	+++	+	+++/++++
3	46	-	+++	-	0/+	+/+	-	++	+
4	149	-	+++	0/+	+	++	0/+	++	+++/++++
5	178	+	++ - +++	-	+ - ++	++ - +++	-	+	+++/++++
6	52	-	+++	0/+	+	++	0/+	+++	+++
7	80	-	+++	-	++	++	-	+	++
8	129	0/+ - +	+++	-	++	+++	-	-	+++
9	144	+++	+++	-	-	-	-	+	+/+
10	166	++	++	-	+/+	-	-	+	+ - +++
11	182	++	+++	+	++	+++	-	+	+/+
12	17	+	++	-	-	+/+ - +++	-	0/+	+++
13	37	++	+++	0/+	++	++	++	++	+++/++++
14	160	+	+++	0/+	+++	+++	-	+	+
15	59	-	++	-	+	+++	-	+	0/+
16	25	+ - ++	+++/++++	0/+	++	+++	-	+++	-
17	104	0/+	+++	-	++	+++	-	+++	+
18	143	-	++	-	+++	+++	+	+	++
19	119	-	++	-	+++	+++	+	+	++
20	151	-	+	-	++	+ - ++	+	+	+/+
21	153	0/+	++	-	-	+	0/+	+	0/+
22	170	+	+++	-	+/+	+/+	0/+	+/+	++
23	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; +++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

bērnu audos bFGF novērojām jau minētajās iekaisuma šūnās, tauku dziedzera šūnās, 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.

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 a FGFR1 pozitīvas struktūras novērojām viena, daudz - sešu, bet vidēji daudz – piecu pacientu audu materiālā. Šajos gadījumos minētos receptorus galvenokārt ekspresēja epiteliocīti, endoteliocīti, saistaudu šūnas, asinsvadu sienīgas gludie miocīti, tauku dziedzeru un mata folikulu šūnas, kā arī jaunās un nobriedušās skrimšļa šūnas 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.

Atkārtoti paņemtajos bērnu šķeltņu audos rezultāti būtiski neatšķirās no tādiem pirmreizēji ņemtajos audos. Salīdzinot savstarpēji vidējo FGFR1 pozitīvo struktūru daudzumu pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos 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 sienīgas gludās muskulatūras šūnās, tauku dziedzera un mata folikula šūnās. Vienā gadījumā (N°2) konstatējām daudz pozitīvas iekaisuma šūnas un sīkas nervu šķiedras subepitēlijā. 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, 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. 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 sienīgās, kā arī ap siekalu dziedzeriem. Vienam pacientam (N°8) imūnreaktīvās struktūras bija vidēji daudz līdz daudz, trijiem – vidēji daudz, vienam - maz līdz vidēji daudz, un vēl vienam – retas. Pacienta N°3 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.

TGF β 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 sienīgas šūnas, tauku dziedzeru glandulocīti un mata folikulocīti. Trijiem bērniem TGF β saturošo struktūru daudzums bija relatīvi mazāks, tomēr arī šajos audos redzējām pozitīvu reakciju epitēlijā, subepitēlijā un asinsvadu sienīgas šūnās. Divos gadījumos (N^o7, N^o12) novērojām atšķirīgu imūnreaktīvo struktūru daudzumu dažādos audos, bet visintensīvāko ekspresiju konstatējām tieši kaulā.

Atkārtoti ņemtajos audos TGF β ekspresiju neatradām vienam pacientam. Interesanti, ka tā pirmreizējā materiālā pozitīvu struktūru bija ļoti daudz. Bagātīgu faktora ekspresiju novērojām divu, bet vidēju – viena pacienta epitēlijā, bet vēl vienam redzējām vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvus epiteliocītus, asinsvadu endoteliocītus un gļudos miocītus, kā arī saistaudu šūnas. Pacientam N^o3 konstatējām daudz imūnreaktīvus hondrocītus, bet vidēji daudz perēkļveidīgi novietotus pozitīvus epiteliocītus. Kopumā vidējais TGF β saturošo struktūru relatīvais daudzums bija vidējs, un būtiskas atšķirības starp pirmreizēji un atkārtoti ņemtajiem, kā arī kontroles grupas pacientu audiem nenovērojām.

Barx1 ekspresiju novērojām desmit bērnu pirmreizēji ņemtajos 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. Divos gadījumos Barx1 ekspresēja tauku un sviedru dziedzeru šūnas, un iekaisuma šūnas. Atsevišķiem bērniem pozitīva reakcija tika atrasta arī asinsvadu sienīgas šūnās, mata folikulocītos un saistaudu šūnās subepitēlijā. Līdzīgi kā kontroles grupas audu materiālā, arī šķeltņū skartajos audos minētā gēna ekspresija dominēja epitēlijaudos. Lai arī pozitīvo struktūru vidējais daudzums šķeltņū audos bija nedaudz lielāks, atšķirība nav vērtējama ka statistiski ticama.

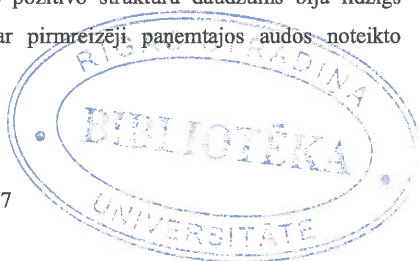
Atkārtoti ņemtajos audu paraugos Barx1 ekspresija netika konstatētā nevienā gadījumā. Salīdzinot vidējo pozitīvo struktūru daudzumu otrreizēji ņemtajos audos ar atradni kontroles ($z=3,086$; $p=0,002$) un pirmreizēji ņemtajos audos ($z=2,705$; $p=0,007$), novērojām statistiski ticamas atšķirības.

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, 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. Ļoti daudz apoptotiskas šūnas novērojām diviem bērniem, daudz - trijiem bērniem, vidēji daudz līdz daudz – diviem, vidēji daudz – trijiem, maz līdz vidēji daudz - 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. Epitēlijā tā nereti bija perēklveidīga. Retāk apoptozi varēja novērot tauku dziedzeru, matu folikulu un asinsvadu sienīnās šūnās. Vienā audu paraugā ar skrimšļa fragmentu redzējām totālu apoptozi visā skrimslī, izņemot malas zonu. Citam pacientam konstatējām retas pozitīvas kaula šūnas. Pētījumā konstatējam, ka vidējais pozitīvo struktūru daudzums pirmreizēji paņemtajos vienusējū šķeltņū 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 paņemtajos audos noteikto daudzumu.



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 paņemts atkārtoti.

bFGF pozitīvas struktūras tika atrastas 17 pacientu pirmreizēji paņemtajos audos (5. tabula). Vienpadsmit gadījumos tās bija retas un maz. Šāda ekspresija tika novērota iekaisuma šūnās, epiteliocītos, tauku dziedzera šūnās, asinsvadu gludās muskulatūras šūnās. Vēl vienam pacientam (N°2) konstatējām relatīvi atšķirīgu bFGF ekspresiju epitēlijā, saistaudos, tauku un siekalu dziedzeru šūnās. Citam redzējam maz līdz vidēji daudz pozitīvus asinsvadu sienā lokalizētus gludos miocītus. Bagātīgu bFGF ekspresiju atradām četriem pacientiem un tikai cietajos audos – skrimslī un kaulā.

Atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā ņemtajos audos divos gadījumos novērojām retas un divos – maz pozitīvas iekaisuma šūnas. Vienam pacientam redzējam 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.

FGFR1 bagātīga ekspresija tika novērota 13 pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. Tajos redzējam daudz pozitīvas epitēlija, asinsvadu sienīgas un saistaudu šūnas, kā arī kaula un skrimsļa šūnas. 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. Vienam pacientam novērojām vidēji daudz imūnreaktīvus hondrocītus un vidēji daudz līdz daudz – osteocītus. Vidēji daudz minētos augšanas faktora receptorus ekspresēja epitēlija, saistaudu un asinsvadu sienīgas šūnas četrus pacientu audos. Tikai trīs gadījumos redzējam 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. Piccos gadījumos redzējām daudz pozitīvas struktūras epitēlijā un saistaudos, kur to ekspresēja epiteliocīti, fibroblasti, limfocīti un asinsvadu sienas šūnas. Diviem pacientiem konstatējām bagātīgu minēto receptoru ekspresiju skrimšļa šūnās. 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 šķeltņņu audos statistiski ticamas atšķirības neuzrādīja. Lai arī kopumā šķeltņņu 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 ņemtajos 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. 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 izvadu epitēlijšūnas. 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, četrus – maz, četrus - maz līdz vidēji daudz, bet divos – vidēji daudz pozitīvas struktūras. Minētā augšanas faktora receptorus galvenokārt ekspresēja epitēlija

5. tabula. Īmūnhistokīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bērniem ar maiņas sakodienu ar vienkāršām lūpas un ausiņļu šķeltnēm.

N°	Šifrs	bFGF	FGFR1	NGF	NGFR	TGFβ	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	+	+++	-	-	++	+	+	++
	71	-	+	-	-	+ - +++	-	-	+
19	19	+	-	-	-	++	-	-	-

20	155	-	+	-	-	++	-	-	+++	+	+++
	188	+++	+++	0/+	-	+++	-	+			++
21	74	+++	+++	0/+	-	++	0/+	+/++			++
22	64	+++	+++	-	0/+	+/++ - +++	++	+/++			+
	113	+	++	0/+	-	++	+	-			-

- netika redzēta neviens 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; +++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

bazālās šūnas un nervu šķiedras asinsvadu sienīnās un ap tiem. Vienam pacientam pozitīvu reakciju redzējām siekalu dziedzera izvada epiteliocītos.

Atkārtoti paņemtajos ausu 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 ausos 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 paņemtajos ausos ($z=3,297$; $p=0,001$) salīdzinājumā ar kontroles grupas materiālu.

TGFβ ekspresija tika novērota visu pacientu pirmreizēji ņemtajos ausos. 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, epiteliocīti, saistaudu šūnas, kā arī asinsvadu endoteliocīti un gludie miocīti. Trīs pacientiem konstatējām relatīvi atšķirīgu imūnreaktīvo struktūru daudzumu dažādos ausos. Minētajos gadījumos novērojām bagātīgu augšanas faktora ekspresiju kaula šūnās, bet relatīvi mazāku – skrimšļa un saistaudu šūnās. Maz pozitīvas struktūras atradām divu pacientu ausos, un imūnreaktivitāti novērojām hondrogēnajās šūnās un osteocītos. Vienam pacientam redzējām vidēji daudz pozitīvas kaula šūnas, bet maz pozitīvus asinsvadu endoteliocītus un gludos miocītus.

Atkārtoti paņemtajos ausu 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, bet vidēji izteiktu – epiteliocītos, fibroblastos, makrofāgos, plazmocītos un endoteliocītos. Vienam pacientam (N°18) redzējām daudz imūnreaktīvas kaula šūnas, bet maz pozitīvas saistaudu šūnas. Kopumā vidējais TGFβ saturošo struktūru relatīvais daudzums pirmreizēji un atkārtoti paņemtajos ausos bija vidēji daudz līdz daudz. Minētā augšanas faktora ekspresija vienpusēju šķeltņu ausos bērniem ar maiņas sakodienu bija relatīvi vairāk izteikta, nekā kontroles grupas pacientu ausos, tomēr šī atšķirība nebija vērtējama kā statistiski ticama.

Barx1 ekspresiju novērojām deviņu pacientu pirmreizēji ņemto ausu 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, epitēlijā 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 perēķļveidīgi 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 paņemto audu materiālā. Vienā gadījumā novērojām daudz neuropeptīdus saturošas nervu šķiedras, kas lokalizējās asinsvadu sienās un nervšķiedru kūlīšos. Diviem pacientiem redzējām vidēji daudz un trijiem – maz līdz vidēji daudz pozitīvas nervu šķiedras asinsvadu sienās un ap tiem, un vienā no minētajiem gadījumiem (N°2) arī epitēlijā, subepitēlijā, mata folikulī un nervšķiedru kūlīšos. 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 sienās, kā arī smalkos nervšķiedru kūlīšos.

Atkārtoti paņemtajos audu paraugos DNES struktūras konstatējām pieciem pacientiem. To relatīvais daudzums galvenokārt bija mazs. Visu minēto bērnu audos novērojām retas nervu šķiedras asinsvadu sienās un ap tiem. Kopumā DNES struktūru relatīvais daudzums atkārtoti ņemtajos audos bija mazāks, nekā pirmreizēji paņemtajos 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, 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 vērtējamas kā statistiski ticamas.

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 (6. tabula). Minēto augšanas faktoru bagātīgi ekspresēja epiteliocīti (N°6) un iekaisuma šūnas (N°5). Diviem pacientiem redzējām vidēji daudz pozitīvas struktūras – epiteliocītus un tauku dziedzera glandulocītus. Vēl diviem pacientiem bFGF ekspresija dažādos audos variēja no maz līdz vidēji daudz pozitīvām struktūrām redzes laukā. Pacientam N°2 ļoti viegli minētā augšanas faktora ekspresiju redzējām tauku dziedzera šūnās, bet relatīvi izteiktāka tā bija vakuolizētājās epitēlija šūnās. Turpretim, bērnam N°7 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

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

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

pacientiem. 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. Galvenokārt FGFR1 ekspresiju konstatējām visos epitēlija slāņos, tomēr pacientam N°2 tā vairāk izteikta bija bazālo šūnu slānī, bet pacientam N°3 – 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. 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).

NGFR atradām visu bērnu pirmreizēji paņemtajos audu paraugos. Divos gadījumos tos bagātīgi ekspresēja bazālie epiteliocīti un nervu šķiedras asinsvadu sienās un ap tiem, 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. 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.

TGFβ 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. Maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvas šūnas konstatējām divu bērnu, bet maz – viena bērna audos. Arī šajos gadījumos Barx1 ekspresēja epiteliocīti, 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, pie matu folikuliem, kā arī intracitēlijā, 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 ņemtajos audos. TUNEL metode parādīja daudz apoptotiskus 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 perēkļveidīga, un to varēja vērot arī asinsvadu sienas un dziedzerepitēlija šūnās.

Līdzīgus rezultātus ieguvām analizējot **atkārtoti ņemtus 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 ņemtajos audos ($z=2,019$; $p=0,044$) ir lielāks apoptotisko šūnu daudzums, nekā kontroles pacientu materiālā, un šis atšķirības ir vērtējamas kā statistiski ticamas.

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 ņemti atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā, bet pacientam N°4 – no labās un kreisās puses šķeltnes rajona.

Bāziskā FGF ekspresija tika konstatēta visu pacientu pirmreizēji ņemto audu paraugos (7. 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 dziedzera glandulocītos. 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 sienā. Vidēji daudz imūnreaktīvas

7. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvais daudzums bērniem ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un auslēju šķeltnēm.

N°	Šifrs	bPGF	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 neviens 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

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 dziedzera 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. Savā pētījumā konstatējām, ka bFGF pozitīvo struktūru daudzums ir ievērojami lielāks divpusēju šķeltņu pirmreizēji ņemtajos audos, nekā kontroles grupas pacientu materiālā, un šī atšķirība ir statistiski ticama ($z=3,750$; $p=0,001$).

Analizējot atkārtoti ņemto 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 ņemtajā audu materiālā. Vienā gadījumā redzējām ļoti daudz pozitīvus epiteliocītus, tauku dziedzera glandulocītus, asinsvadu sienā lokalizētus gludos miocītus, kā arī muskuļu šķiedras, nervšķiedru kūlīša endoneirija šūnas un iekaisuma šūnas. 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 ņemtajos divpusējo šķeltņu audos ir statistiski ticami lielāks nekā kontroles grupas pacientu materiālā ($z=2,602$; $p=0,009$).

Atkārtotu ķirurģisku korekciju laikā ņemtajos 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 četru pacientu pirmreizēji ņemtajos audos. Pozitīvo struktūru lokalizācija galvenokārt bija perēkļveidīga. Vidēji daudz minēto augšanas faktoru ekspresēja viena pacienta hondrocīti, maz – divu pacientu bazālie epiteliocīti un saistaudu šūnas, bet vienam pacientam konstatējām retas pozitīvas šūnas epitēlija bazālajā slānī.

Atkārtoti ņemto audu preparātos redzējām bagātīgu NGF ekspresiju viena pacienta epitēlijā, 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 un nervu šķiedras, kas vienā gadījumā bija lokalizētas asinsvadu sienās vai ap tiem. Pacientam N°4 imūnreaktīvo struktūru relatīvais daudzums audu paraugos bija nedaudz atšķirīgs, un NGFR ekspresija bija vērojama epitēlija un mata folikula bazālajās šūnās, siekalu dziedzera 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 perēķļveidīgi lokalizētas epitēlija šūnas, kā arī nervu šķiedras asinsvadu sienās, ap tiem un kūlīšos. Lai arī pirmreizēji un atkārtoti ņemtajos šķeltņū audos pozitīvas struktūras atradām nedaudz vairāk nekā kontroles materiālā, šīs atšķirības nebija vērtējamas kā statistiski ticamas.

TGFβ novērojām divu pacientu pirmreizēji ņemtajos 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 perēķļveidīgi lokalizētās epitēlija šūnās. Mūsu pētījumā konstatējam, ka TGFβ pozitīvas struktūras gan pirmreizēji ($z=3,684$; $p=0,001$), gan atkārtoti ņemtajos šķeltņū audos ($z=2,601$; $p=0,009$) ir statistiski ticami mazāk, nekā kontroles pacientu materiālā.

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

Atkārtoti ņemtajos 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 šķeltņū, 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 intraepitēliāli 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. 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 un kaulā, kā arī asinsvadu sienas šūnās, siekalu un tauku dziedzeros. Savā pētījuma konstatējam, ka pirmreizēji paņemtajos šķeltņū audos ir statistiski ticami vairāk apoptotiskas šūnas nekā kontroles grupas pacientu materiālā ($z=3,018$; $p=0,003$).

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

Augšanas faktoru, Barx1 gēna un apoptozes savstarpēja korelācija

Bāziskā FGF ekspresiju novērojām visu šķeltņū pacientu grupās (8. 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 šķeltņū vecāko pacientu grupā

8. tabula. Imūnhistokīmiski noteikto struktūru vidējais relatīvais daudzums vienpusēju un divpusēju lūpas un auskleju šķeltņu pacientu 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 auskleju šķeltnēm	0/+ - +	++/+++	0/+	+/++	++	+	+/++	++
atkārtoti	+	+++	-- 0/+	+/++	++	-	+	+/++
bērniem ar maiņas sakodienu ar vienpusējām lūpas un auskleju šķeltnēm	+	++/+++	0/+	0/+ - +	++/+++	0/+	+	++
atkārtoti	+	+++	0/+	-- 0/+	++/+++	0/+	0/+	+/++
zīdaiņi un bērni ar piena sakodienu ar divpusējām lūpas un auskleju šķeltnēm	++	+++	0/+	++/+++	-	+/++	+/++	++/+++
atkārtoti	+/++	++/+++	0/+	++	-	+	0/+	++/+++
bērniem ar maiņas sakodienu ar divpusējām lūpas un auskleju šķeltnēm	++	+++	0/+	++	0/+	0/+	+/++	+++
atkārtoti	+	+++	0/+	++	0/+	0/+	0/+	++
kontrolle	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; +++/+++ vidēji līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++++ daudz pozitīvas struktūras redzes laukā; ++++/++++ ļoti daudz pozitīvas struktūras redzes laukā

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 šķeltnu 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 šķeltnu 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 šķeltnu 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 šķeltnu 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 šķeltnu pacientu audos ($p=0,028$; $r=0,242$).

NGFR ekspresiju novērojām visu šķeltnu pacientu grupās. Vidējais relatīvais NGFR saturošo struktūru daudzums variēja, un jaunākajiem pacientiem ar vienpusējām lūpas un aukslēju šķeltnēm tas, līdzīgi kā kontrolei, bija maz līdz vidēji daudz. Vecākajiem vienpusēju šķeltnu pacientiem vidējais relatīvais NGFR saturošo struktūru daudzums bija statistiski ticami mazāks nekā kontroles pacientiem. Savukārt divpusējo šķeltnu 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 ($\chi^2=33,324$; $df=4$; $p=0,001$).

TGFβ ekspresija šķeltņū audos bija ļoti variabla. Vidējais relatīvais pozitīvo struktūru daudzums jaunāko pacientu ar viopusējām šķeltnēm grupā līdzīgi kā kontroles audos bija vidējs (++) , bet bērnu ar maiņas sakodienu grupā – nedaudz lielāks. Divpusējo šķeltņū jaunāko pacientu audos minētā augšanas faktora ekspresiju nekonstatējām, bet bērniem ar maiņas sakodienu vidējais relatīvais TGFβ 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 TGFβ 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 šķeltņū 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 šķeltņū 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 šķeltņū 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 ($\chi^2=13,779$; $df=4$; $p=0,000$).

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 hondrociņu 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 paņemtos bērnu ar maiņas sakodienu audos. 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 diferenciāciju 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, TGFβ un Barx1 ekspresija un relatīvi atšķirīgs DNES struktūru daudzums.

Pētījuma aprobācija

1. RSU Medicīnas nozares zinātniskajā konferencē, Rīgā (Latvija), 2004. g. 05.03.
2. RSU Medicīnas nozares zinātniskajā konferencē, Rīgā (Latvija), 2006. g. 03.03.
3. 8. Rīgas-Rostokas simpozijā, Jaunmokās (Latvija), 2006. g. 11.-14.05.
4. 1. Baltijas stomatologu zinātniskajā konferencē Pērnāvā (Igaunija), 2006. g. 20.-21.10.
5. COST B23 simpozijā Parīzē (Francija), 2006. g. 07.-08.12.
6. RSU Medicīnas nozares zinātniskajā konferencē, Rīgā (Latvija), 2007. g. 29.-30.03.
7. 2. Baltijas stomatologu zinātniskajā konferencē Rīgā (Latvija), 2007. g. 08.-10.11.
8. 4. Baltijas morfoloģu zinātniskajā konferencē Rīgā (Latvija), 2007. g. 19.-20.11.
9. RSU Medicīnas nozares zinātniskajā konferencē, Rīgā (Latvija), 2008. g. 13.-14.03.
10. 5. Audu inženierijas simpozijā Tampērē (Somija), 2008. g. 22.-25.04.
11. 6. Latvijas ārstu kongresā Rīgā (Latvija), 2009. g. 19.-21.06.
12. 5. Baltijas morfoloģu zinātniskajā konferencē Kauņā (Lietuva), 2009. g. 27-28.09.
13. RSU Medicīnas nozares zinātniskajā konferencē, Rīgā (Latvija), 2010. g. 18.-19.03.
14. Klīniski integrētās morfoloģijas asociācijas sēdē (KIMA), Rīgā (Latvija), 2010. g. 21.04.

Zinātniskās publikācijas

1. Pilmane M., Akota I., Barkāne B., Krivicka B. Morphofunctional methods in investigations of hard tissue in children with complete lip palate cleft // Trends in Biomedicine in Finland. -2003. -Vol.1(2). -P. 14-19.
2. Pilmane M., Akota I., Barkāne B., Krivicka B. Cieto audu morfofunkcionālās izmeklēšanas metodes ar caurejošām sejas šķeltnēm slimojošiem bērniem // RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference. -Rīga, 2004. gada 5. marts. -142. lpp.
3. Pilmane M., Akota I., Barkāne B., Boka S., Krivicka B. Morphofunctional changes in facial soft and hard tissue of children with complete lip palate cleft // Anatomical Science International. -2004. -Vol. 79, SUPPL. -P. 404.
4. Krivicka B., Zepa K., Pilmane M., Akota I., Barkāne B. Growth, degeneration and apoptosis in tissue of children with lip palate cleft // RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference. -Rīga, 2006. gada 3. marts. -123. lpp.

5. Pilmane M., Krivicka B., Akota I., Barkāne B., Rone B., Kundziņa R. Growth factors (GF) and matrix metalloproteinases (MMP) in tissue of children with facial clefts // COST 23 meeting. –Helsinki, Finland, 4-7 May. -2006. -Abstract book: Growth factors in craniofacial development and repair. –P. 76.
6. Krivicka B., Pilmane M., Akota I., Barkāne B. Growth factors and apoptosis in facial tissue of children with clefts // 8th Joint symposium Rostock – Riga. –Castle Jaunmoku, Latvia, 11-14 May. -2006. -Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, SUPPL.1. –P. 25.
7. Krivicka B., Pilmane M., Akota I., Barkāne B. Growth factors, apoptosis and matrix metalloproteinases in facial tissue of children with clefts // The 1st Baltic scientific conference of dentistry. –Pärnu, Estonia, 19-21 October. -2006. -Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, Vol. 8. SUPPL. 3. –P. 20-21.
8. Krivicka B., Pilmane M., Akota I., Barkāne B. Barx1, augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar šķeltnēm // RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference. - Rīga, 2007. gada 29.-30. marts. -207. lpp.
9. Pilmane M., Krivicka B., Akota I., Barkāne B. Distribution and appearance of barx1, growth factors (GF) and apoptosis in facial tissue of children with clefts // COST B23 symposium. France, 7-8 December. -2006. -Abstract book: Comparative evolution, development and regeneration of epidermal-mesenchymal orgāns. –P. 25.
10. Krivicka B., Pilmane M., Akota I. Barx1, augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar viensusējām un divpusējām šķeltnēm // RSU Medicīnas nozares zinātniskā konference. -Rīga, 2008. gada 13.–14. marts. -196. lpp.
11. Krivicka B., Pilmane M., Akota I. Barx1, augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar šķeltnēm // Latvijas Ārstu kongress. -Rīga, 2009. gada 19.-21. jūnijs. – Tēzes. – lpp. 44-45.
12. Krivicka B., Pilmane M. Augšanas faktori un apoptoze sejas audos bērniem ar šķeltnēm // RSU Zinātniskie raksti. –Rīga. – 2007. –lpp. 298-301.
13. Krivicka B., B. Barkane, I. Akota , M. Pilmane. Correlation between different growth factors (GF) and gene expression in children with cleft lip and palate // The 2nd Baltic scientific conference of dentistry. –Riga, Latvia, 8-10 November. -2007. -Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, SUPPL. 1(4). –P. 21.

14. Krivicka B., Pilmane M. Growth factors, barx1 and defensin in facial tissue of children with clefts // Baltic Morphology 4th Scientific Conference. –Riga, Latvia, 19-20 November. -2007. –Abstract book. –P.42
15. Krivicka B., Pilmane M. Barx1, growth factors and apoptosis in facial tissue of children with unilateral and bilateral clefts // 5th Tissue Engineering Symposium. - Tampere, Finland, 22 – 25 April. -2008. -Proceedings of the 5th Tampere Tissue Engineering Symposium (CD-ROM).
16. Pilmane M., Krivicka B., Akota I., Barkane B. Possible morphopathogenesis of complete uni- and bilateral cleft lip and palate // 5th congress of international cleft lip and palate foundation. Texas, USA, 22-26 September. -2008. –Conference program and abstract book. –P. 152-153.
17. Krivicka B., Pilmane M., Akota I. Barx1, growth factors and apoptosis in facial tissue of children with clefts // Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal. -2008. –Vol.10(2). –P. 62-66.
18. Krivicka B., Pilmane M., Akota I. Current understanding of cleft lip and palate pathogenesis // Acta Chirurgica Latviensis. -2008. –Vol.8. –P. 28-33.
19. Krivicka B., Pilmane M., Akota I. Genes, growth factors (GF) and apoptosis in facial tissue of children with clefts // 5th Scientific conference „Baltic morphology 2009”. –Kaunas, Lithuania, 27-28 August. -2009. –Abstract book. –P. 17.
20. Pilmane M., Krivicka B., Akota I. Morphopathogenesis of complete uni- and bilateral cleft lip and palate // 11th International congress on cleft lip and palate and related craniofacial anomalies. –Fortaleza, Brazil, 10-13 September. -2009. - Medimond International Proceedings. –P.189-193.
21. Krivicka B., M. Pilmane. Augšanas faktori un to receptori sejas audos bērniem ar šķeltnēm // -Rīga, 2010. gada 5. marts. -306. lpp.
22. Krivicka B., M. Pilmane, I. Akota. Growth factors, growth factors receptors and apoptosis in children with clefts // ABSTD 5th meeting. –Bucharest, Romania, 15-17 April. -2010. – Abstract book. –P. 84.

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 Ingridai Kreilei par sniegtajiem padomiem doktorantūras laikā.

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

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

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

Summary

Cleft lip and palate is among most common birth defects worldwide. In Latvia the cleft lip and palate occur on the average in one child in 700 - 800 newborn infants.

The development of the face and the oral cavity includes cell growth, differentiation, cell-to-cell and cell-extracellular matrix interactions, and the programmed cell death. These processes are caused and regulated by various growth factors and genes.

Nonetheless, irrespective of many studies, there is no research regarding the distribution and appearance of various growth factors and genes in cleft disordered tissue or in its role in the healing of wounds.

Aim of the research was to make an immunohistochemical study of the growth factors, the growth factor receptors and the gene relative abundance and location, determination of cell death and data correlation in the cleft-affected tissues in children with unilateral and bilateral cleft lip and cleft palate in the ontogenetic aspect with the development of a diagnostic /prognostic algorithm.

Applying the immunohistochemical and TUNEL methods, there were studied the tissues from the cleft correction area of 52 patients with unilateral and bilateral cleft lip and palate. There has been proved and documented in pictures the bFGF, FGFR1, NGF, NGFR, TGF β , PGP 9.5 and Barx1 gene expression and the relative abundance of immunoreactive cells in the tissue material taken not only during the first, but also during the repeated surgical operation.

Unilateral cleft lip and palate disordered tissue show increased bFGF and FGFR1 local expression with a tendency to increase in mixed dentition age and in repeatedly taken tissues. Bilateral cleft lip and palate affected tissue show increased bFGF and FGFR1 local expression in primary taken tissue with indistinct trend to decrease in repeatedly taken material.

Unilateral cleft lip and palate affected tissue show indistinct NGF and variable NGFR expression. The bilateral cleft lip and palate tissues are characterized by still weak NGF expression, but stabilization of the NGFR expression.

The unilateral cleft lip and palate affected tissue are characterized by a moderately pronounced TGF β expression, which is slightly increasing in mixed dentition age and it is relatively more prominent in hard tissues. Bilateral cleft lip and palate affected tissue show the absence of local TGF β expression in tissue of children in age before and

primary dentition and weak expression in mixed dentition period, giving evidence to the involvement of this growth factor in the cleft severity morphopathogenesis.

Unilateral and bilateral cleft lip and palate affected tissue show variable quantity of DNES structures and a tendency to decrease in tissues, obtained during repeated surgery.

Unilateral and bilateral cleft affected tissue shows more prominent Barx1 expression in the primary taken material of younger patients of both cleft types and stabilization of Barx1 expression in mixed dentition age.

Unilateral and bilateral cleft lip and palate affected tissue show more prominent apoptosis, which tends to increase in the case of bilateral cleft.

Резюме

Врожденные расщелины губы и неба («заячья губа» и «волчья пасть») находятся среди самых распространенных врожденных пороков в мире. В Латвии врожденная расщелина губы и неба встречается в среднем у одного младенца из 700-800 новорожденных.

Развитие лица и ротовой полости включают рост клеток, дифференциацию, взаимодействия типа клетка-клетка и клетка-внеклеточная матрица, а также запланированную смерть клеток. Эти процессы вызываются и регулируются различными факторами роста и генами.

Тем не менее, несмотря на множество исследований, нет данных о распределении и появлении факторов роста и генов в тканях, пораженных расщелинами или о их роли в лечении ран.

Целью исследования является проведение иммуногистохимического исследования факторов роста, рецепторов факторов роста и относительного избытка и положения генов, определение смерти клеток и сопоставление данных в тканях, пораженных расщелинами у детей с односторонней и двусторонней врожденной расщелиной губы и неба в онтогенетическом аспекте с разработкой диагностического/прогностического алгоритма.

Ткани из области коррекции дефектов расщелин 52 пациентов с односторонней и двусторонней врожденной расщелиной губы и неба были изучены с применением иммуногистохимического метода и метода TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling, терминальное дезоксиуридиновое мечение концов). Была доказана и документирована на снимках экспрессия генов bFGF, FGFR1, NGF, NGFR, TGF β , PGP 9.5 и Barx1, а также относительный избыток иммунореактивных клеток в клеточном материале, взятом не только при первом, но и при повторном хирургическом вмешательстве.

Пораженные ткани односторонней врожденной расщелины губы и неба демонстрируют увеличенную местную экспрессию bFGF и FGFR1 с тенденцией к возрастанию в возрасте сменного прикуса и в тканях, взятых повторно. Пораженные ткани двусторонней врожденной расщелины губы и неба демонстрируют увеличенную местную экспрессию bFGF и FGFR1 в первоначально взятых тканях с неявной тенденцией к уменьшению в тканях, взятых повторно.

Пораженные ткани односторонней врожденной расщелины губы и неба демонстрируют неявную экспрессию NGF и переменную экспрессию NGFR. Пораженные ткани двусторонней врожденной расщелины губы и неба характеризуются также слабой экспрессией NGF, но стабильной экспрессией NGFR.

Пораженные ткани односторонней врожденной расщелины губы и неба характеризуются средне выраженной экспрессией TGF β , которая немного возрастает в возрасте сменного прикуса и является относительно более значительной в твердых тканях. Пораженные ткани двусторонней врожденной расщелины губы и неба демонстрируют отсутствие местной экспрессии TGF β в тканях детей в возрасте перед и во время молочного прикуса и слабую экспрессию в период сменного прикуса, что свидетельствует о вовлеченности этого фактора роста в тяжесть морфопатогенеза расщелины.

Пораженные ткани односторонней и двусторонней врожденной расщелины губы и неба демонстрируют переменное количество структур DNES (diffuse neuroendocrine system, рассеянная нейроэндокринная система) и тенденцию к уменьшению в тканях, полученных при повторном хирургическом вмешательстве.

Пораженные ткани односторонней и двусторонней расщелины демонстрируют более выраженную экспрессию Vax1 в первоначально взятых тканях более юных пациентов обоих типов расщелины и стабилизацию экспрессии Vax1 в возрасте сменного прикуса.

В целом, пораженные ткани односторонней и двусторонней врожденной расщелины губы и неба демонстрируют более значительный апоптоз, который имеет тенденцию к увеличению в случае двусторонней расщелины.