



Mārtiņš Vaivads

Gēni un gēnu proteīni dažādu sejas šķeltņu skartos audos

Promocijas darbs zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes
Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija
Apakšnozare – histoloģija un citoloģija

Rīga, 2023

Mārtiņš Vaivads

ORCID 0000-0001-8282-9733

Gēni un gēnu proteīni dažādu
sejas šķeltņu skartos audos

Promocijas darbs zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija

Apakšnozare – histoloģija un citoloģija

Promocijas darba vadītājas:

Dr. habil. med. profesore **Māra Pilmane**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. profesore **Ilze Akota**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Rīga, 2023

Anotācija

Sejas šķeltnes ir iedzimtas sejas apvidus attīstības anomālijas, kas rodas, nepilnīgi saaugot sejas krokām. Šķeltnes var būt vienpusējas vai divpusējas, un tās var skart mutes dobuma gļotādas audus dažādās lokācijās, veidojot lūpu un aukslēju šķeltnes. Sejas šķeltnu morfopatoģenēze tiek saistīta ar šķeltnu kandidātģēniem, kuru kodētie proteīni iesaistās sejas apvidus audu augšanas un diferenciācijas regulācijā. Šķeltnu kandidātģēnu iesaiste sejas šķeltnu morfopatoģenēze cilvēku audos ir relatīvi neskaidra, jo šķeltnu kandidātģēnu savstarpējā mijiedarbība ir kompleksa, tā ir vairāk pētīta dzīvniekiem, bet pieejamā informācija par mijiedarbību cilvēku audos ir ļoti ierobežota.

Pētījuma mērķis bija noteikt kandidātģēnu un ģēnu proteīnu sadalījumu un to relatīvo daudzumu dažādu sejas šķeltnu skartos audos.

Pētījumā šķeltnes audu paraugi tika sadalīti trijās grupās atkarībā no šķeltnes audu veida – vienpusējas lūpas šķeltnes, divpusējas lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnes audi. Vienpusējas lūpas šķeltnes audi tika iegūti no 36 pacientiem lūpas plastikas laikā, divpusējas lūpas šķeltnes audi tika iegūti no 13 pacientiem lūpas plastikas laikā, bet aukslēju šķeltnes audi tika iegūti no 26 pacientiem mīksto aukslēju plastikas laikā. Šķeltnu audu paraugi tika iegūti no pacientiem, kas bija pirms vai primārās dentīcijas vecumā. Veselie mutes dobuma audi kontroles grupai tika iegūti augšlūpas saitītes plastikas laikā no septiņiem pacientiem (vecumā no pieciem līdz četrpadsmit gadiem) un no pieciem jaundzimušajiem pacientiem, kuru audi tika iegūti no Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta vēsturiskās kolekcijas.

Ar imūnhistoķīmijas metodi tika novērtēta BarH-līdzīgā homeoboksa-1 (BARX1), mazāk distālā homeoboksa-4 (DLX4), dakšas galvas boksa E1 (FOXE1), homeoboksa B3 (HOXB3), muskuļu segmentu homeoboksa-2 (MSX2), pāra boksa transkripcijas faktora-7 (PAX7), pāra boksa transkripcijas faktora-9 (PAX9), receptoram līdzīgās tirozīnkināzes (RYK), *Sonic hedgehog* (SHH), SRY boksa transkripcijas faktora-3 (SOX3), bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīna-3A (WNT3A) un bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīna-9B (WNT9B) imūnpozitīvo struktūru relatīvais daudzums.

Veselus mutes dobuma audus raksturo DLX4, FOXE1, HOXB3, PAX7, RYK, SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B ģēnu proteīnu atrade. Veselos mutes dobuma audos visvairāk bija atrodami WNT9B, WNT3A, SOX3, vidēji daudz – SHH, PAX7, HOXB3, FOXE1, mazāk – PAX9, DLX4, RYK, bet nemaz – BARX1 un MSX2.

Šķeltnes skartos audos raksturīgs BARX1 un MSX2 pieaugums, bet samazinājums raksturīgs SOX3, WNT3A un WNT9B. Vienpusēju šķeltni raksturo BARX1, FOXE1, HOXB3 un PAX7 intensīva ekspresija, kas norāda uz šūnu reģenerācijas un proliferācijas potenciālu

palielināšanos. Divpusēju šķeltņi raksturo DLX4, PAX9 un SHH ekspresijas pārmaiņas, pirmajiem diviem uzrādot palielinātu, bet SHH – samazinātu ekspresiju. Tas atspoguļo šo faktoru kompensatorās funkcijas divpusējas šķeltņes skartos audos – saistaudu apasiņošanu DLX4 gadījumā, augšanas regulācijas PAX9 gadījumā un tieši smagākās šķeltņes veidošanos SHH gadījumā. Visus šķeltņu fenotipus raksturo MSX2 un RYK pieaugums, bet SOX3, WNT3A un WNT9B samazinājums audos.

Atslēgvārdi: lūpas šķeltne, aukslēju šķeltne, šķeltņu kandidātģēni.

Abstract

Investigation of Genes and Gene Proteins in Cleft Affected Tissue

Craniofacial clefts are congenital defects of the facial region which occur when the growing facial folds do not fuse fully together. Clefts can be unilateral or bilateral and they can affect the oral cavity mucosal tissue in different locations, forming cleft lip and cleft palate. Facial cleft morphopathogenesis is associated with cleft candidate genes which encode proteins needed for the regulation of facial tissue growth and differentiation. The involvement of cleft candidate genes during facial cleft morphopathogenesis in human tissue is unclear because the interactions between said genes is complicated, these genes have been studied more in animals and the available information about their interaction in human tissue is very limited.

The aim of this research was to determine the distribution and the relative number of cleft candidate gene coded protein containing cells in different cleft affected tissue types.

In our research cleft tissue samples were divided into three groups depending on the cleft tissue type – unilateral cleft lip, bilateral cleft lip, and cleft palate tissue. Unilateral cleft lip tissue was gathered from 36 patients during cleft lip plastic surgery, bilateral cleft lip tissue was obtained from 13 patients during cleft lip plastic surgery, but cleft palate tissue was gathered from 26 patients during soft palate plastic surgery. Cleft tissue samples were obtained from patients aged before or during the age of primary dentition. Healthy oral cavity tissue needed for the control group was obtained during upper lip frenulum plastic surgery from seven patients (from five to fourteen years old) and from five newborn patients whose tissue were gathered from the historical collection of the Institute of Anatomy and Anthropology of Rīga Stradiņš University.

Immunohistochemistry was used to determine the relative number of factor positive cells for BarH-like Homeobox 1 (BARX1), Distal-less Homeobox 4 (DLX4), Forkhead Box E1 (FOXE1), Homeobox B3 (HOXB3), Muscle Segment Homeobox 2 (MSX2), Paired Box Transcription Factor 7 (PAX7), Paired Box Transcription Factor 9 (PAX9), Receptor-like Tyrosine Kinase (RYK), Sonic Hedgehog (SHH), SRY Box Transcription Factor 3 (SOX3), Wingless-type MMTV Integration Site Protein 3A (WNT3A) and Wingless-type MMTV Integration Site Protein 9B (WNT9B).

Healthy oral cavity tissue is characterized by the presence of DLX4, FOXE1, HOXB3, PAX7, RYK, SHH, SOX3, WNT3A and WNT9B gene proteins. In healthy oral cavity tissue WNT9B, WNT3A and SOX3 were found the most, SHH, PAX7, HOXB3, FOXE1 were found in moderate number, PAX9, DLX4, RYK were found a bit less, but practically no BARX1 and MSX2 containing cells were found.

Cleft affected tissue is characterized by the increase of BARX1 and MSX2 and the decrease of SOX3, WNT3A and WNT9B. Unilateral cleft is characterized by the intensive production of BARX1, FOXE1, HOXB3 and PAX7 which indicates the increase of cell regeneration and proliferation potential intensity. Bilateral cleft is characterized by changes in DLX4, PAX9 and SHH expression – DLX4 and PAX9 increase, while SHH decreases. This reflects the compensatory functions of these factors within bilateral cleft tissue – DLX4 affects the vascularization of connective tissue, PAX9 regulates tissue growth and SHH could affect the formation of more severe cleft phenotypes. All cleft phenotypes are characterized by the increase of MSX2 and RYK and by the decrease of SOX3, WNT3A and WNT9B in tissue.

Keywords: cleft lip, cleft palate, cleft candidate genes.

Satura rādītājs

Anotācija	2
Abstract	4
Darbā izmantotie saīsinājumi	8
Ievads	10
Darba mērķis.....	12
Darba uzdevumi.....	12
Darba hipotēze	12
Darba novitāte.....	12
Personīgais ieguldījums.....	13
1. Literatūras apskats	14
1.1. Sejas šķeltņu vispārējais raksturojums.....	14
1.2. Sejas kroku un aukslēju attīstības procesa raksturojums	15
1.2.1. Sejas kroku un augšlūpas embriogēzes raksturojums.....	15
1.2.2. Šķeltņu kandidātģeņu iesaiste augšlūpas morfoģenēzē	17
1.2.3. Aukslēju embriogēzes raksturojums	17
1.2.4. Šķeltņu kandidātģeņu iesaiste sekundāro aukslēju morfoģenēzē	18
1.3. <i>BARX1</i> ģēns.....	19
1.4. <i>DLX4</i> ģēns.....	20
1.5. <i>FOXE1</i> ģēns	21
1.6. <i>HOXB3</i> ģēns.....	21
1.7. <i>MSX2</i> ģēns.....	22
1.8. <i>PAX7</i> ģēns	22
1.9. <i>PAX9</i> ģēns	23
1.10. <i>RYK</i> ģēns	24
1.11. <i>SHH</i> ģēns.....	24
1.12. <i>SOX3</i> ģēns	25
1.13. <i>WNT3A</i> ģēns.....	26
1.14. <i>WNT9B</i> ģēns.....	26
2. Materiāls un metodes.....	28
2.1. Morfoloģiski pētāmais materiāls un pacientu grupu raksturojums	28
2.1.1. Pacientu grupas	28
2.1.2. Kontroles grupas.....	33
2.2. Morfoloģiskās metodes	34
2.2.1. Audu materiāla fiksācija	34
2.2.2. Rutīnas histoloģijas krāsošanas metode	35
2.2.3. Imūnhistoķīmijas metodes raksturojums un reaģenti	35
2.3. Datu apstrādes metodes.....	38
2.3.1. Puskvantitatīvā skaitīšanas metode	38
2.3.2. Statistiskās metodes	38
3. Rezultāti.....	40
3.1. Morfoloģiskā atrade	40
3.1.1. Rutīnas histoloģijas atrade kontroles grupu pacientiem.....	40
3.1.2. Rutīnas histoloģijas atrade šķeltņu grupu pacientiem	40
3.2. Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltņu kandidātģeņu proteīnu raksturojums	41
3.2.1. <i>BARX1</i> ģēna proteīns.....	41
3.2.2. <i>DLX4</i> ģēna proteīns.....	45
3.2.3. <i>FOXE1</i> ģēna proteīns	50

3.2.4. HOXB3 gēna proteīns	55
3.2.5. MSX2 gēna proteīns	60
3.2.6. PAX7 un PAX9 gēnu proteīni	65
3.2.7. RYK gēna proteīns	72
3.2.8. SHH gēna proteīns	77
3.2.9. SOX3 gēna proteīns	82
3.2.10. WNT3A un WNT9B gēnu proteīni	87
3.3. Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltnu kandidātģēnu proteīnu savstarpējo korelāciju novērtējuma dati	94
3.3.1. Korelācijas kontroles grupās	94
3.3.2. Korelācijas vienpusējas lūpas šķeltnes grupā	95
3.3.3. Korelācijas divpusējas lūpas šķeltnes grupā	98
3.3.4. Korelācijas aukslēju šķeltnes grupā	101
4. Diskusija	104
Secinājumi	118
Priekšlikumi pētījumiem nākotnē	120
Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu	121
Literatūras saraksts	122
Pateicības	135
Pielikumi	136
1. pielikums	137
2. pielikums	164
3. pielikums	165
4. pielikums	166

Darbā izmantotie saīsinājumi

AAI	Anatomijas un antropoloģijas institūts
BARX1	BarH-līdzīgais homeobokss-1
BMP	Kaulu (<i>bone</i>) morfoģenētiskie proteīni
BMP4	Kaulu morfoģenētiskais proteīns-4
<i>clfl</i>	Peles lūpas šķeltnes (<i>cleft lip</i>) gēns-1
DKK1	<i>Dickkopf</i> -1 proteīns
DKK2	<i>Dickkopf</i> -2 proteīns
DLX	Mazāk distālais (<i>Distal-less</i>) homeobokss
DLX4	Mazāk distālais (<i>Distal-less</i>) homeobokss-4
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe
FOXE1	Dakšas galvas (<i>Forkhead</i>) bokss E1
Fz	<i>Frizzled</i> receptors
HOX	Homeoboksa gēni
HOXA	Homeobokss A
HOXA3	Homeobokss A3
HOXB3	Homeobokss B3
HOXC	Homeobokss C
HOXD	Homeobokss D
HOXD3	Homeobokss D3
IMH	Imunohistoķīmija
LRP6	Ar LDL receptoru saistītais proteīns-6 (<i>LDL receptor related protein 6</i>)
MSX1	Muskuļu segmentu homeobokss-1
MSX2	Muskuļu segmentu homeobokss-2
p63	Tumoru proteīns 63 (<i>tumor protein 63</i>)
PAX7	Pāra boksa transkripcijas faktors-7
PAX9	Pāra boksa transkripcijas faktors-9
PBX1	PBX homeobokss-1
PTCH1	<i>Patched</i> homologa proteīns-1
RYK	Receptoram līdzīgā tirozīnkināze
r_s	Spīrmena korelācijas koeficients
RSU	Rīgas Stradiņa universitāte
SHH	<i>Sonic hedgehog</i> gēns
SIA	Sabiedrība ar ierobežotu atbildību
Slug	SNAI saimes cinka pirkstiņu transkripcijas faktors-2

Snail1	SNAI saimes cinka pirkstiņu transkripcijas faktors-1 (<i>Snail family zinc finger 1</i>)
SOX	Dzimumu noteicošā reģiona Y (<i>Sex-determining region-Y</i>) boksa transkripcijas faktori
SOX1	SRY boksa transkripcijas faktors-1
SOX10	SRY boksa transkripcijas faktors-10
SOX2	SRY boksa transkripcijas faktors-2
SOX3	SRY boksa transkripcijas faktors-3
SOX9	SRY boksa transkripcijas faktors-9
SOXB1	SRY boksa transkripcijas faktoru-B1 grupa
Src	Proto-onkogēnu sarkomas (<i>Src</i>) tirozīna proteīna kināze
TGFβ	Transformējošais augšanas faktors beta
TGFβ3	Transformējošais augšanas faktors beta-3
TWIST1	Spirāles-cilpas-spirāle vijuma (<i>twist</i>) pamata transkripcijas faktors-1
WIF1	WNT inhibitorais faktors 1
WNT	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) signālceļš
WNT11	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) MMTV integrācijas vietas proteīns-11
WNT3	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) MMTV integrācijas vietas proteīns-3
WNT3A	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) MMTV integrācijas vietas proteīns-3A
WNT5A	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) MMTV integrācijas vietas proteīns-5A
WNT7A	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) MMTV integrācijas vietas proteīns-7A
WNT8A	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) MMTV integrācijas vietas proteīns-8A
WNT9B	Bezspārnu tipa (<i>Wingless-type</i>) MMTV integrācijas vietas proteīns-9B

Ievads

Sejas šķeltnes ir iedzimti sejas attīstības defekti, kas rodas sejas kroku nepilnīgas saaugšanas rezultātā. Sejas šķeltnēm var būt dažādi fenotipi un variācijas, kas ietekmē to lokalizāciju un smaguma pakāpi (Dixon et al., 2011). Šo kraniofaciālo defektu kopums spēj radīt būtiskas klīniskas izpausmes, kas ietekmē turpmāko bērna attīstību, runas spēju izveidi, rada elpošanas un rīšanas funkcijas traucējumus, ietekmē dzirdes un ožas maņu veidošanos, kā arī rada estētisku defektu un palielina socioekonomisko slogu pacientu ģimenēm (Wehby and Cassell, 2010). Globāli sejas šķeltnes ir vienas no biežākajām iedzimtajām patoloģijām ar globālo izplatību 1/700 jaundzimušajiem (Dixon et al., 2011).

Korektam sejas attīstības procesam ir nepieciešama dažādu gēnu un to kodēto proteīnu savstarpējā mijiedarbība. Šo regulatoro faktoru dažādā atrašanās vieta, aktivācija un ietekmes novērtējums kraniofaciālā apvidus izveidē ir būtisks, lai pilnvērtīgi varētu izprast dažādu šķeltnu morfopatogēni cilvēka audos.

BarH-līdzīgais homeobokss-1 (*BARX1*) ir gēns, kas tiek ekspresēts augšžokļa un apakšžokļa ektomezenhīmas šūnās sejas attīstības procesā, nodrošinot kaulaudu un skrimšļaudu šūnu priekšteču sakopšanās procesu (Welsh et al., 2018). Dzīvniekiem samazināta *BARX1* ekspresija rada defektus osteohondrogēnisko šūnu sakopšanās procesā un augšžokļa hipoplāziju (Shimomura et al., 2019).

Mazāk distālā homeoboksa (*DLX*) gēni tiek ekspresēti noteiktos organisma attīstības etapos, un tie nodrošina ķermeņa ass formāciju un gandrīz visu orgānu sistēmu attīstību (Trinh et al., 2015a). *DLX* gēnu klīniskās izpausmes cilvēkiem ir relatīvi maz pētītas, bet *DLX4* gēna variants ir ticis saistīts ar bilaterālu aukslēju un lūpu šķeltnes attīstību (Wu Q. et al., 2015). *DLX* gēni ir nozīmīgi arī sejas attīstības procesā, un to proteīni ir atrodami augšžokļa un apakšžokļa pāra kroku ektomezenhīmā (Jeong et al., 2012).

Dakšas galvas boksa proteīns E1 (*FOXE1*) ir transkripcijas faktors, kas embriogēnēzē nodrošina vairāku orgānu un to struktūras izveidi, ieskaitot aukslēju attīstību, un iesaistās sekundāro aukslēju izveidē un augšžokļa un deguna krokas saplūšanas procesā (Dathan et al., 2002). Vairākas *FOXE1* gēna mutācijas ir saistītas ar aukslēju un lūpas šķeltnu attīstību (Moreno et al., 2009).

Homeobox (*HOX*) gēni kodē transkripcijas faktoros, kas regulē šūnu diferenciāciju un proliferāciju embriogēnēzē, nodrošinot korektu orgānu sistēmu attīstību. Homeobokss B3 (*HOXB3*) gēns regulē nervu kores šūnu migrāciju, kas ir būtiska žaunu loku rajona attīstībai, ietverot arī sejas izveidi (Frisdal and Trainor, 2014).

Muskuļu segmentu homeobokss 2 (MSX2) ir iesaistīts galvas attīstības procesā, kur nodrošina galvas preosteoblastu proliferāciju, un šī gēna produkti ir atrodami orofaciālajā rajonā: apakšžoklī, Mekeļa skrimslī un zobu aizmetņos (Alappat et al., 2003). MSX1 un MSX2 gēnu mutācijas ir saistītas ar aukslēju un lūpas šķeltņu fenotipu attīstību (Dai et al., 2014).

Pāra boksa transkripcijas faktors-7 (PAX7) un pāra boksa transkripcijas faktors-9 (PAX9) ir transkripcijas faktori, kas ietekmē nervu kores šūnu un aukslēju attīstību (Sull et al., 2009). PAX7 ir atrodams aukslēju velvēs, Mekeļa skrimslī un deguna dobuma epitēlijā (Leslie and Marazita, 2013). Pētījumos ar pelēm konstatēts, ka šī gēna mutācijas ir saistītas ar deguna un augšžokļa attīstības anomālijām, ieskaitot šķeltnes (Leslie and Marazita, 2013). Savukārt *PAX9* gēna delēcija pelēs izraisa pilnīgu aukslēju šķeltni, defektīvu zobu un rīkles kabatu attīstību (Li et al., 2017).

Receptoram līdzīgā tirozīnkināze (RYK) ir proteīns, kas iesaistīts kraniofaciālo struktūru attīstībā (sekundāro aukslēju) un neironu diferenciācijā (Halford et al., 2000). *RYK* gēna mutācijas pelēm izraisa specifiskas sejas fenotipa izmaiņas, ekstremitāšu saīsināšanos, barošanās traucējumus un respiratoras komplikācijas (Halford et al., 2000).

Sonic hedgehog (SHH) gēns ir kritiski nepieciešams sejas un galvas attīstības procesam. Tas iesaistās aukslēju un deguna izveidē, un to pārsvarā var atrast zonās ar epitēlija-mezenhīmas mijiedarbību, kur tas inducē mezenhīmas šūnu proliferāciju (Hu et al., 2015).

SRY-boksa transkripcijas faktors 3 (SOX3) kavē proneirālo diferenciācijas faktoru darbību un ietekmē nervu caurules un plakožu attīstību galvas rajonā. Šis faktors ir relatīvi maz pētīts šķeltņu attīstības procesā (Bylund et al., 2003).

Bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas (*WNT*) saimes gēni kodē vairākus proteīnus, kas nodrošina autokrīno un parakrīno regulāciju sejas attīstības procesā ar *WNT* signālceļa starpniecību (Chiquet et al., 2008). *WNT3A* gēns attīstības procesā nodrošina sejas reģionālo specifiskāciju augšlūpā, primārajās un sekundārajās aukslējās un tiek uzskatīts par vienu no lūpu un aukslēju šķeltnes kandidātģēniem (Andrade Filho et al., 2011). Savukārt *WNT9B* gēna delēcija pelēm var izraisīt lūpas šķeltni ar aukslēju šķeltni vai bez tās (Juriloff et al., 2006).

Sejas šķeltnes var tikt koriģētas un ārstētas, veicot ķirurģisko iejaukšanos, bet tam var būt potenciāli traucējoša ietekme uz sejas un žokļu tālāko augšanas procesu, kas var nozīmēt vairāk nekā vienas operācijas nepieciešamību (Shi and Losee, 2015). Pašlaik pieejamā informācija par gēniem un gēnu produktiem šķeltņu izveides procesā ir ierobežota un pārsvarā izvērtēta dzīvnieku modeļos. Cilvēku šķeltnes skartajos audos esošo gēnu un gēnu produktu morfoloģiskā izpēte ir īstenota atsevišķiem augšanas faktoriem un gēniem, bet ne kombinētos pētījumos, izvērtējot vairākus gēnus un gēnu produktus šķeltnes skartajos audos. Pacientu

materiāla sarežģītās ieguves un ētisko apsvērumu dēļ trūkst datu par genotipa noteikto audu endotipa pārmaiņām cilvēka šķeltnes skartajos audos, kas potenciāli varētu sniegt labāku priekšstatu par šķeltņu morfopatoģenēzi un rast iespēju pilnveidot pastāvošās terapijas metodes.

Darba mērķis

Noteikt kandidātģēnu un gēnu proteīnu sadalījumu un relatīvo daudzumu dažādu sejas šķeltnes skartos audos.

Darba uzdevumi

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Noteikt rutīnas histoloģisko atradi kontroles un šķeltnes pacientu audos.
2. Noteikt šķeltnes kandidātģēnu proteīnu (BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, MSX2, PAX7, PAX9, RYK, SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B) imūnhistoķīmisko atradi kontroles audiem un šķeltnes skartiem audiem.
3. Noteikt, kuru šķeltnes kandidātģēnu proteīnu atrades izmaiņas ir raksturīgas tieši vienpusējām šķeltnēm.
4. Noteikt, kuru šķeltnes kandidātģēnu proteīnu atrades izmaiņas ir raksturīgas tieši divpusējām šķeltnēm (klīniski smagākam fenotipam).
5. Noteikt, kuru šķeltnes kandidātģēnu proteīnu atrade ir raksturīga visiem izvērtētajiem šķeltnes fenotipiem.
6. Noteikt nozīmīgākās korelācijas šķeltnes skartajos audos starp izvērtētajiem gēnu proteīniem.

Darba hipotēze

Sejas šķeltnes skartu pacientu audos esošo gēnu un gēnu produktu atrade kvalitatīvi atšķiras no kontroles pacientu audiem.

Darba novitāte

Šajā pētnieciskajā darbā pirmo reizi ir izpētīta dažādu šķeltnes kandidātģēnu proteīnu izdale cilvēku sejas šķeltnes skartos audos. Ar imūnhistoķīmijas metodi noteikts BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, MSX2, PAX7, PAX9, RYK, SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B imūnpozitīvo struktūru relatīvais daudzums dažādos šķeltnes skartos audos. Šāda kompleksa šķeltnes kandidātģēnu proteīnu izpēte šādā kombinācijā nav iepriekš veikta. Iepriekš īstenotajos pētījumos pārsvarā ir izmantoti dzīvnieku modeļi un dzīvnieku audi, kas ļauj šī pētījuma materiālu par cilvēku uzskatīt par unikālu devumu šķeltnes kandidātģēnu izpētē. Šajā pētījumā

ir noteikti audu fenotipi un iespējamie diagnostiskie un prognostiskie gēnu proteīni, kas būtu lietderīgi klīniskajā praksē.

Personīgais ieguldījums

Pētījuma autors piedalījās visu pētnieciskā darba sadaļu izstrādē, veicis mikropreparātu imūnhistoķīmisko novērtējumu un datu vizualizāciju, uzņēmis mikrofotogrāfijas, veicis zinātnisko datu ieguvu, datu apstrādi un statistisko analīzi. Autors ir sarakstījis šo pētniecisko darbu un ir sagatavojis četras publikācijas par sejas šķeltņu kandidātģēnu izpēti cilvēka audos kā pirmais korespondējošais autors.

1. Literatūras apskats

1.1. Sejas šķeltņu vispārējais raksturojums

Lūpu un aukslēju šķeltnes ir sejas apvidus attīstības anomālijas, kuru patoģenēze ir saistīta ar sejas kroku saplūšanas procesa traucējumiem embriogēneses laikā (Ji et al., 2020). Sejas šķeltnes ir vienas no biežākajām iedzimtajām attīstības anomālijām, kuru globālā incidence ir 1 sejas šķeltne uz 700 jaundzimušajiem ar nelielām variācijām atkarībā no populācijas (Mossey et al., 2011).

Sejas šķeltnes pēc etioloģijas iedala sindromiskās un nesindromiskās šķeltņēs. Sindromiskas sejas šķeltnes saista ar specifiskiem sindromiem, kurus visbiežāk izraisa mutācijas noteiktos gēnos, kas regulē būtiskus sejas reģiona attīstības aspektus (Leslie and Marazita, 2013). Sindromiskām sejas šķeltņēm bieži mēdz būt raksturīgas arī citas attīstības anomālijas, piemēram, *FOXE1* gēna mutācijas var izraisīt Bamforta-Lazarusa sindromu, kam bez aukslēju šķeltnes ir raksturīgas vairogdziedzera un citas kraniofaciālā apvidus attīstības problēmas (Carré et al., 2014). Tomēr sindromiskas sejas šķeltnes ir retāk sastopamas nekā nesindromiskās sejas šķeltnes (Saleem et al., 2019).

Nesindromiskās sejas šķeltnes tiek uzskatītas par multifaktoriālu saslimšanu ar komplikētāku un neskaidrāku etioloģiju nekā sindromiskām šķeltņēm. Pastāv uzskats, ka nesindromisko šķeltņu veidošanās procesu ietekmē kompleksa mijiedarbība starp apkārtējās vides un ģenētiskajiem faktoriem (Garland et al., 2020; Grosen et al., 2010). Vides faktori, kas potenciāli var ierosināt nesindromisku sejas šķeltņu attīstību, var būt gan fizikāli, gan ķīmiski, gan bioloģiski (Garland et al., 2020). Dažādi ģenētiskie faktori ir iepriekš saistīti ar nesindromisku sejas šķeltņu attīstību. Tie gēni, kuru darbības traucējumi ir saistīti ar sejas šķeltņu attīstības procesu, tiek saukti par šķeltņu kandidātģēniem. Pēdējie var izraisīt gan sindromiskas sejas šķeltnes, gan iesaistīties nesindromisku sejas šķeltņu patoģenēzē (Reynolds et al., 2020). Ir aprakstīti vairāki simti šķeltņu kandidātģēnu, kas kodē nozīmīgus sejas apvidus regulatoros proteīnus – transkripcijas un augšanas faktoros, signālmolekulas, receptoros (Reynolds et al., 2020; Yan et al., 2020; Saleem et al., 2019; Hooper et al., 2017).

Lūpas un aukslēju šķeltnes var klasificēt pēc to atrades un izpausmes īpatnībām. Šķeltnes, kas skar augšlūpu, var būt vienpusējas vai abpusējas lūpu šķeltnes (Allori et al., 2017). Aukslēju šķeltnes var būt bez lūpu šķeltnes vai arī kopā ar lūpu un alveolārā izauguma šķeltni, veidojot caurejošas lūpu, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltnes (Houkes et al., 2023; Allori et al., 2017). Caurejošas sejas šķeltnes var skart ne tikai mīkstos ādas un mutes dobuma gļotādas audus, bet arī dziļāk esošos kaulaudus (Houkes et al., 2023). Pastāv vairāk nekā 20 dažādas sejas šķeltņu klasifikācijas sistēmas, kas atšķiras pēc anatomiskā iedalījuma, klīniskās

specifikas un šķeltnes smaguma pakāpes (Houkes et al., 2023; Allori et al., 2016). Sejas šķeltņu fenotipi var būt ļoti variabli – no lūpu šķeltnes, kas skar tikai zem gļotādas esošos audus, kas ir ar ļoti neizteiktu defektu, līdz pat pilnīgai abpusējai caurejošai lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltnei (Houkes et al., 2023).

Augšlūpas un aukslēju audi ir būtiski atšķirīgi savā izcelsmē. Dažādi regulatorie gēni, transkripcijas faktori un signālceļi regulē šo galvas apvidu specifisko attīstību. Atšķirības gēnu un transkripcijas faktoru regulācijā un aktivācijā dažādos sejas un aukslēju apvidos ietekmē mutes dobuma epitēlija un zemāk esošo saistaudu augšanu un izveidi (Bush and Jiang, 2012; Jiang et al., 2006).

1.2. Sejas kroku un aukslēju attīstības procesa raksturojums

1.2.1. Sejas kroku un augšlūpas embriogēneses raksturojums

Nozīmīgākie procesi cilvēka sejas kroku attīstībā norisinās starp 4. un 8. embriogēneses nedēļu, iesaistoties šūnām no galvas ektodermas un no galvas ektomezenhīmas šūnām (Som and Naidich, 2013; Jiang et al., 2006). Ektodermālie audi iesaistās sejas un mutes dobuma epitēlijaudu attīstībā, bet ektomezenhīma veido pirmo žaunu loku tā derivātus (Hooper et al., 2017). Galvas mezenhīma ir nervu kores un prehordālās plātnītes šūnu derivāti (Blentic et al., 2008). Nervu kores izcelsmes šūnu migrācija veicina galvas un seju struktūru morfoģenēzi (Murillo-Rincón and Kaucka, 2020; Etchevers et al., 2019).

3. attīstības nedēļas beigās un 4. nedēļas sākumā, noslēdzoties priekšējai neiroporai, sāk palielināties priekšējās smadzenes, kas nobīda to pārklājošo ektodermu uz priekšu un laterālā virzienā, veidojot pieres un deguna kroku (Parikh, 2014). Pieres un deguna jeb frontonazālajā apvidū esošās mezenhīmas šūnas veidojas no divām vietām – no vidussmadzeņu nervu kores un no priekšējo smadzeņu nervu kores (Gisele, 2017; Sperber, 2000). Vidussmadzeņu nervu kores šūnas migrē uz apvidu starp lēcas plakodes aizmetni un optisko kausiņu, lai sasniegtu frontonazālo reģionu tieši zem ožas plakodēm, kur veicinās veidot deguna laterālos izaugumus (Roth et al., 2021). Priekšējo smadzeņu nervu kores šūnas veicina deguna mediālo izaugumu rašanos (Som and Naidich, 2013).

Tajā pašā laikā, kad notiek pieres un deguna izauguma attīstība, pirmajā žaunu lokā, notiekot aktīvai mezenhimocītu proliferācijai, sāk veidoties augšžokļa un apakšžokļa pāra krokas, kas aug uz priekšu un mediāli. Apakšžokļa pāra krokas aug ātrāk par augšžokļa krokām, tās saplūst kopā ķermeņa viduslīnijā, vēlāk veidojot apakšžokli (Pilmane et al., 2016; Sadler, 2000). Apakšžokļa kroku nesaplūšana var izraisīt apakšžokļa šķeltņi (Rao, 2015).

4. nedēļas sākumā zem pieres un deguna izauguma un starp augšžokļa un apakšžokļa pāra krokām sāk veidoties ektodermas invaginācija – *stomodeum* jeb primitīvais mutes dobums (Slípka and Tonar, 2019). 4. nedēļas beigās ir skaidri pamanāmas pāra ožas plakodes. Katra ožas plakode sāk ieaugt dziļāk pieres un deguna izauguma audos, ko veicina ožas plakodes epitēlija proliferācija un apkārt esošās ektomezenhīmas augšana ap plakožu malām (Sperber, 2000). Ieaugot ožas plakodēm dziļāk pieres un deguna izauguma audos, veidojas ožas bedrītes, un ap tām sāk attīstīties laterālais deguna izaugums, kas ir manāms 5. attīstības nedēļā, un drīz pēc tam arī veidojas mediālais deguna izaugums (Sadler, 2000).

Turpinoties sejas attīstībai, 5. attīstības nedēļā pāra augšžokļa izaugumi turpina augšanu mediālā virzienā. Tajā pašā laikā katrs mediālais deguna izaugums turpina augt ventrālā un laterālā virzienā. 6. attīstības nedēļā mediālā deguna izauguma mediālās daļas mezenhīma saaug un sāk sabiezēt starp un zem deguna atverēm, veidojot starpžokļa segmentu (Wang and Milczuk, 2021). 5. attīstības nedēļā notiek augšžokļa krokas un mediālā deguna izauguma saplūšana, kas noslēdz vaigu un deguna rievu jeb bukonazālo rievu. Ja vienā sejas pusē deguna mediālais izaugums nesaaug ar augšžokļa kroku, rodas vienpusēja lūpas šķeltne, bet, ja saplūšana nenotiek abās sejas pusēs, rodas abpusēja lūpas šķeltne (Pilmane et al., 2016; Bernheim et al., 2006).

6. un 7. attīstības nedēļā mediālie deguna izaugumi ventrāli saplūst ar augšžokļa izaugumiem, lai veidotu lielāko daļu augšlūpas un augšžokļa abās ķermeņa pusē. Mediālie deguna izaugumi saplūst savā starpā ķermeņa viduslīnijā, veidojot augšlūpas vidusdaļu un padegunes rievu (Wang and Milczuk, 2021). Abu mediālo deguna izaugumu saplūšana nobīda pieres un deguna kroku uz augšu un uz mugurpusi, līdz ar to pieres un deguna kroka neiesaistīsies augšlūpu, augšžokļa vai deguna gala veidošanā. Augšžokļa kroku augšana mediālā virzienā veidos augšlūpas sānu daļas un augšējos vaigu apvidus, saistot augšlūpu ar augšžokli. 6. nedēļas beigās laterālie deguna izaugumi saplūst ar augšžokļa krokām, veidojot deguna spārnus un nāsīm laterālās daļas (Som and Naidich, 2013).

No 4. līdz 8. attīstības nedēļai deguna mediālais izaugums un augšžokļa kroka saplūst kopā, veidojot augšlūpu un augšžokli. Vēlāk pēc abu mediālo deguna izaugumu saplūšanas attīstās starpžokļa segments, kas veidos padegunes rievu, starpžokli un primārās aukslējas (Pilmane et al., 2016).

1.2.2. Šķeltņu kandidātģēnu iesaiste augšlūpas morfoģenēzē

Informācija par šķeltņu kandidātģēnu iesaisti augšlūpas attīstības procesā lielākoties aprakstīta pētījumos par dzīvniekiem un ir relatīvi neskaidra. Nozīmīgas augšlūpas aizmetņu saplūšanas procesā ir periderma, bazālais epitēlijšūnu slānis un mezenhīma (Li H. et al., 2019; Prabhu et al., 2012). Augšlūpas attīstības procesu embriogēnēzes laikā regulē vairāki signālceļi, kuros iesaistās dažādi regulatorie proteīni, transkripcijas un augšanas faktori, kurus savukārt kodē šķeltņu kandidātģēni.

Pētījumā ar vistas embrijiem augšlūpas aizmetņu saplūšanu raksturo ar epitēlija transformāciju mezenhīmā (Sun et al., 2000). Lūpas aizmetņu saplūšanas vietās ektodermālās izcelsmes divslāņainajā epitēlijā apoptotiski noārdās virsējais peridermas slānis, bet bazālā slāņa šūnas pārveidojas mezenhīmālajos audos. Šo procesu inducē transformējošais augšanas faktors β -3 (TGF β 3), kurš mijiedarbojas ar *Sonic hedgehog* (SHH) un kaulu morfoģenētisko proteīnu (BMP) signālceļiem (Sun et al., 2000).

Pētījumā ar pelēm WNT signālceļa bloķēšana, inaktivējot ar LDL receptoru saistīto proteīnu-6 kodējošo ģēnu (*LRP6* ģēnu), izraisīja augšlūpas aizmetņu saplūšanas traucējumus, paralēli izteikti samazinot *MSX1* un *MSX2* ģēnu ekspresiju (Song et al., 2009).

Citā pētījumā ar pelēm PBX homeobokss-1 (PBX1) aprakstīts kā nepieciešams un pietiekams faktors epitēlijšūnu pārveidei mezenhīmā laterālā un mediālā deguna izaugumu saaugšanas procesā, kas ir būtiski augšlūpas izveides procesā (Losa et al., 2018). Konstatēts, ka *PBX1* ģēns ir saistīts ar WNT signālceļu un ar lūpas šķeltņu attīstību arī cilvēkiem (Maili et al., 2020).

1.2.3. Aukslģēju embriogēnēzes raksturojums

Palatogģenģze sākas 5. attīstības nedēļā un noslēdzas 12. attīstības nedēļā (Wang and Milczuk, 2021). Aukslģējas veidojas no diviem aizmetņiem – no primārajām un no sekundārajām aukslģējām. To attīstības procesā iesaistās dažādas šūnas, no kurām svarīgākās ir ektomezenhīmas šūnas (rodas no nervu kores), ektodermālās izcelsmes epitēlijs un epitēlija virsējā slāņa peridermas šūnas, bet mīksto aukslģēju attīstības procesā iesaistās arī galvas paraksiālās mezodermas miogģnās šūnas (Smarius et al., 2017).

Primārās aukslģējas veidojas no mediālo deguna izaugumu saplūšanas 6. attīstības nedēļā, veidojot starpžokļa segmentu, kas robežojas ar priekšzobu kanāla atveri un ietver četrus augšģējos griezģjzobus (Roth et al., 2021).

Sekundārās aukslējas nodala deguna dobumu no mutes dobuma un veidos gan lielāko daļu cieto aukslēju, gan mīkstās aukslējas (Greene and Pisano, 2010). Sekundārās aukslējas veidojas no pāra aizmetņiem, kas attīstās no augšžokļa krokas 6. attīstības nedēļā (Roth et al., 2021; Li J. et al., 2019). Sākotnēji sekundāro aukslēju aizmetņi aug uz leju abās pusēs mēlei. Vēlāk, kad apakšžoklis turpina augt uz leju un uz priekšu, bet mēle novietojas zemāk, 7. attīstības nedēļā, sekundāro aukslēju aizmetņi rotē un sāk augt horizontālā virzienā pretī viens otram (Danescu et al., 2015).

Sekundāro aukslēju aizmetņu saplūšana ir komplikēts process, kas notiek no 9. līdz 12. attīstības nedēļai. Pirms saplūšanas sekundāro aukslēju aizmetņu epitēlijs to mediālajā malā ir veidots no diviem šūnu slāņiem, bet vēlāk virsējais noārdās apoptozes ceļā, saglabājot tikai bazālo epitēlija kārtu. Sekundāro aukslēju aizmetņiem turpinot augšanu, tie saplūst, veidojot viduslīnijā epitēlija šuvi. Pēdējā pakāpeniski noārdās, ļaujot saplūst abu aizmetņu mezenhīmai (Danescu et al., 2015). Saplūšanas process vispirms sākas uzreiz aiz priekšzobu kanāla atveres un turpinās dorsālā virzienā līdzīgi rāvējslēdzējam. Paralēli notiek sekundāro aukslēju saplūšana ar primārajām aukslējām un deguna starpsienu (Smarius et al., 2017; Som and Naidich, 2014).

Vēlāk sekundāro aukslēju aizmetņos notiks intramembranozā osifikācija, lai veidotu augšžokļa kaula aukslēju izaugumu un aukslēju kaulu, bet sekundāro aukslēju mugurējā daļa pēc saplūšanas veidos mīkstās aukslējas, ieskaitot aukslēju mēlīti jeb ūku (Li J. et al., 2019).

1.2.4. Šķeltņu kandidātģēnu iesaiste sekundāro aukslēju morfoģenēzē

Sekundāro aukslēju aizmetņu saaugšana un saplūšana ir regulēti procesi, kuros iesaistīti dažādi regulatorie faktori. Aukslēju šķeltnes ir saistītas ar vairākiem šķeltņu kandidātu ģēniem (Bush and Jiang, 2012). Šie dažādie šķeltņu kandidātģēni un to kodētie proteīni iesaistās apoptozes procesa regulācijā, epitēlija transformācijā mezenhīmā un epitēlijšūnu migrācijas regulācijā, kas visi ir būtiski procesi sekundāro aukslēju aizmetņu saplūšanā (Jin and Ding, 2006). Nozīmīgas saplūšanas zonas sekundāro aukslēju aizmetņos ir atrodamas peridermā, bazālajā epitēlijšūnu slānī un mezenhīmā (Li H. et al., 2019). Nozīme ir arī nervu kores šūnu migrācijai, ko arī regulē šķeltņu kandidātģēni. Arī nervu kores šūnu migrācijas traucējumi ir saistīti ar aukslēju šķeltnes attīstību (Etchevers et al., 2019).

Apoptozes procesa regulācijas norises ir iepriekš saistītas ar aukslēju šķeltnes attīstību. Pētījumā ar pelēm ir aprakstīta SHH signālceļa loma viduslīnijas epitēlija šuves saglabāšanā (Li et al., 2018). Ja noteiktā laikā tiek pastiprināta SHH signālceļa aktivitāte aukslēju epitēlijā pirms aizmetņu saplūšanas, tad aizmetņu mediālās malas epiteliocīti kļūst rezistenti apoptozei,

kas pelēm var izraisīt submukozu aukslēju šķeltni. Šo procesu saista ar izmaiņām epitēlijšūnu adhēzijā un ar transkripcijas faktora tumoru proteīna 63 (p63) pastiprinātu ekspresiju, ko ietekmē SHH signālceļš (Li et al., 2018). Pelēm arī pētīta WNT signālceļa iesaiste apoptozes regulācijā, kur atrasts, ka pastiprināta WNT signālceļa aktivitāte ierosina aukslēju epiteliocītu apoptozi (Lee et al., 2008).

Epitēlija pārveide mezenhīmā arī ir nozīmīgs process aukslēju aizmetņu saplūšanā. Šeit regulatorais faktors ir transformējošais augšanas faktors β -3 (TGF β 3), kas regulē epiteliocītu citoskeleta un šūnu jūgļu pārmaiņas (Yu et al., 2009). TGF β 3 saistās ar SHH (Ohki et al., 2020) un WNT signālceļu (Warner et al., 2005), piedaloties aukslēju un augšžokļa attīstības procesā.

Pētījumā ar pelēm ir aprakstīts specifisks viduslīnijas epitēlija šuves noārdīšanās mehānisms. Ja epitēlijšūnām aptur apoptozes iestāšanos un epiteliocītu izspiešanu, šūnas no viduslīnijas epitēlija šuves spēj migrēt uz mutes vai deguna dobuma epitēlija virsmu, paralēli ļaujot noārdīt epitēlija šuvi bez apoptozes. Tiek uzskatīts, ka šo procesu varētu ietekmēt TGF β 3 signālceļš, kas mijiedarbojas arī ar citiem signālceļiem, piemēram, SHH signālceļu, aukslēju attīstības procesā (Teng et al., 2022).

1.3. *BARX1* gēns

BARX1 ir homeoboksa gēns, kura kodētais proteīns tiek ekspresēts apakšžokļa un augšžokļa kroku ektomezenhīmas šūnās, un tas ir iesaistīts rīkles apvidus ostehondrogēno šūnu sablīvēšanās procesā (Shimomura et al., 2019; Welsh et al., 2018; Sperber and Dawid, 2008). *BARX1* gēna ekspresija ir aprakstīta sekundāro aukslēju aizmetņu mugurējā daļā, kamēr priekšējā daļā tā ir ierobežota (Welsh et al., 2018).

BARX1 proteīns ir transkripcijas faktors, kurš regulē mezenhimālo šūnu attīstības un izvietojumu. *BARX1* nozīme ir aprakstīta dažādu orgānu attīstības regulācijā, piemēram, kuņģa, liesas (Kim et al., 2007), un žaunu loku reģiona attīstībā pelēs, nosakot gan aukslēju, gan zobu veidošanos (Smith et al., 2013).

BARX1 gēns mijiedarbojas ar citiem gēniem un to proteīniem, regulējot sejas apvidus un aukslēju attīstību. *BARX1* gēna ekspresija sekundāro aukslēju aizmetņu mugurējās daļas ektomezenhīmā notiek vienlaicīgi ar muskuļu segmenta homeoboksa-1 (*MSX1*) gēna ekspresiju aukslēju aizmetņu priekšējā daļā (Welsh and O'Brien, 2009). WNT3A proteīns, kas veicina klasiskā WNT signālceļa aktivāciju, var nozīmīgi palielināt *BARX1* ekspresiju. Turpretī *BARX1* samazināšanās var traucēt ektomezenhīmālo šūnu sakopšanos, kas rada skrimšļaudu un kaulaudu attīstības traucējumus, izraisot sejas reģiona attīstības defektus, piemēram,

augšžokļa hipoplāziju (Shimomura et al., 2019). *BARX1* gēns ir saistīts ar sejas šķeltņu attīstību cilvēkiem (Vieira et al., 2008).

1.4. *DLX4* gēns

DLX gēni pieder homeoboksa gēnu ģimenei un, līdzīgi citiem homeoboksa gēniem, tos izdala noteiktos laikos un noteiktās ķermeņa vietās. Tie tad galvenokārt regulē ķermeņa ass veidošanos un organoģenēzi (Trinh et al., 2015b). *DLX* gēni kodē homeodomēnu saturošus transkripcijas faktoros, kas sagrupēti trijos tuvu esošos gēnu pāros – *DLX1/DLX2*, *DLX3/DLX4* un *DLX5/DLX6*. Šādi pāri ir aprakstīti gan pelēm, gan cilvēkiem (Wu D. et al., 2015). *DLX2*, *DLX3* un *DLX4* gēnu kodētajiem proteīniem ir ļoti līdzīga homeodomēna struktūra un līdzīgs aminoskābju sastāvs (Akimenko et al., 1994).

DLX gēni ir iesaistīti neiroģenēzē un ekstremitāšu formas modelēšanā, bet konkrēta *DLX4* gēna loma embriogēneses laikā ir neskaidrāka nekā citiem *DLX* gēniem (Talbot et al., 2010). Uzskata, ka *DLX4* gēns kodē transkripcijas faktoru, kas regulē kraniālo nervu kores šūnu un galvas ektomezenhīmas diferenciaciju, un kopā ar citiem *DLX* transkripcijas faktoriem nodrošina sejas un mutes audu un orgānu, piemēram, žokļu, attīstību un zobu attīstību (Tamaoki et al, 2014; Depew et al, 2005). *DLX4* transkripcijas faktors var arī inducēt pluripotento cilmes šūnu veidošanos no cilvēka zoba pulpas šūnām (Tamaoki et al., 2014).

Pētījumos pelēm ir aprakstīta *Dlx* gēnu ekspresija pirmā žaunu loka ektomezenhīmā, kur veidojas augšžoklis un apakšžoklis. Pelēs *Dlx1* un *Dlx2* gēns tiek ekspresēts augšžokļa krokās, bet *Dlx3*, *Dlx4*, *Dlx5* un *Dlx6* gēns atrodams apakšžokļa krokās (Jeong et al., 2012).

DLX4 transkripcijas faktors ir iepriekš aprakstīts patoloģijās, kurās traucēta šūnu proliferācija un diferenciacija, piemēram, krūts vēža, olnīcu vēža un leukēmijas gadījumā (Tan and Testa, 2021). *DLX4* gēnu parasti neatrod vesela pieauguša cilvēka audos, bet izteikti tas konstatēts vairāku ļaundabīgo audzēju audos, piemēram, krūts vēža gadījumā. Pēdējā *DLX4* transkripcijas faktors veicina vēža skartu šūnu pārveidi mezenhīmā, aktivējot *TWIST1* transkripcijas faktoru. Tādējādi tiek veicināta arī audzēja invāzija un metastāžu veidošanās (Zhang et al., 2012). *DLX4* gēns cilvēkiem aprakstīts sejas šķeltņu attīstības procesā. Minēta *DLX4* gēna mutācija, kas norāda bilaterālas lūpas un aukslēju šķeltnes saikni mātei un bērnam (Wu D. et al., 2015).

1.5. *FOXE1* gēns

FOXE1 ir olbaltumviela, kas satur DNS saistošu spārnotas spirāles (*forkhead*) domēnu. *FOXE1* kā transkripcijas faktors embriogēnēzes laikā iesaistās dažādu galvas un kakla struktūru attīstības regulācijā (Dathan et al., 2002).

FOXE1 transkripcijas faktors nepieciešams pareizai *MSX1* un *TGFβ3* gēnu ekspresijai aukslēju attīstības procesā. *FOXE1* gēnu palotoģenēzes laikā izdala augšžokļa krokas un deguna izaugumu saplūšanas vietas šūnas (Venza et al., 2011). Šo gēnu atrod sekundāro aukslēju epitēlijā gan pelēm (Dathan et al., 2002), gan cilvēka embrijiem, sākot ar 11. embrionālās attīstības nedēļu (Trueba et al., 2005). Tiek uzskatīts, ka *FOXE1* transkripcijas faktors varētu būt arī hondroģenēzes regulators, kas ir aprakstīts zebrzivīm (Nakada et al., 2009). *FOXE1* gēnu konstatē ne tikai mutes dobuma epitēlijā, bet arī sirdī un vairogdziedzerī (Lidral et al., 2015), kā arī tas ir viens no nozīmīgākajiem vairogdziedzera attīstības regulatoriem (Dom et al., 2021). Pastiprināta gēna ekspresija pelēm veicina folikulārā vairogdziedzera vēža attīstību (Credendino et al., 2020). Cilvēka vairogdziedzera vēža šūnu kultūrās *FOXE1* transkripcijas faktors ir minēts kā šūnu migrācijas un audzēja invāziju regulators, kas, iespējams, ietekmē epitēlija pārveidi mezenhīmā (Morillo-Bernal et al., 2020).

FOXE1 gēna mutācijas cilvēkiem ir saistītas ar lūpu un aukslēju šķeltnes attīstību (Moreno et al., 2009). Homozigotiskas *FOXE1* gēna funkcijas zuduma mutācijas izraisa Bamforta-Lazarusa sindromu, kuru raksturo aukslēju šķeltne, hoānu atrēzija, šķeltis uzbalsenis, vairogdziedzera aģenēze vai disģenēze, hipotiroīdisms un zem 90° leņķa no ādas izejoši galvas mati (Carré et al., 2014).

1.6. *HOXB3* gēns

Homeoboksa gēni kodē transkripcijas faktoros, kas nepieciešami embriogēnēzes procesa regulācijai un pareizai organisma augšanai/attīstībai, jo regulē dažādu šūnu diferenciāciju un proliferāciju (Gray et al., 2011). Ir zināmas vairāk nekā 20 dažādas homeoboksa gēnu apakšgrupas, no kurām lielākā ir *HOX* apakšgrupa, kas sastāv no 39 dažādiem gēniem (Scott, 1993). Šeit sīkāk iedalītas *HOXA*, *HOXB*, *HOXC* un *HOXD* gēnu grupas (Scott, 1992).

HOXB3 gēns ir iesaistīts nervu kores cilmes šūnu migrācijas regulācijā un nepieciešams rīkles struktūru un virsmas epitēlija attīstībai (Zhang et al., 2021; Parker et al., 2018). *HOXB3* gēns kopā ar *HOXA3* un *HOXD3* gēniem regulē aizkrūtes dziedzera un epitēlijķermenīšu – trešās un ceturtais rīkles kabatas derivātu – migrācijas procesu embriogēnēzes laikā (Frisdal and Trainor, 2014). Tāpat *HOXB3* kopā ar citiem *HOX* gēniem iesaistās kapilāru attīstības

regulācijā (Steens and Klein, 2022). Parasti *HOXB3* gēnu bagātīgi ekspresē hemopoētiskās cilmes šūnas, un tas regulē B limfocītu diferenciāciju un proliferāciju (Bhatlekar et al., 2018).

Uzskata, ka *HOXB3* gēns izraisa dažādas patoloģijas, kurās novēro audu augšanas un proliferācijas traucējumus. Palielināta *HOXB3* ekspresija atrasta, piemēram, priekšdziedzera vēža gadījumā (Chen et al., 2013). Savukārt akūtas mieloīdas leukēmijas gadījumā *HOXB3* gēnam ir tumoru nomākšanas efekts, jo tas mazina šūnu proliferāciju sarkanajās kaulu smadzenēs (Lindblad et al., 2015). Ir arī pretrunīgi dati, proti, ir pētījumi par krūts vēzi, kur *HOXB3* gēna palielināta ekspresija saistīta ar audzēju cilmes šūnu fenotipa veidošanos, epitēlija pārveidi mezenhīmā un audzēju šūnu migrāciju (Fu et al., 2017). Visbeidzot, *HOXB3* gēna mutācijas pelēm ir saistītas ar kraniofaciālā rajona attīstības defektiem, konkrēti, nervu kores šūnu migrācijas problēmām otrā žaunu loka apvidū (Zhang et al., 2021).

1.7. *MSX2* gēns

MSX2 gēns ir viens no muskuļu segmentu homeoboksa gēniem, kas pieder diverģējošai homeoboksa gēnu grupai ar nozīmi galvas attīstības procesa regulācijā. Cilvēkam ir aprakstīti divi *MSX* gēni – *MSX1* un *MSX2* (Babajko et al., 2015).

MSX2 gēnu izdala dažādos galvas apvidos – apakšžoklī, augšžoklī, Mekeļa skrimslī, zobu aizmetņos (Alappat et al., 2003). Uzskata, ka *MSX2* transkripcijas faktors regulē pluripotento cilmes šūnu diferenciāciju mezodermaļos audos, regulē epitēlija un mezenhīmas mijiedarbību, ietekmē ekstremitāšu un galvas apvidus attīstību (Wu Q. et al., 2015). Gēns nepieciešams osteoblastu priekšteču proliferācijai normāla kraniofaciālā reģiona attīstības laikā (Alappat et al., 2003). Pelēs *Msx2* gēna *knock-out* mutācijas saistās ar ameloģenēzes defektiem, zobu saknes veidošanos un citiem zobu attīstības traucējumiem (Molla et al., 2010).

Cilvēkiem *MSX2* gēna mutācijas ir saistītas ar dažādiem lūpu un aukslēju šķeltnes fenotipiem, no vienkāršas aukslēju šķeltnes līdz pat bilaterālai lūpas un aukslēju šķeltnei (Dai et al., 2014; Jiang et al., 2006; Vieira et al., 2005; Hilliard et al., 2005). Interesanti, ka *MSX2* gēna mutācijas ir iemels Bostonas tipa kraniosinostozei, paura kaula un pieres kaula attīstības defektiem (Wu and Gu, 2019; Medio et al., 2012; Alappat et al., 2003).

1.8. *PAX7* gēns

PAX7 ir transkripcijas faktors, kurš regulē kraniofaciālā reģiona veidošanos un ietekmē galvas nervu kores šūnu attīstību un diferenciāciju (Zalc et al., 2015). *PAX7* iesaistās nervu kores šūnu attīstības regulācijā, ietekmējot nervu kores marķieru *Slug*, *SOX9* un *SOX10*

ekspresiju (Basch et al., 2006). Gēns regulē galvas rajona audu morfoģenēzi, nervu kores šūnu izdzīvošanu, frontonazālo struktūru diferencēšanās un veidošanās procesu (Zalc et al., 2015).

PAX7 gēna ekspresija ir aprakstīta sekundāro aukslēju aizmetņos, Mekeļa skrimslī un deguna dobuma struktūrās, ieskaitot deguna dobuma epitēliju (Zalc et al., 2015; Mansouri et al., 1996).

Kā nozīmīgs mioģenēzes regulators *PAX7* transkripcijas faktors ir iepriekš aprakstīts miosatelītšūnu populācijas uzturēšanā un skeleta šķērssvītrotās muskulatūras attīstības regulēšanā (Zhu et al., 2017; McKinnell et al., 2008).

Cilvēkiem *PAX7* gēna mutācijas pamato nesindromisku lūpu un aukslēju šķeltņu attīstību (Sull et al., 2009). Viena nukleotīda polimorfisms pirmajā hromosomā (reģionā 1p36), kas atrodas vienā no *PAX7* gēna introniem, saistās ar lūpas un aukslēju šķeltnes veidošanos (Ludwig et al., 2012). Vienlaikus pelēm ar *Pax7* gēna mutācijām ir raksturīgi augšžokļa kaula un deguna attīstības defekti (Mansouri et al., 1996).

1.9. *PAX9* gēns

PAX9 transkripcijas faktors, kuru kodē *PAX9* gēns, pieder pāra boksa transkripcijas faktoru saimei, kas iesaistās organoģenēzē (Stapleton et al., 1993).

Transkripcijas faktora funkcionālā nozīme ir aprakstīta pētījumos pelēm. *Pax9* gēna ekspresija tiek strikti regulēta, lai nodrošinātu korektu aukslēju attīstības procesu. Palielināta faktora izdala atrodama sekundāro aukslēju aizmetņos to vertikālās un horizontālās augšanas fāzē, bet šī izdala samazinās tieši pirms sekundāro aukslēju aizmetņu saplūšanas (Hamachi et al., 2003). Gēna delēcija pelēm izraisa traucējumus sekundāro aukslēju aizmetņu horizontālās augšanas fāzē, bet atrastas izmaiņas ekstracelulārajā matricē, kad samazinās arī hialuronskābes daudzums. Novēro žaunu kabatu derivātu traucējumus, un zobu attīstība apstājas pumpuriņa stadijā (Li et al., 2017). Pelēm *Pax9* gēna delēcija ierosina aukslēju šķeltņi (Jia et al., 2017) un jaundzimušie pelēni aiziet bojā drīz pēc piedzimšanas (Peters et al., 1998).

PAX9 transkripcijas faktors mijiedarbojas ar citiem gēniem un sejas un galvas attīstības laikā iesaistās to regulētos signālceļos. *PAX9* gēns ietekmē *SHH* gēnu, ierosinot aukslēju aizmetņu augšanu priekšēji mugurējā virzienā un veicinot aukslēju kroku veidošanos (Zhou et al., 2013). *PAX9* gēna delēcija rada izteiktus traucējumus BMP signālceļā, konkrēti, BMP4 un MSX1 transkripcijas faktoru darbībā. Paralēli rodas defekti WNT β -katenīna atkarīgā signālceļā, jo *PAX9* transkripcijas faktora trūkuma dēļ palielinās *DKK1* un *DKK2* gēnu – WNT signālceļa antagonistu – transkripcija. Pēdējā sekojoši samazina *WNT7A*, *WNT3* un *WNT9B* gēnu transkripciju (Li et al., 2018; Jia et al., 2017; Zhou et al., 2013).

1.10. *RYK* gēns

RYK proteīns ir atrodams šūnu plazmatiskajā membrānā, un tam izšķir trīs domēnus – ekstracelulāro domēnu, kas atgādina WNT inhibitoro faktoru 1 jeb WIF1, transmembrānas domēnu un tirozīnkināzei līdzīgo domēnu bez enzimatiskas aktivitātes šūnas citoplazmā (Green et al., 2014; Kim et al., 2008). Pie *RYK* spēj saistīties WNT5A un WNT11 proteīni (Kim et al., 2008), un *RYK* funkcionē kā koreceptors WNT signālceļā (Green et al., 2014).

RYK ir iesaistīts vairākos šūnas molekulārajos mehānismos, piemēram, heterodimerizācijā ar citām receptoru tirozīnkināzēm (Halford et al., 2000), Src kināzes aktivācijā (Wouda et al., 2008) un piesaistē Fz receptoriem (Kim et al., 2008). WNT signālceļš var ierosināt *RYK* intracelulārā domēna translokāciju uz šūnas kodolu un tādējādi veicina neironu diferenciācijas procesu (Carpenter and Liao, 2013; Lin et al., 2010; Lyu et al., 2008).

RYK ir iesaistīts neuroģenēzē, tas ietekmē ektodermas attīstību un diferenciāciju, kraniofaciālā apvidus attīstību embriogēnēzes laikā (Funato and Nakamura, 2017; Lanoue et al., 2017). *RYK* īpaši regulē sekundāro aukslēju attīstību (Halford et al., 2000). Pelēm, kurām ir *RYK* gēna delēcija, izmainās kraniofaciālais apvidus, saīsinās ekstremitātes, palielinās postnatālā mirstība. Pēdējo izraisa pilnīgas sekundāro aukslēju šķeltnes radītie barošanās traucējumi un respiratorās komplikācijas (Halford et al., 2000).

Cilvēkiem *RYK* gēns iepriekš uzskatīts par potenciālu šķeltnu kandidātģēnu (Khan et al., 2020; Watanabe et al., 2006).

1.11. *SHH* gēns

SHH proteīns nodrošina *SHH* signālceļa darbību, un tas ir viens no plašāk pētītajiem signālceļiem lūpu un aukslēju morfoģenēzē (Lan and Jiang, 2009).

SHH regulē kraniālo nervu kores šūnu attīstību un galvas kapilāru veidošanos (Sun et al., 2020). Proteīns nepieciešams mezenhīmas šūnu izdzīvošanai agrīnajās attīstības stadijās, bet vēlāk veicina mezenhimocītu proliferāciju (Hu et al., 2015, Jiang et al., 2006). Tas ir iesaistīts aukslēju un frontonazālā rajona attīstībā un atrodams vietās ar izteiktu epitēlija un mezenhīmas šūnu mijiedarbību, kur parasti veicina mezenhīmas šūnu proliferāciju (Deshpande and Goudy, 2018; Hammond et al., 2018; Hu et al., 2015; Han et al., 2009). Augšlūpas morfoģenēzē *SHH* signālceļš veicina galvas nervu kores šūnu proliferāciju (Everson et al., 2017). Attīstības laikā gēns atrodams viscaur mutes dobuma aukslēju epitēlijā, bet vēlāk tikai atsevišķos epitēlija sabiezējumos, kur veidosies aukslēju krokas (Sohn et al., 2011; Rice et al., 2006). *SHH* nepieciešams augšžokļa attīstības regulācijai, jo ietekmē sejas kroku augšanu un veidošanos (Chong et al., 2012). Pastiprināta *SHH* signālceļa aktivitāte ierobežo WNT

signālceļa darbību un paralēli palielina WNT antagonistu signālaktivitāti (Kurosaka et al., 2014).

SHH darbības traucējumi saistās ar dažādu embrionālo attīstības anomāliju veidošanos, ieskaitot lūpas un aukslēju šķeltņi (Abramyan, 2019). Jāmin lūpu šķeltnes, kas rodas sejas kroku saplūšanas procesā (Everson et al., 2017; Kurosaka et al., 2014). Pastiprināta SHH signālceļa aktivitāte galvas reģiona attīstības laikā pēc SHH antagonista *PTCH1* gēna mutācijas ierosina lūpas šķeltnes veidošanos un citus kraniofaciālā rajona defektus, piemēram, hipertelorismu (Kurosaka, 2015; Kurosaka et al., 2014).

SHH signālceļa darbības traucējumi saistās ar aukslēju šķeltnes attīstību (Hammond et al., 2018), jo gēns ekspresējas aukslēju epitēlija krokās, kur tas sekundāro aukslēju izveides procesā parasti nodrošina epitēlija un mezenhīmas šūnu mijiedarbību. Pārāk izteikta SHH signālceļa aktivācija izraisa WNT un BMP signālceļu samazinātu aktivitāti, kas arī var veicināt aukslēju šķeltnes veidošanos (Hammond et al., 2018).

1.12. *SOX3* gēns

SOX3 gēns ir atrodams X hromosomā un kodē *SOX3* transkripcijas faktoru. Tas kopā ar *SOX1* un *SOX2* pieder *SOXB1* transkripcijas faktoru apakšgrupai, tie zināmi kā embriogēnēzes procesa regulatori (Bergsland et al., 2011; Wegner, 2010).

SOX1, *SOX2* un *SOX3* gēnus embriogēnēzē ekspresē neirālās cilmes šūnas. Gēni darbojas pretēji proneirālajiem diferenciacijas faktoriem, ļaujot neirālās izcelsmes cilmes šūnām ilgstošāk palikt mazdiferencētām un pluripotentām, kas ietekmē nervu caurules un dažādu plakožu, ieskaitot ožas plakodes, attīstību (Bylund et al., 2003). *SOX3* gēns aprakstīts kā viens no agrīnajiem mugurkaulnieku zināmajiem neirālajiem marķieriem (Topalovic et al., 2017).

SOX3 transkripcijas faktors regulē galvas rajona nervu plātnītes un kraniālo nervu kores šūnu attīstību (Schock and LaBonne, 2020). Gēns ir rīkles apvidus attīstības regulators, jo ietekmē rīkles kabatu veidošanos, nodrošinot rīkles apvidus segmentāciju un katra žaunu loka individuālo attīstību (Rizzoti and Lovell-Badge, 2007). Pelēm ir aprakstīta dažādu *SOX* gēnu ekspresija aukslēju un zobu aizmetņos, bet gēna izdale pašos galvas apvidos ir neizteikta vai arī nav atrodama vispār (Watanabe et al., 2016; Kawasaki et al., 2015).

SOX3 transkripcijas faktora darbības traucējumi saistās ar dažādām cilvēka kraniofaciālā rajona attīstības anomālijām, piemēram, epitēlijķermenīšu aplāziju (Gordon and Levine, 2018), hipofīzes hipoplāziju (Alatzoglou et al., 2009), kraniofaringeālā kanāla persistenci un arī ar iespējamu iesaisti sejas šķeltņu attīstībā (Alatzoglou et al., 2014).

1.13. *WNT3A* gēns

WNT gēni pirmoreiz tika aprakstīti 1982. gadā, un tam līdzīgi gēni ir atrasti arī *Drosophila melanogaster* (*wnt* gēni) un pelēm (*Int* gēni) (He et al., 2015). *WNT* gēni kodē 19 dažādas *WNT* olbaltumvielas, kas ir ar cisteīnu bagāti sekretori glikoproteīni (He et al., 2015; Bodine, 2008). *WNT* proteīni piesaistās šūnas virsmas receptoriem, iesaistās šūnu parakrīnajā un autokrīnajā regulācijā ar *WNT* signālceļa palīdzību (He et al., 2015).

WNT3A kopā ar citiem *WNT* gēniem nodrošina galvas apvidus morfoģenēzes procesa regulāciju, kas ir sīkāk pētīta pelēm. Šeit *Wnt3a* gēns ekspresējas augšlūpas apvidū, primārajās un sekundārajās aukslējās, un tiek uzskatīts, ka tas regulē sejas reģionālo attīstību (Chiquet et al., 2008). *WNT3A* proteīns veicina mezenhīmas šūnu diferenciāciju osteoblastos (Martínez-Gil et al., 2022), ietekmē mezenhīmas šūnu proliferāciju (He et al., 2015) un regulē galvas ektomezenhīmas attīstību (Marchini et al., 2021). Kopā ar *WNT8A* un *WNT11* *WNT3A* proteīns iesaistās galvas nervu kores šūnu migrācijā un regulē galvas nervu kores šūnu diferenciāciju žaunu lokos, kur ietekmē galvas un kakla rajona saistaudu un kaulaudu attīstību (Chiquet et al., 2008).

WNT3A gēns cilvēkos iepriekš uzskatīts par potenciālu šķeltņu kandidātģēnu (Andrade Filho et al., 2011), un *WNT3A* gēna mutācijas Eiropas izcelsmes cilvēku populācijās ir saistītas ar sejas šķeltņu attīstību (Slavec et al., 2022).

1.14. *WNT9B* gēns

WNT9B gēns, kurš pieder *WNT* gēnu saimei, iepriekš aprakstīts kā potenciāls šķeltņu kandidātģēns (Fontoura et al., 2015; Chiquet et al., 2008; Lan et al., 2006). Uzskata, ka *WNT9B* proteīns aktivē klasisko β -katenīna atkarīgo *WNT* signālceļu sejas un aukslēju attīstības laikā (Lan et al., 2006).

Cilvēkam *WNT9B* gēns ir atrodams 17. hromosomā (reģionā 17q21), tuvu pie *WNT3* gēna (Bergstein et al., 1997). Pelēm šis gēns kopā ar *WNT3* gēnu atrodas 11. hromosomas *clfl* rajonā, kuru saista ar lūpas un aukslēju šķeltņu attīstību (Chiquet et al., 2008).

Pelēm *WNT9B* proteīns ir iesaistīts augšžokļa un lūpas attīstības regulācijā, jo ietekmē mezenhīmas šūnu augšanu, proliferāciju un diferenciāciju (Jin et al., 2020; Jin et al., 2012). Pelēm ar *Wnt9b* gēna *knockout* mutācijām abās alēlēs rodas lūpas šķeltne ar aukslēju šķeltņi vai bez tās (Juriloff et al., 2006). Tāpat dzīvniekiem novērots, ka *Wnt9b* saturošas ektodermas ablācija arī var izraisīt lūpas un aukslēju šķeltnes attīstību (Jin et al., 2012).

Cilvēkiem *WNT9B* gēna defekti ir aprakstīti saistībā ar šķeltņu attīstību (Fontoura et al., 2015; Chiquet et al., 2008).

Ir veikti dažādi pētījumi par šķeltnu kandidātģēniem – BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, MSX2, PAX7, PAX9, RYK, SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B. Šie pētījumi ir nepilnīgi, jo nav veikti cilvēkam, īpaši lūpas un aukslēju šķeltnu audos to apgrūtinātās ieguves dēļ. Tādēļ šī darba akcents tiek vērsts uz BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, MSX2, PAX7, PAX9, RYK, SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B ģēnu proteīnu atradi cilvēka vienpusējas lūpas šķeltnes, divpusējas lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnes audos.

2. Materiāls un metodes

2.1. Morfoloģiski pētāmais materiāls un pacientu grupu raksturojums

2.1.1. Pacientu grupas

Sejas šķeltņu audu materiāls tika iegūts Rīgas Stradiņa universitātes (RSU) Stomatoloģijas institūta Lūpu, aukslēju un sejas šķeltņu centrā laika periodā no 2003. līdz 2020. gadam. Mīkstie lūpas un aukslēju šķeltnes audi tika savākti primārās lūpu plastikas un mīksto aukslēju plastikas laikā. Vienpusējām lūpas caurejošām lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltnēm primārā lūpas plastika tika veikta atbilstoši Millarda metodei (Millard, 1964), bet abpusējām lūpas šķeltnēm – pēc *Veau* metodes modifikācijas (Lehman et al., 1990). Mīksto aukslēju plastika tika veikta ar mugurējā *vomer* lēvera metodi (Robin et al., 2006).

Rutīnas histoloģiskās un imūnhistoķīmiskās metodes lietošanai pētāmais audu materiāls tika apstrādāts RSU Anatomijas un antropoloģijas institūta (AAI) Morfoloģijas laboratorijā.

Audu materiāla iegūšanas procesā netika radīts kaitējums pacientu veselībai. Pētījums bija īstenots saskaņā ar RSU Ētikas komitejas atļaujām (Nr.6-1/10/11 (24.09.2020.) un 22.05.2003.) (skatīt 2. un 3. pielikumu).

Pacienti ar nesindromisku caurejošu lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni tika sadalīti trijās grupās. Lūpas audi tika iegūti no 36 pacientiem ar vienpusēju lūpas šķeltni, veidojot pirmo pacientu grupu. Otro grupu veidoja 13 pacienti ar divpusēju lūpas šķeltni. Trešo grupu veidoja mīksto aukslēju audi, kas tika iegūti no 26 pacientiem. Kopskaitā tika izvērtēti 75 šķeltņu audu paraugi.

Pirmajā grupā bija iekļauti bērni ar vienpusēju aukslēju šķeltni. Vienpusējas lūpas šķeltnes audi tika iegūti no pacientiem vecumā no 3 mēnešiem līdz 1 gadam 5 mēnešiem. Šo grupu veidoja 36 pacienti, no kuriem 16 bija meitenes, bet 20 bija zēni. Informācija par pirmo pacientu grupu ir apkopota 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Pirmā pacientu grupa ar vienpusēju lūpas šķeltni

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts audu materiāls
1.	247	3 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
2.	258	3 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
3.	277	3 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika

2.1. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts ausu materiāls
4.	299	3 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
5.	306	3 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
6.	311	3 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
7.	325	3 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
8.	347	3 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
9.	359	3 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
10.	364	3,5 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
11.	372	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
12.	321	4 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
13.	259	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
14.	262	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
15.	279	4 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
16.	283	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
17.	284	4 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
18.	289	4 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
19.	288	4 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
20.	300	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
21.	303	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
22.	324	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
23.	328	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
24.	339	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
25.	348	4 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
26.	352	4 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
27.	358	4 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika

2.1. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts audu materiāls
28.	365	4,5 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
29.	327	5 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
30.	367	5 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
31.	333	6 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
32.	302	7 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
33.	363	8 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
34.	37	1 gads 2 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika
35.	182	1 gads 2 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Lūpas plastika
36.	223	1 gads 5 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Lūpas plastika

Otrajā grupā tika iekļauti bērni ar divpusēju lūpas šķeltņi. Divpusējas lūpas šķeltnes audi šajā grupā tika iegūti no bērniem vecumā no 4 mēnešiem līdz 1 gadam 5 mēnešiem. Šo grupu veidoja 13 pacienti, no kuriem 3 bija meitenes, bet 10 bija zēni. Informācija par otro pacientu grupu ir apkopota 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Otrā pacientu grupa ar divpusēju lūpas šķeltņi

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts audu materiāls
1.	267	4 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
2.	212	4 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
3.	213	4 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
4.	238	4 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
5.	264	4 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
6.	194	5 mēneši	Sieviete	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
7.	177	6 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
8.	197	6 mēneši	Sieviete	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts audu materiāls
9.	204	7 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
10.	206	7 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
11.	318	1 gads 1 mēnesis	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
12.	67	1 gads 4 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika
13.	369	1 gads 5 mēneši	Sieviete	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Lūpas plastika

Trešo grupu veidoja mīksto aukslēju audi. Mīksto aukslēju audi tika iegūti no bērniem vecumā no 8 mēnešiem līdz 1 gadam 3 mēnešiem. Šo grupu veidoja 26 pacienti, no kuriem 8 bija meitenes, bet 18 bija zēni. Informācija par trešo pacientu grupu ir apkopota 2.3. tabulā.

2.3. tabula

Trešā pacientu grupa ar mīksto aukslēju šķeltņi

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts audu materiāls
1.	237	8 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Mīksto aukslēju plastika
2.	285	8 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Mīksto aukslēju plastika
3.	319	8 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto aukslēju plastika
4.	335	8 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Mīksto aukslēju plastika
5.	240	9 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Mīksto aukslēju plastika
6.	261	9 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Mīksto aukslēju plastika
7.	276	9 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne	Mīksto aukslēju plastika
8.	332	9 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne labajā pusē	Mīksto aukslēju plastika
9.	366	9 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto aukslēju plastika
10.	178	10 mēneši	Sieviete	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto aukslēju plastika
11.	187	10 mēneši	Vīrietis	Caurejoša vienpusēja lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto aukslēju plastika

2.3. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts ausu materiāls
12.	233	10 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne labajā pusē	Mīksto auslēju plastika
13.	271	10 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
14.	273	10 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne	Mīksto auslēju plastika
15.	287	10 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
16.	331	10 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
17.	215	10 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
18.	353	10 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
19.	39	11 mēneši	Vīrietis	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne	Mīksto auslēju plastika
20.	275	11 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
21.	298	11 mēneši	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
22.	196	11 mēneši	Sieviete	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne	Mīksto auslēju plastika
23.	245	1 gads	Sieviete	Divpusēja caurejoša lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne	Mīksto auslēju plastika
24.	362	1 gads	Sieviete	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne labajā pusē	Mīksto auslēju plastika
25.	216	1 gads 2 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika
26.	374	1 gads 3 mēneši	Vīrietis	Caurejoša viļņpusēja lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltne kreisajā pusē	Mīksto auslēju plastika

2.1.2. Kontroles grupas

Pētījums ar kontroles grupām veikts saskaņā ar RSU Ētikas komitejas atļauju Nr. 2- PĒK-4/492/2022 (21.11.2022.) (skatīt 4. pielikumu).

Daļa kontroles audu materiāla tika iegūta augšējās lūpas saitītes plastikas operācijas laikā, kad tika ievākta 2013. gadā no bērniem SIA "RSU Stomatoloģijas institūts". Šo kontroles grupu veidoja 7 pacienti (4 zēni un 3 meitenes) vecumā no 8 līdz 14 gadiem. Augšlūpas saitītes materiāls pirmajai kontroles grupai tika lietots, lai izvērtētu BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, MSX2, PAX7, PAX9 un RYK proteīnu imūnreaktivitāti un to salīdzinātu ar pacientu audu grupām. Audu materiāla ieguves procesā netika veikts kaitējums pacientu veselībai.

Tā kā pieejamais mīksto kontroles audu materiāls bija ļoti ierobežots un nebija pietiekams visu gēnu proteīnu izvērtējumam, tad papildus tika ievākts lūpas audu materiāls no Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūta vēsturiskās kolekcijas, lai veidotu otro kontroles grupu. Otro kontroles grupu veidoja augļu un jaundzimušo lūpas audu materiāls, kas tika lietots SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B imūnhistoķīmiskajam novērtējumam un salīdzinājumam ar pacientu grupām.

Informācija par kontroles grupu pacientiem ir apskatāma 2.4. un 2.5. tabulā.

2.4. tabula

Informācija par pirmās kontroles grupas pacientiem, kuros izvērtēta BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, MSX2, PAX7, PAX9 un RYK imūnreaktivitāte

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze	Veiktā operācija, kurā iegūts audu materiāls
1.	K1/1	5 gadi	Sieviete	Augšlūpas saitītes hipertrofija	Augšlūpas saitītes plastika
2.	K1/2(1)	7 gadi	Vīrietis	Augšlūpas saitītes hipertrofija	Augšlūpas saitītes plastika
3.	K2/1	8 gadi	Vīrietis	Augšlūpas saitītes hipertrofija	Augšlūpas saitītes plastika
4.	K1/2(2)	9 gadi	Vīrietis	Augšlūpas saitītes hipertrofija	Augšlūpas saitītes plastika
5.	K5	10 gadi	Vīrietis	Augšlūpas saitītes hipertrofija	Augšlūpas saitītes plastika
6.	K18	13 gadi	Sieviete	Augšlūpas saitītes hipertrofija	Augšlūpas saitītes plastika
7.	K11	14 gadi	Sieviete	Augšlūpas saitītes hipertrofija	Augšlūpas saitītes Plastika

Informācija par otrās kontroles grupas pacientiem, no kuriem iegūti augšlūpas audi, kuros izvērtēta SHH, SOX3, WNT3A, WNT9B imūnreaktivitāte

Nr.	Šifrs	Vecums	Dzimums	Klīniskā diagnoze
1.	1a	Jaundzimušais	Vīrietis	Ap kaklu apvijušās nabas saites izraisīta nāve
2.	2a	Jaundzimušais	Sieviete	Ap kaklu apvijušās nabas saites izraisīta nāve
3.	4a	24 attīstības nedēļas	Sieviete	Medicīniskais aborts mātes veselības stāvokļa dēļ
4.	5a	Jaundzimušais	Sieviete	Zīdaiņu pēkšņās nāves sindroms
5.	6a	Jaundzimušais	Sieviete	Zīdaiņu pēkšņās nāves sindroms

2.2. Morfoloģiskās metodes

2.2.1. Audu materiāla fiksācija

Audu fiksācija ar Stefanini šķīdumu (Stefanini et al., 1967) 24 stundas tika veikta RSU Stomatoloģijas institūta Lūpu, aukslēju un sejas šķeltņu centrā uzreiz pēc audu paraugu ievākšanas lūpas plastikas un mīksto aukslēju plastikas operāciju laikā. Fiksējošais šķīdums bija pagatavots no 20 g paraformaldehīda, 150 ml pikrīnskābes, 425 ml Sorensa fosfātu bufera ar pH 7,2 un 425 ml destilēta ūdens. Paraformaldehīds tika izšķīdināts destilētā ūdenī, tam pievienoja buferšķīdumu un pikrīnskābi. Iegūto šķīdumu uzglabāja ledusskapī. Audu materiāls pēc fiksācijas tika aizvests uz RSU AAI Morfoloģijas laboratoriju, kur veikta tālāka audu apstrāde.

Fiksētais audu materiāls tika skalots ar *Tyrode* šķīdumu 24 stundas, tad atūdeņots, lietojot pieaugošas koncentrācijas spirta šķīdumus atbilstoši šādai shēmai: 70° spirta šķīdums 30 minūtes, 80° spirta šķīdums 1–2 stundas, 96° spirta šķīdums 3–4 stundas, 96° spirta šķīdums 24 stundas. Audu paraugu attaukošanu veica ksilolā I un ksilolā II 30 minūtes katrā, bet pēc tam audus noturēja parafīnā I vienu stundu un parafīnā II divas stundas. Audus tad ieguldīja izkausētā parafīnā, izveidojot parafīna blokus speciālās kasetēs, kur parafīns bija ieliets ar dozatora palīdzību. Parafīna blokus izmantoja 3–4 μm plānu audu griezumu izgatavošanai, lietojot pusautomātisko rotācijas mikrotomu (*Leica RM2245, Leica Biosystems Richmond Inc.*, Amerikas Savienotās Valstis). Sagatavotie audu griezumi tika novietoti uz priekšmetstikliņiem (*HistoBond®+, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Vācija*). Pēc tam priekšmetstikliņus ar audu griezumiem ievietoja termostatā žāvēšanai 20–60 minūtes 56° temperatūrā.

Tālākās darbības un apstrādes metodes tika veiktas atbilstoši rutīnas histoloģiskai krāsošanas un imūnhistoķīmijas metodei.

2.2.2. Rutīnas histoloģijas krāsošanas metode

Lai iegūtu pārskata morfoloģisko ainu, tika īstenota rutīnas audu histoloģiskā krāsošana ar hemotoksilīnu un eozīnu. Audu griezumi, kuri bija izžāvēti termostatā un atradās uz priekšmetstikliņiem, tika deparafinizēti ksilolā I (piecas minūtes) un ksilolā II (piecas minūtes). Tika veikta tālāka audu griezumu rehidratācija ar pakāpeniski zemākas koncentrācijas spirtiem (spirtā I 96° trīs minūtes, spirtā II 96° trīs minūtes, spirtā III 70° trīs minūtes). Pēc tam veikta audu griezumu krāsošana ar hemotoksilīnu (kods 05-M06002, *Mayer's Hematoxylin*, *Bio Optica Milano S.p.A.*, Itālija) un eozīnu (kods 05-B10003, *Eosin Y alcoholic solution*, *Bio Optica Milano S.p.A.*, Itālija). Pēc krāsošanas tika veikta skalošana ar tekošu ūdeni, tad tālāka dehidratācija ar pieaugošas koncentrācijas spirtiem (spirtā I 70° trīs minūtes, spirtā II 96° trīs minūtes, spirtā III 96° trīs minūtes) un dzidrināšana ar ksilolu un karboksiksilolu. Tad uz priekšmetstikliņiem tika uzpildināta histoloģiskā līme (kods 6900002, *Paul Marienfeld GmbH & Co. KG*, Vācija) un paraugi pārklāti ar segstikliņiem (*Carl Roth GmbH + Co*, Vācija) (Lillie et al., 1976; Feldman and Wolfe, 2014).

Iegūtajos pārskata mikropreparātos bazofilās struktūras iekrāsojās zili violetas, bet acidofilās struktūras iekrāsojās sārtas. Hematoksilīnā un eozīnā krāsotos preparātus analizēja ar gaismas mikroskopu (*Leica DM500RB*, *Leica Biosystems Richmond Inc.*, Amerikas Savienotās Valstis), un tie tika apstrādāti ar datorprogrammu *Image-Pro Plus*. Audu paraugu mikrofotogrāfijas tika fiksētas ar digitālo kameru (*Leica DC 300F*, *Leica Microsystem AG*, Vācija).

2.2.3. Imūnhistoķīmijas metodes raksturojums un reaģenti

Izmantojot biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi (Hsu et al., 1981), audu paraugos tika noteikts BarH-līdzīgais homeobokss-1 (BARX1), mazāk distālais homeobokss-4 (DLX4), dakšas galvas bokss E1 (FOXE1), homeobokss B3 (HOXB3), muskuļu segmentu homeobokss-2 (MSX2), pāra boksa transkripcijas faktors-7 (PAX7), pāra boksa transkripcijas faktors-9 (PAX9), receptoram līdzīgā tirozīnkināze (RYK), *sonic hedgehog* proteīns (SHH), SRY-boksa transkripcijas faktors-3 (SOX3), bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A (WNT3A), bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B (WNT9B).

Paraugu fiksācija, audu materiāla sagatavošana ieguldīšanai parafīna blokos un tālāka audu griezumu sagatavošana uz priekšmetstikliņiem tika īstenota pēc iepriekšējā nodaļā (skatīt 2.2.1. nodaļu) paskaidrotās shēmas. Audu griezumi, kas atradās uz priekšmetstikliņiem un tika izžāvēti termostatā, tika deparafinizēti (piecas minūtes ksilolā I un pēc tam piecas minūtes ksilolā II). Tam sekoja dehidratācija pakāpeniski zemākas koncentrācijas spirtos (trīs minūtes

spirtā I 96°, trīs minūtes spirtā II 96°, trīs minūtes spirtā III 70°). Audi pēc deparafinizācijas tika ievietoti turētājā, lai veiktu skalošanu ar TRIS bufera šķīdumu (kods 2017X12508, *Diapath S.p.A.*, Itālija) divas reizes pa piecām minūtēm, pēc tam veikta vārīšana EDTA buferī (kods 2017X02239, *Diapath S.p.A.*, Itālija) mikroviļņu krāsnī līdz pat 20 minūtēm. Paraugus pēc atdzišanas mazgāja divas reizes pa piecām minūtēm ar TRIS bufera šķīdumu. Lai bloķētu endogēnās peroksidāzes aktivitāti, audu paraugiem tika lietots 3 % peroksīda šķīdums desmit minūtes, pēc kā tika veikta skalošana ar TRIS bufera šķīdumu divas reizes pa piecām minūtēm. Lai mazinātu fona krāsojumu, audu paraugiem tika lietots bloķējošais serums 20 minūtes. Visi analizējamie audu paraugi tika inkubēti ar primāro antivielu vienu stundu. Informācija par antivielām, kas tika izmantotas imūnhistoķīmijai, redzama 2.6. tabulā. Visas pētījumā lietotās antivielas tika atšķaidītas ar *Antibody Diluent* (kods 938B-05, *Cell Marque™*, Amerikas Savienotās Valstis).

2.6. tabula

Imūnhistoķīmijai lietoto antivielu saraksts

Nr.	Antiviela	Kods	No kā iegūts	Darba atšķaidījums	Ražotājs
1.	<i>BARX1</i>	LS-C29810	Truša, poliklonāla	1:100	<i>LifeSpan BioSciences, Inc., Seattle, Washington, Amerikas Savienotās Valstis</i>
2.	<i>DLX4</i>	orb160775	Truša, poliklonāla	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
3.	<i>FOXE1</i>	ab5080	Kazas, poliklonāla	1:500	<i>Abcam, Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
4.	<i>HOXB3</i>	sc28606	Truša, poliklonāla	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, Amerikas Savienotās Valstis</i>
5.	<i>MSX2</i>	ab223692	Truša, poliklonāla	1:100	<i>Abcam, Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
6.	<i>PAX7</i>	ab55494	Peles, monoklonāla	1:100	<i>Abcam, Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
7.	<i>PAX9</i>	orb11242	Truša, poliklonāla	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
8.	<i>RYK</i>	orb38371	Truša, poliklonāla	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
9.	<i>SHH</i>	LS-C49806	Truša, poliklonāla	1:100	<i>LifeSpan BioSciences, Inc., Seattle, Washington, Amerikas Savienotās Valstis</i>
10.	<i>SOX3</i>	orb158460	Truša, poliklonāla	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
11.	<i>WNT3A</i>	ab19925	Truša, poliklonāla	1:800	<i>Abcam, Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>
12.	<i>WNT9B</i>	ab151220	Truša, poliklonāla	1:100	<i>Abcam, Cambridge, Apvienotā Karaliste</i>

Antivielām, kas bija peles vai truša izcelsmes, tika lietota *HiDef Detection™ HRP Polymer* (kods 954D-30, *Cell Marque™*, Amerikas Savienotās Valstis) krāsošanas sistēma. Pēc primārās antivielas inkubācijas un trīskārtējas skalošanas TRIS buferī tika izmantots *HiDef Detection™* reakcijas amplifikators (kods 954D-31, *Cell Marque™*, Amerikas Savienotās Valstis) istabas temperatūrā 10 minūtes. Preparātus pēc tam skaloja trīs reizes pa piecām minūtēm ar TRIS bufera šķīdumu, pēc kā tika pievienots *HiDef Detection™ HRP* polimēra iezīmētājs (kods 954D-32, *Cell Marque™*, Amerikas Savienotās Valstis) un veikta inkubācija istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas paraugi tika atkārtoti skaloti trīs reizes pa piecām minūtēm ar TRIS bufera šķīdumu. Pēc tam audus pārklāja ar *DAB Substrate Kit* hromogēno sistēmu (kods 957D-60, *Cell Marque™*, Amerikas Savienotās Valstis) un veica audu inkubāciju istabas temperatūrā līdz 10 minūtēm, lai iegūtu imūnpozitīvo struktūru brūno krāsojumu.

Antivielām, kas bija kazas izcelsmes, tika lietota *ImmunoCruz™ ABC* (kods sc-2023, *Santa Cruz Biotechnology, Inc.*, Amerikas Savienotās Valstis) krāsošanas sistēma. Lietojot ABC krāsošanas sistēmu, preparāti tika inkubēti ar 1,5 % bloķēšanas serumu TRIS bufera šķīdumā istabas temperatūrā līdz vienai stundai. Pēc tam audu paraugiem veica inkubāciju ar primāro antivielu vienu stundu istabas temperatūrā, pēc kā tika veikta skalošana trīs reizes pa piecām minūtēm ar TRIS bufera šķīdumu. Audu paraugi pēc tam tika inkubēti ar biotinizētu kazas imunoglobulīnu (biotīnu saturošu sekundāro antivielu) 30 minūtes un pēc tam atkal skaloti trīs reizes pa piecām minūtēm ar TRIS bufera šķīdumu. Vēlāk tika pievienots avidīna un biotīna-mārrutku peroksidāzes komplekss un īstenota audu inkubācija 30 minūtes istabas temperatūrā, kam sekoja skalošana trīs reizes pa piecām minūtēm ar TRIS bufera šķīdumu. Pēc tam audus pārklāja ar *DAB Substrate Kit* hromogēno sistēmu un veica audu inkubāciju istabas temperatūrā līdz 10 minūtēm, lai iegūtu imūnpozitīvo struktūru brūno krāsojumu.

Neatkarīgi no krāsošanas sistēmas veida pēc inkubācijas ar hromogēno substrātu paraugi tika skaloti tekošā ūdenī un veikta kontrastkrāsošana divas minūtes ar hematoksilīnu (kods 05-M06002, *Mayer's Hematoxylin, Bio Optica Milano S.p.A.*, Itālija). Noslēgumā visi sagatavotie preparāti tika dehidratēti ar pieaugošas koncentrācijas (70–96°) spirtu, bet dzidrināšana veikta ar ksilolu un karboksiksilolu. Nokrāsotus preparātus analizēja ar gaismas mikroskopu (*Leica DM500RB, Leica Biosystems Richmond Inc.*, Amerikas Savienotās Valstis) un apstrādāja ar datorprogrammu *Image-Pro Plus*. Audu paraugu mikrofotogrāfijas tika fiksētas ar digitālo kameru (*Leica DC 300F, Leica Microsystem AG*, Vācija).

Visām preparātu sērijām tika pagatavotas pozitīvas kontroles antivielu ražotāju norādītajos audos, kurās vienmēr iespējams novērot pozitīvu reakciju. Negatīvai kontrolei tika izmantoti preparātu griezumi, kuros primārā antivielā aizvietota ar *Antibody Diluent* antivielu atšķaidītāju.

2.3. Datu apstrādes metodes

Visu mikropreparātu pārskata griezumos tika veikts novērtējums pēc šādiem kritērijiem:

- 1) pēc virsmas epitēlija morfoloģiskajām īpatnībām (vakuolizācija epitēlijšūnās, bazālā slāņa šūnu proliferācija, hiperplāzija, intraepitēliāla iekaisuma šūnu infiltrācija, pārragojuma pakāpe);
- 2) pēc subepitēliālo saistaudu šūnu un saistaudu šķiedru raksturojuma (fibroze);
- 3) ir vai nav iekaisuma šūnu infiltrācija.

2.3.1. Puskvantitatīvā skaitīšanas metode

Imūnhistoķīmiski pozitīvo struktūru relatīvais daudzums tika noteikts atbilstoši puskvantitatīvajai skaitīšanas metodei (Pilmane et al., 1998). Struktūru relatīvais daudzums tika izvērtēts piecos nejauši izvēlētos redzes laukos katrā griezumā. Tālākajai analīzei tika lietots mediānais struktūru daudzums katrā no šiem redzes laukiem. Izmantotie apzīmējumi ir skatāmi 2.7. tabulā.

2.7. tabula

Kritēriji imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma izvērtēšanai

Apzīmējums	Apzīmējuma skaidrojums
0	Redzes laukā nav nevienas imūnreaktīvas struktūras
0/+	Redzes laukā retas imūnreaktīvas struktūras
+	Redzes laukā maz imūnreaktīvu struktūru
+ / ++	Redzes laukā maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru
++	Redzes laukā vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru
++ / +++	Redzes laukā vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru
+++	Redzes laukā daudz imūnreaktīvu struktūru
+++ / ++++	Redzes laukā daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru
++++	Redzes laukā ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru

2.3.2. Statistiskās metodes

Pētījuma dati tika raksturoti ar aprakstošās statistikas metodēm. Katra šķeltnu kandidātģēnu proteīna imūnreaktivitāte katrā no grupām tika aprakstīta, aprēķinot mediānu un starpkvartiļu amplitūdu. Datu apstrādei tika izmantoti neparametriskie statistikas testi, jo pētījuma izlase neatbilst normālsadalījumam. Statistiski nozīmīgas atšķirības starp vairākām

nesaisītām pētījumā iekļautām grupām tika noteiktas ar Kraskela–Volisa (*Kruskal-Wallis*) H testu (Chan and Walmsley, 1997). Statistiski nozīmīgas atšķirības starp pētījuma grupām un kontroles grupas datiem tika noteiktas ar Manna–Vitnija (*Mann-Whitney*) U testu (Altman, 1990). Divu mainīgu lielumu savstarpējas korelācijas izvērtēšanai tika lietots Spīrmena (*Spearman*) rangu korelācijas koeficients (Forthofer et al., 2007). Lai izveidotu rangu skalu, puskvantitatīvās metodes rezultāti tika pārveidoti skaitliskās vērtībās, kuras ir aprakstītas 2.8. tabulā. Aprēķinātās korelācijas tika interpretētas šādi: 0,0–0,2 tika vērtēta kā ļoti vāja korelācija, 0,2–0,4 – vāja korelācija, 0,4–0,6 – vidēji cieša korelācija, 0,6–0,8 – cieša korelācija, 0,8–1,0 – ļoti cieša korelācija. Rezultāti tika uzskatīti par statistiski nozīmīgiem, ja p vērtība bija < 0,05. Datu statistiskā analīze tika nodrošināta ar *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) *Statistics* 25.0 versiju (*IBM Company, Chicago, Illinois, Amerikas Savienotās Valstis*).

2.8. tabula

Puskvantitatīvās metodes rezultātu pārveide statistiskai analīzei

Apzīmējums	Apzīmējuma skaidrojums	Apzīmējuma skaitliskā vērtība aprēķiniem
0	Redzes laukā nav nevienas imūnreaktīvas struktūras	0,0
0/+	Redzes laukā retas imūnreaktīvas struktūras	0,5
+	Redzes laukā maz imūnreaktīvu struktūru	1,0
+ / ++	Redzes laukā maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru	1,5
++	Redzes laukā vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru	2,0
++ / +++	Redzes laukā vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru	2,5
+++	Redzes laukā daudz imūnreaktīvu struktūru	3,0
+++ / ++++	Redzes laukā daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru	3,5
++++	Redzes laukā ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru	4,0

3. Rezultāti

3.1. Morfoloģiskā atrade

3.1.1. Rutīnas histoloģijas atrade kontroles grupu pacientiem

Pirmās kontroles grupas (pacienti, kam veikta augšlūpas saitītes plastika) preparātos, kuri tika iegūti no septiņiem pacientiem augšlūpas saitītes plastikas laikā, tika noteikta vispārpieņemtajai normai atbilstoša histoloģiskā atrade (skatīt 3.1. attēlu pielikumā). Visos mikropreparātos bija redzams daudzkārtains plakans epitēlijs un gļotādas saistaudi. Trijos preparātos bija manāmi atsevišķi mazie siekalu dziedzeri. Vietām gļotādā bija sablīvēti saistaudi, relatīvi bagātīgi ar kolagēnajām šķiedrām, starp kurām izvietojās fibroblasti un atsevišķi makrofāgi.

Otrās kontroles grupas (pacienti, kuru mutes dobuma audi iegūti no RSU AAI vēsturiskās kolekcijas) preparātos, kas tika iegūti no piecu pacientu augšlūpas audiem, arī tika konstatēta normai atbilstoša histoloģiskā atrade (skatīt 3.2. attēlu pielikumā). Tomēr bija atrodamas vairākas audu morfoloģiskās variācijas. Visos mikropreparātos tika atrasts daudzkārtains plakans epitēlijs un gļotās saistaudi, bet divos preparātos bija redzama epitēlija bazālā slāņa šūnu proliferācija. Trijos preparātos bija atrodami matu folikuli, četros preparātos bija redzama skeleta šķērsvītrotā muskulatūra, bet vienā preparātā bija arī atsevišķi lūpas mazo siekalu dziedzeru fragmenti.

3.1.2. Rutīnas histoloģijas atrade šķeltņu grupu pacientiem

Lūpas šķeltņu audu paraugos, kuri tika iegūti lūpas primārās plastikas laikā, un aukslēju šķeltnes audos, kurus ieguva mīksto aukslēju plastikas laikā, tika konstatēts mutes dobuma epitēlijs un gļotādas saistaudi. Visās trijās šķeltņu pacientu grupās rutīnas histoloģiskā atrade bija līdzīga relatīvi veselēm mutes dobuma gļotādas audiem, bet tika noteiktas atsevišķas morfoloģiskās variācijas.

Daļa šķeltņu audu morfoloģisko variāciju bija saskatāmas virsmas epitēlijā. Dažos audu paraugos bija redzama neliela virsmas epitēlijšūnu vakuolizācija, kas bija atrodama četros vienpusējas lūpu šķeltnes pacientos un vienā divpusējas lūpas šķeltnes pacientā (skatīt 3.3. un 3.4. attēlu pielikumā). Aukslēju šķeltnes pacientiem epitēlijšūnu vakuolizāciju nenovēroja. Dažos šķeltņu preparātos bija atrodama virsmas epitēlija bazālā slāņa šūnu nevienmērīga proliferācija (skatīt 3.5. attēlu pielikumā).

Atsevišķos mikropreparātos bija atrodams minimāls subepiteliāls iekaisuma šūnu infiltrāts, kas bija manāms septiņos aukslēju šķeltnes pacientos, piecos viopusējas lūpas šķeltnes pacientos un divos divpusējas lūpu šķeltnes pacientos. Dažos aukslēju šķeltņu audu paraugos kopā ar subepiteliālu iekaisuma šūnu infiltrātu bija redzamas fibrotiskas izmaiņas gļotādas saistaudos (skatīt 3.6. attēlu pielikumā).

3.2. Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltņu kandidātģēnu proteīnu raksturojums

3.2.1. BARX1 ģēna proteīns

BarH-līdzīgā homeoboksa-1 (BARX1) ģēna proteīns netika konstatēts (0) kontroles grupas epitēlijā. Lielākajā daļā kontroles pacientu saistaudu nebija atrodamas BARX1 pozitīvas šūnas (0), bet viena kontroles pacienta saistaudos BARX1 pozitīvas šūnas bija novērotas reti (0/+) (skatīt 3.1. tabulu un 3.7. attēlu pielikumā).

BarH-līdzīgā homeoboksa-1 (BARX1) ģēna proteīns viopusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā netika konstatēts (0), bet saistaudos BARX1 pozitīvās struktūras 18 pacientiem tika konstatētas maz (+), 11 pacientiem retas (0/+) BARX1 pozitīvas saistaudu šūnas, četriem pacientiem maz līdz vidēji daudz (+/++), bet četros gadījumos BARX1 pozitīvas šūnas saistaudos netika konstatētas (0) (skatīt 3.2. tabulu un 3.8. attēlu pielikumā).

BarH-līdzīgā homeoboksa-1 (BARX1) ģēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā netika konstatēts (0), bet saistaudos BARX1 pozitīvas šūnas sešos gadījumos tika konstatētas reti (0/+), divos gadījumos maz (+), vienā pacientā maz līdz vidēji daudz (+/++), bet četros gadījumos BARX1 pozitīvas šūnas saistaudos nebija atrodamas (0) (skatīt 3.3. tabulu un 3.9. attēlu pielikumā).

BarH-līdzīgā homeoboksa-1 (BARX1) ģēna proteīns aukslēju šķeltnes grupas epitēlijā netika konstatēts (0), bet saistaudos BARX1 pozitīvās šūnas pusē gadījumu tika konstatētas reti (0/+), bet otrā pusē gadījumu BARX1 pozitīvās šūnas netika konstatētas (0) (skatīt 3.4. tabulu un 3.10. attēlu pielikumā).

Statistiski nozīmīgas atšķirības epitēlijā netika atrastas starp šķeltņu pacientu grupām un kontroles grupu BARX1 ģēna proteīna imūnreaktivitātē ar Kraskela–Volisa H testu, bet **statistiski nozīmīga atšķirība tika noteikta saistaudos** starp visām šķeltņu grupām un kontroles grupu ($H = 27,921$, $df = 3$, $p < 0,001$) (skatīt 3.5. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības BARX1 ģēna proteīna imūnreaktivitātē netika noteiktas epitēlijā, bet saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības tika aprēķinātas starp kontroles grupas saistaudiem un viopusējas lūpas šķeltnes pacientu saistaudiem ($U = 17,50$, $p = 0,002$), starp viopusējas lūpas

šķeltnes un divpusējas lūpas šķeltnes saistaudiem ($U = 146,00$, $p = 0,035$) un starp viopusējas lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnes saistaudiem ($U = 149,50$, $p = < 0,001$) (skatīt 3.6. tabulu).

3.1. tabula

BARX1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums kontroles pacientu audos

Nr.	Šifrs	BARX1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	K1/1	0	0
2.	K1/2_1	0	0/+
3.	K1/2_2	0	0
4.	K2/1	0	0
5.	K5	0	0
Mediāna		0	0
IQR		0	0,25

Apzīmējumi: BARX1 – BarH-līdzīgais homeobokss-1, IQR – starpkvartīļu amplitūda. Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

3.2. tabula

BARX1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums viopusējas lūpas šķeltnes pacientu audos

Nr.	Šifrs	BARX1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	0	0
2.	258	0	+ / ++
3.	277	0	0 / +
4.	299	0	+
5.	306	0	0 / +
6.	311	0	0
7.	325	0	+ / ++
8.	347	0	0 / +
9.	359	0	+
10.	364	0	+ / ++
11.	372	0	0
12.	321	0	+
13.	259	0	+
14.	262	0	+
15.	279	0	0 / +
16.	283	0	+
17.	284	0	+
18.	289	0	+
19.	288	0	+
20.	300	0	0 / +
21.	303	0	+
22.	324	0	0 / +
23.	328	0	0 / +
24.	339	0	+
25.	348	0	0 / +
26.	352	0	+
27.	358	0	+

3.2. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	BARX1	
		Epitēlijs	Saistaudi
28.	365	0	+
29.	327	0	+
30.	367	0	+
31.	333	0	+
32.	302	0	0/+
33.	363	0	+ / ++
34.	37	0	0
35.	182	0	0/+
36.	223	0	0/+
Mediāna		0	+
IQR		0	0,5

Apzīmējumi: BARX1 – BarH-līdzīgais homeobokss-1, IQR – starpkvartiļu amplitūda. Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, + – maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, + / ++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.3. tabula

**BARX1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	BARX1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	0	0/+
2.	212	0	0
3.	213	0	0/+
4.	238	0	0/+
5.	264	0	0/+
6.	194	0	+
7.	177	0	0
8.	197	0	0
9.	204	0	0/+
10.	206	0	+
11.	318	0	+ / ++
12.	67	0	0
13.	369	0	0/+
Mediāna		0	0/+
IQR		0	0,75

Apzīmējumi: BARX1 – BarH-līdzīgais homeobokss-1, IQR – starpkvartiļu amplitūda. Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, + – maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, + / ++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.4. tabula

**BARX1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	BARX1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	0	0
2.	285	0	0/+
3.	319	0	0/+

3.4. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	BARX1	
		Epitēlijs	Saistaudi
4.	335	0	0
5.	240	0	0
6.	261	0	0
7.	276	0	0
8.	332	0	0/+
9.	366	0	0/+
10.	178	0	0/+
11.	187	0	0/+
12.	233	0	0
13.	271	0	0
14.	273	0	0/+
15.	287	0	0
16.	331	0	0/+
17.	215	0	0
18.	353	0	0/+
19.	39	0	0/+
20.	275	0	0
21.	298	0	0
22.	196	0	0/+
23.	245	0	0
24.	362	0	0/+
25.	216	0	0/+
26.	374	0	0
Mediāna		0	0 līdz 0/+
IQR		0	0,5

Apzīmējumi: BARX1 – BarH-līdzīgais homeobokss-1, IQR – starpkvartiļu amplitūda.
Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

3.5. tabula

BARX1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
BARX1 epitēlijā	Kontroles	5	40,50	0,000	3	1,000
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	40,50			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	40,50			
	Aukslēju šķeltnes	26	40,50			
BARX1 saistaudos	Kontroles	5	18,60	27,921	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	53,81			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	39,08			
	Aukslēju šķeltnes	26	18,60			

Apzīmējumi: BARX1 – BarH-līdzīgais homeobokss-1, df – brīvības pakāpe.

BARX1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
BARX1 epitēlija	Kontroles	5	21,00	105,00	90,00	1,000
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	21,00	756,00		
	Kontroles	5	9,50	47,50	32,50	1,000
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	9,50	123,50		
	Kontroles	5	16,00	80,00	65,00	1,000
	Aukslēju šķeltnes	26	16,00	416,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	25,00	900,00	234,00	1,000
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	25,00	325,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	31,50	1134,00	468,00	1,000
	Aukslēju šķeltnes	26	31,50	819,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	20,00	260,00	169,00	1,000
Aukslēju šķeltnes	26	20,00	520,00			
BARX1 saistaudos	Kontroles	5	6,50	32,50	17,50	0,002
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	23,01	828,50		
	Kontroles	5	6,00	30,00	15,00	0,095
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,85	141,00		
	Kontroles	5	12,10	60,50	45,50	0,305
	Aukslēju šķeltnes	26	16,75	435,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	27,44	988,00	146,00	0,035
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	18,23	237,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	40,35	1452,50	149,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	19,25	500,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	24,00	312,00	117,00	0,126
	Aukslēju šķeltnes	26	18,00	468,00		

Apzīmējumi: BARX1 – BarH-līdzīgais homeobokss-1.

3.2.2. DLX4 gēna proteīns

Mazāk distālā homeoboksa-4 (DLX4) gēna proteīns kontroles grupas epitēlijā bija nosakāms lielākajā daļā pacientu – vienam pacientam bija retas (0/+) DLX4 pozitīvas epitēlijšūnas, diviem pacientiem maz (+) DLX4 pozitīvu epitēlijšūnu, vēl diviem pacientiem vidēji daudz (++), vienam vidēji daudz līdz daudz (++/+++), bet vienam pacientam DLX4 pozitīvas šūnas epitēlijā netika atrastas (0). Kontroles pacientu saistaudos DLX4 gēna proteīns vienā gadījumā tika noteikts reti (0/+), četros gadījumos tika noteikts maz (+), vienā gadījumā maz līdz vidēji daudz (+/+), vienā gadījumā vidēji daudz (++), vēl vienā gadījumā vidēji daudz līdz daudz (++/+++) (skatīt 3.7. tabulu un 3.11. attēlu pielikumā).

Mazāk distālā homeoboksa-4 (DLX4) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā visbiežāk deviņos gadījumos tika konstatēts maz līdz vidēji daudz (+/+), un maz (+) astoņos gadījumos. Četriem pacientiem DLX4 epitēlijā tika konstatēts vidēji daudz (++), trim pacientiem vidēji daudz līdz daudz (++/+++), bet vienam pacientam daudz (+++). Pieciem

pacienti DLX4 epitēlijā tika noteikts reti (0/+), bet sešos gadījumos DLX4 epitēlijā netika konstatēts (0). DLX4 saistaudos pusē gadījumu tika konstatēts maz (+), bet 12 pacientiem – reti (0/+) (skatīt 3.12. attēlu pielikumā). DLX4 saistaudos četriem pacientiem tika noteikts daudz līdz vidēji daudz (+/+), bet vienā gadījumā vidēji daudz (++). Vienā gadījumā DLX4 saistaudos netika konstatēts (0) (skatīt 3.8. tabulu).

Mazāk distālā homeoboksa-4 (DLX4) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā četros gadījumos tika noteikts maz (+) (skatīt 3.13. attēlu pielikumā) un trijos gadījumos maz līdz vidēji daudz (+/+). Vienam pacientam DLX4 epitēlijā tika konstatēts vidēji daudz (++) un vēl vienam pacientam vidēji daudz līdz daudz (++/+). Atsevišķiem pacientiem DLX4 epitēlijā tika noteikts reti (0/+) vai tā vispār trūka (0). DLX4 gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes saistaudos lielākoties tika noteikts reti (0/+), bet piecos gadījumos – maz (+) (skatīt 3.9. tabulu).

Mazāk distālā homeoboksa-4 (DLX4) gēna proteīns aukslēju šķeltnes grupas epitēlijā 11 gadījumos tika noteikts reti (0/+). Septiņos gadījumos DLX4 epitēlijā netika konstatēts (0). Sešos gadījumos DLX4 epitēlijā tika noteikts maz (+), bet divos gadījumos vidēji daudz (++) . Aukslēju šķeltnes grupas saistaudos DLX4 divpadsmit gadījumos tika konstatēts maz (+) un 10 gadījumos reti (0/+) (skatīt 3.14. attēlu pielikumā). Vienam pacientam DLX4 saistaudos tika noteikts maz līdz vidēji daudz (+/+), bet vienam pacientam DLX4 saistaudos netika konstatēts (0) (skatīt 3.10. tabulu).

Statistiski nozīmīgas atšķirības tika atrastas gan epitēlijā ($H = 10,541$, $df = 3$, $p = 0,014$), **gan saistaudos** ($H = 9,395$, $df = 3$, $p = 0,024$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.11. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vītija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības DLX4 gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika noteiktas starp vienaspusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 264,50$, $p = 0,003$) un starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 99,00$, $p = 0,037$). Savukārt saistaudos statistiski nozīmīgās atšķirības tika noteiktas starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 16,50$, $p = 0,019$) un starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 39,50$, $p = 0,021$) (skatīt 3.12. tabulu).

**DLX4 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
kontroles pacientu audos**

Nr.	Šifrs	DLX4	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	K1/1	++	+
2.	K1/2_1	++/+++	++/+++
3.	K1/2_2	0	+ / ++
4.	K2/1	+	+
5.	K5	++	++
6.	K11	+	+
7.	K18	0/+	0/+
Mediāna		+	+
IQR		1,5	1,0

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

**DLX4 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
vienpusejas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	DLX4	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	0/+	+
2.	258	++/+++	+ / ++
3.	277	+++	++
4.	299	+	0/+
5.	306	0	+
6.	311	0/+	0/+
7.	325	+	+ / ++
8.	347	+	0/+
9.	359	0	0/+
10.	364	+ / ++	+ / ++
11.	372	++	0/+
12.	321	0	+
13.	259	+ / ++	+ / ++
14.	262	++	+
15.	279	+ / ++	+
16.	283	++/+++	+
17.	284	+ / ++	0/+
18.	289	+	+
19.	288	0/+	0
20.	300	+ / ++	+
21.	303	++/+++	+
22.	324	++	+
23.	328	0/+	+
24.	339	0/+	+
25.	348	0	0/+
26.	352	0	0/+
27.	358	0	0/+
28.	365	+	0/+
29.	327	+ / ++	+
30.	367	+	+

3.8. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	DLX4	
		Epitēlijs	Epitēlijs
31.	333	+/>++	+
32.	302	+/>++	0/+
33.	363	+	+
34.	37	+/>++	0/+
35.	182	+	+
36.	223	++	+
Mediāna		+	+
IQR		1,0	0,5

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.9. tabula

**DLX4 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	DLX4	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	+	0/+
2.	212	0	0/+
3.	213	+	0/+
4.	238	+/>++	+
5.	264	+/>++	0/+
6.	194	0/+	+
7.	177	++	+
8.	197	+/>++	+
9.	204	0/+	0/+
10.	206	+	0/+
11.	318	+	0/+
12.	67	++/>+++	+
13.	369	0	0/+
Mediāna		+	0/+
IQR		1,0	0,5

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++/>+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.10. tabula

**DLX4 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	DLX4	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	++	+
2.	285	0	+
3.	319	0/+	+
4.	335	0/+	0/+
5.	240	0	0/+

3.10. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	DLX4	
		Epitēlijs	Saistaudi
6.	261	+	+
7.	276	0/+	0/+
8.	332	0/+	+ / ++
9.	366	0/+	0/+
10.	178	+	+
11.	187	0/+	0/+
12.	233	+	+
13.	271	0/+	+
14.	273	++	+
15.	287	0	0/+
16.	331	0	+
17.	215	0	0
18.	353	0/+	0
19.	39	0/+	0/+
20.	275	+	+
21.	298	+	0/+
22.	196	0/+	0/+
23.	245	0/+	+
24.	362	+	+
25.	216	0	0/+
26.	374	0	0
Mediāna		0/+	0/+ līdz +
IQR		1,0	0,5

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

3.11. tabula

DLX4 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltņes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
DLX4 epitēlijā	Kontroles	7	49,79	10,541	3	0,014
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	47,38			
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	45,12			
	Aukslēju šķeltņes	26	29,33			
DLX4 saistaudos	Kontroles	7	60,36	9,395	3	0,024
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	44,72			
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	33,27			
	Aukslēju šķeltņes	26	36,08			
	Aukslēju šķeltņes	26	36,08			

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, df – brīvības pakāpe.

DLX4 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
DLX4 epitēlijā	Kontroles	5	23,29	163,00	117,00	0,784
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	21,75	783,00		
	Kontroles	5	11,36	79,50	39,50	0,643
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,04	130,50		
	Kontroles	5	23,14	162,00	48,00	0,060
	Aukslēju šķeltnes	26	15,35	399,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	25,47	917,00	217,00	0,695
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	23,69	308,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	37,15	1337,50	264,50	0,003
	Aukslēju šķeltnes	26	23,67	615,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	25,38	330,00	99,00	0,037
	Aukslēju šķeltnes	26	17,31	450,00		
DLX4 saistaudos	Kontroles	5	29,36	205,50	74,50	0,091
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	20,57	740,50		
	Kontroles	5	14,64	102,50	16,50	0,019
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	8,27	107,50		
	Kontroles	5	24,36	170,50	39,50	0,021
	Aukslēju šķeltnes	26	15,02	390,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	26,89	968,00	166,00	0,091
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	19,77	257,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	34,26	1233,50	368,50	0,122
	Aukslēju šķeltnes	26	27,67	719,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	19,23	250,00	159,00	0,780
	Aukslēju šķeltnes	26	20,38	530,00		

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4.

3.2.3. FOXE1 gēna proteīns

Dakšas galvas boksa E1 (FOXE1) gēna proteīns kontroles grupas epitēlijā tika konstatēts visos paraugos. Vienā gadījumā FOXE1 epitēlijā tika noteikts reti (0/+), vienā gadījumā maz (+), vienā gadījumā maz līdz vidēji daudz (+/++) un divos gadījumos vidēji daudz (++) . FOXE1 saistaudos tika noteikts galvenokārt maz (+), bet vienā gadījumā tika noteikts reti (0/+) un vēl vienā gadījumā maz līdz vidēji daudz (+/++) (skatīt 3.13. tabulu un 3.15. attēlu pielikumā).

Dakšas galvas boksa E1 (FOXE1) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā 12 pacientiem tika noteikts vidēji daudz (++) . Astoņos paraugos FOXE1 epitēlijā noteikts vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ un divos paraugos daudz (+++). Piecos paraugos FOXE1 epitēlijā tika noteikts maz līdz vidēji daudz (+/+++), vēl piecos paraugos maz (+) (skatīt 3.16. attēlu pielikumā), bet četros paraugos – reti (0/+). Saistaudos FOXE1 tika konstatēts visos vienpusējas lūpas šķeltnes audu paraugos. Trijos paraugos FOXE1 saistaudos noteikts reti

(0/+), piecos paraugos maz (+), četros paraugos maz līdz vidēji daudz (+/+), astoņos paraugos vidēji daudz (++) , sešos paraugos vidēji daudz līdz daudz (++/+++), septiņos paraugos daudz (+++), bet trijos audu paraugos daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) (skatīt 3.14. tabulu).

Dakšas galvas boksa E1 (FOX E1) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika noteikts visos paraugos. Vienam pacientam FOX E1 epitēlijā tika noteikts reti (0/+), četriem pacientiem maz (+), trim pacientiem maz līdz vidēji daudz (+/++) un pieciem pacientiem vidēji daudz (++) (skatīt 3.17. attēlu pielikumā). FOX E1 saistaudos netika atrasts (0) vienam pacientam, bet diviem pacientiem tika konstatēti reti (0/+), četriem pacientiem maz (+), diviem pacientiem maz līdz vidēji daudz (+/++) , trim pacientiem vidēji daudz līdz daudz (++/+++) un vienam pacientam daudz (+++) (skatīt 3.15. tabulu).

Dakšas galvas boksa E1 (FOX E1) gēna proteīns aukslēju šķeltnes grupas epitēlijā tika noteikts visos paraugos. Sešos gadījumos FOX E1 epitēlijā tika noteikts reti (0/+), deviņos gadījumos maz (+), trijos gadījumos maz līdz vidēji daudz (+/++) , piecos gadījumos vidēji daudz, bet trijos gadījumos daudz (+++). FOX E1 saistaudos tika konstatēti visos paraugos. Piecos gadījumos FOX E1 saistaudos tika noteikts reti (0/+ , deviņos gadījumos maz (+), četros gadījumos maz līdz vidēji daudz (+/++) , piecos gadījumos vidēji daudz (++) , divos gadījumos vidēji daudz līdz daudz (++/+++), bet vienā gadījumā daudz (+++) (skatīt 3.16. tabulu un 3.18. attēlu pielikumā).

Statistiski nozīmīga atšķirība FOX E1 gēna proteīna imūnreaktivitātē starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu netika noteikta epitēlijā, bet **tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība saistaudos** ($H = 13,713$, $df = 3$, $p = 0,003$) (skatīt 3.17. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīga atšķirība FOX E1 gēna proteīna imūnreaktivitātē saistaudos tika noteikta starp kontroles pacientiem un vienusējas lūpas šķeltnes pacientiem ($U = 28,00$, $p = 0,011$), starp vienusējas lūpas šķeltnes pacientiem un divpusējas lūpas šķeltnes pacientiem ($U = 148,50$, $p = 0,050$) un starp vienusējas lūpas šķeltnes pacientiem un aukslēju šķeltnes pacientiem ($U = 252,50$, $p = 0,002$) (skatīt 3.18. tabulu).

**FOXE1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
kontroles pacientu audos**

Nr.	Šifrs	FOXE1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	K1/1	++	+
2.	K1/2_1	+ / ++	+ / ++
3.	K1/2_2	0 / +	0 / +
4.	K2/1	++	+
5.	K5	+	+
Mediāna		+ / ++	+
IQR		1,25	0,5

Apzīmējumi: FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, IQR – starpkvartiļu amplitūda.
Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūra redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

**FOXE1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
vienpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	FOXE1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	0/+	+
2.	258	++	++/+++
3.	277	++/+++	+++
4.	299	+	+
5.	306	++/+++	+
6.	311	++	++
7.	325	+++	+++ / +++++
8.	347	++	+++
9.	359	++	++
10.	364	+ / ++	+++
11.	372	+++ / ++++	+++ / +++++
12.	321	+	++ / +++
13.	259	++ / +++	+++
14.	262	++ / +++	+++ / +++++
15.	279	+++	++ / +++
16.	283	++	++ / +++
17.	284	0/+	0/+
18.	289	+ / ++	+
19.	288	++	+ / ++
20.	300	++	0/+
21.	303	+	++
22.	324	++ / +++	+++
23.	328	++	++ / +++
24.	339	+	+
25.	348	0/+	++
26.	352	0/+	++
27.	358	+ / ++	++
28.	365	++ / +++	++
29.	327	+	+ / ++
30.	367	++	+ / ++
31.	333	+ / ++	++ / +++

3.14. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	FOXE1	
		Epitēlijs	Saistaudi
32.	302	+ / ++	0 / +
33.	363	++	+ / ++
34.	37	++ / +++	+++
35.	182	++	++
36.	223	++	+++
Mediāna		++	++
IQR		1,125	1,5

Apzīmējumi: FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, + / ++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ / +++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ / ++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.15. tabula

**FOXE1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	FOXE1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	++	++ / +++
2.	212	+ / ++	+
3.	213	+ / ++	+
4.	238	++	++ / +++
5.	264	++	++ / +++
6.	194	+	0 / +
7.	177	++	+ / ++
8.	197	+ / ++	+
9.	204	+	0 / +
10.	206	+	+
11.	318	+	+ / ++
12.	67	++	+++ / ++++
13.	369	0 / +	0
Mediāna		+ / ++	+
IQR		1,0	1,75

Apzīmējumi: FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, + / ++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ / +++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ / ++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.16. tabula

**FOXE1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	FOXE1	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	+++	++ / +++
2.	285	+	+
3.	319	0 / +	+
4.	335	0 / +	0 / +

3.16. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	FOXE1	
		Epitēlijs	Saistaudi
5.	240	0/+	+/>++
6.	261	++	+/>++
7.	276	+/>++	+
8.	332	+++	+++
9.	366	+	++
10.	178	++	+/>++
11.	187	++	+
12.	233	+	+/>++
13.	271	+	+
14.	273	++	+
15.	287	+	0/+
16.	331	+/>++	++
17.	215	+	0/+
18.	353	0/+	0/+
19.	39	+	++
20.	275	0/+	0/+
21.	298	0/+	+
22.	196	+++	++
23.	245	++	+++/>++++
24.	362	+	+
25.	216	+/>++	+
26.	374	+	++
Mediāna		+	+
IQR		1,375	1,0

Apzīmējumi: FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/>++++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.17. tabula

FOXE1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
FOXE1 epitēlijā	Kontroles	5	35,40	6,915	3	0,075
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	47,71			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	37,27			
	Aukslēju šķeltnes	26	33,12			
FOXE1 saistaudos	Kontroles	5	23,00	13,713	3	0,003
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	50,58			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	34,81			
	Aukslēju šķeltnes	26	32,75			

Apzīmējumi: FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, df – brīvības pakāpe.

FOXE1 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
FOXE1 epitēlijā	Kontroles	5	15,00	75,00	60,00	0,248
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	21,83	786,00		
	Kontroles	5	9,20	46,00	31,00	0,924
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	9,62	125,00		
	Kontroles	5	17,20	86,00	59,00	0,775
	Aukslēju šķeltnes	26	15,77	410,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	26,99	971,50	162,50	0,095
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	19,50	253,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	35,89	1292,00	310,00	0,021
	Aukslēju šķeltnes	26	25,42	661,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	22,15	288,00	141,00	0,418
	Aukslēju šķeltnes	26	18,92	492,00		
FOXE1 saistaudos	Kontroles	5	8,60	43,00	28,00	0,011
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	22,72	818,00		
	Kontroles	5	8,00	40,00	25,00	0,503
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,08	131,00		
	Kontroles	5	12,40	62,00	47,00	0,358
	Aukslēju šķeltnes	26	16,69	434,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	27,38	985,50	148,50	0,050
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	18,42	239,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	37,49	1349,50	252,50	0,002
	Aukslēju šķeltnes	26	23,21	603,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	20,31	264,00	165,00	0,918
	Aukslēju šķeltnes	26	19,85	516,00		

Apzīmējumi: FOXE1 – dakšas galvas bokss E1.

3.2.4. HOXB3 gēna proteīns

Homeoboksa B3 (HOXB3) gēna proteīns kontroles grupas epitēlijā trijos paraugos tika konstatēts maz (+) un divos paraugos vidēji daudz (++). HOXB3 gēna proteīns kontroles pacientu saistaudos divos paraugos tika noteikts maz līdz vidēji daudz (+/++) un trijos paraugos vidēji daudz (++) (skatīt 3.19. tabulu un 3.19 attēlu pielikumā).

Homeoboksa B3 (HOXB3) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika noteikts visos paraugos. HOXB3 epitēlijā vienā paraugā tika konstatēts reti (0/+), divos paraugos maz (+), vienā paraugā maz līdz vidēji daudz (+/++), deviņos paraugos vidēji daudz (++) , 11 paraugos vidēji daudz līdz daudz (++/+++), deviņos paraugos daudz (+++) un trijos paraugos daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) (skatīt 3.20. attēlu pielikumā). HOXB3 saistaudos arī tika konstatēts visos paraugos – maz (+) divos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) sešos gadījumos, vidēji daudz (++) 15 gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++) septiņos

gadījumos, daudz (+++) trijos gadījumos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) vienā gadījumā (skatīt 3.20. tabulu).

Homeoboksa B3 (HOXB3) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika konstatēts visos paraugos – maz (+) piecos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā gadījumā, vidēji daudz (++) trijos gadījumos un vidēji daudz līdz daudz (++/+++) četros gadījumos (skatīt 3.21. attēlu pielikumā). HOXB3 divpusējas lūpas šķeltnes grupas saistaudos arī tika konstatēts visos pacientos – trijos gadījumos maz (+), četros gadījumos maz līdz vidēji daudz (+/++), piecos gadījumos vidēji daudz (++) un vienā gadījumā vidēji daudz līdz daudz (++/+++) (skatīt 3.21. tabulu).

Homeoboksa B3 (HOXB3) gēna proteīns aukslēju šķeltnes grupas epitēlijā tika konstatēts reti (0/+) vienā gadījumā, maz (+) septiņos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) piecos gadījumos, vidēji daudz (++) astoņos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++) un daudz (+++) divos gadījumos (skatīt 3.22. attēlu pielikumā). Aukslēju šķeltnes grupas saistaudos HOXB3 tika konstatēts maz (+) astoņos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) sešos paraugos, vidēji daudz (++) četros paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++) sešos paraugos un daudz (+++) divos paraugos (skatīt 3.22. tabulu).

Izvērtējot HOXB3 gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 20,137$, $df = 3$, $p < 0,001$), **gan saistaudos** ($H = 8,419$, $df = 3$, $p < 0,038$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.23. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības HOXB3 gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un viņpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 23,00$, $p = 0,005$), starp viņpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 113,00$, $p = 0,005$), starp viņpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 212,50$, $p < 0,001$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības HOXB3 gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp viņpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 127,00$, $p = 0,011$), starp viņpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 324,00$, $p = 0,035$) (skatīt 3.24. tabulu).

**HOXB3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
kontroles pacientu audos**

Nr.	Šifrs	HOXB3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	K1/1	+	++
2.	K1/2_1	++	+/++
3.	K1/2_2	+	++
4.	K2/1	+	++
5.	K5	++	+/++
Mediāna		+	++
IQR		1,0	0,5

Apzīmējumi: HOXB3 – dakšas galvas bokss E1, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

**HOXB3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
vienpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	HOXB3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	+	+
2.	258	++/+++	++
3.	277	+++/++++	+++/++++
4.	299	++	++
5.	306	++	+/++
6.	311	++	++/+++
7.	325	++/+++	+++
8.	347	+++	++/+++
9.	359	++/+++	++
10.	364	++/+++	++
11.	372	+++	++/+++
12.	321	++/+++	+++
13.	259	+++	++/+++
14.	262	+++	++/+++
15.	279	+++	+++
16.	283	++/+++	++
17.	284	+++	++
18.	289	++/+++	++
19.	288	++	+
20.	300	++	+/++
21.	303	+++/++++	++
22.	324	+++/++++	+++
23.	328	++/+++	++/+++
24.	339	++	+/++
25.	348	0/+	+/++
26.	352	+	++
27.	358	+/++	+/++
28.	365	+++	++/+++
29.	327	+++	++
30.	367	+++	+++

Nr.	Šifrs	HOXB3	
		Epitēlijs	Saistaudi
31.	333	++/+++	++
32.	302	++/+++	++
33.	363	++	++
34.	37	++/+++	+/>++
35.	182	++	++
36.	223	++	++
Mediāna		++/+++	++
IQR		1,0	0,5

Apzīmējumi: HOXB3 – homeobokss B3, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.21. tabula

**HOXB3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	HOXB3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	++/+++	++
2.	212	++	++/+++
3.	213	+	+/>++
4.	238	++/+++	++
5.	264	++/+++	++
6.	194	+/>++	+
7.	177	+	+
8.	197	++	+/>++
9.	204	++	++
10.	206	+	++
11.	318	+	+/>++
12.	67	++/+++	+/>++
13.	369	+	+
Mediāna		++	+/>++
IQR		1,5	0,75

Apzīmējumi: HOXB3 – homeobokss B3, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.22. tabula

**HOXB3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	HOXB3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	++	+
2.	285	+	+
3.	319	+/>++	+/>++

3.22. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	HOXB3	
		Epitēlijs	Saistaudi
4.	335	+/++	+/++
5.	240	+	+
6.	261	++	++/+++
7.	276	++/+++	+++
8.	332	++	++/+++
9.	366	+	++
10.	178	+/++	+
11.	187	+	+/++
12.	233	++	+/++
13.	271	0/+	++
14.	273	++	+
15.	287	+/++	++/+++
16.	331	++/+++	++/+++
17.	215	++	+/++
18.	353	+++	++/+++
19.	39	+/++	++
20.	275	++/+++	+++
21.	298	++	+
22.	196	++	+/++
23.	245	+	+
24.	362	+++	++/+++
25.	216	+	+
26.	374	+	++
Mediāna		+/++ līdz ++	+/++
IQR		1,0	1,5

Apzīmējumi: HOXB3 – homeobokss B3, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.23. tabula

HOXB3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
HOXB3 epitēlijā	Kontroles	5	21,60	20,137	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	52,82			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	32,35			
	Aukslēju šķeltnes	26	31,15			
HOXB3 saistaudos	Kontroles	5	36,00	8,419	3	0,038
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	48,40			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	30,88			
	Aukslēju šķeltnes	26	35,23			

Apzīmējumi: HOXB3 – homeobokss B3, df – brīvības pakāpe.

HOXB3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
HOXB3 epitēlijā	Kontroles	5	7,60	38,00	23,00	0,005
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	22,86	823,00		
	Kontroles	5	7,50	37,50	22,50	0,336
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,27	133,50		
	Kontroles	5	16,67	433,50	47,50	0,358
	Aukslēju šķeltnes	26	12,50	62,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	28,36	1021,00	113,00	0,005
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	15,69	204,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	38,60	1389,50	212,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	21,67	563,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	20,38	265,00	164,00	0,895
	Aukslēju šķeltnes	26	19,81	515,00		
HOXB3 saistaudos	Kontroles	5	14,30	71,50	56,50	0,188
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	21,93	789,50		
	Kontroles	5	10,70	53,50	26,50	0,566
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	9,04	117,50		
	Kontroles	5	17,00	85,00	60,00	0,815
	Aukslēju šķeltnes	26	15,81	411,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	27,97	1007,00	127,00	0,011
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	16,77	218,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	35,50	1278,00	324,00	0,035
	Aukslēju šķeltnes	26	25,96	675,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	19,08	248,00	157,00	0,735
	Aukslēju šķeltnes	26	20,46	532,00		

Apzīmējumi: HOXB3 – homeobokss B3.

3.2.5. MSX2 gēna proteīns

Muskuļu segmentu homeoboksa-2 (MSX2) gēna proteīns kontroles grupas epitēlijā netika konstatēts (0) nevienā paraugā. MSX2 gēna proteīns kontroles pacientu saistaudos netika manīts (0) trijos gadījumos, bet divos gadījumos tika konstatēts reti (0/+) (skatīt 3.25. tabulu un 3.23. attēlu pielikumā).

Muskuļu segmentu homeoboksa-2 (MSX2) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika noteikts reti (0/+) trijos gadījumos, maz (+) četros gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) trijos gadījumos, vidēji daudz (++) deviņos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++) trijos gadījumos, daudz (+++) trijos gadījumos, bet netika konstatēts (0) trijos gadījumos (skatīt 3.24. attēlu pielikumā). MSX2 saistaudos tika konstatēts reti (0/+) četros paraugos, maz (+) 12 paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) deviņos paraugos, vidēji daudz (++) divos paraugos, vidēji daudz līdz daudz divos paraugos, bet netika konstatēts (0) sešos paraugos (skatīt 3.26. tabulu).

Muskuļu segmentu homeoboksa-2 (MSX2) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika konstatēts reti (0/+) vienā paraugā, maz (+) piecos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā paraugā, vidēji daudz (++) vienā paraugā, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
vienā paraugā, bet četros paraugos netika konstatēts (0) (skatīt 3.25. attēlu pielikumā). MSX2 saistaudos netika konstatēts (0) četros, tika konstatēts reti (0/+) četros paraugos un maz (+) piecos paraugos (skatīt 3.27. tabulu).

Muskuļu segmentu homeoboksa-2 (MSX2) gēna proteīns aukslēju šķeltnes grupas epitēlijā netika konstatēts (0) 11 paraugos, bet tika konstatēts reti (0/+) septiņos paraugos, maz (+) piecos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā paraugā un vidēji daudz (++) divos paraugos (skatīt 3.26. attēlu pielikumā). MSX2 aukslēju šķeltnes grupas saistaudos netika konstatēts (0) septiņos paraugos, tika konstatēts reti (0/+) astoņos paraugos, maz (+) deviņos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) divos paraugos (skatīt 3.28. tabulu).

Izvērtējot MSX2 gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 32,722$, $df = 3$, $p < 0,001$), **gan saistaudos** ($H = 15,167$, $df = 3$, $p = 0,002$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.29. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības MSX2 gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un viensusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 7,50$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 10,00$, $p = 0,026$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 27,50$, $p = 0,041$), starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 107,00$, $p = 0,003$), starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 134,50$, $p < 0,001$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības MSX2 gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un viensusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 25,00$, $p = 0,007$), starp viensusējas lūpas šķeltnes un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 124,00$, $p = 0,010$) un starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 274,00$, $p = 0,008$) (skatīt 3.30. tabulu).

**MSX2 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
kontroles pacientu audos**

Nr.	Šifrs	MSX2	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	K1/1	0	0
2.	K1/2_1	0	0/+
3.	K1/2_2	0	0
4.	K2/1	0	0
5.	K5	0	0/+
Mediāna		0	0
IQR		0	0,5

Apzīmējumi: MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, IQR – starpkvartiņu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

**MSX2 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
vienpusējās lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	MSX2	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	0	0
2.	258	+++	+
3.	277	++/+++	+
4.	299	+	0/+
5.	306	0/+	0
6.	311	+	0/+
7.	325	+++	++/+++
8.	347	++/+++	++
9.	359	+++	+/++
10.	364	++	++/+++
11.	372	+/++	+
12.	321	+	0/+
13.	259	+	+
14.	262	+/++	+/++
15.	279	++	+
16.	283	++/+++	+/++
17.	284	++/+++	+
18.	289	++	+/++
19.	288	++	+/++
20.	300	++	+
21.	303	++	0/+
22.	324	++/+++	++
23.	328	++/+++	+/++
24.	339	0/+	0
25.	348	0	0
26.	352	0	0
27.	358	++	+
28.	365	++	+
29.	327	++	+
30.	367	++/+++	+/++
31.	333	0/+	0

Nr.	Šifrs	MSX2	
		Epitēlijs	Saistaudi
32.	302	++/+++	+/>++
33.	363	++/+++	++
34.	37	++/+++	+
35.	182	+/>++	+/>++
36.	223	++/+++	+
Mediāna		++	+
IQR		1,5	1,0

Apzīmējumi: MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.27. tabula

**MSX2 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	MSX2	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	0/+	+
2.	212	+	0/+
3.	213	+	0
4.	238	++	+
5.	264	+/>+++	+
6.	194	+	+
7.	177	+	0/+
8.	197	+	0/+
9.	204	0	0
10.	206	0	0/+
11.	318	0	0
12.	67	++/+++	+
13.	369	0	0
Mediāna		+	0/+
IQR		1,25	1,0

Apzīmējumi: MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.28. tabula

**MSX2 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	MSX2	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	0	0/+
2.	285	0	0
3.	319	0/+	0
4.	335	+	0/+

Nr.	Šifrs	MSX2	
		Epitēlijs	Saistaudi
5.	240	+	0
6.	261	+	+
7.	276	0/+	+
8.	332	0/+	+
9.	366	+/>++	+
10.	178	0	0
11.	187	0/+	+
12.	233	0	0/+
13.	271	+	0/+
14.	273	0	0/+
15.	287	++	+/>++
16.	331	0	0
17.	215	0/+	+
18.	353	++	0/+
19.	39	0	0
20.	275	0/+	+
21.	298	0	0
22.	196	0	0/+
23.	245	0	+
24.	362	+	0/+
25.	216	0	+/>++
26.	374	++	0/+
Mediāna		0/+	0/+
IQR		1,0	1,0

Apzīmējumi: MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.29. tabula

MSX2 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
MSX2 epitēlijā	Kontroles	5	12,00	32,722	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	55,58			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	35,88			
	Aukslēju šķeltnes	26	27,40			
MSX2 saistaudos	Kontroles	5	17,90	15,167	3	0,002
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	49,75			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	31,58			
	Aukslēju šķeltnes	26	34,76			

Apzīmējumi: MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, df – brīvības pakāpe.

MSX2 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
MSX2 epitēlijā	Kontroles	5	4,50	22,50	7,50	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	23,29	838,50		
	Kontroles	5	5,00	25,00	10,00	0,026
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	11,23	146,00		
	Kontroles	5	8,50	42,50	27,50	0,041
	Aukslēju šķeltnes	26	17,44	453,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	28,53	1027,00	107,00	0,003
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	15,23	198,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	40,76	1467,50	134,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	18,67	485,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	23,42	304,50	124,50	0,187
	Aukslēju šķeltnes	26	18,29	475,50		
MSX2 saistaudos	Kontroles	5	8,00	40,00	25,00	0,007
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	22,81	821,00		
	Kontroles	5	6,60	33,00	18,00	0,173
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,62	138,00		
	Kontroles	5	9,30	46,50	31,50	0,085
	Aukslēju šķeltnes	26	16,74	418,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	28,06	1010,00	124,00	0,010
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	16,54	215,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	35,89	1292,00	274,00	0,008
	Aukslēju šķeltnes	26	23,96	599,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	18,42	239,50	148,50	0,671
	Aukslēju šķeltnes	26	20,06	501,50		

Apzīmējumi: MSX2 - muskuļu segmentu homeobokss-2.

3.2.6. PAX7 un PAX9 gēnu proteīni

Pāra boksa transkripcijas faktora-7 (PAX7) gēna proteīns kontroles grupas epitēlijā tika konstatēts maz (+) divos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā paraugā un vidēji daudz (++) divos paraugos (skatīt 3.27. attēlu pielikumā). Saistaudos PAX7 tika konstatēts maz (+) divos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā paraugā, vidēji daudz (++) divos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (+/+++ vienā paraugā (skatīt 3.31. tabulu).

Pāra boksa transkripcijas faktora-7 (PAX7) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika noteikts visos paraugos – maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā paraugā, vidēji daudz (++) četros paraugos, vidēji daudz līdz daudz (+/+++ 16 paraugos, daudz (+++ 13 paraugos, daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) divos paraugos (skatīt 3.28. attēlu pielikumā). PAX7 saistaudos arī tika konstatēts visos audu paraugos – maz līdz vidēji daudz (+/++) divos gadījumos, vidēji daudz (++) divos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (+/+++ trīspadsmit

gadījumos, daudz (+++) deviņos gadījumos, daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) deviņos gadījumos un ļoti daudz (++++) vienā gadījumā (skatīt 3.32. tabulu).

Pāra boksa transkripcijas faktora-7 (PAX7) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika konstatēti reti (0/+) vienā paraugā, maz (+) divos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā paraugā (skatīt 3.29. attēlu pielikumā), vidēji daudz (++) piecos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/++) trijos paraugos un daudz (+++) vienā paraugā. PAX7 saistaudos tika konstatēti maz (+) piecos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) trijos paraugos, vidēji daudz (++) divos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/++) trijos paraugos (skatīt 3.33. tabulu).

Pāra boksa transkripcijas faktora-7 (PAX7) gēna proteīns aukslēju šķeltnes grupas epitēlijā tika noteikti reti (0/+) vienā gadījumā, maz (+) piecos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) deviņos gadījumos, vidēji daudz (++) piecos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++/++) trijos gadījumos, daudz (+++) divos gadījumos, daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) vienā gadījumā (skatīt 3.30. attēlu pielikumā). Aukslēju šķeltnes grupas saistaudos PAX7 tika noteikti maz (+) piecos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) trijos paraugos, vidēji daudz (++) četros paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/++) deviņos paraugos, daudz (+++) četros paraugos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) vienā paraugā (skatīt 3.34. tabulu).

Izvērtējot PAX7 gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 31,195$, $df = 3$, $p < 0,001$), **gan saistaudos** ($H = 29,976$, $df = 3$, $p < 0,001$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.35. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības PAX7 gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 6,50$, $p < 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 82,00$, $p < 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 148,50$, $p < 0,001$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības PAX7 gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 14,50$, $p = 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 40,50$, $p < 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 226,00$, $p < 0,001$) un starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 101,50$, $p = 0,043$) (skatīt 3.36. tabulu).

Pāra boksa transkripcijas faktora-9 (PAX9) gēna proteīns kontroles grupas epitēlijā tika konstatēts visos paraugos – vidēji daudz (++) piecos paraugos un vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ divos paraugos. PAX9 saistaudos tika noteikts reti (0/+) trijos paraugos, bet atlikušajos četros paraugos PAX9 saturošas šūnas netika konstatētas (0) (skatīt 3.31. tabulu un 3.31. attēlu pielikumā).

Pāra boksa transkripcijas faktora-9 (PAX9) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika konstatēts reti (0/+) trijos paraugos, maz (+) deviņos paraugos, maz līdz vidēji daudz (++)/+++ septiņos paraugos, vidēji daudz (++) piecos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ septiņos paraugos, daudz (+++) četros paraugos, bet vienā paraugā PAX9 netika konstatēts (0) epitēlijā. Vienpusējās lūpas šķeltnes grupas saistaudos PAX9 tika noteikts reti (0/+) trijos paraugos, maz (+) piecos paraugos, maz līdz vidēji daudz (++)/+++ sešos paraugos, vidēji daudz (++) septiņos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ 11 paraugos, daudz (+++) trijos paraugos, bet netika konstatēts (0) vienā paraugā (skatīt 3.32. tabulu un 3.32. attēlu pielikumā).

Pāra boksa transkripcijas faktora-9 (PAX9) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes grupas epitēlijā tika noteikts reti (0/+) divos gadījumos, maz (+) divos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (++)/+++ divos gadījumos, vidēji daudz (++) divos gadījumos, bet netika konstatēts (0) piecos gadījumos. Arī saistaudos PAX9 netika konstatēts (0) piecos gadījumos, bet tika noteikts reti (0/+) sešos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (++)/+++ vienā gadījumā un vidēji daudz (++) vienā gadījumā (skatīt 3.33. tabulu un 3.33. attēlu pielikumā).

Pāra boksa transkripcijas faktora-9 (PAX9) gēna proteīns aukslēju šķeltnes grupas epitēlijā tika konstatēts reti (0/+) septiņos paraugos, maz (+) četros paraugos, maz līdz vidēji daudz (++)/+++ četros paraugos, vidēji daudz (++) vienā paraugā, bet netika konstatēts (0) desmit paraugos. Saistaudos PAX9 tika konstatēts reti (0/+) deviņos paraugos, maz (+) desmit paraugos, maz līdz vidēji daudz (++)/+++ trijos paraugos, vidēji daudz (++) divos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vienā paraugā, bet netika konstatēts (0) vienā paraugā (skatīt 3.34. tabulu un 3.34. attēlu pielikumā).

Izvērtējot PAX9 gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 32,333$, $df = 3$, $p < 0,001$), **gan saistaudos** ($H = 38,245$, $df = 3$, $p < 0,001$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.35. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vītņija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības PAX9 gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 5,00$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un aukslēju

šķeltnes grupu ($U = 2,50$, $p < 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 102,50$, $p = 0,003$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 145,00$, $p < 0,001$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības PAX9 gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 9,50$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 18,50$, $p = 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 48,00$, $p < 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 188,50$, $p < 0,001$) un starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 81,00$, $p = 0,008$) (skatīt 3.36. tabulu).

3.31. tabula

PAX7 un PAX9 gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums kontroles pacientu audos

Nr.	Šifrs	PAX7		PAX9	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	K1/1	++	+/>++	++	0/+
2.	K1/2_1	+/>++	+/>+++	++	0
3.	K1/2_2	+	+	+/>+++	0
4.	K2/1	+	+	++	0
5.	K5	++	++	++	0
6.	K11	N	N	++	0/+
7.	K18	N	N	+/>+++	0/+
Mediāna		+/>++	+/>++	++	0
IQR		1,0	1,25	0,5	0,5

Apzīmējumi: PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, IQR – starpkvartiļu amplitūda, N – nav datu.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

3.32. tabula

PAX7 un PAX9 gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums viopusējas lūpas šķeltnes pacientu audos

Nr.	Šifrs	PAX7		PAX9	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	++	+/>++	0	0
2.	258	+/>+++	+++	+/>++	+/>+++
3.	277	+/>+++	+++	+/>+++	+/>+++
4.	299	++	+/>+++	+	+/>++
5.	306	+++	+/>+++	+	+
6.	311	+/>+++	+++	+/>++	++
7.	325	+++	++++	+/>+++	+++
8.	347	+++	+++/>++++	++	+++
9.	359	+++/>++++	+++/>++++	+	+
10.	364	+/>+++	+++/>++++	+++	+/>+++
11.	372	+++	+++	+/>+++	+++
12.	321	+++	+++	++	+/>+++

Nr.	Šifrs	PAX7		PAX9	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
13.	259	+++	+++/++++	+ / ++	++ / +++
14.	262	++ / +++	++ / +++	+	++
15.	279	+++	+++ / ++++	++	+ / ++
16.	283	+++	++ / +++	+ / ++	+ / ++
17.	284	++ / +++	++	++ / +++	++
18.	289	++ / +++	+++	+ / ++	+ / ++
19.	288	+++	++ / +++	++	+
20.	300	++ / +++	++ / +++	++ / +++	++
21.	303	+++	+++ / ++++	++ / +++	++ / +++
22.	324	+++	+++ / ++++	+++	++ / +++
23.	328	++ / +++	+++	+ / ++	++ / +++
24.	339	++	++ / +++	0 / +	0 / +
25.	348	+ / ++	+ / ++	0 / +	0 / +
26.	352	++ / +++	+++	+	++ / +++
27.	358	++ / +++	+++ / ++++	+	++
28.	365	++ / +++	++ / +++	+++	+ / ++
29.	327	+++	++ / +++	+ / ++	+
30.	367	++	++ / +++	++ / +++	++
31.	333	+++ / ++++	+++ / ++++	+	+ / ++
32.	302	+++	++ / +++	++	++ / +++
33.	363	++ / +++	+++	0 / +	0 / +
34.	37	++ / +++	++ / +++	+++	++ / +++
35.	182	++ / +++	++	+	+
36.	223	++ / +++	++ / +++	+	++
Mediāna		++ / +++	+++	+ / ++	++
IQR		0,5	1,0	1,5	1,375

Apzīmējumi: PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, IQR – starpkvartīļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.33. tabula

**PAX7 un PAX9 gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	PAX7		PAX9	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	++ / +++	++ / +++	++	0 / +
2.	212	++	+ / ++	0	0
3.	213	++	+ / ++	0	0
4.	238	++ / +++	++ / +++	+ / ++	+ / ++
5.	264	++	+ / ++	+	0 / +
6.	194	++ / +++	+	0	0
7.	177	+	+	+ / ++	0 / +
8.	197	++	+	+	0 / +
9.	204	++	++	0	0
10.	206	+	+	0 / +	0
11.	318	0 / +	++ / +++	0	0 / +

Nr.	Šifrs	PAX7		PAX9	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
12.	67	+++	++	++	++
13.	369	+ / ++	+	0 / +	0 / +
Mediāna		++	+ / ++	0 / +	0 / +
IQR		1,25	1,25	1,5	0,5

Apzīmējumi: PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, IQR – starpkvartīļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, + / ++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ / ++++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ / ++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.34. tabula

**PAX7 un PAX9 gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	PAX7		PAX9	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	++	+++	+ / ++	+
2.	285	+ / ++	+ / +++	0	0 / +
3.	319	++	+ / +++	0	+
4.	335	++	+ / +++	0	0 / +
5.	240	0 / +	+	0	+
6.	261	++	+ / +++	+	+ / ++
7.	276	+++	+++ / ++++	+	+
8.	332	+ / +++	+++	+ / ++	++
9.	366	+ / ++	+ / +++	0	+
10.	178	+	+	0 / +	0 / +
11.	187	+ / ++	+ / ++	0	0 / +
12.	233	+ / ++	+	0	0 / +
13.	271	+	+ / ++	0	0 / +
14.	273	++	+ / +++	+ / ++	+
15.	287	+	+++	+	+
16.	331	+ / +++	+ / +++	+ / ++	+ / +++
17.	215	+	+	0 / +	0 / +
18.	353	+ / ++	++	0 / +	+ / ++
19.	39	+ / ++	++	0 / +	+
20.	275	+ / ++	+ / +++	0 / +	+ / ++
21.	298	+ / +++	+ / +++	+	+
22.	196	+++	++	0	0 / +
23.	245	+ / ++	++	0 / +	+
24.	362	+++ / ++++	+++	++	++
25.	216	+ / ++	+	0 / +	0
26.	374	+	+ / ++	0	0 / +
Mediāna		+ / ++	+ / +++	0 / +	+
IQR		0,75	1,0	1,0	0,625

Apzīmējumi: PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, IQR – starpkvartīļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, + / ++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ / ++++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

PAX7 un PAX9 gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
PAX7 epitēlijā	Kontroles	5	18,90	31,195	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	55,92			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	31,65			
	Aukslēju šķeltnes	26	27,73			
PAX7 saistaudos	Kontroles	5	19,90	29,976	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	54,69			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	20,46			
	Aukslēju šķeltnes	26	34,83			
PAX9 epitēlijā	Kontroles	7	66,14	32,333	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	52,92			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	29,65			
	Aukslēju šķeltnes	26	24,98			
PAX9 saistaudos	Kontroles	7	12,86	38,245	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	57,67			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	21,31			
	Aukslēju šķeltnes	26	36,92			

Apzīmējumi: PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, df – brīvības pakāpe.

PAX7 un PAX9 gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
PAX7 epitēlijā	Kontroles	5	4,30	21,50	6,50	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	23,32	839,50		
	Kontroles	5	7,10	35,50	20,50	0,246
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,42	135,50		
	Kontroles	5	13,50	67,50	52,50	0,514
Aukslēju šķeltnes	26	16,48	428,50			
PAX7 epitēlijā	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	29,22	1052,00	82,00	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	13,31	173,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	40,38	1453,50	148,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	19,21	499,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	21,92	285,00	144,00	0,471
	Aukslēju šķeltnes	26	19,04	495,00		
PAX7 saistaudos	Kontroles	5	5,90	29,50	14,50	0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	23,10	831,50		
	Kontroles	5	9,40	47,00	32,00	1,000
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	9,54	124,00		
	Kontroles	5	10,60	53,00	38,00	0,159
	Aukslēju šķeltnes	26	17,04	443,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	30,38	1093,50	40,50	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,12	131,50		

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna-Vitnija U tests	p vērtība
PAX7 saistaudos	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	38,22	1376,00	226,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	22,19	577,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	14,81	192,50	101,50	0,043
	Aukslēju šķeltnes	26	22,60	587,50		
PAX9 epitēlijā	Kontroles	7	28,21	197,50	82,50	0,156
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	20,79	748,50		
	Kontroles	7	16,29	114,00	5,00	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	7,38	96,00		
	Kontroles	7	29,64	207,50	2,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	13,60	353,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	28,65	1031,50	102,50	0,003
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	14,88	193,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	40,47	1457,00	145,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	19,08	496,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	21,38	278,00	151,00	0,607
	Aukslēju šķeltnes	26	19,31	502,00		
PAX9 saistaudos	Kontroles	7	5,36	37,50	9,50	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	25,24	908,50		
	Kontroles	7	8,86	62,00	34,00	0,393
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	11,38	148,00		
	Kontroles	7	6,64	46,50	18,50	0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	19,79	514,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	30,17	1086,00	48,00	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	10,69	139,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	39,26	1413,50	188,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	20,75	539,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	13,23	172,00	81,00	0,008
	Aukslēju šķeltnes	26	23,38	608,00		

Apzīmējumi: PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9.

3.2.7. RYK gēna proteīns

Receptoram līdzīgā tirozīnkināze (RYK) gēna proteīns kontroles grupas epitēlijā tika konstatēti reti (0/+) trijos paraugos, maz (+)divos paraugos, vidēji daudz (++)vienā paraugā, bet netika konstatēts (0) vienā paraugā. Saistaudos RYK tika konstatēti reti (0/+) vienā paraugā, maz (+) četros paraugos, vidēji daudz (++) divos paraugos, bet netika konstatēts (0) vienā paraugā (skatīt 3.37. tabulu un 3.35. attēlu pielikumā).

Receptoram līdzīgā tirozīnkināze (RYK) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēti maz līdz vidēji daudz (+/++) divos gadījumos, vidēji daudz (++)septiņos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (+/+++) 13 gadījumos, daudz (+++) 11 gadījumos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) trijos gadījumos. Vienpusējas lūpas šķeltnes grupas saistaudos RYK tika konstatēti maz (+) vienā gadījumā, maz līdz vidēji daudz (+/++)

četros gadījumos, vidēji daudz (++) astoņos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
14 gadījumos un daudz (+++) deviņos gadījumos (skatīt 3.38. tabulu un 3.36. attēlu pielikumā).

Receptoram līdzīgā tirozīnkināze (RYK) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes pacientu epitēlijā un saistaudos tika noteikts visos paraugos. Epitēlijā RYK tika noteikts maz līdz vidēji daudz (+/++) divos paraugos, vidēji daudz (++) trijos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
septiņos paraugos un daudz (+++) vienā paraugā, savukārt saistaudos RYK tika konstatēts maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā paraugā, vidēji daudz (++) trijos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
četros paraugos, daudz (+++) piecos paraugos (skatīt 3.39. tabulu un 3.37. attēlu pielikumā).

Receptoram līdzīgā tirozīnkināze (RYK) gēna proteīns aukslēju šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēts visos paraugos. Epitēlijā RYK tika noteikts maz (+) vienā gadījumā, maz līdz vidēji daudz (+/++) piecos gadījumos, vidēji daudz (++) piecos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
11 gadījumos, daudz (+++) trijos gadījumos un ļoti daudz (++++)
vienā gadījumā. Saistaudos RYK tika konstatēts maz līdz vidēji daudz (+/++) trijos paraugos, vidēji daudz (++) četros paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
11 paraugos, daudz (+++) septiņos paraugos un daudz līdz ļoti daudz (+++ /++++)
vienā paraugā (skatīt 3.40. tabulu un 3.38. attēlu pielikumā).

Izvērtējot RYK gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 22,932$, $df = 3$, $p < 0,001$), **gan saistaudos** ($H = 18,443$, $df = 3$, $p < 0,001$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.41. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības RYK gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 5,50$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 3,50$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 9,50$, $p < 0,001$), starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 321,50$, $p = 0,030$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības RYK gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 11,00$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 2,50$, $p < 0,001$) un starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 5,00$, $p < 0,001$) (skatīt 3.42. tabulu).

**RYK gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
kontroles pacientu audos**

Nr.	Šifrs	RYK	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	K1/1	0/+	0/+
2.	K1/2_1	0/+	0
3.	K1/2_2	0/+	+
4.	K2/1	+	+
5.	K5	0	+
6.	K11	++	++
7.	K18	+	+
Mediāna		0/+	0/+
IQR		0,5	0,5

Apzīmējumi: RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

**RYK gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
vienpusejas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	RYK	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	++	++/+++
2.	258	++/+++	++
3.	277	+++	+++
4.	299	++/+++	+++
5.	306	++/+++	++
6.	311	++/+++	++
7.	325	+++	++/+++
8.	347	++/+++	++/+++
9.	359	++/+++	+ /+++
10.	364	+ /++	++
11.	372	+++ /++++	+++
12.	321	++/+++	+++
13.	259	+++ /++++	+++
14.	262	+++	++/+++
15.	279	++	++/+++
16.	283	++/+++	++/+++
17.	284	+++	++/+++
18.	289	++/+++	++/+++
19.	288	+++	++
20.	300	+++	++/+++
21.	303	+++	+++
22.	324	+++	++/+++
23.	328	++/+++	++
24.	339	+ /++	+
25.	348	++	+ /++
26.	352	++/+++	++
27.	358	+++	++/+++
28.	365	++/+++	+ /++

3.38. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	RYK	
		Epitēlijs	Saistaudi
29.	327	+++ /++++	+++
30.	367	++	+ /++
31.	333	++	++
32.	302	+++	+++
33.	363	++	+ /+++
34.	37	+++	+++
35.	182	+ /+++	+ /+++
36.	223	++	+ /+++
Mediāna		+ /+++	+ /+++
IQR		0,875	0,875

Apzīmējumi: RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze, IQR – starpkvartiļu amplitūda. Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.39. tabula

**RYK gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	RYK	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	+++ /+++	+ /+++
2.	212	+ /+++	++
3.	213	++	+ /+++
4.	238	+ /+++	+++
5.	264	+ /+++	++
6.	194	+ /+++	+++
7.	177	++	+ /+++
8.	197	+ /+++	+++
9.	204	+ /+++	++
10.	206	++	+++
11.	318	+ /+++	+++
12.	67	+++	+ /+++
13.	369	+ /+++	+ /+++
Mediāna		+ /+++	+ /+++
IQR		0,5	1,0

Apzīmējumi: RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze, IQR – starpkvartiļu amplitūda. Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

**RYK gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	RYK	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	++/+++	+++
2.	285	++	++/+++
3.	319	+/>++	++/+++
4.	335	++/+++	++/+++
5.	240	++	+++
6.	261	++/+++	+++
7.	276	+++	++/+++
8.	332	+++	+++
9.	366	++/+++	++/+++
10.	178	+/>++	++
11.	187	+/>++	+/>++
12.	233	++	+/>++
13.	271	++	++/+++
14.	273	++/+++	++/+++
15.	287	+	++/+++
16.	331	++/+++	+++/>++++
17.	215	+++	++/+++
18.	353	++	+/>++
19.	39	++/+++	+++
20.	275	++/+++	++/+++
21.	298	++/+++	++
22.	196	++/+++	++
23.	245	+/>++	+++
24.	362	++++	+++
25.	216	++/+++	++
26.	374	+/>++	++/+++
Mediāna		++/+++	++/+++
IQR		0,625	1,0

Apzīmējumi: RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++/>+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.41. tabula

**RYK gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles
un šķeltņes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu**

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
RYK epitēlijā	Kontroles	7	6,64	22,932	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	51,13			
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	38,81			
	Aukslēju šķeltņes	26	38,90			
RYK saistaudos	Kontroles	7	6,64	18,443	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	42,28			
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	47,77			
	Aukslēju šķeltņes	26	46,67			

Apzīmējumi: RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze, df – brīvības pakāpe.

RYK gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
RYK epitēlijā	Kontroles	7	4,79	33,50	5,50	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	25,35	912,50		
	Kontroles	7	4,50	31,50	3,50	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	13,73	178,50		
	Kontroles	7	5,36	37,50	9,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	20,13	523,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	27,21	979,50	154,50	0,059
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	18,88	245,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	35,57	1280,50	321,50	0,030
	Aukslēju šķeltnes	26	25,87	672,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	20,19	262,50	166,50	0,941
	Aukslēju šķeltnes	26	19,90	517,50		
RYK saistaudos	Kontroles	7	5,57	39,00	11,00	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	25,19	907,00		
	Kontroles	7	4,36	30,50	2,50	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	13,81	179,50		
	Kontroles	7	4,71	33,00	5,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	20,31	528,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	24,07	866,50	200,50	0,428
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	27,58	358,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	30,01	1080,50	414,50	0,432
	Aukslēju šķeltnes	26	33,56	872,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	20,38	265,00	164,00	0,895
	Aukslēju šķeltnes	26	19,81	515,00		

Apzīmējumi: RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze.

3.2.8. SHH gēna proteīns

Sonic hedgehog (SHH) gēna proteīns kontroles pacientu epitēlijā tika konstatēts vidēji daudz (++) divos pacientos, vidēji daudz līdz daudz (++) vienā pacientā un daudz (+++) divos pacientos, bet saistaudos tas tika noteikts maz līdz vidēji daudz (+++) vienā pacientā, vidēji daudz (++) divos pacientos, vidēji daudz līdz daudz (++) vienā pacientā, daudz (+++) vienā pacientā (skatīt 3.43. tabulu un 3.39. attēlu pielikumā).

Sonic hedgehog (SHH) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnu pacientu epitēlijā tika konstatēts maz līdz vidēji daudz (+++) trijos paraugos, vidēji daudz (++) astoņos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++) 11 paraugos, daudz (+++) 11 paraugos, daudz līdz ļoti daudz (+++) trijos paraugos. Saistaudos SHH tika konstatēts maz (+) vienā paraugā, maz līdz vidēji daudz (+++) vienā paraugā, vidēji daudz (++) sešos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++) 13 paraugos, daudz (+++) 13 paraugos un daudz līdz ļoti daudz (+++) vienā paraugā (skatīt 3.44. tabulu un 3.40. attēlu pielikumā).

Sonic hedgehog (SHH) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnu pacientu epitēlijā maz (+) vienā gadījumā, maz līdz vidēji daudz (+/++) četros gadījumos, vidēji daudz (++) piecos gadījumos, daudz (+++) vienā gadījumā, bet netika konstatēts (0) vienā gadījumā. Saistaudos SHH tika noteikts maz (+) četros gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) četros gadījumos, vidēji daudz (++) divos gadījumos un vidēji daudz līdz daudz (+/+++) trijos gadījumos (skatīt 3.45. tabulu un 3.41. attēlu pielikumā).

Sonic hedgehog (SHH) gēna proteīns aukslēju šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēts reti (0/+) sešos paraugos, maz (+) desmit paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) sešos paraugos, vidēji daudz (++) četros paraugos. Savukārt saistaudos SHH tika konstatēts reti (0/+) vienā paraugā, maz (+) 12 paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) astoņos paraugos un vidēji daudz (++) piecos paraugos (skatīt 3.46. tabulu un 3.42. attēlu pielikumā).

Izvērtējot SHH gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 47,119$, $df = 3$, $p < 0,001$), **gan saistaudos** ($H = 41,192$, $df = 3$, $p < 0,001$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.47. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vītņija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības SHH gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 9,00$, $p = 0,019$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 4,00$, $p < 0,001$), starp vienusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 68,50$, $p < 0,001$), starp vienusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 37,00$, $p < 0,001$), starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 94,00$, $p = 0,025$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības SHH gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 14,00$, $p = 0,004$), starp vienusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 72,50$, $p < 0,001$) un starp vienusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 62,00$, $p < 0,001$) (skatīt 3.48. tabulu).

**SHH gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
kontroles pacientu audos**

Nr.	Šifrs	SHH	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	1a	++	+ / +++
2.	2a	++	++
3.	4a	+++	+++
4.	5a	+++	++ / +++
5.	6a	++ / +++	++
Mediāna		++ / +++	++
IQR		1,0	1,0

Apzīmējumi: SHH – *Sonic hedgehog* gēns, IQR – starpkvartīļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – neviens imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

**SHH gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
vienpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	SHH	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	++	++
2.	258	++ / +++	+++
3.	277	++ / +++	++ / +++
4.	299	+++	+ / ++
5.	306	++ / +++	++ / +++
6.	311	++ / +++	+++
7.	325	+++	+++ / ++++
8.	347	+++	++ / +++
9.	359	+++ / ++++	++ / +++
10.	364	+++	+++
11.	372	+++	++ / +++
12.	321	++	+++
13.	259	+++	+++
14.	262	+++	++
15.	279	++ / +++	+++
16.	283	+ / ++	++
17.	284	+++	++ / +++
18.	289	++	+++
19.	288	+++	++
20.	300	+++	++ / +++
21.	303	+++ / ++++	+++
22.	324	++ / +++	+++
23.	328	++	+++
24.	339	+ / ++	+
25.	348	+ / ++	+
26.	352	++	++ / +++
27.	358	++	++ / +++
28.	365	+++ / ++++	+++
29.	327	++ / +++	++ / +++
30.	367	++ / +++	++ / +++
31.	333	++ / +++	++

3.44. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	SHH	
		Epitēlijs	Saistaudi
32.	302	++	+++
33.	363	+++	++/+++
34.	37	++/+++	++
35.	182	++	++/+++
36.	223	++/+++	+++
Mediāna		++/+++	++/+++
IQR		1,0	0,875

Apzīmējumi: SHH – *Sonic hedgehog* gēns, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.45. tabula

SHH gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums divpusējas lūpas šķeltnes pacientu audos

Nr.	Šifrs	SHH	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	+++	++/+++
2.	212	+/+	+/+
3.	213	+/+	+
4.	238	++	++/+++
5.	264	++	++/+++
6.	194	0	+/+
7.	177	+/+	+
8.	197	++	+/+
9.	204	+	+/+
10.	206	++	+
11.	318	+	++
12.	67	++	++
13.	369	+/+	+
Mediāna		+/+	+/+
IQR		0,75	1,25

Apzīmējumi: SHH – *Sonic hedgehog* gēns, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.46. tabula

SHH gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums aukslēju šķeltnes pacientu audos

Nr.	Šifrs	SHH	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	+/+	+/+
2.	285	0/+	+
3.	319	+	+
4.	335	+	+

3.46. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	SHH	
		Epitēlijs	Saistaudi
5.	240	0/+	+
6.	261	+/>++	++
7.	276	++	++
8.	332	+	++
9.	366	+	+/>++
10.	178	+/>++	+
11.	187	+	+
12.	233	+	+/>++
13.	271	0/+	+
14.	273	+	+
15.	287	0/+	+/>++
16.	331	++	++
17.	215	+/>++	0/+
18.	353	0/+	+
19.	39	+	+/>++
20.	275	++	+/>++
21.	298	+/>++	+/>++
22.	196	+	+
23.	245	+	++
24.	362	++	+/>++
25.	216	+/>++	+
26.	374	0/+	+
Mediāna		+	+/>++ līdz ++
IQR		0,625	0,5

Apzīmējumi: SHH – *Sonic hedgehog* gēns, IQR – starpkvartīļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, + – maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.47. tabula

SHH gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
SHH epitēlijā	Kontroles	5	56,50	47,119	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	57,19			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	31,73			
	Aukslēju šķeltnes	26	18,69			
SHH saistaudos	Kontroles	5	47,60	41,192	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	57,14			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	30,85			
	Aukslēju šķeltnes	26	20,92			

Apzīmējumi: SHH – *Sonic hedgehog* gēns, df – brīvības pakāpe.

SHH gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
SHH epitēlijā	Kontroles	5	20,10	100,50	85,50	0,862
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	21,13	760,50		
	Kontroles	5	14,20	71,00	9,00	0,019
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	7,69	100,00		
	Kontroles	5	28,20	141,00	4,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	13,65	355,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	29,60	1065,50	68,50	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	12,27	159,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	43,47	1565,00	37,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	14,92	388,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	25,77	335,00	94,00	0,025
	Aukslēju šķeltnes	26	17,12	445,00		
SHH saistaudos	Kontroles	5	14,70	73,50	58,50	0,217
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	21,88	787,50		
	Kontroles	5	12,70	63,50	16,50	0,117
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	8,27	107,50		
	Kontroles	5	26,20	131,00	14,00	0,004
	Aukslēju šķeltnes	26	14,04	365,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	29,49	1061,50	72,50	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	12,58	163,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	42,78	1540,00	62,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	15,88	413,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	24,00	312,00	117,00	0,126
	Aukslēju šķeltnes	26	18,00	468,00		

Apzīmējumi: SHH – *Sonic hedgehog* gēns.

3.2.9. SOX3 gēna proteīns

SRY boksa transkripcijas faktora-3 (SOX3) gēna proteīns kontroles pacientu epitēlijā tika konstatēts daudz (+++) divos paraugos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) trijos paraugos, savukārt saistaudos SOX3 tika noteikts vidēji daudz līdz daudz (+/++) vienā paraugā, daudz (+++) trijos paraugos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) vienā paraugā (skatīt 3.49. tabulu un 3.43. attēlu pielikumā).

SRY boksa transkripcijas faktora-3 (SOX3) gēna proteīns vienpusējas lūpas šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēts visos paraugos – maz (+) SOX3 saturošu epitēlijšūnu tika noteiktas vienā paraugā, maz līdz vidēji daudz (+/++) trijos paraugos, vidēji daudz (++) piecos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (+/+++ 15 paraugos, daudz (+++) 11 paraugos, bet daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) vienā paraugā. Saistaudos SOX3 tika konstatēts maz (+) četros paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) astoņos paraugos, vidēji daudz (++) 12 paraugos, vidēji

daudz līdz daudz (++)/+++ desmit paraugos un daudz (+++) divos paraugos (skatīt 3.50. tabulu un 3.44. attēlu pielikumā).

SRV boksa transkripcijas faktora-3 (SOX3) gēna proteīns divpusējas lūpas šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēts maz (+) divos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) vienā gadījumā, vidēji daudz (++) sešos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ trijos gadījumos un daudz (+++) vienā gadījumā. Saistaudos SOX3 tika noteikts maz (+) vienā paraugā, maz līdz vidēji daudz (+/++) divos paraugos, vidēji daudz (++) piecos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ četros paraugos un daudz (+++) vienā paraugā (skatīt 3.51. tabulu un 3.45. attēlu pielikumā).

SRV boksa transkripcijas faktora-3 (SOX3) gēna proteīns aukslēju šķeltnes pacientu epitēlijā tika noteikts reti (0/+) divos gadījumos, maz (+) septiņos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) sešos gadījumos, vidēji daudz (++) sešos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ piecos gadījumos. Aukslēju šķeltnes saistaudos SOX3 tika konstatēts maz (+) trijos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) septiņos paraugos, vidēji daudz (++) astoņos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ astoņos paraugos (skatīt 3.52. tabulu un 3.46. attēlu pielikumā).

Izvērtējot SOX3 gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 34,856$, $df = 3$, $p = 0,005$), **gan saistaudos** ($H = 12,838$, $df = 3$, $p < 0,001$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.53. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības SOX3 gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un vienaspusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 14,50$, $p = 0,001$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 9,00$, $p = 0,019$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 1,00$, $p < 0,001$), starp vienaspusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 121,50$, $p = 0,008$), starp vienaspusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 140,00$, $p < 0,001$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības SOX3 gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un vienaspusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 10,500$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 4,50$, $p = 0,003$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 4,00$, $p < 0,001$) (skatīt 3.54. tabulu).

**SOX3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
kontroles pacientu audos**

Nr.	Šifrs	SOX3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	1a	+++ /++++	+++
2.	2a	+++	+/+++
3.	4a	+++ /++++	+++ /++++
4.	5a	+++	+++
5.	6a	+++ /++++	+++
Mediāna		+++ /++++	+++
IQR		0,5	0,5

Apzīmējumi: SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3, IQR – starpkvartiļu amplitūda.
Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – neviens imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

**SOX3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
vienpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	SOX3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	+ /++	+
2.	258	++ /+++	++
3.	277	++ /+++	++ /+++
4.	299	+ /++	+
5.	306	++ /+++	+ /++
6.	311	+++	++ /+++
7.	325	++ /+++	++ /+++
8.	347	+++	+ /++
9.	359	+++ /++++	++ /+++
10.	364	+++	++ /+++
11.	372	+++	+++
12.	321	++ /+++	+ /++
13.	259	++	++
14.	262	++ /+++	++
15.	279	++	+ /++
16.	283	++ /+++	++ /+++
17.	284	+++	+ /++
18.	289	++ /+++	++
19.	288	+ /++	+
20.	300	++ /+++	+ /++
21.	303	+++	++ /+++
22.	324	+++	+++
23.	328	++	++
24.	339	++	+ /++
25.	348	+	+
26.	352	+++	++ /+++
27.	358	++ /+++	++
28.	365	+++	++
29.	327	++ /+++	++
30.	367	++ /+++	+ /++
31.	333	+++	++
32.	302	++ /+++	++

Nr.	Šifrs	SOX3	
		Epitēlijs	Saistaudi
33.	363	++/+++	++
34.	37	++/+++	++
35.	182	++	++/+++
36.	223	+++	++/+++
Mediāna		++/+++	++
IQR		0,875	1,0

Apzīmējumi: SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.51. tabula

**SOX3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	SOX3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	+++	+++
2.	212	++	+++
3.	213	++	+++
4.	238	+++	+++
5.	264	+++	+++
6.	194	++	+/+
7.	177	++	++
8.	197	++	+
9.	204	+/+	++
10.	206	+	++
11.	318	+	++
12.	67	+++	++
13.	369	++	+/+
Mediāna		++	++
IQR		0,75	0,75

Apzīmējumi: SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.52. tabula

**SOX3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	SOX3	
		Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	+++	+++
2.	285	0/+	+/+
3.	319	+/+	++
4.	335	+/+	+/+
5.	240	+	++

Nr.	Šifrs	SOX3	
		Epitēlijs	Saistaudi
6.	261	+/++	++/+++
7.	276	++	++
8.	332	++	++/+++
9.	366	++	++/+++
10.	178	+/++	+
11.	187	++/+++	++
12.	233	+/++	++/+++
13.	271	+	+/++
14.	273	++/+++	++
15.	287	+	++
16.	331	+	++
17.	215	+	+
18.	353	+	+
19.	39	+/++	++/+++
20.	275	++	+/++
21.	298	++/+++	+/++
22.	196	++	++/+++
23.	245	++	++/+++
24.	362	++/+++	+/++
25.	216	+	++
26.	374	0/+	+/++
Mediāna		+/++	++
IQR		1,0	1,0

Apzīmējumi: SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, + – maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/+++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.53. tabula

SOX3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
SOX3 epitēlijā	Kontroles	5	74,90	34,856	3	0,005
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	50,64			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	33,92			
	Aukslēju šķeltnes	26	23,13			
SOX3 saistaudos	Kontroles	5	74,30	12,838	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	38,42			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	42,54			
	Aukslēju šķeltnes	26	35,87			

Apzīmējumi: SOX3 – *Sonic hedgehog* gēns, df – brīvības pakāpe.

SOX3 gēna proteīna pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltņes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
SOX3 epitēlijā	Kontroles	5	36,10	180,50	14,50	0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	18,90	680,50		
	Kontroles	5	15,80	79,00	1,00	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	7,08	92,00		
	Kontroles	5	29,00	145,00	0,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltņes	26	13,50	351,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	28,13	1012,50	121,50	0,008
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	16,35	212,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	40,61	1462,00	140,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltņes	26	18,88	491,00		
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	24,50	318,50	110,50	0,081
	Aukslēju šķeltņes	26	17,75	461,50		
SOX3 saistaudos	Kontroles	5	37,00	185,00	10,00	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	18,78	676,00		
	Kontroles	5	15,10	75,50	4,50	0,003
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	7,35	95,50		
	Kontroles	5	28,20	141,00	4,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltņes	26	13,65	355,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	24,31	875,00	209,00	0,556
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	26,92	350,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	32,33	1164,00	438,00	0,657
	Aukslēju šķeltņes	26	30,35	789,00		
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	22,27	289,50	139,50	0,384
	Aukslēju šķeltņes	26	18,87	490,50		

Apzīmējumi: SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3.

3.2.10. WNT3A un WNT9B gēnu proteīni

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A (WNT3A) kontroles pacientu epitēlijā tika konstatēts vidēji daudz (++) divos gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (+++/+++)
vienā gadījumā un daudz (+++) divos gadījumos. Saistaudos WNT3A tika noteikts vidēji daudz līdz daudz (+++/+++)
divos paraugos, daudz (+++) divos paraugos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++)
vienā paraugā (skatīt 3.55. tabulu un 3.47. attēlu pielikumā).

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A (WNT3A) vienpusējas lūpas šķeltņes pacientu epitēlijā tika noteikts reti (0/+) astoņos paraugos, maz (+) astoņos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) piecos paraugos, vidēji daudz (++) četros paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
sešos paraugos, bet piecos paraugos WNT3A epitēlijā netika konstatēts (0). Vienpusējas lūpas šķeltņes grupas saistaudos WNT3A tika noteikts reti (0/+) 13 paraugos, maz (+) 15 gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) divos gadījumos, vidēji daudz (++) divos

gadījumos, bet četros gadījumos WNT3A saistaudos netika konstatēts (0) (skatīt 3.56. tabulu un 3.48. attēlu pielikumā).

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A (WNT3A) divpusējas lūpas šķeltnes pacientu epitēlijā tika noteikts reti (0/+) četros paraugos, maz (+) divos paraugos, vidēji daudz (++) vienā paraugā, bet sešos paraugos WNT3A epitēlijā netika konstatēts (0). Divpusējas lūpas šķeltnes saistaudos WNT3A tika noteikts reti (0/+) trijos pacientos, maz (+) sešos pacientos, maz līdz vidēji daudz (+/++) divos pacientos, bet netika konstatēts (0) divos paraugos (skatīt 3.57. tabulu un 3.49. attēlu pielikumā).

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A (WNT3A) aukslēju šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēts reti (0/+) 13 pacientos, maz (+) piecos pacientos, vidēji daudz (++) vienā pacientā, bet septiņiem pacientiem WNT3A epitēlijā netika konstatēts (0). Saistaudos WNT3A tika noteikts reti (0/+) 13 gadījumos, maz (+) piecos gadījumos, maz līdz vidēji daudz (+/++) divos gadījumos, bet sešos gadījumos WNT3A saistaudos netika konstatēts (0) (skatīt 3.58. tabulu un 3.50. attēlu pielikumā).

Izvērtējot WNT3A gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 24,529$, $df = 3$, $p < 0,001$), **gan saistaudos** ($H = 19,326$, $df = 3$, $p < 0,001$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.59. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības WNT3A gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un viensusēju lūpu šķeltnes grupu ($U = 19,00$, $p = 0,002$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 1,00$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 1,00$, $p < 0,001$), starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 113,00$, $p = 0,005$), starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 247,50$, $p = 0,001$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības WNT3A gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un viensusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 0,00$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 0,00$, $p = 0,003$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 0,00$, $p < 0,001$) (skatīt 3.60. tabulu).

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B (WNT9B) kontroles pacientu epitēlijā vienā paraugā tika konstatēts daudz (+++), daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) trijos paraugos, ļoti daudz (++++) vienā paraugā, bet saistaudos WNT9B tika noteikts galvenokārt daudz līdz ļoti daudz (+++/++++), bet vienā paraugā daudz (+++) (skatīt 3.56. tabulu un 3.51. attēlu pielikumā).

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B (WNT9B) vienpusējas lūpas šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēts maz (+) vienā pacientā, maz līdz vidēji daudz (+/++) divos pacientos, vidēji daudz (++) septiņos pacientos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
14 pacientos, daudz (+++) astoņos pacientos, daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) četros pacientos. Saistaudos WNT9B tika konstatēts vidēji daudz (++) sešos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
desmit paraugos, daudz (+++) 11 paraugos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) deviņos paraugos (skatīt 3.56. tabulu un 3.52. attēlu pielikumā).

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B (WNT9B) divpusējas lūpas šķeltnes pacientu epitēlijā tika noteikts maz (+) vienā gadījumā, maz līdz vidēji daudz (+/++) divos gadījumos, vidēji daudz (++) četros gadījumos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
piecos gadījumos, daudz (+++) vienā gadījumā. Saistaudos WNT9B tika konstatēts maz (+) vienā pacientā, vidēji daudz (++) četros pacientos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
četros pacientos, daudz (+++) trijos pacientos un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) vienā pacientā (skatīt 3.57. tabulu un 3.53. attēlu pielikumā).

Bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B (WNT9B) aukslēju šķeltnes pacientu epitēlijā tika konstatēts reti (0/+) vienā paraugā, maz (+) sešos paraugos, maz līdz vidēji daudz (+/++) četros paraugos, vidēji daudz (++) astoņos paraugos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
piecos paraugos un daudz (+++) divos paraugos. Aukslēju šķeltnes grupas saistaudos WNT9B tika noteikts maz (+) vienā pacientā, maz līdz vidēji daudz (+/++) trijos pacientos, vidēji daudz (++) sešos pacientos, vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
11 pacientos un daudz (+++) piecos pacientos (skatīt 3.58. tabulu un 3.54. attēlu pielikumā).

Izvērtējot WNT9B gēna proteīna imūnreaktivitātes atšķirības starp grupām ar Kraskela–Volisa H testu, **tika noteiktas statistiski nozīmīgas atšķirības gan epitēlijā** ($H = 26,976$, $df = 3$, $p = 0,005$), **gan saistaudos** ($H = 20,123$, $df = 3$, $p < 0,001$) starp šķeltnu pacientu grupām un kontroles grupu (skatīt 3.59. tabulu).

Veicot grupu savstarpēju salīdzinājumu ar Manna–Vitnija U testu, statistiski nozīmīgas atšķirības WNT9B gēna proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 14,00$, $p = 0,001$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 0,50$, $p < 0,001$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 1,00$, $p < 0,001$), starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 143,50$, $p = 0,033$), starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 204,00$, $p < 0,001$). Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības WNT9B gēna proteīna imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 32,50$, $p = 0,018$), starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu ($U = 4,50$, $p = 0,003$), starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu ($U = 2,50$, $p < 0,001$).

un starp vienaspusējas lūpas šķeltņes grupu un aukušļu šķeltņes grupu (U = 246,50, p = 0,001) (skatīt 3.60. tabulu).

3.55. tabula

WNT3A un WNT9B ģēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums kontroles pacientu audos

Nr.	Šifrs	WNT3A		WNT9B	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	1a	++/+++	++/+++	+++/>++++	+++/>++++
2.	2a	++	+++	+++/>++++	+++/>++++
3.	4a	+++	+++/>++++	++++	+++/>++++
4.	5a	+++	++/+++	+++/>++++	+++/>++++
5.	6a	++	+++	+++	+++
Mediāna		++/+++	+++	+++/>++++	+++/>++++
IQR		1,0	0,75	0,5	0,25

Apzīmējumi: WNT3A – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B, IQR – starpkvartiļu amplitūda, N – nav datu.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā.

3.56. tabula

WNT3A un WNT9B ģēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums vienaspusējas lūpas šķeltņes pacientu audos

Nr.	Šifrs	WNT3A		WNT9B	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	247	0	0/+	+	++
2.	258	0/+	0/+	++/+++	+++
3.	277	+/>++	+	+++	+++/>++++
4.	299	+	+	++	++/+++
5.	306	+	0/+	++	++
6.	311	0/+	0/+	++/+++	+++
7.	325	++/+++	+	++/+++	+++/>++++
8.	347	0/+	+	++/+++	+++
9.	359	++/+++	+	+++/>++++	+++/>++++
10.	364	++/+++	++	+++	+++/>+++
11.	372	0	+	++/+++	+++
12.	321	0	+	++	++/+++
13.	259	0/+	0/+	++/+++	++/+++
14.	262	+/>++	+	+++	+++
15.	279	+	0/+	++/+++	+++
16.	283	0/+	0	++	++
17.	284	++/+++	+/>++	+++	++/+++
18.	289	+/>++	0/+	++	++/+++
19.	288	0/+	0	++/+++	++
20.	300	++/+++	++	+++	++/+++
21.	303	++/+++	+	++/+++	+++/>++++
22.	324	++	+	+++	+++/>++++
23.	328	+	0/+	++/+++	+++
24.	339	0	0	+/>++	++/+++
25.	348	0	0	++	++
26.	352	0/+	0/+	++	++/+++
27.	358	+	+	++/+++	+++

3.56. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	WNT3A		WNT9B	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
28.	365	++	+	+++/>++++	+++
29.	327	+/>++	+	+++/>++++	+++/>++++
30.	367	++	0/>+	++/>+++	+++/>++++
31.	333	+	0/>+	+++/>++++	+++/>++++
32.	302	++	+/>++	+++	+++
33.	363	+	+	+++	+++/>++++
34.	37	+	0/>+	++/>+++	+++
35.	182	0/>+	+	+/>++	++
36.	223	+/>++	0/>+	++/>+++	+/>+++
Mediāna		+	+	++/>+++	+++
IQR		1,5	0,5	1,0	0,875

Apzīmējumi: WNT3A – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-9B, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/>++++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/>++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

3.57. tabula

**WNT3A un WNT9B gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
divpusējas lūpas šķeltnes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	WNT3A		WNT9B	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	267	0/>+	+/>++	+++	+++/>++++
2.	212	0/>+	+	++	++
3.	213	0	0/>+	+/>++	++/>+++
4.	238	+	+	++/>+++	+++
5.	264	+	0/>+	++/>+++	++
6.	194	0	+	+/>++	+
7.	177	0	0	++/>+++	++
8.	197	0/>+	+	++/>+++	++/>+++
9.	204	0/>+	+	++	+++
10.	206	0	0/>+	++	++
11.	318	0	+/>++	+	++/>+++
12.	67	++	+	++/>+++	+++
13.	369	0	0	++	++/>+++
Mediāna		0/>+	+	++	++/>+++
IQR		0,75	0,5	0,75	1,0

Apzīmējumi: WNT3A – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-9B, IQR – starpkvartiļu amplitūda.

Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, +- maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/>++ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/>++++ – vidēji daudz līdz daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++/>++++ – daudz līdz ļoti daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

**WNT3A un WNT9B gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvais daudzums
aukslēju šķeltņes pacientu audos**

Nr.	Šifrs	WNT3A		WNT9B	
		Epitēlijs	Saistaudi	Epitēlijs	Saistaudi
1.	237	+	0/+	++/+++	++/+++
2.	285	0/+	0/+	+	++/+++
3.	319	0	0	0/+	+
4.	335	+	0/+	+	++
5.	240	0	0	+	+++
6.	261	0/+	0/+	++	++/+++
7.	276	0/+	+	++	++
8.	332	+	+/++	++/+++	+++
9.	366	0/+	0/+	++	+++
10.	178	0/+	0	++	+/++
11.	187	0/+	0/+	++/+++	++
12.	233	0/+	0/+	++	++/+++
13.	271	0/+	0	+/++	++
14.	273	+	+	+++	++/+++
15.	287	0	+	+	+++
16.	331	0/+	0/+	+/++	++/+++
17.	215	0/+	0	+	+/++
18.	353	0/+	0/+	+/++	++/+++
19.	39	0/+	+	++	+++
20.	275	+	+	++	++/+++
21.	298	++	+/++	++/+++	++
22.	196	0	0/+	++	+/++
23.	245	0	0/+	++/+++	++/+++
24.	362	0	0/+	+++	++/+++
25.	216	0	0/+	+/++	++
26.	374	0/+	0	+	++/+++
Mediāna		0/+	0/+	++	++/+++
IQR		0,625	0,625	1,5	0,5

Apzīmējumi: WNT3A – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-9B, IQR – starpkvartīļu amplitūda. Imūnreaktīvo struktūru kvantifikācija: 0 – nevienas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, 0/+ – retas imūnreaktīvas struktūras redzes laukā, + – maz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +/+ – maz līdz vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, ++ – vidēji daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā, +++ – daudz imūnreaktīvu struktūru redzes laukā.

**WNT3A un WNT9B gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums
kontroles un šķeltņes pacientu grupu audos ar Kraskela–Volisa H testu**

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
WNT3A epitēlijā	Kontroles	5	73,80	24,529	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	48,01			
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	26,96			
	Aukslēju šķeltņes	26	30,46			
WNT3A saistaudos	Kontroles	5	78,00	19,326	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltņes	36	41,24			
	Divpusējas lūpas šķeltņes	13	43,23			
	Aukslēju šķeltņes	26	30,90			

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Kraskela–Volisa H tests	df	p vērtība
WNT9B epitēlijā	Kontroles	5	74,90	26,976	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	48,24			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	34,58			
	Aukslēju šķeltnes	26	26,13			
WNT9B saistaudos	Kontroles	5	70,10	20,123	3	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	47,33			
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	33,42			
	Aukslēju šķeltnes	26	28,88			

Apzīmējumi: WNT3A – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-9B, df – brīvības pakāpe.

3.60. tabula

WNT3A un WNT9B gēnu proteīnu pozitīvu struktūru relatīvā daudzuma salīdzinājums kontroles un šķeltnes pacientu grupu audos ar Manna–Vitnija U testu

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna–Vitnija U tests	p vērtība
WNT3A epitēlijā	Kontroles	5	35,20	176,00	19,00	0,002
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	19,03	685,00		
	Kontroles	5	15,80	79,00	1,00	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	7,08	92,00		
	Kontroles	5	28,80	144,00	1,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	13,54	352,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	28,36	1021,00	113,00	0,005
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	15,69	204,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	37,63	1354,50	247,50	0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	23,02	598,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	18,19	236,50	145,50	0,489
	Aukslēju šķeltnes	26	20,90	543,50		
WNT3A saistaudos	Kontroles	5	39,00	195,00	0,00	< 0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	18,50	666,00		
	Kontroles	5	16,00	80,00	0,00	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	7,00	91,00		
	Kontroles	5	29,00	145,00	0,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	13,50	351,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	24,60	885,50	219,50	0,727
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	26,12	339,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	35,14	1265,00	337,00	0,047
	Aukslēju šķeltnes	26	26,46	688,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	24,12	313,50	115,50	0,112
	Aukslēju šķeltnes	26	17,94	466,50		
WNT9B epitēlijā	Kontroles	5	36,20	181,00	14,00	0,001
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	18,89	680,00		
	Kontroles	5	15,90	79,50	0,50	< 0,001
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	7,04	91,50		
	Kontroles	5	28,80	144,00	1,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	13,54	352,00		

Gēna proteīns	Grupa	Paraugu skaits	Rangu vidējais rādītājs	Rangu summa	Manna-Vitnija U tests	p vērtība
WNT9B epitēlijā	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	27,51	990,50	143,50	0,033
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	18,04	234,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	38,83	1398,00	204,00	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	21,35	555,00		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	23,50	305,50	123,50	0,178
	Aukslēju šķeltnes	26	18,25	474,50		
WNT9B saistaudos	Kontroles	5	32,50	162,50	32,50	0,018
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	19,40	698,50		
	Kontroles	5	15,10	75,50	4,50	0,003
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	7,35	95,50		
	Kontroles	5	28,50	142,50	2,50	< 0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	13,60	353,50		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	27,28	982,00	152,00	0,055
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	18,69	243,00		
	Vienpusējas lūpas šķeltnes	36	37,65	1355,50	246,50	0,001
	Aukslēju šķeltnes	26	22,98	597,50		
	Divpusējas lūpas šķeltnes	13	21,38	278,00	151,00	0,607
	Aukslēju šķeltnes	26	19,31	502,00		

Apzīmējumi: WNT3A – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa (*Wingless-type*) MMTV integrācijas vietas proteīns-9B.

3.3. Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltnu kandidātģēnu proteīnu savstarpējo korelāciju novērtējuma dati

3.3.1. Korelācijas kontroles grupās

Pirmajā kontroles grupā (pacienti, kam veikta augšlūpas saitītes plastika) tika konstatēta statistiski nozīmīga cieša pozitīva korelācija starp pacientu vecumu un RYK relatīvo daudzumu saistaudos ($r_s = 0,768$, $p = 0,044$).

Pirmajā kontroles grupā tika konstatētas vairākas statistiski nozīmīgas ļoti ciešas sešas pozitīvas un trīs negatīvas korelācijas starp šķeltnu kandidātģēnu proteīniem. Pozitīvās korelācijās galvenokārt tika iesaistīts DLX4 epitēlijā un saistaudos, kas tika konstatēts četrās statistiski nozīmīgās pozitīvās korelācijās. DLX4 tika arī konstatēts divās statistiski nozīmīgās negatīvās korelācijās. Statistiski nozīmīgās pozitīvās korelācijās trijos gadījumos tika konstatēta PAX7 iesaiste. Statistiski nozīmīgas korelācijas pirmajā kontroles grupā ir apkopotas 3.61. tabulā.

Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltņu kandidātģeņu proteīnu statistiski nozīmīgas korelācijas pirmajā kontroles grupā

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem noteikta korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
1.	Ļoti cieša pozitīva korelācija (0,8–1,0)	DLX4 epitēlijā un PAX7 saistaudos	0,947	0,014
2.		DLX4 epitēlijā un FOXE1 epitēlijā	0,918	0,028
3.		DLX4 saistaudos un HOXB3 epitēlijā	0,889	0,044
4.		DLX4 saistaudos un MSX2 saistaudos	0,889	0,044
5.		HOXB3 epitēlijā un PAX7 saistaudos	0,889	0,044
6.		MSX2 saistaudos un PAX7 saistaudos	0,889	0,044
7.	Ļoti cieša negatīva korelācija (–0,8 līdz –1,0)	DLX4 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	–0,805	0,029
8.		DLX4 saistaudos un HOXB3 saistaudos	–0,889	0,044
9.		HOXB3 saistaudos un PAX7 saistaudos	–0,889	0,044

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, HOXB3 – homeobokss B3, MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9.

Otrajā kontroles grupā (pacienti, kuru mutis dobūma audi iegūti no RSU AAI vēsturiskās kolekcijas) tika noteikta viena statistiski nozīmīga cieša korelācija starp SHH epitēlijā un SHH saistaudos ($r_s = 0,892$, $p = 0,042$).

3.3.2. Korelācijas vienusējas lūpas šķeltnes grupā

Vienusējas lūpu šķeltnes grupā tika noteiktas 104 statistiski nozīmīgas ciešas, vidēji ciešas un vājas korelācijas starp izvērtētajiem šķeltņu kandidātģeņiem.

Vienusējas lūpu šķeltnes grupā tika konstatētas astoņas statistiski nozīmīgas ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,6–0,8$). Trijās korelācijās tika noteikta HOXB3 epitēlijā iesaiste, divās korelācijās – WNT9B epitēlijā iesaiste, bet vienā korelācijā katram – DLX4 epitēlijā, HOXB3 saistaudos, MSX2 epitēlijā, MSX2 saistaudos, PAX9 saistaudos, RYK epitēlijā, RYK saistaudos, WNT3A epitēlijā un WNT9B saistaudos iesaiste.

Vienusējas lūpu šķeltnes grupā tika noteikta 61 statistiski nozīmīga vidēji cieša pozitīva korelācija ($r_s = 0,4–0,6$). Desmit korelācijās bija iesaistīts HOXB3 epitēlijā, deviņās korelācijās – PAX9 epitēlijā, astoņās korelācijās – PAX7 saistaudos, PAX9 saistaudos, SOX3 epitēlijā, WNT3A epitēlijā katrs, septiņās korelācijās – HOXB3 saistaudos, sešās korelācijās katrs – FOXE1 saistaudos, SHH epitēlijā, SOX3 saistaudos, WNT3A saistaudos, WNT9B epitēlijā, WNT9B saistaudos katrs, piecās korelācijās – MSX2 epitēlijā, SHH saistaudos katrs, četrās korelācijās – DLX4 epitēlijā, FOXE1 epitēlijā katrs, trijās korelācijās – RYK epitēlijā, divās korelācijās – MSX2 saistaudos, PAX7 epitēlijā, RYK saistaudos katrs un vienā korelācijā – DLX4 saistaudos.

Vienpusējas lūpu šķeltnes grupā tika konstatētas 35 statistiski nozīmīgas vājas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,2-0,4$). Sešās korelācijās bija iesaistīts HOXB3 epitēlijā, MSX2 saistaudos un SHH saistaudos katrs, piecās korelācijās – PAX9 saistaudos un WNT3A saistaudos katrs, četrās korelācijās – DLX4 epitēlijā, MSX2 epitēlijā, SOX3 epitēlijā, WNT9B saistaudos katrs, trijās korelācijās – FOXE1 epitēlijā, PAX7 epitēlijā, PAX9 epitēlijā, WNT9B epitēlijā katrs, divās korelācijās – HOXB3 saistaudos, RYK epitēlijā, RYK saistaudos, SHH epitēlijā, SOX3 saistaudos katrs, bet vienā korelācijā – DLX4 saistaudos, FOXE1 saistaudos, PAX7 saistaudos, WNT3A epitēlijā katrs.

Statistiski nozīmīgas pozitīvas korelācijas vienpusējas lūpas šķeltnes grupā ir apkopotas 3.62. tabulā.

3.62. tabula

Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltnu kandidātģeņu proteīnu statistiski nozīmīgas pozitīvas korelācijas vienpusējas lūpas šķeltnes audos

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem noteikta korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
1.	Cieša korelācija (0,6–0,8)	MSX2 epitēlijā un MSX2 saistaudos	0,710	< 0,001
2.		HOXB3 epitēlijā un HOXB3 saistaudos	0,684	< 0,001
3.		HOXB3 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	0,663	< 0,001
4.		WNT3A epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,662	< 0,001
5.		WNT9B epitēlijā un WNT9B saistaudos	0,662	< 0,001
6.		DLX4 epitēlijā un HOXB3 epitēlijā	0,632	< 0,001
7.		PAX9 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,632	< 0,001
8.		RYK epitēlijā un RYK saistaudos	0,604	< 0,001
9.	Vidēji cieša korelācija (0,4–0,6)	SOX3 epitēlijā un SOX3 saistaudos	0,599	< 0,001
10.		FOXE1 saistaudos un PAX9 saistaudos	0,596	< 0,001
11.		WNT3A epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,594	< 0,001
12.		SHH epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,578	< 0,001
13.		HOXB3 epitēlijā un WNT9B saistaudos	0,576	< 0,001
14.		FOXE1 epitēlijā un FOXE1 saistaudos	0,561	< 0,001
15.		PAX7 saistaudos un WNT9B saistaudos	0,561	< 0,001
16.		FOXE1 saistaudos un HOXB3 saistaudos	0,552	< 0,001
17.		HOXB3 saistaudos un SHH saistaudos	0,546	0,001
18.		HOXB3 saistaudos un PAX9 saistaudos	0,543	0,001
19.		WNT3A saistaudos un WNT9B epitēlijā	0,542	0,001
20.		MSX2 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,541	0,001
21.		PAX7 epitēlijā un PAX7 saistaudos	0,541	0,001
22.		FOXE1 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,538	0,001
23.		PAX9 saistaudos un SHH saistaudos	0,532	0,001
24.		PAX7 saistaudos un SHH saistaudos	0,530	0,001
25.		HOXB3 saistaudos un WNT9B saistaudos	0,524	0,001
26.		PAX7 saistaudos un PAX9 saistaudos	0,524	0,001
27.		SOX3 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,524	0,001
28.		FOXE1 saistaudos un PAX7 saistaudos	0,514	0,001
29.		HOXB3 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,513	0,001
30.		SHH epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,512	0,001
31.		MSX2 epitēlijā un WNT9B saistaudos	0,499	0,002

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem noteikta korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
32.	Vidēji cieša korelācija (0,4–0,6)	SHH epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,494	0,002
33.		PAX9 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,488	0,003
34.		FOXE1 epitēlijā un HOXB3 saistaudos	0,482	0,003
35.		WNT3A epitēlijā un WNT9B saistaudos	0,480	0,003
36.		HOXB3 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,479	0,003
37.		DLX4 epitēlijā un RYK saistaudos	0,469	0,004
38.		HOXB3 saistaudos un PAX7 saistaudos	0,468	0,004
39.		PAX9 epitēlijā un SHH saistaudos	0,459	0,005
40.		MSX2 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	0,454	0,005
41.		MSX2 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,453	0,006
42.		DLX4 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	0,448	0,006
43.		PAX7 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,448	0,006
44.		SOX3 epitēlijā un WNT9B saistaudos	0,445	0,007
45.		PAX9 saistaudos un RYK epitēlijā	0,443	0,007
46.		HOXB3 saistaudos un PAX9 epitēlijā	0,442	0,007
47.		SOX3 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,441	0,007
48.		PAX9 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,436	0,008
49.		HOXB3 epitēlijā un SHH epitēlijā	0,433	0,008
50.		SHH saistaudos un SOX3 saistaudos	0,432	0,008
51.		MSX2 saistaudos un WNT3A epitēlijā	0,429	0,009
52.		PAX9 epitēlijā un RYK epitēlijā	0,425	0,010
53.		HOXB3 epitēlijā un PAX7 epitēlijā	0,422	0,010
54.		FOXE1 epitēlijā un MSX2 saistaudos	0,420	0,011
55.		HOXB3 epitēlijā un MSX2 epitēlijā	0,419	0,011
56.		HOXB3 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,419	0,011
57.		HOXB3 epitēlijā un RYK epitēlijā	0,416	0,012
58.		DLX4 epitēlijā un DLX4 saistaudos	0,415	0,012
59.		SHH epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,415	0,012
60.		FOXE1 epitēlijā un HOXB3 epitēlijā	0,414	0,012
61.		PAX9 epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,414	0,012
62.		DLX4 epitēlijā un SOX3 saistaudos	0,412	0,013
63.		FOXE1 saistaudos un HOXB3 epitēlijā	0,412	0,012
64.		PAX7 saistaudos un SOX3 epitēlijā	0,412	0,012
65.		PAX9 epitēlijā un SHH epitēlijā	0,411	0,013
66.		PAX9 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,411	0,013
67.		RYK saistaudos un WNT3A saistaudos	0,409	0,013
68.		PAX9 saistaudos un SOX3 epitēlijā	0,402	0,015
69.		SOX3 epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,402	0,015
70.		Vāja korelācija (0,2–0,4)	DLX4 epitēlijā un FOXE1 saistaudos	0,397
71.	DLX4 epitēlijā un MSX2 epitēlijā		0,394	0,017
72.	SOX3 saistaudos un WNT9B saistaudos		0,392	0,018
73.	PAX7 epitēlijā un RYK epitēlijā		0,391	0,018
74.	DLX4 epitēlijā un WNT9B epitēlijā		0,388	0,019
75.	FOXE1 epitēlijā un PAX9 epitēlijā		0,388	0,019
76.	PAX9 saistaudos un RYK saistaudos		0,384	0,021
77.	SHH saistaudos un WNT3A epitēlijā		0,384	0,021
78.	DLX4 epitēlijā un PAX9 saistaudos		0,382	0,022
79.	MSX2 saistaudos un PAX9 epitēlijā		0,382	0,022
80.	FOXE1 epitēlijā un MSX2 epitēlijā		0,376	0,024
81.	MSX2 epitēlijā un SHH saistaudos		0,375	0,024

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem noteikta korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
82.	Vāja korelācija (0,2–0,4)	RYK epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,375	0,024
83.		SHH epitēlijā un WNT9B saistaudos	0,374	0,025
84.		PAX7 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,373	0,025
85.		HOXB3 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,372	0,026
86.		PAX9 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,365	0,029
87.		HOXB3 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,361	0,031
88.		HOXB3 epitēlijā un SHH saistaudos	0,359	0,032
89.		MSX2 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,359	0,032
90.		MSX2 saistaudos un WNT3A saistaudos	0,359	0,032
91.		MSX2 saistaudos un WNT9B epitēlijā	0,358	0,032
92.		HOXB3 epitēlijā un PAX7 saistaudos	0,356	0,033
93.		PAX7 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,354	0,034
94.		PAX9 saistaudos un WNT3A saistaudos	0,352	0,035
95.		DLX4 saistaudos un SHH saistaudos	0,351	0,036
96.		FOXE1 epitēlijā un SHH epitēlijā	0,351	0,035
97.		HOXB3 epitēlijā un MSX2 saistaudos	0,343	0,040
98.		HOXB3 epitēlijā un RYK saistaudos	0,343	0,041
99.		HOXB3 saistaudos un MSX2 saistaudos	0,343	0,040
100.		SHH saistaudos un SOX3 epitēlijā	0,341	0,042
101.		PAX9 saistaudos un WNT9B saistaudos	0,339	0,043
102.		WNT3A saistaudos un WNT9B saistaudos	0,336	0,045
103.		HOXB3 epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,334	0,046
104.		MSX2 saistaudos un SHH saistaudos	0,332	0,048

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, HOXB3 – homeobokss B3, MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze, SHH – *Sonic hedgehog* gēns, SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3, WNT3A – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B.

3.3.3. Korelācijas divpusējas lūpas šķeltnes grupā

Divpusējas lūpas šķeltnes grupā tika noteikta statistiski nozīmīga cieša negatīva korelācija starp pacientu vecumu un SOX3 relatīvo daudzumu saistaudos ($r_s = -0,711$, $p = 0,006$).

Divpusējas lūpas šķeltnes grupā statistiski nozīmīga vidēji cieša negatīva korelācija tika aprēķināta starp BARX1 saistaudos un WNT9B epitēlijā ($r_s = -0,581$, $p = 0,037$).

Divpusējas lūpas šķeltnes grupā tika noteiktas 72 statistiski nozīmīgas ļoti ciešas, ciešas un vidēji ciešas pozitīvas korelācijas starp izvērtētajiem šķeltņu kandidātģenēm.

Divpusējas lūpu šķeltnes grupā tika konstatētas sešas statistiski nozīmīgas ļoti ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,8-1,0$). Šķeltņu kandidātģēnu proteīnu iesaiste divās korelācijās tika konstatēta HOXB3 epitēlijā, PAX9 epitēlijā, SHH epitēlijā un WNT9B epitēlijā katram, bet iesaiste vienā korelācijā – FOXE1 epitēlijā, FOXE1 saistaudos, SHH saistaudos, WNT3A epitēlijā katram.

Divpusējas lūpu šķeltņes grupā tika konstatētas 55 statistiski nozīmīgas ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,6-0,8$). Vienpadsmit korelācijās bija iesaistīts FOXE1 gēna proteīns saistaudos, deviņās korelācijās – FOXE1 epitēlijā, MSX2 epitēlijā, MSX2 saistaudos, SOX3 epitēlijā katrs, septiņās korelācijās – HOXB3 epitēlijā, WNT3A epitēlijā katrs, sešās korelācijās – PAX9 epitēlijā, SHH saistaudos, WNT9B epitēlijā katrs, piecās korelācijās – DLX4 epitēlijā, PAX7 epitēlijā, PAX9 saistaudos katrs, četrās korelācijās – PAX7 saistaudos, SOX3 saistaudos katrs, divās korelācijās – SHH epitēlijā, WNT3A saistaudos, WNT9B saistaudos katrs, bet vienā korelācijā katrs – DLX4 saistaudos un HOXB3 saistaudos.

Divpusējas lūpu šķeltņes grupā tika noteiktas 11 statistiski nozīmīgas vidēji ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,4-0,6$). Trijās korelācijās bija iesaistīts SHH epitēlijā, divās korelācijās – DLX4 epitēlijā, FOXE1 epitēlijā, SOX3 saistaudos, WNT3A epitēlijā katrs, bet vienā korelācijā – HOXB3 saistaudos, HOXB3 epitēlijā, MSX2 saistaudos, PAX7 saistaudos, PAX9 saistaudos, RYK epitēlijā, SOX3 epitēlijā, WNT3A saistaudos, WNT9B epitēlijā katrs.

Statistiski nozīmīgas pozitīvas korelācijas divpusējas lūpas šķeltņes grupā ir apkopotas 3.63. tabulā.

3.63. tabula

Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltņu kandidātģeņu proteīnu statistiski nozīmīgas pozitīvas korelācijas divpusējas lūpas šķeltņes audos

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem ir korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
1.	Ļoti cieša korelācija (0,8–1,0)	HOXB3 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,940	< 0,001
2.		PAX9 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,909	< 0,001
3.		FOXE1 epitēlijā un FOXE1 saistaudos	0,859	< 0,001
4.		HOXB3 epitēlijā un SHH saistaudos	0,836	< 0,001
5.		SHH epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,811	0,001
6.		PAX9 epitēlijā un SHH epitēlijā	0,802	0,001
7.	Cieša korelācija (0,6–0,8)	PAX9 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,788	0,001
8.		MSX2 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,786	0,001
9.		HOXB3 epitēlijā un PAX7 epitēlijā	0,783	0,002
10.		FOXE1 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,778	0,002
11.		FOXE1 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,774	0,002
12.		HOXB3 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,774	0,002
13.		DLX4 epitēlijā un FOXE1 saistaudos	0,773	0,002
14.		FOXE1 epitēlijā un MSX2 epitēlijā	0,764	0,002
15.		DLX4 epitēlijā un FOXE1 epitēlijā	0,750	0,003
16.		FOXE1 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	0,745	0,003
17.		MSX2 saistaudos un SOX3 epitēlijā	0,745	0,003
18.		PAX7 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,745	0,003
19.		PAX7 saistaudos un SHH saistaudos	0,745	0,003
20.		SHH saistaudos un WNT3A epitēlijā	0,739	0,004

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem ir korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
21.	Cieša korelācija (0,6–0,8)	HOXB3 epitēlijā un MSX2 saistaudos	0,737	0,004
22.		DLX4 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	0,722	0,005
23.		FOXE1 saistaudos un PAX9 epitēlijā	0,720	0,006
24.		PAX7 saistaudos un WNT9B saistaudos	0,714	0,006
25.		SOX3 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,708	0,007
26.		MSX2 saistaudos un PAX7 epitēlijā	0,706	0,007
27.		SOX3 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,704	0,007
28.		FOXE1 saistaudos un PAX9 saistaudos	0,703	0,007
29.		PAX9 epitēlijā un SOX3 saistaudos	0,696	0,008
30.		PAX7 saistaudos un WNT3A saistaudos	0,693	0,009
31.		FOXE1 saistaudos un SHH saistaudos	0,690	0,009
32.		HOXB3 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,688	0,009
33.		MSX2 epitēlijā un MSX2 saistaudos	0,687	0,009
34.		DLX4 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,682	0,010
35.		SHH saistaudos un WNT3A saistaudos	0,671	0,012
36.		HOXB3 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,668	0,013
37.		PAX7 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,664	0,013
38.		FOXE1 epitēlijā un MSX2 saistaudos	0,662	0,014
39.		FOXE1 epitēlijā un HOXB3 epitēlijā	0,655	0,015
40.		WNT3A epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,655	0,015
41.		MSX2 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,654	0,015
42.		FOXE1 epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,645	0,017
43.		MSX2 epitēlijā un PAX7 epitēlijā	0,643	0,018
44.		FOXE1 saistaudos un SHH epitēlijā	0,639	0,019
45.		FOXE1 epitēlijā un SHH epitēlijā	0,633	0,020
46.		PAX7 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,632	0,021
47.		DLX4 epitēlijā un MSX2 epitēlijā	0,631	0,021
48.		MSX2 saistaudos un SHH saistaudos	0,631	0,021
49.		PAX9 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,629	0,021
50.		MSX2 saistaudos un PAX9 epitēlijā	0,627	0,022
51.		FOXE1 saistaudos un SOX3 epitēlijā	0,624	0,023
52.		FOXE1 saistaudos un WNT3A epitēlijā	0,622	0,023
53.		DLX4 saistaudos un MSX2 epitēlijā	0,618	0,024
54.		MSX2 saistaudos un WNT9B saistaudos	0,616	0,025
55.		PAX9 saistaudos un WNT9B epitēlijā	0,613	0,026
56.		FOXE1 saistaudos un MSX2 saistaudos	0,612	0,026
57.		FOXE1 saistaudos un WNT9B epitēlijā	0,612	0,026
58.		FOXE1 saistaudos un MSX2 epitēlijā	0,609	0,027
59.		HOXB3 epitēlijā un MSX2 epitēlijā	0,608	0,027
60.		SHH saistaudos un SOX3 epitēlijā	0,606	0,028
61.	FOXE1 saistaudos un HOXB3 epitēlijā	0,602	0,009	
62.	Vidēji cieša korelācija (0,4–0,6)	RYK epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,598	0,031
63.		DLX4 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,590	0,034
64.		MSX2 saistaudos un WNT3A epitēlijā	0,589	0,034
65.		SHH epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,589	0,034
66.		FOXE1 epitēlijā un SOX3 saistaudos	0,587	0,035
67.	DLX4 epitēlijā un DLX4 saistaudos	0,583	0,036	

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem ir korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
68.	Vidēji cieša korelācija (0,4–0,6)	FOXE1 saistaudos un PAX7 saistaudos	0,581	0,037
69.		HOXB3 epitēlijā un SHH epitēlijā	0,570	0,042
70.		FOXE1 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,562	0,046
71.		SHH epitēlijā un WNT3A epitēlijā	0,562	0,045
72.		FOXE1 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,557	0,048

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, HOXB3 – homeobokss B3, MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, RYK – receptoram līdzīgā tirozīnkināze, SHH – *Sonic hedgehog* gēns, SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3, WNT3A – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B.

3.3.4. Korelācijas aukslēju šķeltņes grupā

Aukslēju šķeltņes grupā tika noteikta 71 statistiski nozīmīga cieša, vidēji cieša un vāja korelācija starp izvērtētajiem šķeltņu kandidātģenēm.

Aukslēju šķeltņes grupā tika noteikta viena statistiski nozīmīga ļoti cieša pozitīva korelācija ($r_s = 0,8–1,0$) starp SOX3 epitēlijā un WNT9B epitēlijā ($r_s = 0,862$, $p = < 0,001$).

Aukslēju šķeltņes grupā tika konstatētas 13 statistiski nozīmīgas ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,6–0,8$). Četrās korelācijās bija iesaistīts PAX9 saistaudos, trijās korelācijās – HOXB3 epitēlijā, PAX7 epitēlijā, PAX7 saistaudos katrs, divās korelācijās – DLX4 epitēlijā, PAX9 epitēlijā, RYK epitēlijā katrs, bet vienā korelācijā – FOXE1 saistaudos, SHH epitēlijā, SHH saistaudos, SOX3 epitēlijā, SOX3 saistaudos, WNT3A saistaudos, WNT9B epitēlijā katrs.

Aukslēju šķeltņes grupā tika noteiktas 52 statistiski nozīmīgas vidēji ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,4–0,6$). Divpadsmit korelācijās bija iesaistīts SHH saistaudos, deviņās korelācijās – PAX9 epitēlijā, astoņās korelācijās – PAX7 saistaudos, WNT3A saistaudos katrs, sešās korelācijās – HOXB3 epitēlijā, PAX7 saistaudos, RYK saistaudos, SHH epitēlijā, WNT9B epitēlijā katrs, piecās korelācijās – PAX9 saistaudos, četrās korelācijās – DLX4 epitēlijā, HOXB3 saistaudos, SOX3 epitēlijā, WNT9B saistaudos katrs, trijās korelācijās – FOXE1 epitēlijā, FOXE1 saistaudos, SOX3 saistaudos katrs, divās korelācijās – DLX4 saistaudos, RYK epitēlijā, WNT3A epitēlijā katrs, bet vienā korelācijā – MSX2 epitēlijā.

Aukslēju šķeltņes grupā tika noteiktas piecas statistiski nozīmīgas vājas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,2–0,4$). Divās korelācijās bija iesaistīts RYK epitēlijā, bet vienā korelācijā katrs – DLX4 epitēlijā, DLX4 saistaudos, FOXE1 saistaudos, MSX2 saistaudos, PAX7 saistaudos, RYK saistaudos, SHH epitēlijā, WNT3A saistaudos.

Statistiski nozīmīgas korelācijas aukslēju šķeltņes grupā ir apkopotas 3.64. tabulā.

Imūnhistoķīmiski noteikto šķeltnu kandidātģēnu proteīnu statistiski nozīmīgas ciešas, pozitīvas korelācijas aukslēju šķeltnes audos

Nr.	Korelācijas ciešums	Ģēnu proteīni, starp kuriem ir korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
1.	Ļoti cieša korelācija (0,8–1,0)	SOX3 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,862	< 0,001
2.	Cieša korelācija (0,6–0,8)	DLX4 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,751	< 0,001
3.		DLX4 epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,725	< 0,001
4.		FOXE1 saistaudos un SOX3 saistaudos	0,686	< 0,001
5.		PAX9 saistaudos un SHH saistaudos	0,668	< 0,001
6.		PAX7 epitēlijā un PAX7 saistaudos	0,657	< 0,001
7.		PAX9 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,653	< 0,001
8.		HOXB3 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	0,641	< 0,001
9.		PAX7 saistaudos un PAX9 saistaudos	0,624	0,001
10.		RYK epitēlijā un SHH epitēlijā	0,622	0,001
11.		HOXB3 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,614	0,001
12.		HOXB3 epitēlijā un PAX7 epitēlijā	0,611	0,001
13.		PAX7 epitēlijā un RYK epitēlijā	0,608	0,001
14.		PAX7 saistaudos un WNT3A saistaudos	0,606	0,001
15.		Vidēji cieša korelācija (0,4–0,6)	PAX7 epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,599
16.	PAX7 saistaudos un SHH saistaudos		0,586	0,002
17.	PAX9 saistaudos un RYK saistaudos		0,586	0,002
18.	FOXE1 epitēlijā un FOXE1 saistaudos		0,585	0,002
19.	HOXB3 epitēlijā un SHH epitēlijā		0,584	0,002
20.	SHH saistaudos un WNT3A saistaudos		0,582	0,002
21.	PAX7 saistaudos un PAX9 epitēlijā		0,580	0,002
22.	PAX9 epitēlijā un SHH epitēlijā		0,573	0,002
23.	HOXB3 epitēlijā un RYK epitēlijā		0,572	0,002
24.	PAX9 epitēlijā un SHH saistaudos		0,558	0,003
25.	SHH saistaudos un SOX3 saistaudos		0,557	0,003
26.	HOXB3 saistaudos un PAX9 saistaudos		0,556	0,003
27.	PAX9 epitēlijā un WNT3A saistaudos		0,541	0,004
28.	FOXE1 epitēlijā un WNT9B epitēlijā		0,537	0,005
29.	PAX9 epitēlijā un WNT9B epitēlijā		0,530	0,005
30.	PAX7 epitēlijā un SHH epitēlijā		0,529	0,005
31.	WNT3A saistaudos un WNT9B epitēlijā		0,522	0,006
32.	RYK saistaudos un SHH saistaudos		0,516	0,007
33.	FOXE1 epitēlijā un SOX3 saistaudos		0,514	0,007
34.	PAX9 saistaudos un WNT9B saistaudos		0,514	0,007
35.	PAX9 epitēlijā un RYK epitēlijā		0,511	0,008
36.	RYK saistaudos un WNT9B saistaudos		0,503	0,009
37.	PAX7 epitēlijā un WNT3A saistaudos		0,501	0,009
38.	SOX3 epitēlijā un WNT3A saistaudos		0,492	0,011
39.	PAX7 epitēlijā un WNT9B epitēlijā		0,489	0,011
40.	PAX7 epitēlijā un PAX9 epitēlijā		0,485	0,012
41.	HOXB3 epitēlijā un HOXB3 saistaudos		0,484	0,012
42.	SHH saistaudos un WNT9B saistaudos		0,480	0,013
43.	DLX4 epitēlijā un DLX4 saistaudos		0,470	0,016
44.	DLX4 epitēlijā un WNT3A epitēlijā		0,467	0,016
45.	SHH saistaudos un WNT9B epitēlijā		0,467	0,016
46.	PAX7 epitēlijā un SHH saistaudos		0,466	0,016

Nr.	Korelācijas ciešums	Gēnu proteīni, starp kuriem ir korelācija	Spīrmena korelācijas koeficients	p vērtība
47.		SHH epitēlijā un SOX3 epitēlijā	0,464	0,017
48.		HOXB3 saistaudos un SHH saistaudos	0,453	0,020
49.		HOXB3 epitēlijā un PAX7 saistaudos	0,451	0,021
50.		PAX9 epitēlijā un RYK saistaudos	0,445	0,023
51.		PAX7 epitēlijā un PAX9 saistaudos	0,442	0,024
52.		FOXE1 saistaudos un RYK saistaudos	0,440	0,024
53.		FOXE1 saistaudos un SHH saistaudos	0,440	0,024
54.		HOXB3 saistaudos un PAX7 saistaudos	0,434	0,027
55.		PAX9 saistaudos un WNT3A saistaudos	0,434	0,027
56.		DLX4 saistaudos un SHH saistaudos	0,428	0,029
57.		WNT3A epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,426	0,030
58.		DLX4 epitēlijā un HOXB3 epitēlijā	0,425	0,030
59.		PAX7 saistaudos un SOX3 epitēlijā	0,425	0,030
60.		PAX7 saistaudos un RYK saistaudos	0,424	0,031
61.		HOXB3 epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,420	0,033
62.		SHH epitēlijā un WNT9B epitēlijā	0,419	0,033
63.		MSX2 epitēlijā un PAX9 epitēlijā	0,417	0,034
64.		SHH epitēlijā un SHH saistaudos	0,412	0,036
65.		DLX4 epitēlijā un PAX7 epitēlijā	0,405	0,040
66.		SOX3 saistaudos un WNT9B saistaudos	0,404	0,041
67.		DLX4 epitēlijā un SHH epitēlijā	0,398	0,044
68.	Vāja korelācija (0,2–0,4)	RYK epitēlijā un WNT3A saistaudos	0,394	0,047
69.		DLX4 saistaudos un RYK saistaudos	0,392	0,048
70.		PAX7 saistaudos un RYK epitēlijā	0,390	0,049
71.		FOXE1 saistaudos un MSX2 saistaudos	0,389	0,050

Apzīmējumi: DLX4 – mazāk distālais homeobokss-4, FOXE1 – dakšas galvas bokss E1, HOXB3 – homeobokss B3, MSX2 – muskuļu segmentu homeobokss-2, PAX7 – pāra boksa transkripcijas faktors-7, PAX9 – pāra boksa transkripcijas faktors-9, RYK – receptoram līdzīgā tirozinkināze, SHH – *Sonic hedgehog* gēns, SOX3 – SRY boksa transkripcijas faktors-3, WNT3A – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-3A, WNT9B – bezspārnu tipa MMTV integrācijas vietas proteīns-9B.

4. Diskusija

Pasaulē lielākā daļa šķeltņu kandidātģēnu pētījumu ir veikti dzīvniekiem, bet ir relatīvi maz pētījumu, kas veikti ar cilvēka audiem. Nesindromisku sejas šķeltņu morfofotoģenēze ir relatīvi neskaidra, jo nav iespējams skaidri noteikt vienu konkrētu ģēnu vai morfofotoģenētisko mehānismu, kas varētu būt nozīmīgākais sejas šķeltņu audu morfoģenēzē.

Mūsu pētījumā ir noteikts BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, MSX2, PAX7, PAX9, RYK, SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B ģēnu kodēto proteīnu imūnpozitīvo šūnu relatīvais daudzums viensusējas lūpas šķeltnes, divpusējas lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnes audos bērniem pirms un līdz primārās dentīcijas vecumam.

Pārskata griezumos epitēlijšūnu vakuolizācija tika novērota dažiem pacientiem ar viensusēju lūpas šķeltņi (četros gadījumos) un divpusēju lūpas šķeltņi (vienā gadījumā), bet to nenovēroja pacientiem, kuru mutes dobuma audi tika iegūti mīksto aukslēju plastikas laikā. Mutes dobuma epitēlijšūnu citoplazmas vakuolizācija iepriekš ir aprakstīta pētījumos, kuros tika izvērtēta citu patoloģisku stāvokļu ietekme uz mutes dobuma epitēliju, piemēram, infekciju gadījumā (Kerge et al., 2018; Temple et al., 2014), cukura diabēta gadījumā (Seifi et al., 2014; Jajarm et al., 2008) vai saistībā ar pēcnāves izmaiņām mutes dobuma audos (Patro et al., 2021). Interesanti, bet vienā citā pētījumā par aukslēju šķeltnes audiem arī tika aprakstīta mutes dobuma epitēlijšūnu vakuolizācija (Tellerman et al., 2019), kas savukārt netika novērota mūsu pētījumā. Visticamāk, šī morfoloģiskā īpatnība varētu būt mutes dobuma epitēlijšūnu bojājuma un deģenerācijas nespecifiska pazīme, kas varētu būt saistīta ar šķeltnes esamību.

Dažos šķeltņu preparātos bija konstatēta epitēlija bazālā slāņa šūnu proliferācija. Šī morfoloģiskā īpatnība ir aprakstīta bazālo šūnu karcinomas gadījumā (Florescu et al., 2018), leukoplakijas un mutes dobuma plakanšūnu karcinomas gadījumā (Thomson et al., 2002), bet tā ir arī iepriekš noteikta sejas šķeltņu audos (Tellerman et al., 2019). Sejas šķeltņu morfofotoģenēze ir saistīta ar izmaiņām šūnu proliferācijā, bet šī morfoloģiskā iezīme epitēlijā tika aprakstīta tikai dažos šķeltņu preparātos, kas liecina, ka izmaiņas šūnu proliferācijā lielākajā daļā pacientu, visticamāk, ir notikusi jau prenatali un ka epitēlija bazālo šūnu proliferācijas aktivitāte postnatali ir līdzīga normai. Esošās izmaiņas šajos atsevišķos paraugos varētu skaidrot kā lokālu morfoloģisko variāciju, kas varētu būt saistīta ar šķeltņi vai kādu citu morfofotoģenētisko procesu, piemēram, iekaisumu, kas šķeltnes skartos audos ir bieža parādība.

Atsevišķos preparātu pārskata griezumos tika noteikts minimāls subepitēliāls iekaisuma šūnu infiltrāts, kas bija atrodams septiņiem aukslēju šķeltnes pacientiem, pieciem viensusējas lūpas šķeltnes pacientiem un diviem divpusējas lūpu šķeltnes pacientiem. Sejas šķeltņu audu

saistība ar iekaisuma procesu ir iepriekš aprakstīta citos pētījumos (Seidel et al., 2022). Kaut arī tika atlasīti paraugi, kuriem nevajadzētu būt ar izteiktu iekaisuma infiltrātu, šajos paraugos tika atrasts minimāls iekaisuma šūnu infiltrāts. Tas liecina, ka iekaisums ir nozīmīgs un relatīvi bieži sastopams morfofotoģenētiskais faktors sejas šķeltņu audos, kas, mijiedarboties ar citiem faktoriem, piemēram, šķeltņu kandidātģēniem, var apgrūtināt sejas šķeltņu postnatālās morfofotoģenēzes izvērtēšanu.

BARX1 gēna proteīns nebija atrodams epitēlijā nevienam pacientam ne kontroles grupā, ne visās trijās šķeltņu audu grupās, bet statistiski nozīmīgas atšķirības tika noteiktas saistaudos. Vienpusējas lūpas šķeltnes saistaudos BARX1 kopumā tika konstatēti reti, divpusējas lūpas šķeltnes saistaudos – reti līdz maz, bet aukslēju šķeltnes saistaudos – lielākoties reti vai nemaz. Saistaudos statistiski nozīmīga atšķirība BARX1 imūnreaktivitātē bija atrodama starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka BARX1 saistaudos varētu būt postnatāli iesaistīts tieši vienpusējas lūpas šķeltnes morfofotoģenēzē, jo tieši šajā pacientu grupā noteiktais BARX1 pozitīvo saistaudu šūnu relatīvais daudzums statistiski nozīmīgi atšķīrās salīdzinājumā gan ar kontroles grupu, gan divpusējas lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnes grupām. *BARX1* gēns dzīvniekiem regulē mezenhimālas izcelsmes šūnu sablīvēšanos galvas apvidū (Paudel et al., 2022), tāpēc, iespējams, cilvēkiem izmaiņas *BARX1* gēna kodētā proteīna darbībā varētu radīt traucējumus saistaudu augšanā un reģenerācijā, kas varētu būt iesaistīta nesindromiskas vienpusējas lūpas šķeltnes morfofotoģenēzē.

Statistiski nozīmīgas atšķirības DLX4 gēna proteīna imūnreaktivitātē starp visām pētījuma grupām tika konstatētas gan epitēlijā, gan saistaudos. Veselos audos DLX4 gan epitēlijā, gan saistaudos kopumā tika noteikts maz. Vienpusējas lūpas šķeltnes audos DLX4 gan epitēlijā, gan saistaudos tika konstatēti reti, divpusējas lūpas šķeltnes epitēlijā DLX4 tika noteikts maz, bet saistaudos – reti, savukārt aukslēju šķeltnes audos DLX4 epitēlijā kopumā tika konstatēti reti, bet saistaudos – reti vai nemaz. Statistiski nozīmīgas atšķirības DLX4 proteīna imūnreaktivitātē epitēlijā tika konstatētas starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu un starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Tomēr statistiski nozīmīgas atšķirības epitēlijā netika atrastas starp kontroles grupu un kādu no šķeltņu pacientu grupām. Atšķirības DLX4 imūnreaktivitātē epitēlijā starp šķeltņu pacientu grupām liecina, ka *DLX4* gēna kodētais proteīns varētu būt potenciāli iesaistīts tieši aukslēju šķeltnes morfofotoģenēzē. Tomēr literatūrā ir pretrunīgi dati. Pētījumā ar pelēm, kurām bija *DLX4* gēna funkcijas zudums, secināts, ka *DLX4* gēns nav nepieciešams epitēlijai, piemēram, epidermas, augšanai un funkcionēšanai un *DLX4* gēna trūkums neizraisīja citas nozīmīgas

patoloģijas pelēm, ko varētu izskaidrot ar pārējo *DLX* gēnu spēju nosegt *DLX4* funkcionālo lomu (Bhattacharya et al., 2018). Savukārt pārāk liela *DLX4* aktivitāte ir saistīta ar paātrinātu epitēlijšūnu proliferāciju, šūnu cikla darbības traucējumiem un audzēju šūnu invāziju, piemēram, nazofaringeālas karcinomas gadījumā (Ling et al., 2020). Mūsu pētījumā statistiski nozīmīgas atšķirības trūkums salīdzinājumā ar kontroles grupas epitēliju varētu nozīmēt to, ka *DLX4* proteīns epitēlijā tomēr nav pats nozīmīgākais faktors sejas šķeltnu morfopatoģenēzē, lai gan nav izslēdzams, ka pastāv nelielas atšķirības *DLX4* imūnreaktivitātē mutes dobuma epitēlijā atkarībā no iegūto audu lokācijas (lūpas audi vai mīksto aukslēju audi).

Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības *DLX4* proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu un starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka *DLX4* proteīns saistaudos varētu būt potenciāli selektīvi iesaistīts aukslēju šķeltnes un divpusējas lūpas šķeltnes morfopatoģenēzē, bet ne vienpusējas lūpas šķeltnes gadījumā. *DLX4* proteīna ietekme uz saistaudiem postnatāli nav plaši pētīta, bet ir iepriekš konstatēts, ka *DLX4* audzēju audos sekmē slāpekļa oksīda veidošanos, kas veicina endotēlija šūnu augšanu un angioģenēzi audzēja audos (Trinh et al., 2015b). Iespējams, ka *DLX4* divpusējas lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnu audos varētu potenciāli regulēt audu apasiņošanu, netiešā veidā ietekmējot sejas audu augšanu un sejas šķeltnu audu formēšanos.

FOXE1 gēna proteīna relatīvā daudzuma mediāna veselos audos bija maz līdz vidēji daudz epitēlijā un maz saistaudos. Vienpusējas lūpas šķeltnes audos *FOXE1* gan epitēlijā, gan saistaudos tika noteikts vidēji daudz. Divpusējas lūpas šķeltnes audos *FOXE1* tika konstatēts maz līdz vidēji daudz, bet saistaudos – maz. Savukārt aukslēju šķeltnes audos *FOXE1* gan epitēlijā, gan saistaudos tika noteikts maz. Statistiski nozīmīgas atšķirības *FOXE1* gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām netika atrastas epitēlijā, bet tika noteiktas saistaudos. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības *FOXE1* imūnreaktivitātē tika noteiktas starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes pacientu grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu un starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka *FOXE1* saistaudos varētu būt potenciāli saistīts ar vienpusējas lūpas šķeltnes morfopatoģenēzi, jo tika konstatētas būtiskas atšķirības salīdzinājuma ar kontroles grupu un pārējām šķeltnu audu grupām. Dzīvniekiem *FOXE1* gēns regulē galvas un kakla reģiona attīstību, mijiedarbojoties ar *SHH* signālceļu (Raterman et al., 2023), un ļoti ticams, ka *FOXE1* darbības traucējumi cilvēkiem var veicināt sejas šķeltnu morfopatoģenēzi, mijiedarbojoties vairākiem signālceļiem.

HOXB3 gēna proteīna relatīvā daudzuma mediāna veselos audos bija maz epitēlijā un vidēji daudz saistaudos. Vienpusējas lūpas šķeltnes audos HOXB3 epitēlijā tika konstatēts vidēji daudz līdz daudz, bet saistaudos – vidēji daudz. Divpusējas lūpas šķeltnes audos HOXB3 tika noteikts vidēji daudz epitēlijā un maz līdz vidēji daudz saistaudos. Savukārt aukslēju šķeltnes audos HOXB3 kopumā tika konstatēts maz līdz vidēji daudz epitēlijā un vidēji daudz saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības HOXB3 gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika konstatētas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības HOXB3 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu un starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības HOXB3 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu un starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti ļauj secināt, ka HOXB3 epitēlijā un saistaudos postnatāli varētu būt nozīmīgs faktors tieši vienpusējas lūpas šķeltnes morfofopatoģenēzē. HOXB3 funkcionālā nozīme ir vairāk pētīta ļaundabīgo audzēju gadījumā (Zhu et al., 2023; Xu et al., 2018), jo HOXB3 regulē šūnu proliferāciju. Ir noskaidrots, ka HOXB3 spēj mijiedarboties ar WNT signālceļu (Zhu et al., 2023; Yu et al., 2022), kas arī ir nozīmīgs sejas apvidus attīstībai un varētu būt viens no iespējamiem skaidrojumiem, kāpēc HOXB3 varētu iesaistīties vienpusējas lūpas šķeltnes morfofopatoģenēzē. HOXB3 ietekme uz audu augšanu ir vairāk pētīta audzējos. *HOXB3* gēns spēj ietekmēt šūnas ciklu un var veicināt nekontrolētu šūnu dalīšanos, kas ir novērots prostatas vēža gadījumā (Chen et al., 2013). Ir arī pētījumi, kuros secināts tieši pretējais, ka *HOXB3* gēnam ir tumoru supresoru gēnu aktivitāte aizkuņģa dziedzera vēža audos, kavējot audzēju šūnu dalīšanos un migrāciju (Yang et al., 2016). Šāda pretrunīga informācija literatūras datos kopā ar mūsu pētījumā iegūtajiem rezultātiem varētu liecināt, ka HOXB3 gēna proteīna ietekme uz audu augšanu un formēšanos varētu būt atkarīga no konkrētā audu veida, audu lokācijas un citiem faktoriem, piemēram, noteiktu signālceļu darbības, kas varētu būt atšķirīga dažādu sejas šķeltnu audos.

MSX2 gēna proteīns nebija atrodams veselos mutes dobuma audos, bet vienpusējas lūpas šķeltnes audos MSX2 tika noteikts vidēji daudz epitēlijā un maz saistaudos, divpusējas lūpas šķeltnes audos – maz epitēlijā un reti saistaudos, savukārt aukslēju šķeltnes audos – vidēji daudz epitēlijā un reti saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības MSX2 gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības MSX2 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas

šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu un starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības *MSX2* proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu un starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka *MSX2* epitēlijā postnatāli ir iesaistīts gan viopusējas lūpas šķeltnes, gan divpusējas lūpas šķeltnes, gan aukslēju šķeltnes morfopatogēnēzē, bet visizteiktākā *MSX2* ietekme varētu būt tieši viopusējas lūpas šķeltnes audos, jo tajos *MSX2* imūnreaktīvo šūnu relatīvais daudzums epitēlijā un saistaudos statistiski nozīmīgi atšķirās arī no pārējām šķeltnu grupām. Pelēm *MSX2* gēns regulē galvaskausa pamatnes veidošanos (Nie, 2006). *MSX2* gēna trūkums vai darbības traucējumi pelēm rada osifikācijas traucējumus un galvas reģiona attīstības anomālijas, ieskaitot sejas šķeltnes (Satokata et al., 2000). Cilvēkiem *MSX2* potenciāli varētu būt iesaistīts dažādu sejas šķeltnu morfopatogēnēzē kā nozīmīgs kraniofaciālā apvidus augšanas un formēšanās regulators. *MSX2* gēns ietekmē mutes dobuma epitēlija formēšanos un diferenciaciju. *MSX2* gēns pelēm ietekmē zobu emaljas orgāna attīstību, neļaujot ārējam emaljas epitēlijam transformēties daudzkārtu plakanā mutes dobuma epitēlijā (Nakatomi et al., 2018). Iespējams, *MSX2* gēna darbības izmaiņas varētu būt raksturīgas cilvēkiem sejas šķeltnes skartā epitēlijā, par ko liecina mūsu pētījuma rezultāti. Izteiktāka *MSX2* atrade bija redzama tieši šķeltnes skartajā epitēlijā visās trijās sejas šķeltnu audu grupās un mazāk izteikti saistaudos. *MSX2* gēns arī ietekmē audu augšanu un šūnu dalīšanos. *MSX2* ietekme uz audu augšanu ir pētīta kolorektālā vēža audos (Liu et al., 2017), kuros paaugstināta *MSX2* gēna aktivitāte veicina audzēja šūnu augšanu un invāziju, bet *MSX2* gēna aktivitātes trūkums ir ar pretēju iedarbību, veicinot šūnu apoptozi un šūnas cikla apstāšanos. *MSX2* gēns pelēm regulē mezenhīmas šūnu diferenciaciju noteiktos galvas un kakla apvidos, kas iesaistās mutes dobuma saistaudu izveidē, mijiedarbojoties ar BMP signālceļu (Sakagami et al., 2018). Iespējams, mūsu pētījumā noteiktās *MSX2* proteīna atrades izmaiņas šķeltnes skartos mutes dobuma saistaudos, salīdzinot ar veselīgiem audiem, varētu arī iesaistīties šķeltnu morfopatogēnēzē, ietekmējot šķeltnes skarto saistaudu formēšanos un augšanu.

PAX7 gēna proteīns veselos mutes dobuma audos kopumā tika noteikts maz līdz vidēji daudz gan epitēlijā, gan saistaudos. Vienpusējas lūpas šķeltnes audos *PAX7* tika konstatēts vidēji daudz līdz daudz epitēlijā un daudz saistaudos, divpusējas lūpas šķeltnes audos – vidēji daudz epitēlijā un maz līdz vidēji daudz saistaudos, savukārt aukslēju šķeltnes audos – maz līdz vidēji daudz epitēlijā un vidēji daudz līdz daudz saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības *PAX7* gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības *PAX7* proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu,

vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības PAX7 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti ļauj secināt, ka PAX7 postnatāli varētu būt iesaistīts galvenokārt vienpusējas lūpas šķeltnes morfoģenēzē gan epitēlijā, gan saistaudos. PAX7 ir galvenokārt aprakstīts kā mioģenēzes regulators, kas mijiedarbojas ar WNT signālceļu sejas attīstības procesā (Zhu et al., 2017; Nogueira et al., 2015). Ja pelēm PAX7 funkcionē korekti, tad PAX7 kopā ar PAX3 spēj mazināt teratogēnu negatīvo ietekmi un novērst sejas apvidus anomāliju attīstību (Zalc et al., 2015). Nesindromiskas vienpusējas lūpas šķeltnes gadījumā PAX7 cilvēkiem postnatāli varētu būt viens no iespējamiem morfoģenētiskajiem faktoriem, tā funkcionālie traucējumi teorētiski varētu palielināt citu faktoru, piemēram, teratogēnu, ietekmi uz lūpas šķeltnes audu formēšanos.

PAX9 gēna proteīna relatīvā daudzuma mediāna veselos mutes dobuma audos bija vidēji daudz epitēlijā, bet PAX9 gēna proteīns netika atrasts veselos mutes dobuma saistaudos. Vienpusējas lūpas šķeltnes audos PAX9 kopumā tika konstatēts maz līdz vidēji daudz epitēlijā un vidēji daudz saistaudos. Divpusējas lūpas šķeltnes audos PAX9 tika noteikts reti gan epitēlijā, gan saistaudos, savukārt aukslēju šķeltnes audos – reti epitēlijā un maz saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības PAX9 gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības PAX9 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības PAX9 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un vienpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka PAX9 epitēlijā varētu būt vairāk saistīts ar divpusēju lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnes morfoģenēzi, bet PAX9 saistaudos varētu būt vairāk saistīts ar vienpusēju lūpas šķeltni un aukslēju šķeltni. PAX9 mutes dobumā regulē epitēlija diferenciāciju (Jonker et al., 2004) un sekundāro aukslēju morfoģenēzi (Jia et al., 2020), regulējot BMP un SHH signālceļu darbību (Zhou et al., 2013). Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka PAX9 gēna proteīna atšķirīgā atrade dažādu šķeltnu skartajā epitēlijā un saistaudos cilvēkiem varētu būt saistīta ar atsevišķu

sejas šķeltņu fenotipu izveidi, piemēram, PAX9 samazinājums audos, iespējams, varētu veicināt klīniski smagāka divpusējas lūpas šķeltnes fenotipa morfopatoģenēzi. Ir arī noskaidrots, ka PAX9 ir iesaistīts audu augšanas regulācijā, jo spēj ierobežot šūnu dalīšanos audzējos un veicināt apoptozi (Liu et al., 2022). Tas arī varētu liecināt par to, ka PAX9 aktivitātes izmaiņas var potenciāli traucēt arī mutes dobuma audu augšanu un formēšanos sejas šķeltņu gadījumā.

RYK gēna proteīns veselos mutes dobuma audos tika noteikts reti gan epitēlijā, gan saistaudos. Gan vienusējas lūpas šķeltnes, gan divpusējas lūpas šķeltnes un aukslēju šķeltnes audos RYK kopumā tika konstatēts vidēji daudz līdz daudz gan epitēlijā, gan saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības RYK gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības RYK proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un vienusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp vienusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības RYK proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un vienusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu un starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka RYK gan epitēlijā, gan saistaudos varētu būt iesaistīts šķeltņu morfopatoģenēzē visās trijās šķeltņu pacientu grupās. Ir labi zināms, ka RYK mijiedarbojas ar WNT signālceļu un ka tas regulē epitēlijšūnu polaritāti (Macheda et al., 2012). RYK kopā ar WNT signālceļu var regulēt arī citus morfopatoģenētiskos procesus, piemēram, iekaisumu, kas ir aprakstīts plaušu attīstības procesā pelēm (Kim et al., 2022). Iespējams, RYK loma nesindromisku sejas šķeltņu morfopatoģenēzē varētu būt saistīta ar traucējumiem WNT signālceļā, paralēli ietekmējot arī citus potenciālos morfopatoģenētiskos procesus postnatāli, piemēram, iekaisumu.

SHH gēna proteīns veselos mutes dobuma audos tika noteikts vidēji daudz līdz daudz epitēlijā un maz līdz vidēji daudz saistaudos. Vienusējas lūpas šķeltnes audos SHH kopumā tika konstatēts maz līdz vidēji daudz gan epitēlijā, gan saistaudos. Divpusējas lūpas šķeltnes audos SHH tika konstatēts maz līdz vidēji daudz gan epitēlijā, gan saistaudos, savukārt aukslēju šķeltnes audos SHH tika noteikts maz epitēlijā un maz līdz vidēji daudz saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības SHH gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības SHH proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp vienusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp vienusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp divpusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti

liecina, ka SHH epitēlijā varētu būt vairāk saistīts ar divpusēju lūpas šķeltni un aukslēju šķeltni. SHH saistība ar divpusēju lūpas šķeltni varētu liecināt par šī proteīna iesaisti klīniski smagāka fenotipa attīstībā cilvēkiem. SHH ir iepriekš aprakstīts kā augšlūpas morfoģenēzes regulatorais faktors (Everson et al., 2017). SHH iesaiste aukslēju šķeltnes morfoģenēzē dzīvniekiem ir jau iepriekš aprakstīta (Shin et al., 2019).

Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības SHH proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp vienusējās lūpas šķeltnes grupu un divpusējās lūpas šķeltnes grupu un starp vienusējās lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka SHH saistaudos varētu būt vairāk saistīts ar aukslēju šķeltni, bet arī pastāv statistiski nozīmīgas atšķirības starp vienusēju un divpusēju lūpas šķeltni SHH imūnreaktivitātē saistaudos. SHH loma aukslēju šķeltnes morfoģenēzē jau iepriekš aprakstīta pelēm, kur palielināta SHH signālceļa aktivitāte ir saistīta ar aukslēju šķeltnes formēšanos (Hammond et al., 2018), bet mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka cilvēka aukslēju šķeltnes audos ir samazināts SHH relatīvais daudzums. Samazināta SHH signālceļa aktivitāte pelēm augšžokļa mezenhīmā parasti pastiprina BMP signālceļa darbību, kas savukārt palielina saistaudu veidošanos mutes dobuma apvidū, īpaši augšžoklī un aukslējās (Xu et al., 2019). Tā kā mūsu pētījumā tika analizēti dažādu sejas šķeltnu skarti audi jau pēc mezenhīmas diferencēšanās un šķeltnes audu veidošanās procesa noslēguma, iespējams, SHH relatīvā daudzuma izmaiņas šķeltnes audos postnatāli varētu ietekmēt citi faktori, piemēram, citu signālceļu aktivitātes izmaiņas mutes dobuma saistaudos. Ir noteikts, ka pelēm SHH signālceļš varētu mijiedarboties ar TGFβ signālceļu vēlākos sekundāro aukslēju attīstības etapos, kad mezenhimocīti jau diferencējušies fibroblastiem līdzīgās šūnās, parakrīnā ceļā ietekmējot saistaudu augšanu aukslējās (Ohki et al., 2020). Līdzīga mijiedarbība, kas būtu atkarīga no audu diferenciacijas un brieduma pakāpes, varētu eksistēt arī cilvēka sejas šķeltnu skartajos audos, bet būtu nepieciešami pētījumi, kas izvērtētu tieši SHH un citu signālceļu darbības izmaiņas mutes dobuma audos atkarībā no indivīdu vecuma, kas varētu būt problemātiski ētisku apsvērumu dēļ.

SOX3 gēna proteīns veselos mutes dobuma audos tika noteikts daudz līdz ļoti daudz epitēlijā un daudz saistaudos. Vienusējās lūpas šķeltnes audos kopumā SOX3 tika konstatēts vidēji daudz līdz daudz epitēlijā un vidēji daudz saistaudos, divpusējās lūpas šķeltnes audos – vidēji daudz gan epitēlijā, gan saistaudos, savukārt aukslēju šķeltnes audos – maz līdz vidēji daudz epitēlijā un vidēji daudz saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības SOX3 gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības SOX3 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un vienusējās lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējās lūpas

šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības SOX3 proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka SOX3 postnatāli gan epitēlijā, gan saistaudos varētu būt iesaistīts gan viopusējas lūpas šķeltnes, gan divpusējas lūpas šķeltnes, gan aukslēju šķeltnes morfofotoģenēzē. Vērā ņemama ir arī statistiski nozīmīgā atšķirība SOX3 imūnreaktivitātē epitēlijā viopusējas lūpas šķeltnes audos salīdzinājumā ar pārējām sejas šķeltnu grupām, kas varētu saistīt SOX3 epitēlijā vairāk ar viopusēju lūpas šķeltni. SOX3 gēna nozīme šķeltnu morfofotoģenēzē ir relatīvi neskaidra. SOX3 gēns ir pētīts audzējos, kur pastiprināta SOX3 gēna ekspresija veicina epitēlija transformāciju mezenhīmā, šūnu migrāciju un audzēju šūnu invāziju (Qiu et al., 2017). SOX3 funkcionalitāte ir pētīta dzīvniekos, un tas ir nepieciešams spermatogoniju diferenciacijai pelēm pirms pubertātes periodā, bet ne pieaugušās pelēs (Laronda and Jameson, 2011). SOX3, iespējams, varētu būt iesaistīts šķeltnu morfofotoģenēzē, ietekmējot šķeltnes audu formēšanos. Iespējams, SOX3 funkcionalitāte varētu būt vecuma atkarīga arī cilvēka sejas šķeltnu audos, bet būtu nepieciešams izvērtēt SOX3 imūnreaktivitāti dažādu vecumu grupās, kas ir problemātiski ētisku apsvērumu dēļ.

WNT3A gēna proteīns veselos mutes dobuma audos tika konstatēts vidēji daudz līdz daudz epitēlijā un daudz saistaudos, viopusējas lūpas šķeltnes audos – maz gan epitēlijā, gan saistaudos, divpusējas lūpas šķeltnes audos – reti epitēlijā un maz saistaudos, savukārt aukslēju šķeltnes audos – reti gan epitēlijā, gan saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības WNT3A gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības WNT3A proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un viopusēju lūpu šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp viopusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības WNT3A proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un viopusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti ļauj secināt, ka, tāpat kā SOX3 gadījumā, arī WNT3A gan saistaudos, gan epitēlijā postnatāli varētu būt saistīts ar sejas šķeltnu morfofotoģenēzi visās trijās pacientu grupās, bet, iespējams, nozīmīgāka loma varētu būt tieši viopusējas lūpas šķeltnes gadījumā. Paaugstināta WNT3A aktivitāte ir saistīta ar patoloģijām, kurās ir pastiprināta mutes dobuma keratinocītu dalīšanās aktivitāte, piemēram, mutes dobuma

epitēlija displāzija vai mutes dobuma plakanšūnu vēzis, jo tiek pastiprināta WNT signālceļa darbība (Reyes et al., 2019). Pētījuma rezultāti ļauj secināt, ka samazināta WNT3A aktivitāte sejas šķeltnu audos postnatāli varētu ietekmēt epiteliocītu augšanu un līdz ar to arī šķeltnu morfopatogēnēzi.

WNT9B gēna proteīns veselos mutes dobuma audos tika konstatēts daudz līdz ļoti daudz gan epitēlijā, gan saistaudos, viensusējas lūpas šķeltnes audos – vidēji daudz līdz daudz epitēlijā un daudz saistaudos, divpusējas lūpas šķeltnes audos – vidēji daudz epitēlijā un vidēji daudz līdz daudz saistaudos, savukārt aukslēju šķeltnes audos – vidēji daudz epitēlijā un vidēji daudz līdz daudz saistaudos. Statistiski nozīmīgas atšķirības WNT9B gēna proteīna imūnreaktivitātē starp kontroles un pacientu grupām tika atrastas gan epitēlijā, gan saistaudos. Epitēlijā statistiski nozīmīgas atšķirības WNT9B proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un viensusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu, starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Saistaudos statistiski nozīmīgas atšķirības WNT9B proteīna imūnreaktivitātē tika konstatētas starp kontroles grupu un viensusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un divpusējas lūpas šķeltnes grupu, starp kontroles grupu un aukslēju šķeltnes grupu un starp viensusējas lūpas šķeltnes grupu un aukslēju šķeltnes grupu. Pētījuma rezultāti liecina, ka WNT9B gan epitēlijā, gan saistaudos varētu būt nozīmīgs morfopatogēnētiskais faktors gan viensusējas lūpas šķeltnes, gan divpusējas lūpas šķeltnes, gan aukslēju šķeltnes audos. Izteiktāka atšķirība WNT9B epitēlijā un saistaudos varētu būt tieši viensusējas lūpas šķeltnes audos, kas statistiski nozīmīgi atšķirās no pārējām sejas šķeltnu grupām. Pelēm *WNT9B* gēns iesaistās klasiskajā WNT signālceļā un regulē augšlūpas saplūšanas procesu (Lan et al., 2006). Līdzīga WNT9B mijiedarbība varētu būt raksturīga arī cilvēkam, kas varētu būt relatīvi nozīmīgs sejas šķeltnu morfopatogēnēzes mehānisms.

Veicot korelāciju analīzi starp izvērtēto šķeltnu kandidātģēnu proteīniem kontroles un šķeltnu pacientu grupās, tika konstatētas vairākas statistiski nozīmīgas korelācijas. Abās kontroles grupās tika noteiktas vairākas statistiski nozīmīgas korelācijas starp izvērtētajiem šķeltnu kandidātģēniem, bet tās ir jāvērtē uzmanīgi mazā pacientu skaita dēļ katrā kontroles grupā, kas var palielināt statistiskās nejaušības iespējamību.

Pirmajā kontroles grupā (pacienti, kam veikta augšlūpas saitītes plastika) tika konstatēta statistiski nozīmīga cieša pozitīva korelācija starp pacientu vecumu un RYK relatīvo daudzumu saistaudos. Šī korelācija var būt nejauša relatīvi mazā kontroles pacientu skaita dēļ, bet, iespējams, varētu pastāvēt saistība starp RYK pozitīvo šūnu relatīvo skaitu un vecumu relatīvi veselos mutes dobuma audos. Pašlaik nav veiktu pētījumu par RYK proteīna relatīva daudzuma

izmaiņām mutes dobuma audos atkarībā no indivīdu vecuma. RYK proteīna funkcionalitāte ir pētīta onkoloģijā, jo palielināts RYK proteīna daudzums tiek saistīts ar palielinātu WNT signālceļa aktivitāti, kas audzējos var veicināt aktīvāku šūnu augšanu un invāziju (Kim et al., 2015; Habu et al., 2014). RYK potenciāli varētu būt iesaistīts normālā mutes dobuma gļotādas saistaudu augšanas procesā.

Pirmajā kontroles grupā tika aprēķinātas vairākas statistiski nozīmīgas ļoti ciešas korelācijas starp šķeltņu kandidātģēnu proteīniem. Četrās pozitīvās korelācijas galvenokārt tika iesaistīts DLX4 epitēlijā un saistaudos. DLX4 tika arī konstatēts divās statistiski nozīmīgās negatīvās korelācijās. Statistiski nozīmīgās pozitīvās korelācijās trijos gadījumos tika konstatēta PAX7 iesaiste. Pētījuma rezultāti liecina, ka DLX4 un PAX7 varētu būt aktīvi faktori relatīvi veselos mutes dobuma audos, kas iesaistās mutes dobuma gļotādas audu uzturēšanā un formēšanā. DLX4 ir iesaistīts galvas apvidus epitēlijaudu augšanas regulācijā un ir pētīts saistībā ar onkoloģiskām slimībām (Ling et al., 2020), savukārt PAX7 ir vairāk pētīts saistībā ar tā funkcionālo nozīmi mioģenēzē (Collins et al., 2009). Protams, pirmās kontroles grupas audi nav pilnīgi veseli, jo nav izslēdzamas izmaiņas, ko varētu radīt augšlūpas saitītes hipertrofija, kas bija nepieciešamā indikācija, lai iegūtu relatīvi veselus mutes dobuma gļotādas audus.

Otrajā kontroles grupā (pacienti, kuru mutes dobuma audi iegūti no RSU AAI vēsturiskās kolekcijas) tika konstatēta viena statistiski nozīmīga cieša korelācija starp SHH epitēlijā un SHH saistaudos. Tas liecina, ka SHH ir relatīvi aktīvs faktors patoloģijas neizmainītos jaundzimušo mutes dobuma gļotādas audos. SHH signālceļš ir nepieciešams mutes dobuma gļotādas un zobu attīstības procesam, regulējot mijiedarbību starp mutes dobuma epitēliju un saistaudiem (Sagai et al., 2017).

Visās trijās šķeltņu pacientu grupās tika konstatēts daudz statistiski nozīmīgu korelāciju. Lielais korelāciju skaits liecina par komplicētu mijiedarbību starp izvērtētajiem šķeltņu kandidātģēniem sejas šķeltņu morfoģenēzē postnatāli.

Vienpusējas lūpu šķeltnes grupā tika konstatētas 104 statistiski nozīmīgas pozitīvas korelācijas starp gandrīz visiem izvērtētajiem šķeltņu kandidātģēniem gan epitēlijā gan saistaudos, izņemot BARX1. Vienpusējas lūpu šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās ciešās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,6-0,8$) visbiežāk bija iesaistīts HOXB3 epitēlijā (trīs reizes) un WNT9B epitēlijā (divas reizes). Tas liecina, ka HOXB3 un WNT9B epitēlijā varētu būt nozīmīgāki faktori vienpusējas lūpas šķeltnes morfoģenēzē nekā citi pētītie šķeltņu kandidātģēni. HOXB3 ir pētīts kā faktors, kas ietekmē galvas apvidus epitēlija un saistaudu augšanu (Zhang et al., 2021), bet WNT9B pelēm ir tieši iesaistīts augšlūpas veidošanās procesā (Lan et al., 2006). Vienpusējas lūpu šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās vidēji ciešās pozitīvās

korelācijās ($r_s = 0,4-0,6$) visbiežāk bija iesaistīts HOXB3 epitēlijā (desmit reizes), PAX9 epitēlijā (deviņas reizes), PAX7 saistaudos, PAX9 saistaudos un SOX3 epitēlijā (katrs astoņas reizes). Tas vēl vairāk apliecina, kas HOXB3 varētu būt nozīmīgs vienpusējas lūpas šķeltnes morfoģenētiskais faktors postnatāli. PAX9 ir pētīts kā faktors, kas regulē mutes dobuma epitēlija un gļotādas diferenciāciju (Jonker et al., 2004), tāpēc tas varētu arī iesaistīties vienpusējas lūpas šķeltnes patoģenēzē. SOX3 mutes dobuma epitēlijā nav plaši pētīts, bet pelēm tas regulē galvas smadzeņu un galvas struktūru attīstību (Adikusuma et al., 2017). Iespējams, SOX3 varētu būt iesaistīts vienpusējas lūpas šķeltnes morfoģenēzē postnatāli. Vienpusējas lūpu šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās vājās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,2-0,4$) visbiežāk bija iesaistīts HOXB3 epitēlijā, MSX2 saistaudos un SHH saistaudos (sešas korelācijās katrs). MSX2 ir iesaistīts mutes dobuma gļotādas audu augšanas regulācijā, piemēram, nomācot audzēju cilmes šūnu veidošanos plakanšūnu vēža gadījumā (Keyimu et al., 2021). MSX2 varētu arī iesaistīties vienpusējas lūpas šķeltnes morfoģenēzē, iespējams, kavējot gļotādas audu augšanu un veicinot šķeltnes fenotipa izveidi. Savukārt SHH darbības traucējumi ir iepriekš saistīti ar lūpas šķeltnes attīstību (Everson et al., 2017), kas arī atbilst mūsu pētījuma rezultātiem.

Divpusējas lūpas šķeltnes grupā tika aprēķinātas 72 statistiski nozīmīgas pozitīvas korelācijas starp izvērtētajiem šķeltnu kandidātģenētiem. Divpusējas lūpas šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās ļoti ciešās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,8-1,0$) divas reizes bija iesaistīts HOXB3 epitēlijā, PAX9 epitēlijā, SHH epitēlijā un WNT9B epitēlijā katrs, kas ir līdzīgi vienpusējas lūpas šķeltnes grupai. Tas liecina, ka morfoģenētiskie mehānismi gan vienpusējas, gan divpusējas lūpas šķeltnes audos varētu būt līdzīgi, ko varētu saistīt ar to, ka abas šķeltnes skar augšlūpas audus. Statistiski nozīmīgās ļoti ciešās pozitīvās korelācijās divpusējas lūpas šķeltnes grupā bija iesaistīts FOXE1 epitēlijā, FOXE1 saistaudos, SHH saistaudos un WNT3A epitēlijā (katrs vienu reizi). FOXE1 epitēlijā ļoti cieši korelēja ar FOXE1 saistaudos, kas liecina, ka šis proteīns aktīvi iesaistās mutes dobuma epitēlija un saistaudu formēšanā divpusējas lūpas šķeltnēs, kas ir klīniski smagāka lūpas šķeltnes forma par vienpusēju lūpas šķeltni. FOXE1 tiek uzskatīts par nozīmīgu šķeltnu kandidātģenēti gan lūpas, gan aukslēju šķeltnes morfoģenēzē (Moreno et al., 2009). WNT3A, visticamāk, iesaistās WNT signālceļā, lai regulētu gļotādas audu homeostāzi šķeltnes skartos audos. Pētījumi liecina, ka mutes dobuma epitēlijšūnas pēc bojājuma reaģē uz WNT signālceļu, kas veicina bazālo šūnu proliferāciju un epitēlija atjaunošanos (Yuan et al., 2019). Divpusējas lūpu šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās ciešās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,6-0,8$) visbiežāk bija iesaistīts FOXE1 saistaudos (11 reizes), kā arī FOXE1 epitēlijā, MSX2 epitēlijā, MSX2 saistaudos, SOX3 epitēlijā (deviņas reizes katrs). Tas liecina, ka FOXE1 gan epitēlijā, gan saistaudos varētu būt

aktīvs morfofotoģenētiskais faktors tieši divpusējas lūpas šķeltnes audos postnatāli. FOXE1 regulē epitēlijaudu pareizu augšanu, kas ir aprakstīts pētījumos, kuros vērtēta FOXE1 ietekme uz matu folikulu augšanu (Brancaccio et al., 2004), kas liecina, ka FOXE1 varētu radīt traucējumus epitēlija augšanā arī divpusējas lūpas šķeltnes gadījumā. MSX2 un SOX3 iesaiste korelācijās divpusējas lūpas šķeltnes grupā ir līdzīga vienpusējas lūpas šķeltnes grupai, bet MSX2 un SOX3 ir iesaistīti ciešākās korelācijās nekā vienpusējas lūpas šķeltnu pacientu grupā, kas liecina par morfofotoģenētiskajām atšķirībām abu lūpas šķeltnu audos. Divpusējas lūpu šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās vidēji ciešās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,4-0,6$) visbiežāk bija iesaistīts SHH epitēlijā (trīs reizes), DLX4 epitēlijā, FOXE1 epitēlijā, SOX3 saistaudos, WNT3A epitēlijā (katrs divas reizes), kas ir līdzīgi vienpusējas lūpas šķeltnes grupai, vēl vairāk apliecinot morfofotoģenētiskās līdzības starp abiem lūpas šķeltnes fenotipiem.

Aukslēju šķeltnes grupā tika aprēķināta 71 statistiski nozīmīga pozitīva korelācija starp izvērtētajiem šķeltnu kandidātģenēm. Aukslēju šķeltnes grupā tika noteikta viena statistiski nozīmīga ļoti cieša pozitīva korelācija ($r_s = 0,8-1,0$) starp SOX3 epitēlijā un WNT9B epitēlijā ($r_s = 0,862$, $p = < 0,001$). Mijiedarbība starp SOX3 un WNT signālceļu ir iepriekš aprakstīta pētījumos ar dzīvniekiem (Zhang et al., 2003; Zorn et al., 1999), kuros tika konstatēts, ka SOX3 spēj saistīties ar β -katenīnu, kas savukārt regulē WNT signālceļa aktivitāti. Iespējams, aukslēju šķeltnes audos SOX3 un WNT9B mijiedarbības traucējumi varētu būt viens no morfofotoģenētiskajiem mehānismiem, kas raksturīgi tieši šim šķeltnes tipam. Aukslēju šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās ciešās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,6-0,8$) visbiežāk tika noteikts PAX9 saistaudos (četras reizes), HOXB3 epitēlijā, PAX7 epitēlijā, PAX7 saistaudos (trijās korelācijās katrs), savukārt statistiski nozīmīgās vidēji ciešās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,4-0,6$) visbiežāk bija iesaistīts SHH saistaudos (12 reizes), PAX9 epitēlijā (deviņas reizes), PAX7 saistaudos (astoņas reizes) un WNT3A saistaudos (astoņas reizes). Tas ir līdzīgi gan vienpusējas lūpas šķeltnes, gan divpusējas lūpas šķeltnes grupai. Līdzīgu šķeltnu kandidātģēnu iesaiste visās trijās šķeltnu kandidātģēnu grupās liecina par to, ka gan lūpas, gan aukslēju šķeltnes audos pastāv relatīvi līdzīgi morfofotoģenētiskie procesi. Aukslēju šķeltnes grupā statistiski nozīmīgās vājās pozitīvās korelācijās ($r_s = 0,2-0,4$) visbiežāk bija iesaistīts RYK (divas reizes saistaudos un vienu reizi epitēlijā). Mutācijas RYK ģenā ir iepriekš saistītas ar lūpu un aukslēju šķeltni (Watanabe et al., 2006), kas apliecina, ka RYK proteīna darbības traucējumi varētu būt daļa no aukslēju šķeltnes morfofotoģenētiskajiem mehānismiem, visticamāk, mijiedarbojoties ar WNT signālceļu (Macheda et al., 2012).

Kaut arī visi šķeltnu kandidātģēni uzrādģja statistiski nozģmģgas atšķģrģbas imģnreaktivģtģtģ starp kontroles grupu un šķeltnu pacientu grupģm, atsevišķģ šķeltnu kandidģtģģģni ir vairģk saģstģti ar noteiktiem šķeltnu fenotģpiem. Vienpusģjas lģpas šķeltnes audos ir izteiktģka HOXB3, FOXE1, BARX1 un PAX7 iesaģste, divpusģjas lģpas šķeltnes un aukslģģu šķeltnes audos – DLX4, PAX9, SHH, bet ar visģiem trim šķeltnu fenotģpiem – MSX2, RYK, SOX3, WNT3A un WNT9B.

Secinājumi

1. Mutes dobuma epitēlija vakuolizācija un bazālo šūnu proliferācija uzskatāmas par nespecifiskām kompensatorām audu pārmaiņām šķeltnes gadījumā. Relatīvi biežais iekaisums ir pavadošs faktors šķeltņu morfopatoģenēzē.
2. No izvērtētajiem gēnu proteīnu relatīvā daudzuma izmaiņas selektīvi raksturo vai nu veselus, vai šķeltnes skartus mutes dobuma audus.
Veselos mutes dobuma audos atrodami DLX4, FOXE1, HOXB3, PAX7, RYK, SHH, SOX3, WNT3A un WNT9B gēnu proteīni: visvairāk atrodami WNT9B, WNT3A, SOX3 gēnu proteīni, vidēji daudz – SHH, PAX7, HOXB3, FOXE1, mazāk – PAX9, DLX4, RYK, savukārt gandrīz nemaz – BARX1 un MSX2 gēnu proteīni.
BARX1 un MSX2 trūkums veselos, bet ne šķeltnes skartos audos liecina par šo gēnu proteīnu palielināšanos tikai šķeltņu morfopatoģenēzē. SOX3, WNT3A un WNT9B statistiski mazāka ekspresija tikai šķeltņu audos norāda šo gēnu ekspresijas samazināšanos arī kā raksturīgu kopējai šķeltņu morfopatoģenēzei. Visbeidzot, bez statistiski nozīmīgas atšķirības, bet ar tendenci samazināties šķeltņu skartos audos uzrāda arī PAX9 un RYK.
3. Daļai gēnu proteīnu trūkst selektīva palielināšanās noteiktu šķeltņu veida gadījumā. Tā tieši vienpusēju šķeltņi raksturo BARX1, FOXE1, HOXB3 un PAX7 intensīva ekspresija, norādot uz audu, īpaši saistaudu, šūnu reģenerācijas un proliferācijas potenciālu intensificēšanos, ko pamato statistiski ticamu atšķirību virkne starp šiem faktoriem.
4. Divpusēju šķeltņu fenotipu raksturo DLX4, PAX9 un SHH ekspresijas pārmaiņas, pirmajiem diviem uzrādot palielinātu, bet SHH – samazinātu izdali. Šo faktoru selektīva izdale ne tikai pamato to iesaisti divpusējas šķeltnes morfopatoģenēzē, bet arī akcentē galvenās kompensatori stimulētās funkcijas audos – saistaudu apasiņošanu DLX4 gadījumā, augšanas regulācijas PAX9 gadījumā un tieši smagākās šķeltnes veidošanos SHH gadījumā.
5. Visus šķeltņu fenotipus raksturo MSX2 un RYK pieaugums, bet SOX3, WNT3A un WNT9B samazinājums audos. Bez kombinētās universālās ietekmes MSX2 pārmaiņas selektīvi varētu traucēt saistaudu augšanu un diferenciāciju, RYK pārmaiņas – WNT signālceļa darbību, SOX3, WNT3A un WNT9B – visu šķeltnes audu augšanu un diferenciāciju.

6. Līdzīgās korelācijas starp izvēlēto gēnu proteīnu ekspresiju visos šķeltnu fenotipos liecina par līdzīgiem morfopatoģenēzes mehānismiem, nosakot tikai šķeltnēm raksturīgo gēnu proteīnu fenotipu. Īpaši svarīgas ir ciešās pozitīvās korelācijas starp HOXB3 un WNT9B iesaisti vienpusējas lūpas šķeltnes grupā, starp HOXB3, PAX9, SHH un WNT9B epitēlijā divpusējas lūpas šķeltnes grupā un starp SOX3 un WNT9B epitēlijā aukslēju šķeltnes grupā.

Priekšlikumi pētījumiem nākotnē

Šķeltņu kandidātģēni ir ļoti plaša šķeltņu morfopatoģenētisko faktoru grupa, kas iesaistās sejas reģiona audu attīstības un nobriešanas regulācijā. Šajā pētījumā ir apskatīta **tikai daļa no zināmajiem šķeltņu kandidātģēniem un to kodētajiem proteīniem**, tāpēc tālāka citu šo ģēnu un to proteīnu izpēte varētu būt nozīmīgs pētniecības virziens šķeltņu morfopatoģenēzē.

Šķeltņu morfopatoģenēze ir kompleks process, kurā ir iesaistīti ne tikai šķeltņu kandidātģēni, bet arī iekaisums, augšanas un audu remodelācijas faktori. Šo faktoru savstarpējā mijiedarbība rada sarežģītumus atrast vienotus šķeltņu morfopatoģenēzes mehānismus. **Salīdzinājums starp faktoru grupām, piemēram, šķeltņu kandidātģēniem un iekaisuma marķieriem šķeltnes skartos audos**, varētu papildināt zināšanas par sejas šķeltnes audu augšanu un formēšanos cilvēkiem. Tas varētu rast iespēju attīstīt mazāk invazīvas terapijas vai pat šķeltņu profilakses metodes, kas pielāgotas atbilstoši zināšanām par sejas šķeltņu morfopatoģenēzi.

Ņemot vērā komplicēto faktoru mijiedarbību sejas šķeltņu skartajos audos, turpmākie morfoloģiskie pētījumi šķeltņu morfopatoģenēzes novērtējumā varētu ietvert ne tikai imūnhistoķīmiju, bet papildinoši arī citas pētniecības metodes, piemēram, *in situ* hibridizāciju. Tas varētu uzlabot zināšanas ne tikai par šķeltņu kandidātģēnu proteīnu izdali audos, bet arī **par transkriptomu vai par ģenoma īpatnībām nesindromisku sejas šķeltņu gadījumā**.

Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu

Publikācijas, kas iekļautas datu bāzēs *Scopus*, *Web of Science*, *Pubmed*:

1. **Vaivads, M.**, Akota, I., Pilmane, M. 2023. Characterization of SHH, SOX3, WNT3A and WNT9B Proteins in Human Non-syndromic Cleft Lip and Palate Tissue. *Dentistry Journal*, 11(6), 151. <https://doi.org/10.3390/dj11060151>
2. **Vaivads, M.**, Akota, I., Pilmane, M. 2022. Immunohistochemical Evaluation of BARX1, DLX4, FOXE1, HOXB3, and MSX2 in Nonsyndromic Cleft Affected Tissue. *Acta medica Lituanica*, 29(2), 216–239. <https://doi.org/10.15388/Amed.2022.29.2.13>
3. **Vaivads, M.**, Akota, I., Pilmane, M. 2021. PAX7, PAX9 and RYK expression in cleft affected tissue. *Medicina (Lithuania)*, 57(10), 1075. <https://doi.org/10.3390/medicina57101075>
4. **Vaivads, M.**, Akota, I., Pilmane, M. 2021. Cleft Candidate Genes and Their Products in Human Unilateral Cleft Lip Tissue. *Diseases*, 9(2), 26. <https://doi.org/10.3390/diseases9020026>

Publikācijas, kas pieejamas starptautiskos citējamās izdevumos, tostarp universitāšu rakstu krājumos:

1. **Vaivads, M.**, Balode, E., Pilmane, M. 2020. Factors affecting facial development and formation of cleft lip and palate: a literature review. *Papers on Anthropology*, 29(2), 22–35. <https://doi.org/10.12697/poa.2020.29.2.02>

Ziņojumi un tēzes:

1. **Vaivads, M.**, Akota, I., Pilmane, M. 2023. Cleft Candidate Gene Immunoreactivity in Human Non_Syndromic Cleft Affected Tissue. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice” 29.–31.03.2023. Oral presentation.
2. **Vaivads, M.**, Akota, I., Pilmane, M. 2023. Evaluation of sonic hedgehog, sex-determining region Y-box transcription factor 3 and wingless-type family member 3A and 9B in different cleft tissue. Practical Ophthalmology. Medical and Environmental Problems of our Days: Collection of Works International Scientific and Practical Interdisciplinary Conference. State Institution “National Research Center for Radiation medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, 12–13. Oral presentation.
3. **Vaivads, M.**, Akota, I. & Pilmane, M. 2022. PAX7, PAX9 and RYK expression in cleft affected tissue. 10th Congress of Baltic Association for Maxillofacial and Plastic Surgery and 16th Joint Symposium Riga–Rostock, Rīga, Latvia, 30. Poster presentation.
4. **Vaivads, M.**, Pilmane, M., Akota, I. 2021. Cleft candidate genes and their products in human unilateral cleft lip tissue. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”: Abstracts, 24.–26.03.2021, 405. Poster presentation.
5. Goida, J., **Vaivads, M.**, Pilmane, M. 2021. Tissue indicators of inflammation in the cleft affected tissue. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”: Abstracts, 24.–26.03.2021, 429. Poster presentation.

Literatūras saraksts

1. Abramyan, J. 2019. Hedgehog Signaling and Embryonic Craniofacial Disorders. *Journal of Developmental Biology*, 7 (2), 9. Iegūts no: doi.org/10.3390/jdb7020009 [skatīts: 10.04.2023.].
2. Adikusuma, F., Pederick, D., McAninch, D., Hughes, J. and Thomas, P. 2017. Functional Equivalence of the SOX2 and SOX3 Transcription Factors in the Developing Mouse Brain and Testes. *Genetics*, 206(3), 1495–1503.
3. Akimenko, M.A., Ekker, M., Wegner, J., Lin, W. and Westerfield, M. 1994. Combinatorial expression of three zebrafish genes related to distal-less: part of a homeobox gene code for the head. *The Journal of Neuroscience*, 14(6), 3475–3486.
4. Alappat, S., Zhang, Z.Y., Chen, Y.P. 2003. Msx homeobox gene family and craniofacial development. *Cell Research*, 13(6), 429–442.
5. Alatzoglou, K.S., Azriyanti, A., Rogers, N., Ryan, F., Curry, N., Noakes, C., Bignell, P., Hall, G.W., Littooi, A.S., Saunders, D., Thomas, P., Stewart, H. and Dattani, M. T. 2014. SOX3 Deletion in Mouse and Human Is Associated with Persistence of the Craniopharyngeal Canal. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99 (12), E2702-8. Iegūts no: doi.org/10.1210/jc.2014-1160 [skatīts: 12.04.2023.].
6. Alatzoglou, K.S., Kelberman, D. and Dattani, M.T. 2009. The Role of SOX Proteins in Normal Pituitary Development. *Journal of Endocrinology*, 200 (3), 245–258.
7. Allori, A.C., Cragan, J.D., Cassell, C.H. and Marcus, J.R. 2016. ICD-10-based expanded code set for use in cleft lip/palate research and surveillance. *Birth Defects Research. Part A, Clinical and Molecular Teratology*, 106(11), 905–914.
8. Allori, A.C., Mulliken, J.B., Meara, J.G., Shusterman, S. and Marcus, J.R. 2017. Classification of Cleft Lip/Palate: Then and Now. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association*, 54(2), 175–188.
9. Altman, D. G. 1990. Chapter 8 – Principles of statistical analysis. In: *Practical statistics for medical research*. London: Chapman and Hall, 152-177.
10. Andrade Filho, P.A., Letra, A., Cramer, A., Prasad, J.L., Garlet, G.P., Vieira, A.R., Ferris, R.L. and Menezes, R. 2011. Insights from studies with oral cleft genes suggest associations between WNT-pathway genes and risk of oral cancer. *Journal of Dental Research*, 90(6), 740–746.
11. Babajko, S., de La Dure-Molla, M., Jedeon, K. and Berdal A. 2015. MSX2 in ameloblast cell fate and activity. *Frontiers in physiology*, 5, 510.
12. Basch, M.L., Bronner-Fraser, M. and García-Castro, M.I. 2006. Specification of the neural crest occurs during gastrulation and requires Pax7. *Nature*, 441(7090), 218–222.
13. Bergsland, M., Ramsköld, D., Zaouter, C., Klum, S., Sandberg, R. and Muhr, J. 2011. Sequentially acting Sox transcription factors in neural lineage development. *Genes & Development*, 25(23), 2453–2464.
14. Bergstein, I., Eisenberg, L.M., Bhalerao, J., Jenkins, N.A., Copeland, N.G., Osborne, M.P., Bowcock, A.M., and Brown, A.M. 1997. Isolation of two novel WNT genes, WNT14 and WNT15, one of which (WNT15) is closely linked to WNT3 on human chromosome 17q21. *Genomics*, 46(3), 450–458.
15. Bernheim, N., Georges, M., Malevez, C., De Mey, A. and Mansbach, A. 2006. Embryology and epidemiology of cleft lip and palate. *B-ENT*, 2 Suppl 4, 11–19.
16. Bhatlekar, S., Fields, J.Z. and Boman, B.M. 2018. Role of HOX Genes in Stem Cell Differentiation and Cancer. *Stem cells international*, 2018, 3569493. Iegūts no: doi: 10.4252/wjsc.v7.i3.583 [skatīts 29.03.2023.].
17. Bhattacharya, S., Duverger, O., Brooks, S.R. and Morasso, M.I. 2018. Homeobox transcription factor DLX4 is not necessary for skin development and homeostasis. *Experimental dermatology*, 27(3), 289–292.

18. Bylund, M., Andersson, E., Novitch, B.G. and Muhr, J. 2003. Vertebrate neurogenesis is counteracted by Sox1-3 activity. *Nature Neuroscience*, 6(11), 1162–1168.
19. Bodine, P.V. 2008. WNT signaling control of bone cell apoptosis. *Cell Research*, 18(2), 248–253.
20. Brancaccio, A., Minichiello, A., Grachtchouk, M., Antonini, D., Sheng, H., Parlato, R., Dathan, N., Dlugosz, A.A. and Missero, C. 2004. Requirement of the forkhead gene Foxe1, a target of sonic hedgehog signaling, in hair follicle morphogenesis. *Human molecular genetics*, 13(21), 2595–2606.
21. Bush, J.O. and Jiang, R. 2012. Palatogenesis: morphogenetic and molecular mechanisms of secondary palate development. *Development*, 139(2), 231–243.
22. Carpenter, G. and Liao, H. J. 2013. Receptor tyrosine kinases in the nucleus. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(10), a008979. Iegūts no: doi: 10.1101/cshperspect.a008979 [skatīts: 04.04.2023.].
23. Carré, A., Hamza, R.T., Kariyawasam, D., Guillot, L., Teissier, R., Tron, E., Castanet, M., Dupuy, C., El Kholly, M. and Polak, M. 2014. A novel FOXE1 mutation (R73S) in Bamforth-Lazarus syndrome causing increased thyroïdal gene expression. *Thyroid*, 24(4), 649–654.
24. Chan, Y. and Walmsley, R.P. 1997. Learning and understanding the Kruskal-Wallis one-way analysis-of-variance-by-ranks test for differences among three or more independent groups. *Physical therapy*, 77(12), 1755–1762.
25. Chen, J., Zhu, S., Jiang, N., Shang, Z., Quan, C. and Niu, Y. 2013. HoxB3 promotes prostate cancer cell progression by transactivating CDCA3. *Cancer Letters*, 330(2), 217–224.
26. Chiquet, B.T., Blanton, S.H., Burt, A., Ma, D., Stal, S., Mulliken, J.B. and Hecht, J.T. 2008. Variation in WNT genes is associated with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate. *Human molecular genetics*, 17(14), 2212–2218.
27. Chong, H.J., Young, N.M., Hu, D., Jeong, J., McMahon, A.P., Hallgrimsson, B. and Marcucio, R.S. 2012. Signaling by SHH Rescues Facial Defects Following Blockade in the Brain. *Development Dynamics*, 241 (2), 247–256.
28. Collins, C. A., Gnocchi, V.F., White, R.B., Boldrin, L., Perez-Ruiz, A., Relaix, F., Morgan, J.E. and Zammit, P.S. 2009. Integrated functions of Pax3 and Pax7 in the regulation of proliferation, cell size and myogenic differentiation. *PloS one*, 4(2), e4475. Iegūts no: doi: 10.1371/journal.pone.0004475 [skatīts 14.08.2023.].
29. Credendino, S.C., Moccia, C., Amendola, E., D'Avino, G., Di Guida, L., Clery, E., Greco, A., Bellevicine, C., Brunetti, A., De Felice, M., and De Vita, G. 2020. FOXE1 Gene Dosage Affects Thyroid Cancer Histology and Differentiation In Vivo. *International journal of molecular sciences*, 22(1), 25. Iegūts no: doi.org/10.3390/ijms22010025 [skatīts: 29.03.2023.].
30. Dai, J., Mou, Z., Shen, S., Dong, Y., Yang, T. and Shen, S.G. 2014. Bioinformatic analysis of Msx1 and Msx2 involved in craniofacial development. *The Journal of Craniofacial Surgery*, 25(1), 129–134.
31. Danescu, A., Mattson, M., Dool, C., Diewert, V.M. and Richman, J.M. 2015. Analysis of human soft palate morphogenesis supports regional regulation of palatal fusion. *Journal of anatomy*, 227(4), 474–486.
32. Dathan, N., Parlato, R., Rosica, A., De Felice, M. and Di Lauro, R. 2002. Distribution of the titf2/foxe1 gene product is consistent with an important role in the development of foregut endoderm, palate, and hair. *Developmental Dynamics*, 224(4), 450–456.
33. Depew, M.J., Simpson, C.A., Morasso, M., Rubenstein, J.L. 2005. Reassessing the Dlx code: the genetic regulation of branchial arch skeletal pattern and development. *Journal of anatomy*, 207(5), 501–561.
34. Deshpande, A.S. and Goudy, S.L. 2018. Cellular and molecular mechanisms of cleft palate development. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*, 4(1), 160–164.

35. Dixon, M.J., Marazita, M.L., Beaty, T.H. and Murray, J. C. 2011. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nature reviews. Genetics*, 12(3), 167–178.
36. Dom, G., Dmitriev, P., Lambot, M.A., Van Vliet, G., Glinoyer, D., Libert, F., Lefort, A., Dumont, J. E., and Maenhaut, C. 2021. Transcriptomic Signature of Human Embryonic Thyroid Reveals Transition From Differentiation to Functional Maturation. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 669354. Iegūts no: doi.org/10.3389/fcell.2021.669354 [skatīts: 29.03.2023.].
37. Etchevers, H.C., Dupin, E. and Le Douarin, N.M. 2019. The diverse neural crest: from embryology to human pathology. *Development*, 146(5), dev169821. Iegūts no: doi.org/10.1242/dev.169821 [skatīts: 04.04.2023.].
38. Everson, J.L., Fink, D.M., Yoon, J.W., Leslie, E.J., Kietzman, H.W., Ansen-Wilson, L.J., Chung, H.M., Walterhouse, D.O., Marazita, M.L. and Lipinski, R.J. 2017. Sonic Hedgehog Regulation of Foxf2 Promotes Cranial Neural Crest Mesenchyme Proliferation and Is Disrupted in Cleft Lip Morphogenesis. *Development*, 144, 2082–2091.
39. Feldman, A.T. and Wolfe, D. 2014. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods in Molecular Biology*, 1180, 31–43.
40. Florescu, D., Stepan, A.E., Mărgăritescu, C., Stepan, D. and Simionescu, C.E. 2018. Proliferative Activity in Basal Cell Carcinomas. *Current health sciences journal*, 44(1), 55–60.
41. Fontoura, C., Silva, R.M., Granjeiro, J.M. and Letra, A. 2015. Association of WNT9B Gene Polymorphisms With Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate in Brazilian Nuclear Families. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal*, 52(1), 44–48.
42. Forthofer, R.N., Lee, E.S. and Hernandez, M. 2007. Descriptive Methods. In *Biostatistics*. Elsevier, 21–69.
43. Frisdal, A. and Trainor, P.A. 2014. Development and evolution of the pharyngeal apparatus. Wiley interdisciplinary reviews. *Developmental Biology*, 3(6), 403–418.
44. Fu, H., Fu, L., Xie, C., Zuo, W.S., Liu, Y.S., Zheng, M.Z. and Yu, J. M. 2017. miR-375 inhibits cancer stem cell phenotype and tamoxifen resistance by degrading HOXB3 in human ER-positive breast cancer. *Oncology reports*, 37(2), 1093–1099.
45. Funato, N. and Nakamura, M. 2017. Identification of Shared and Unique Gene Families Associated with Oral Clefts. *International Journal of Oral Science*, 9, 104–109.
46. Garland, M.A., Reynolds, K. and Zhou, C.J. 2020. Environmental mechanisms of orofacial clefts. *Birth Defects Research*, 112(19), 1660–1698.
47. Gisele, D.S.D. (Ed.). Normal and Abnormal Oro-Facial Embryogenesis In: *Craniofacial disorders – orofacial features and peculiarities in dental treatment*. Sharjah: Bentham Science Publishers. 2017. 3–17.
48. Gordon, R.J. and Levine, M.A. 2018. Genetic Disorders of Parathyroid Development and Function. *Endocrinology & Metabolism Clinics of North America*, 47 (4), 809–823.
49. Gray, S., Pandha, H.S., Michael, A., Middleton, G., Morgan, R. 2011. HOX genes in pancreatic development and cancer. *Journal of the Pancreas*, 12(3), 216–219.
50. Green, J., Nusse, R. and van Amerongen, R. 2014. The Role of RYK and Ror Receptor Tyrosine Kinases in Wnt Signal Transduction. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6, a009175–a009175. Iegūts no: doi: 10.1101/cshperspect.a009175 [skatīts: 14.08.2023.].
51. Greene, R.M. and Pisano, M.M. 2010. Palate morphogenesis: current understanding and future directions. *Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews*, 90(2), 133–154.
52. Grosen, D., Chevrier, C., Skytthe, A., Bille, C., Mølsted, K., Sivertsen, A., Murray, J.C. and Christensen, K. 2010. A cohort study of recurrence patterns among more than 54,000 relatives of oral cleft cases in Denmark: support for the multifactorial threshold model of inheritance. *Journal of Medical Genetics*, 47(3), 162–168.

53. Habu, M., Koyama, H., Kishida, M., Kamino, M., Iijima, M., Fuchigami, T., Tokimura, H., Ueda, M., Tokudome, M., Koriyama, C., Hirano, H., Arita, K. and Kishida, S. 2014. Ryk is essential for Wnt-5a-dependent invasiveness in human glioma. *Journal of biochemistry*, 156(1), 29–38.
54. Halford, M.M., Armes, J., Buchert, M., Meskenaite, V., Grail, D., Hibbs, M.L., Wilks, A.F., Farlie, P.G., Newgreen, D.F., Hovens, C.M. and Stacker, S.A. 2000. Ryk-deficient mice exhibit craniofacial defects associated with perturbed Eph receptor crosstalk. *Nature Genetics*, 25(4), 414–418.
55. Hamachi, T., Sasaki, Y., Hidaka, K. and Nakata, M. 2003. Association between palatal morphogenesis and Pax9 expression pattern in CL/Fr embryos with clefting during palatal development. *Archives of Oral Biology*, 48(8), 581–587.
56. Hammond, N.L., Brookes, K.J. and Dixon, M. J. 2018. Ectopic Hedgehog Signaling Causes Cleft Palate and Defective Osteogenesis. *Journal of dental research*, 97(13), 1485–1493.
57. Han, J., Mayo, J., Xu, X., Li, J., Bringas, P., Jr, Maas, R.L., Rubenstein, J.L. and Chai, Y. 2009. Indirect modulation of Shh signaling by Dlx5 affects the oral-nasal patterning of palate and rescues cleft palate in Msx1-null mice. *Development (Cambridge, England)*, 136(24), 4225–4233.
58. He, S., Lu, Y., Liu, X., Huang, X., Keller, E.T., Qian, C.N. and Zhang, J. 2015. WNT3a: functions and implications in cancer. *Chinese Journal of Cancer*, 34(12), 554–562.
59. Hilliard, S.A., Yu, L., Gu, S., Zhang, Z. and Chen, Y.P. 2005. Regional regulation of palatal growth and patterning along the anterior-posterior axis in mice. *Journal of Anatomy*, 207(5), 655–667.
60. Hooper, J.E., Feng, W., Li, H., Leach, S.M., Phang, T., Siska, C., Jones, K.L., Spritz, R.A., Hunter, L.E. and Williams, T. 2017. Systems biology of facial development: contributions of ectoderm and mesenchyme. *Developmental Biology*, 426(1), 97–114.
61. Houkes, R., Smit, J., Mossey, P., Don Griot, P., Persson, M., Neville, A., Ongkosuwito, E., Sitzman, T. and Breugem, C. 2023. Classification Systems of Cleft Lip, Alveolus and Palate: Results of an International Survey. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association*, 60(2), 189–196.
62. Hsu, S.M., Raine, L. and Fanger, H. 1981. The use of antiavidin antibody and avidin-biotinperoxidase complex in immunoperoxidase technics. *American Journal of Clinical Pathology*. 75(6), 816–821.
63. Hu, D., Young, N.M., Li, X., Xu, Y., Hallgrímsson, B. and Marcucio, R.S. 2015. A dynamic Shh expression pattern, regulated by SHH and BMP signaling, coordinates fusion of primordia in the amniote face. *Development (Cambridge, England)*, 142(3), 567–574.
64. Jajarm, H.H., Mohtasham, N., Moshaverinia, M. and Rangiani, A. 2008. Evaluation of oral mucosa epithelium in type II diabetic patients by an exfoliative cytology method. *Journal of oral science*, 50(3), 335–340.
65. Jeong, J., Cesario, J., Zhao, Y., Burns, L., Westphal, H. and Rubenstein, J.L. 2012. Cleft palate defect of Dlx1/2-/- mutant mice is caused by lack of vertical outgrowth in the posterior palate. *Developmental Dynamics*, 241(11), 1757–1769.
66. Ji, Y., Garland, M.A., Sun, B., Zhang, S., Reynolds, K., McMahon, M., Rajakumar, R., Islam, M. S., Liu, Y., Chen, Y. and Zhou, C.J. 2020. Cellular and developmental basis of orofacial clefts. *Birth Defects Research*, 112(19), 1558–1587.
67. Jia, S., Zhou, J. and D'Souza, R. N. 2020. Pax9's dual roles in modulating Wnt signaling during murine palatogenesis. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*, 249(10), 1274–1284.
68. Jia, S., Zhou, J., Fanelli, C., Wee, Y., Bonds, J., Schneider, P., Mues, G. and D'Souza R.N. 2017. Small-molecule WNT agonists correct cleft palates in Pax9 mutant mice in utero. *Development (Cambridge, England)*, 144(20), 3819–3828.
69. Jiang, R., Bush, J.O. and Lidral, A.C. 2006. Development of the upper lip: morphogenetic and molecular mechanisms. *Developmental Dynamics*, 235(5), 1152–1166.

70. Jin, Y.-R., Han, X.H., Nishimori, K., Ben-Avraham, D., Oh, Y.J., Shim, J.-W. and Yoon, J.K. 2020. Canonical WNT/ β -Catenin Signaling Activated by WNT9b and RSPO2 Cooperation Regulates Facial Morphogenesis in Mice. *Frontiers in Cell Developmental Biology*, 8, 264. Iegūts no: doi.org/10.3389/fcell.2020.00264 [skatīts: 12.04.2023.].
71. Jin, Y.-R., Han, X.H., Taketo, M.M. and Yoon, J.K. 2012. Wnt9b-Dependent FGF Signaling Is Crucial for Outgrowth of the Nasal and Maxillary Processes during Upper Jaw and Lip Development. *Development*, 139 (10), 1821–1830.
72. Jin, J.Z. and Ding, J. 2006. Analysis of cell migration, transdifferentiation and apoptosis during mouse secondary palate fusion. *Development*, 133(17), 3341–3347.
73. Jonker, L., Kist, R., Aw, A., Wappler, I. and Peters, H. 2004. Pax9 is required for filiform papilla development and suppresses skin-specific differentiation of the mammalian tongue epithelium. *Mechanisms of Development*, 121(11), 1313–1322.
74. Juriloff, D.M., Harris, M.J., McMahan, A.P., Carroll, T.J. and Lidral, A.C. 2006. WNT9b is the mutated gene involved in multifactorial nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in A/WySn mice, as confirmed by a genetic complementation test. *Birth Defects Research. Part A, Clinical and Molecular Teratology*, 76(8), 574–579.
75. Kawasaki, K., Kawasaki, M., Watanabe, M., Idrus, E., Nagai, T., Oommen, S., Maeda, T., Hagiwara, N., Que, J., Sharpe, P.T. and Ohazama, A. 2015. Expression of Sox Genes in Tooth Development. *International Journal of Developmental Biology*, 59, 471–478.
76. Keyimu, R., Tuerdi, M. and Zhao, Z. 2021. MSX2 represses tumor stem cell phenotypes within oral squamous cell carcinomas via SOX2 degradation. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 246(24), 2660–2670.
77. Kerge, S., Vuorinen, J., Hurme, S., Soukka, T., Gheit, T., Tommasino, M., Syrjänen, S. and Rautava, J. 2018. Benign proliferative epithelial lesions of oral mucosa are infrequently associated with α -, β -, or γ human papillomaviruses. *Laryngoscope investigative otolaryngology*, 4(1), 43–48.
78. Khan, M. I., Cs, P. and Srinath, N. M. 2020. Genetic Factors in Nonsyndromic Orofacial Clefts. *Global Medical Genetics*, 7, 101–108.
79. Kim, B.-M., Miletich, I., Mao, J., McMahan, A.P., Sharpe, P.A. and Shivdasani, R.A. 2007. Independent functions and mechanisms for homeobox gene Barx1 in patterning mouse stomach and spleen. *Development*, 134(20), 3603–3613.
80. Kim, G.H., Her, J.H. and Han, J.K. 2008. Ryk cooperates with Frizzled 7 to promote WNT11-mediated endocytosis and is essential for *Xenopus laevis* convergent extension movements. *The Journal of Cell Biology*, 182(6), 1073–1082.
81. Kim, H.T., Panza, P., Kikhi, K., Nakamichi, Y., Atzberger, A., Guenther, S., Ruppert, C., Guenther, A. and Stainier, D.Y.R. 2022. WNT/RYK signaling functions as an antiinflammatory modulator in the lung mesenchyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(24), e2201707119. Iegūts no: doi.org/10.1073/pnas.2201707119 [skatīts: 08.08.2023.].
82. Kim, Y., Hong, M., Do, I. G., Ha, S. Y., Lee, D. and Suh, Y. L. 2015. Wnt5a, Ryk and Ror2 expression in glioblastoma subgroups. *Pathology, research and practice*, 211(12), 963–972.
83. Kurosaka, H. 2015. The Roles of Hedgehog Signaling in Upper Lip Formation. *BioMed Research International*, 2015, 901041. Iegūts no: doi.org/10.1155/2015/901041 [skatīts 29.03.2023.].
84. Kurosaka, H., Iulianella, A., Williams, T. and Trainor, P.A. 2014. Disrupting Hedgehog and WNT Signaling Interactions Promotes Cleft Lip Pathogenesis. *Journal of Clinical Investigation*, 124, 1660–1671.
85. Lan, Y. and Jiang, R. 2009. Sonic hedgehog signaling regulates reciprocal epithelial-mesenchymal interactions controlling palatal outgrowth. *Development (Cambridge, England)*, 136(8), 1387–1396.

86. Lan, Y., Ryan, R.C., Zhang, Z., Bullard, S.A., Bush, J.O., Maltby, K.M., Lidral, A.C. and Jiang, R. 2006. Expression of WNT9b and activation of canonical WNT signaling during midfacial morphogenesis in mice. *Developmental Dynamics*, 235(5), 1448–1454.
87. Lanoue, V., Langford, M., White, A., Sempert, K., Fogg, L. and Cooper, H. M. 2017. The Wnt Receptor RYK Is a Negative Regulator of Mammalian Dendrite Morphogenesis. *Science Reports*, 7, 5965. Iegūts no: doi: 10.1038/s41598-017-06140-z [skatīts: 28.03.2023.].
88. Laronda, M. M. and Jameson, J. L. 2011. Sox3 functions in a cell-autonomous manner to regulate spermatogonial differentiation in mice. *Endocrinology*, 152(4), 1606–1615.
89. Lee, J.M., Kim, J.Y., Cho, K.W., Lee, M.J., Cho, S.W., Kwak, S., Cai, J. and Jung, H.S. 2008. Wnt11/Fgfr1b cross-talk modulates the fate of cells in palate development. *Developmental Biology*, 314(2), 341–350.
90. Lehman J.A. Jr., Douglas B.K., Ho W.C. and Husami T.W. 1990. One-stage closure of the entire primary palate. *Plastic Reconstructive Surgery*, 86(4): 675–681.
91. Leslie, E.J., and Marazita, M.L. 2013. Genetics of cleft lip and cleft palate. *American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics*, 163C(4), 246–258.
92. Li C., Lan Y., Krumlauf R. and Jiang R. 2017. Modulating WNT Signaling Rescues Palate Morphogenesis in Pax9 Mutant Mice. *Journal of Dental Research*, 96(11), 1273–1281.
93. Li, H., Jones, K.L., Hooper, J.E., and Williams, T. 2019. The molecular anatomy of mammalian upper lip and primary palate fusion at single cell resolution. *Development (Cambridge, England)*, 146(12), dev174888. Iegūts no: doi.org/10.1242/dev.174888 [skatīts: 14.03.2023.].
94. Li, J., Yuan, Y., He, J., Feng, J., Han, X., Jing, J., Ho, T.V., Xu, J. and Chai, Y. 2018. Constitutive activation of hedgehog signaling adversely affects epithelial cell fate during palatal fusion. *Developmental Biology*, 441(1), 191–203.
95. Li, J., Rodriguez, G., Han, X., Janečková, E., Kahng, S., Song, B. and Chai, Y. 2019. Regulatory Mechanisms of Soft Palate Development and Malformations. *Journal of Dental Research*, 98(9), 959–967.
96. Lidral, A.C., Liu, H., Bullard, S.A., Bonde, G., Machida, J., Visel, A., Uribe, L.M., Li, X., Amendt, B. and Cornell, R.A. 2015. A single nucleotide polymorphism associated with isolated cleft lip and palate, thyroid cancer and hypo thyroidism alters the activity of an oral epithelium and thyroid enhancer near FOXE1. *Human Molecular Genetics*, 24(14), 3895–3907.
97. Lillie, R.D., Pizzolatio, P. and Donaldson, P.T. 1976. Hematoxylin substitutes: a survey of mordant dyes tested and consideration of the relation of their structure to performance as nuclear stains. *Stain Technology*. 51 (1), 25–41.
98. Lin, S., Baye, L.M., Westfall, T.A. and Slusarski, D.C. 2010. WNT5b-Ryk pathway provides directional signals to regulate gastrulation movement. *The Journal of Cell Biology*, 190(2), 263–278.
99. Lindblad, O., Chougule, R.A., Moharram, S.A., Kabir, N.N., Sun, J., Kazi, J.U. and Rönstrand, L. 2015. The role of HOXB2 and HOXB3 in acute myeloid leukemia. *Biochemical and biophysical research communications*, 467(4), 742–747.
100. Ling, Z., Long, X., Li, J. and Feng, M. 2020. Homeodomain protein DLX4 facilitates nasopharyngeal carcinoma progression via up-regulation of YB-1. *Genes to Cells: Devoted to Molecular & Cellular Mechanisms*, 25(7), 466–474.
101. Liu, J., An, H., Yuan, W., Feng, Q., Chen, L. and Ma, J. 2017. Prognostic Relevance and Function of MSX2 in Colorectal Cancer. *Journal of diabetes research*, 2017, 1–10.
102. Liu, J., Wang, Y.-Q., Niu, H.-B. and Zhang, C.-X. 2022. PAX9 functions as a tumor suppressor gene for cervical cancer via modulating cell proliferation and apoptosis. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 38(4), 357–366.
103. Lyu, J., Yamamoto, V. and Lu W. 2008. Cleavage of the WNT receptor Ryk regulates neuronal differentiation during cortical neurogenesis. *Developmental cell*, 15(5), 773–780.

104. Losa, M., Risolino, M., Li, B., Hart, J., Quintana, L., Grishina, I., Yang, H., Choi, I.F., Lewicki, P., Khan, S., Aho, R., Feenstra, J., Vincent, C.T., Brown, A.M.C., Ferretti, E., Williams, T. and Selleri, L. 2018. Face morphogenesis is promoted by Pbx-dependent EMT via regulation of *Snail1* during frontonasal prominence fusion. *Development*, 145(5), dev157628. Iegūts no: doi.org/10.1242/dev.157628 [skatīts: 15.03.2023.].
105. Ludwig, K.U., Mangold, E., Herms, S., Nowak, S., Reutter, H., Paul, A., Becker, J., Herberz, R., AlChawa, T., Nasser, E., Böhmer, A.C., Mattheisen, M., Alblas, M.A., Barth, S., Kluck, N., Lauster, C., Braumann, B., Reich, R.H., Hemprich, A., Pötzsch, S., Blaumeiser, B., Daratsianos, N., Kreusch, T., Murray, J.C., Marazita, M.L., Ruczinski, I., Scott, A.F., Beaty, T.H., Kramer, F.J., Wienker, T.F., Steegers-Theunissen, R.P., Rubini, M., Mossey, P.A., Hoffmann, P., Lange, C., Cichon, S., Propping, P., Knapp, M. and Nöthen, M.M. 2012. Genome-wide metaanalyses of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate identify six new risk loci. *Nature Genetics*, 44(9), 968–971.
106. Macheda, M.L., Sun, W.W., Kugathasan, K., Hogan, B.M., Bower, N.I., Halford, M.M., Zhang, Y.F., Jacques, B.E., Lieschke, G.J., Dabdoub, A. and Stacker, S.A. 2012. The Wnt receptor Ryk plays a role in mammalian planar cell polarity signaling. *The Journal of biological chemistry*, 287(35), 29312–29323.
107. Maili, L., Letra, A., Silva, R., Buchanan, E.P., Mulliken, J.B., Greives, M.R., Teichgraeber, J.F., Blackwell, S.J., Ummer, R., Weber, R., Chiquet, B., Blanton, S.H. and Hecht, J.T. 2020. PBX-WNT-P63-IRF6 pathway in nonsyndromic cleft lip and palate. *Birth defects research*, 112(3), 234–244.
108. Mansouri, A., Stoykova, A., Torres, M., Gruss, P. 1996. Dysgenesis of cephalic neural crest derivatives in Pax7^{-/-} mutant mice. *Development (Cambridge, England)*, 122(3), 831–838.
109. Marchini, M., Hu, D., Lo Vercio, L., Young, N.M., Forkert, N.D., Hallgrímsson, B. and Marcucio, R. 2021. Wnt Signaling Drives Correlated Changes in Facial Morphology and Brain Shape. *Frontiers in Cell Developmental Biology*, 9, 644099. Iegūts no: doi.org/10.3389/fcell.2021.644099 [skatīts: 05.04.2023.].
110. Martínez-Gil, N., Ugartondo, N., Grinberg, D. and Balcells, S. 2022. Wnt Pathway Extracellular Components and Their Essential Roles in Bone Homeostasis. *Genes (Basel)*, 13(1), 138.
111. McKinnell, I. W., Ishibashi, J., Le Grand, F., Punch, V. G. J., Addicks, G. C., Greenblatt, J. F., Dilworth, F. J. and Rudnicki, M. A. 2008. Pax7 Activates Myogenic Genes by Recruitment of a Histone Methyltransferase Complex. *Nat. Cell Biol*, 10, 77–84.
112. Medio, M., Yeh, E., Popelut, A., Babajko, S., Berdal, A. and Helms J.A. 2012. WNT/β-catenin signaling and Msx1 promote outgrowth of the maxillary prominences. *Frontiers in Physiology*, 3, 375. Iegūts no: doi.org/10.3389/fphys.2012.00375 [skatīts: 04.04.2023.].
113. Millard D. R. Jr. Rotation-advancement principle in cleft lip closure. 1964. *Cleft Palate Journal*, 12: 246–252.
114. Molla, M., Descroix, V., Aïoub, M., Simon, S., Castañeda, B., Hotton, D., Bolaños, A., Simon, Y., Lezot, F., Goubin, G. and Berdal, A. 2010. Enamel protein regulation and dental and periodontal physiopathology in MSX2 mutant mice. *The American journal of pathology*, 177(5), 2516–2526.
115. Moreno, L.M., Mansilla, M.A., Bullard, S.A., Cooper, M.E., Busch, T.D., Machida, J., Johnson, M.K., Brauer, D., Krahn, K., Daack-Hirsch, S., L'Heureux, J., Valencia-Ramirez, C., Rivera, D., López, A.M., Moreno, M.A., Hing, A., Lammer, E.J., Jones, M., Christensen, K., Lie R.T., Jugessur, A., Wilcox, A.J., Chines, P., Pugh, E., Doheny, K., Arcos-Burgos, M., Marazita, M.L., Murray, J.C. and Lidral A.C. 2009. FOXE1 association with both isolated cleft lip with or without cleft palate, and isolated cleft palate. *Human Molecular Genetics*, 18(24), 4879–4896.
116. Morillo-Bernal, J., Fernández, L.P. and Santisteban, P. 2020. FOXE1 regulates migration and invasion in thyroid cancer cells and targets ZEB1. *Endocrine-related cancer*, 27(3), 137–151.
117. Mossey, P.A., Shaw, W.C., Munger, R.G., Murray, J.C., Murthy, J. and Little, J. 2011. Global oral health inequalities: challenges in the prevention and management of orofacial clefts and potential solutions. *Advances in Dental Research*, 23(2), 247–258.

118. Murillo-Rincón, A.P. and Kaucka, M. 2020. Insights into the complexity of craniofacial development from a cellular perspective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 620735. Iegūts no: doi.org/10.3389/fcell.2020.620735 [skatīts: 13.03.2023.].
119. Nakada, C., Iida, A., Tabata, Y. and Watanabe, S. 2009. Forkhead transcription factor foxe1 regulates chondrogenesis in zebrafish. *Journal of Experimental Zoology. Part B, Molecular and Developmental Evolution*, 312(8), 827–840.
120. Nakatomi, M., Ida-Yonemochi, H., Nakatomi, C., Saito, K., Kenmotsu, S., Maas, R.L. and Ohshima, H. 2018. Msx2 Prevents Stratified Squamous Epithelium Formation in the Enamel Organ. *Journal of dental research*, 97(12), 1355–1364.
121. Nie, X. 2006. Developmentally regulated expression of Msx1, Msx2 and fgfs in the developing mouse cranial base. *The Angle Orthodontist*, 76(6), 990–995.
122. Nogueira, J.M., Hawrot, K., Sharpe, C., Noble, A., Wood, W.M., Jorge, E.C., Goldhamer, D.J., Kardon, G. and Dietrich, S. 2015. The emergence of Pax7-expressing muscle stem cells during vertebrate head muscle development. *Frontiers in aging neuroscience*, 7, 62. Iegūts no: doi.org/10.3389/fnagi.2015.00062 [skatīts: 08.08.2023.].
123. Ohki, S., Oka, K., Ogata, K., Okuhara, S., Rikitake, M., Toda-Nakamura, M., Tamura, S., Ozaki, M., Iseki, S. and Sakai, T. 2020. Transforming Growth Factor-Beta and Sonic Hedgehog Signaling in Palatal Epithelium Regulate Tenascin-C Expression in Palatal Mesenchyme During Soft Palate Development. *Frontiers in physiology*, 11, 532. Iegūts no: doi.org/10.3389/fphys.2020.00532 [skatīts: 25.09.2023.].
124. Parikh, S. R. (Ed.). Chapter 5 Embryology of the Face Tara Ramachandra and Steven L. Goudy In: *Pediatric otolaryngology - head and neck surgery : Clinical reference guide*. San Diego: Plural Publishing, Inc. 2014. 37–42.
125. Parker, H.J., Pushel, I. and Krumlauf, R. 2018. Coupling the roles of Hox genes to regulatory networks patterning cranial neural crest. *Developmental Biology*, 444. Iegūts no: doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.03.016 [skatīts: 28.03.2023.].
126. Patro, J., Panda, S., Mohanty, N. and Mishra, U.S. 2021. The Potential of Light Microscopic Features of the Oral Mucosa in Predicting Post-mortem Interval. *Sultan Qaboos University medical journal*, 21(1), e34–e41. Iegūts no: doi.org/10.18295/squmj.2021.21.01.005 [skatīts: 07.08.2023.].
127. Paudel, S., Gjorcheska, S., Bump, P. and Barske, L. 2022. Patterning of cartilaginous condensations in the developing facial skeleton. *Developmental Biology*, 486, 44–55.
128. Peters, H., Neubüser, A., Kratochwil, K. and Balling, R. 1998. Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities. *Genes & Development*, 12(17), 2735–2747.
129. Pilmane, M., Pļaviņa, L. and Kavak, V. 2016. Facial development In: *Embryology and Anatomy for Health Sciences*. Rīga: Riga Stradins University, 2016. 108–111.
130. Pilmane, M., Shine, J. and Iismaa, T.P. 1998. Distribution of galanin immunoreactivity in the bronchi of humans with tuberculosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 863, 445–449.
131. Prabhu, S., Krishnapillai, R., Jose, M. and Prabhu, V. 2012. Etiopathogenesis of orofacial clefting revisited. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 16(2), 228–232.
132. Qiu, M., Chen, D., Shen, C., Shen, J., Zhao, H. and He, Y. 2017. Sex-determining region Y-box protein 3 induces epithelial-mesenchymal transition in osteosarcoma cells via transcriptional activation of Snail1. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 36(1), 46. Iegūts no: doi.org/10.1186/s13046-017-0515-3 [skatīts: 09.08.2023.].
133. Rao, A.Y. 2015. Complete Midline Cleft of Lower Lip, Mandible, Tongue, Floor of Mouth with Neck Contracture: A Case Report and Review of Literature. *Craniofacial Trauma & Reconstruction*, 8(4), 363–369.

134. Raterman, S.T., Von Den Hoff, J.W., Dijkstra, S., De Vriend, C., Te Morsche, T., Broekman, S., Zethof, J., De Vrieze, E., Wagener, F.A.D.T.G. and Metz, J.R. 2023. Disruption of the *foxe1* gene in zebrafish reveals conserved functions in development of the craniofacial skeleton and the thyroid. *Frontiers in cell and developmental biology*, 11, 1143844. Iegūts no: doi.org/10.3389/fcell.2023.1143844 [skatīts: 08.08.2023.].
135. Reyes, M., Peña-Oyarzun, D., Maturana, A. and Torres, V. A. 2019. Nuclear localization of β -catenin and expression of target genes are associated with increased Wnt secretion in oral dysplasia. *Oral oncology*, 94, 58–67.
136. Reynolds, K., Kumari, P., Sepulveda Rincon, L., Gu, R., Ji, Y., Kumar, S. and Zhou, C. J. 2019. Wnt signaling in orofacial clefts: crosstalk, pathogenesis and models. *Disease Models & Mechanisms*, 12(2), dmm037051. Iegūts no: doi.org/10.1242/dmm.037051 [skatīts: 03.04.2023.].
137. Reynolds, K., Zhang, S., Sun, B., Garland, M.A., Ji, Y. and Zhou, C.J. 2020. Genetics and signaling mechanisms of orofacial clefts. *Birth Defects Research*, 112(19), 1588–1634.
138. Rice, R., Connor, E. and Rice, D.P. 2006. Expression patterns of Hedgehog signalling pathway members during mouse palate development. *Gene Expression Patterns*, 6(2), 206–212.
139. Rizzoti, K. and Lovell-Badge, R. 2007. SOX3 Activity during Pharyngeal Segmentation Is Required for Craniofacial Morphogenesis. *Development*, 134, 3437–3448.
140. Robin, N.H., Baty, H., Franklin, J., Guyton, F.C., Mann, J., Woolley, A.L., Waite, P.D. and Grant, J. 2006. The multidisciplinary evaluation and management of cleft lip and palate. *Southern Medical Journal*, 99(10), 1111–1120.
141. Roth, D.M., Bayona, F., Baddam, P. and Graf, D. 2021. Craniofacial Development: Neural Crest in Molecular Embryology. *Head and Neck Pathology*, 15(1), 1–15.
142. Sadler, T.W. Chapter 15: Head and Neck In: *Langman's Medical Embryology 12th Edition*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 2012 363-401.
143. Sagai, T., Amano, T., Maeno, A., Kiyonari, H., Seo, H., Cho, S.W. and Shiroishi, T. 2017. SHH signaling directed by two oral epithelium-specific enhancers controls tooth and oral development. *Scientific reports*, 7(1), 13004. Iegūts no: doi.org/10.1038/s41598-017-12532-y [skatīts: 14.08.2023.].
144. Sakagami, N., Matsushita, Y., Syklawer-Howle, S., Kronenberg, H.M., Ono, W. and Ono, N. 2018. Msx2 Marks Spatially Restricted Populations of Mesenchymal Precursors. *Journal of dental research*, 97(11), 1260–1267.
145. Saleem, K., Zaib, T., Sun, W., and Fu, S. 2019. Assessment of candidate genes and genetic heterogeneity in human non syndromic orofacial clefts specifically non syndromic cleft lip with or without palate. *Heliyon*, 5(12), e03019. Iegūts no: doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03019 [skatīts 23.03.2023.].
146. Satokata, I., Ma, L., Ohshima, H., Bei, M., Woo, I., Nishizawa, K., Maeda, T., Takano, Y., Uchiyama, M., Heaney, S., Peters, H., Tang, Z., Maxson, R. and Maas, R. 2000. Msx2 deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation. *Nature genetics*, 24(4), 391–395.
147. Schock, E.N. and LaBonne, C. 2020. Sorting Sox: Diverse Roles for Sox Transcription Factors during Neural Crest and Craniofacial Development. *Frontiers in Physiology*, 11, 606889. Iegūts no: doi.org/10.3389/fphys.2020.606889 [skatīts: 04.04.2023.].
148. Scott, M.P. 1992. Vertebrate homeobox gene nomenclature. *Cell*, 71(4), 551–553.
149. Scott, M.P. 1993. A rational nomenclature for vertebrate homeobox (HOX) genes. *Nucleic Acids Research*, 21(8), 1687–1688.

150. Seidel, C.L., Percivalle, E., Tschafitari, M., Weider, M., Strobel, K., Willershausen, I., Unertl, C., Schmetzer, H.M., Weber, M., Schneider, M., Frey, B., Gaipl, U.S., Beckmann, M.W. and Gözl, L. 2022. Orofacial clefts lead to increased pro-inflammatory cytokine levels on neonatal oral mucosa. *Frontiers in immunology*, 13, 1044249. Iegūts no: doi.org/10.3389/fimmu.2022.1044249 [skatīts: 07.08.2023.].
151. Seifi, S., Feizi, F., Moazzezi, Z., Mehdizadeh, M., and Zamani, B. 2014. Evaluation of oral mucosal epithelium in diabetic male patients by exfoliative cytology method. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 13(1), 77. Iegūts no: doi.org/10.1186/2251-6581-13-77 [skatīts: 07.08.2023.].
152. Shi, B. and Losee, J.E. 2015. The impact of cleft lip and palate repair on maxillofacial growth. *International Journal of Oral Science*, 7(1), 14–17.
153. Shimomura, T., Kawakami, M., Tatsumi, K., Tanaka, T., Morita-Takemura, S., Kirita, T. and Wanaka, A. 2019. The Role of the WNT Signaling Pathway in Upper Jaw Development of Chick Embryo. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 52(1), 19–26.
154. Shin, J.O., Song, J., Choi, H.S., Lee, J., Lee, K., Ko, H.W. and Bok, J. 2019. Activation of sonic hedgehog signaling by a Smoothed agonist restores congenital defects in mouse models of endocrine-cerebro-osteodysplasia syndrome. *EBioMedicine*, 49, 305–317.
155. Slavec, L., Karas Kuželicki, N., Locatelli, I. and Geršak, K. 2022. Genetic Markers for Non-Syndromic Orofacial Clefts in Populations of European Ancestry: A Meta-Analysis. *Scientific Reports*, 12(1), 1214. Iegūts no: doi.org/10.1038/s41598-021-02159-5 [skatīts: 27.03.2023.].
156. Slípka, J. and Tonar, Z. The stomodeum as a precursor of the mouth cavity In: *Outlines of embryology*. Prague: Karolinum Press, 2019. 98-99.
157. Smarius, B., Loozen, C., Manten, W., Bekker, M., Pistorius, L. and Breugem, C. 2017. Accurate diagnosis of prenatal cleft lip/palate by understanding the embryology. *World journal of methodology*, 7(3), 93–100.
158. Smith, T.M., Lozanoff, S., Iyyanar, P.P. and Nazarali, A.J. 2013. Molecular signaling along the anterior-posterior axis of early palate development. *Frontiers in Physiology*, 3, 488. Iegūts no: doi.org/10.3389/fphys.2012.00488 [skatīts: 14.03.2023.].
159. Sohn W.J., Yamamoto, H., Shin, H.I., Ryoo, Z.Y., Lee, S., Bae, Y.C., Jung, H.S. and Kim, J.Y. 2011. Importance of region-specific epithelial rearrangements in mouse rugae development. *Cell and Tissue Research*, 344(2), 271–277.
160. Som, P.M. and Naidich, T.P. 2013. Illustrated review of the embryology and development of the facial region, part 1: Early face and lateral nasal cavities. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 34(12), 2233–2240.
161. Som, P.M. and Naidich, T.P. 2014. Illustrated review of the embryology and development of the facial region, part 2: Late development of the fetal face and changes in the face from the newborn to adulthood. *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, 35(1), 10–18.
162. Song, L., Li, Y., Wang, K., Wang, Y.Z., Molotkov, A., Gao, L., Zhao, T., Yamagami, T., Wang, Y., Gan, Q., Pleasure, D.E. and Zhou, C.J. 2009. Lrp6-mediated canonical Wnt signaling is required for lip formation and fusion. *Development*, 136(18), 3161–3171.
163. Sperber, G. 3: Early Orofacial Development In: *Craniofacial embryogenetics and development (2nd edition)*. Shelton: PMPH USA, Ltd. 2000. 37–60.
164. Sperber, S.M. and Dawid, I.B. 2008. Barx1 is necessary for ectomesenchyme proliferation and osteochondrogenitor condensation in the zebrafish pharyngeal arches. *Developmental Biology*, 321(1), 101–110.
165. Stapleton, P., Weith, A., Urbánek, P., Kozmik, Z. and Busslinger, M. 1993. Chromosomal localization of seven PAX genes and cloning of a novel family member, PAX-9. *Nature Genetics*, 3(4), 292–298.

166. Steens, J. and Klein, D. 2022. HOX genes in stem cells: Maintaining cellular identity and regulation of differentiation. *Frontiers in cell and developmental biology*, 10, 1002909. Iegūts no: doi.org/10.3389/fcell.2022.1002909 [skatīts 24.03.2023.].
167. Stefanini, M., De Martino, C. and Zamboni, L. 1967. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature*. 216 (5111), 173–174.
168. Sull, J.W., Liang, K.Y., Hetmanski, J.B., Fallin, M.D., Ingersoll, R.G., Park, J., Wu-Chou, Y.H., Chen, P.K., Chong, S.S., Cheah, F., Yeow, V., Park, B.Y., Jee, S.H., Jabs, E.W., Redett, R., Scott, A.F. and Beaty, T.H. 2009. Maternal transmission effects of the PAX genes among cleft case-parent trios from four populations. *European Journal of Human Genetics*, 17(6), 831–839.
169. Sun, D., Baur, S. and Hay, E. D. 2000. Epithelial-mesenchymal transformation is the mechanism for fusion of the craniofacial primordia involved in morphogenesis of the chicken lip. *Developmental biology*, 228(2), 337–349.
170. Sun, M.R., Chung, H.M., Matsuk, V., Fink, D.M., Stebbins, M.J., Palecek, S.P., Shusta, E.V. And Lipinski, R.J. 2020. Sonic Hedgehog Signaling in Cranial Neural Crest Cells Regulates Microvascular Morphogenesis in Facial Development. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 590539. Iegūts no: doi.org/10.3389/fcell.2020.590539 [skatīts: 29.03.2023.].
171. Talbot, J.C., Johnson, S.L. and Kimmel, C.B. 2010. *hand2* and *Dlx* genes specify dorsal, intermediate and ventral domains within zebrafish pharyngeal arches. *Development (Cambridge, England)*, 137(15), 2507–2517.
172. Tamaoki, N., Takahashi, K., Aoki, H., Iida, K., Kawaguchi, T., Hatakeyama, D., Inden, M., Chosa, N., Ishisaki, A., Kunisada, T., Shibata, T., Goshima, N., Yamanaka, S. and Tezuka, K. 2014. The homeobox gene *DLX4* promotes generation of human induced pluripotent stem cells. *Scientific reports*, 4, 7283. Iegūts no: doi.org/10.1038/srep07283 [skatīts: 17.03.2023.].
173. Tan, Y. and Testa, J.R. 2021. *DLX* Genes: Roles in Development and Cancer. *Cancers*, 13(12), 3005. Iegūts no: doi.org/10.3390/cancers13123005 [skatīts: 17.03.2023.].
174. Tellermand, J., Reiser, S.C. and Pilmane, M. 2019. Prevalence of *Egfr*, *Ki-67*, *Nf-Kb*, *Ma-1* marker in cleft affected tissue of soft palate. *Papers on anthropology*, 28(1), 126–139.
175. Temple, R.M., Zhu, J., Budgeon, L., Christensen, N.D., Meyers, C. and Sample, C.E. 2014. Efficient replication of Epstein–Barr virus in stratified epithelium in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(46), 16544–16549.
176. Teng, T., Teng, C.S., Kaartinen, V. and Bush, J.O. 2022. A unique form of collective epithelial migration is crucial for tissue fusion in the secondary palate and can overcome loss of epithelial apoptosis. *Development*, 149(10), dev200181. Iegūts no: doi.org/10.1242/dev.200181 [skatīts: 12.03.2023.].
177. Thomson, P.J., Soames, J.V., Booth, C. and O'Shea, J.A. 2002. Epithelial cell proliferative activity and oral cancer progression. *Cell proliferation*, 35 Suppl 1(Suppl 1), 110–120.
178. Topalovic, V., Krstic, A., Schwirtlich, M., Dolfini, D., Mantovani, R., Stevanovic, M. and Mojsin, M. 2017. Epigenetic regulation of human *SOX3* gene expression during early phases of neural differentiation of NT2/D1 cells. *PloS One*, 12(9), e0184099. Iegūts no: doi.org/10.1371/journal.pone.0184099 [skatīts: 29.03.2023.].
179. Trinh, B.Q., Barengo, N., Kim, S.B., Lee, J.S., Zweidler-McKay, P.A. and Naora H. 2015a. The homeobox gene *DLX4* regulates erythro-megakaryocytic differentiation by stimulating *IL-1β* and *NF-κB* signaling. *Journal of Cell Science*, 128(16), 3055–3067.
180. Trinh, B., Ko, S.Y., Haria, D., Barengo, N. and Naora, H. 2015b. The homeoprotein *DLX4* controls inducible nitric oxide synthase-mediated angiogenesis in ovarian cancer. *Molecular Cancer*, 14(1), 97. Iegūts no: doi.org/10.1186/s12943-015-0368-3 [skatīts: 08.08.2023.].
181. Venza, I., Visalli, M., Parrillo, L., De Felice, M., Teti, D., Venza, M. 2011. *MSX1* and *TGF-beta3* are novel target genes functionally regulated by *FOXE1*. *Human Molecular Genetics*, 20(5), 1016–1025.

182. Vieira, A.R., Avila, J.R., Daack-Hirsch, S., Dragan, E., Félix, T.M., Rahimov, F. et al. 2005. Medical Sequencing of Candidate Genes for Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *PLoS Genet*, 1(6), e64. Iegūts no: doi.org/10.1371/journal.pgen.0010064 [skatīts: 01.03.2023.].
183. Vieira, A.R., McHenry, T.G., Daack-Hirsch, S., Murray, J.C. and Marazita, M.L. 2008. Candidate gene/loci studies in cleft lip/palate and dental anomalies finds novel susceptibility genes for clefts. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 10(9), 668–674.
184. Wang, T.D. and Milczuk, H.A. Cleft Lip and Palate In: *Cummings Pediatric Otolaryngology 2nd Edition*. Amsterdam: Elsevier. 2021. 124–142.
185. Warner, D.R., Greene, R.M. and Pisano, M. M. 2005. Cross-talk between the TGFbeta and Wnt signaling pathways in murine embryonic maxillary mesenchymal cells. *FEBS Letters*, 579(17), 3539–3546.
186. Watanabe, A., Akita, S., Tin, N. T. D., Natsume, N., Nakano, Y., Niikawa, N., Uchiyama, T. and Yoshiura, K.-I. 2006. A Mutation in RYK Is a Genetic Factor for Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *Cleft Palate Craniofacial Journal*, 43, 310–316.
187. Watanabe, M., Kawasaki, K., Kawasaki, M., Portaveetus, T., Oommen, S., Blackburn, J., Nagai, T., Kitamura, A., Nishikawa, A., Kodama, Y., Takagi, R., Maeda, T., Sharpe, P.T. and Ohazama, A. 2016. Spatio-Temporal Expression of Sox Genes in Murine Palatogenesis. *Gene Expression Patterns*, 21, 111–118.
188. Wegner, M. 2010. All purpose Sox: The many roles of Sox proteins in gene expression. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42(3), 381–390.
189. Wehby, G.L. and Cassell, C.H. 2010. The impact of orofacial clefts on quality of life and healthcare use and costs. *Oral Diseases*, 16(1), 3–10.
190. Welsh I.C. and O'Brien T.P. 2009. Signaling integration in the rugae growth zone directs sequential SHH signaling center formation during the rostral outgrowth of the palate. *Developmental Biology*, 336(1), 53–67.
191. Welsh, I.C., Hart, J., Brown, J.M., Hansen, K., Rocha Marques, M., Aho, R.J., Grishina, I., Hurtado, R., Herzlinger, D., Ferretti, E., Garcia-Garcia, M.J. and Selleri, L. 2018. Pbx loss in cranial neural crest, unlike in epithelium, results in cleft palate only and a broader midface. *Journal of Anatomy*, 233(2), 222–242.
192. Wouda, R.R., Bansraj, M.R., de Jong, A.W., Noordermeer, J.N. and Fradkin L.G. 2008. Src family kinases are required for WNT5 signaling through the Derailed/RYK receptor in the Drosophila embryonic central nervous system. *Development (Cambridge, England)*, 135(13), 2277–2287.
193. Wu, D., Mandal, S., Choi, A., Anderson, A., Prochazkova, M., Perry, H., Gil-Da-Silva-Lopes, V.L., Lao, R., Wan, E., Tang, P.L., Kwok, P.Y., Klein, O., Zhuan, B. and Slavotinek, A.M. 2015. DLX4 is associated with orofacial clefting and abnormal jaw development. *Human molecular genetics*, 24(15), 4340–4352.
194. Wu, Q., Zhang, L., Su, P., Lei, X., Liu, X., Wang, H., Lu, L., Bai, Y., Xiong, T., Li, D., Zhu, Z., Duan, E., Jiang, E., Feng, S., Han, M., Xu, Y., Wang, F., and Zhou, J. 2015. MSX2 mediates entry of human pluripotent stem cells into mesendoderm by simultaneously suppressing SOX2 and activating NODAL signaling. *Cell research*, 25(12), 1314–1332.
195. Wu, X. and Gu, Y. 2019. Signaling Mechanisms Underlying Genetic Pathophysiology of Craniosynostosis. *International journal of biological sciences*, 15(2), 298–311.
196. Xu, J., Liu, H., Lan, Y., Adam, M., Clouthier, D.E., Potter, S. and Jiang, R. 2019. Hedgehog signaling patterns the oral-aboral axis of the mandibular arch. *eLife*, 8, e40315. Iegūts no: doi.org/10.7554/eLife.40315 [skatīts: 25.09.2023.].
197. Xu, K., Qiu, C., Pei, H., Mehmood, M., Wang, H., Li, L. and Xia, Q. 2018. Homeobox B3 promotes tumor cell proliferation and invasion in glioblastoma. *Oncology Letters*, 15(3), 3712–3718.

198. Yan, F., Dai, Y., Iwata, J., Zhao, Z. and Jia, P. 2020. An integrative, genomic, transcriptomic and network-assisted study to identify genes associated with human cleft lip with or without cleft palate. *BMC Medical Genomics*, 13(Suppl 5), 39. Iegūts no: doi.org/10.1186/s12920-020-0675-4 [skatīts: 14.04.2023.].
199. Yang, D., Yan, R., Zhang, X., Zhu, Z., Wang, C., Liang, C. and Zhang, X. 2016. Deregulation of MicroRNA-375 inhibits cancer proliferation migration and chemosensitivity in pancreatic cancer through the association of HOXB3. *American journal of translational research*, 8(3), 1551–1559.
200. Yu, W., Ruest, L.B. and Svoboda, K.K. 2009. Regulation of epithelial-mesenchymal transition in palatal fusion. *Experimental Biology and Medicine*, 234(5), 483–491.
201. Yu, Z., Liu, J., Fan, Q., Yu, J., Ren, X., and Wang, X. 2022. Extracellular Vesicle-Encapsulated MicroRNA-375 from Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Inhibits Hepatocellular Carcinoma Progression through Regulating HOXB3-Mediated Wnt/ β -Catenin Pathway. *Analytical cellular pathology (Amsterdam)*, 2022, 1–19.
202. Yuan, X., Xu, Q., Zhang, X., Van Brunt, L.A., Ticha, P. and Helms, J.A. 2019. Wnt-Responsive Stem Cell Fates in the Oral Mucosa. *iScience*, 21, 84–94.
203. Zalc, A., Rattenbach, R., Auradé, F., Cadot, B. and Relaix, F. 2015. Pax3 and Pax7 play essential safeguard functions against environmental stress-induced birth defects. *Developmental Cell*, 33(1), 56–66.
204. Zhang, C., Basta, T., Jensen, E.D. and Klymkowsky, M.W. 2003. The beta-catenin/VegT-regulated early zygotic gene Xnr5 is a direct target of SOX3 regulation. *Development (Cambridge, England)*, 130(23), 5609–5624.
205. Zhang, H., Xie, J., So, K.K.H., Tong, K.K., Sae-Pang, J.J., Wang, L., Tsang, S.L., Chan, W.Y., Wong, E.Y.M., and Sham, M.H. 2021. *Hoxb3* Regulates *Jag1* Expression in Pharyngeal Epithelium and Affects Interaction With Neural Crest Cells. *Frontiers in Physiology*, 11, 612230. Iegūts no: doi.org/10.3389/fphys.2020.612230 [skatīts: 14.08.2023.].
206. Zhang, L., Yang, M., Gan, L., He, T., Xiao, X., Stewart, M. D., Liu, X., Yang, L., Zhang, T., Zhao, Y., and Fu, J. 2012. DLX4 upregulates TWIST and enhances tumor migration, invasion and metastasis. *International journal of biological sciences*, 8(8), 1178–1187.
207. Zhou, J., Gao, Y., Lan, Y., Jia, S. and Jiang, R. 2013. Pax9 regulates a molecular network involving Bmp4, Fgf10, Shh signaling and the Osr2 transcription factor to control palate morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, 140(23), 4709–4718.
208. Zhu, S., Yang, Z., Zhang, Z., Zhang, H., Li, S., Wu, T., Chen, X., Guo, J., Wang, A., Tian, H., Yu, J., Zhang, C., Su, L., Shang, Z., Quan, C. and Niu, Y. 2023. HOXB3 drives WNT-activation associated progression in castration-resistant prostate cancer. *Cell death & disease*, 14(3), 215. Iegūts no: doi.org/10.1038/s41419-023-05742-y [skatīts: 08.08.2023.].
209. Zhu, X. J., Yuan, X., Wang, M., Fang, Y., Liu, Y., Zhang, X., Yang, X., Li, Y., Li, J., Li, F., Dai, Z. M., Qiu, M., Zhang, Z. and Zhang, Z. 2017. A Wnt/Notch/Pax7 Signaling Network Supports Tissue Integrity in Tongue Development. *The Journal of Biological Chemistry*, 292, 9409–9419.
210. Zorn, A.M., Barish, G.D., Williams, B.O., Lavender, P., Klymkowsky, M.W. and Varmus, H.E. 1999. Regulation of Wnt signaling by Sox proteins: XSox17 alpha/beta and XSox3 physically interact with beta-catenin. *Molecular cell*, 4(4), 487–498.

Pateicības

Izsaku vislielāko pateicību sava promocijas darba vadītājai *Dr. habil. med.* profesorei Mārai Pilmanei par nenovērtējamo atbalstu, sniegtajiem padomiem un ieguldījumu šī darba tapšanas laikā.

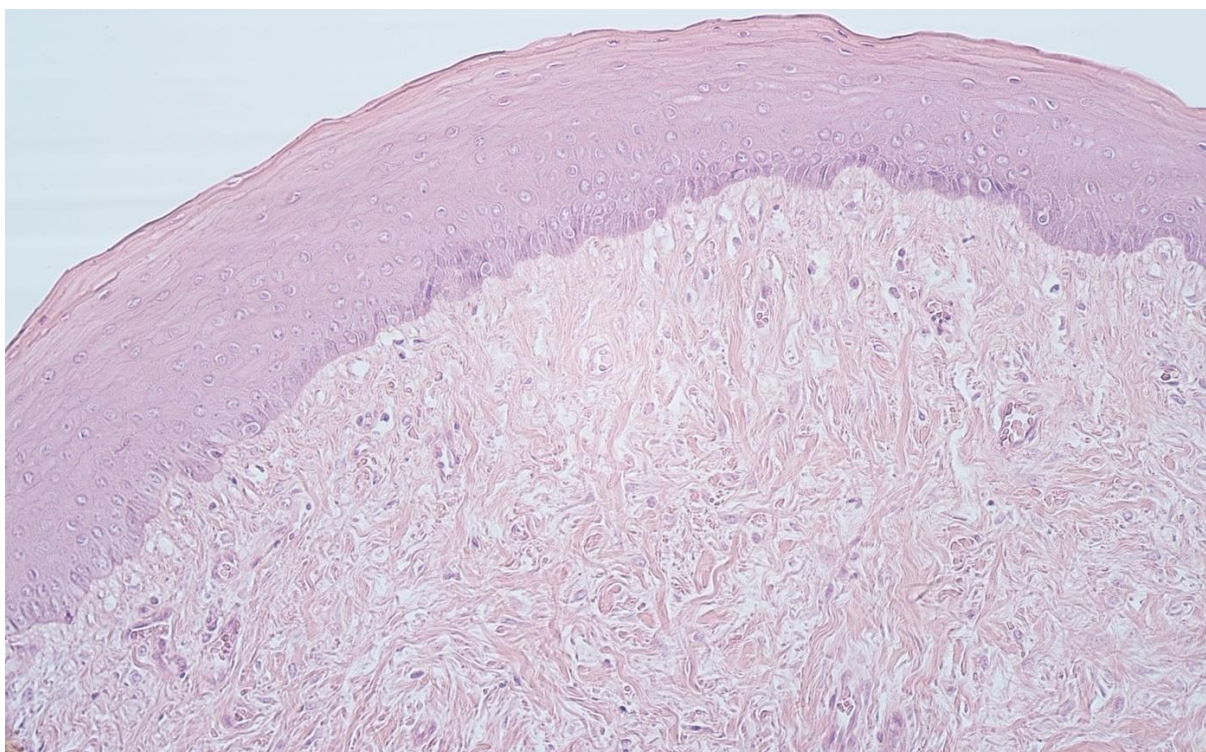
Izsaku lielu pateicību otrai promocijas darba vadītājai *Dr. med.* profesorei Ilzei Akotai par nozīmīgo morālo atbalstu, ieguldījumu un palīdzību pētījuma materiāla ieguvē.

Pateicos par sniegto atbalstu visiem kolēģiem Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūtā. Īpašs paldies RSU AAI Morfoloģijas laboratorijas laborantei Natālijai Morozai par sniegto palīdzību un darbu preparātu tapšanā.

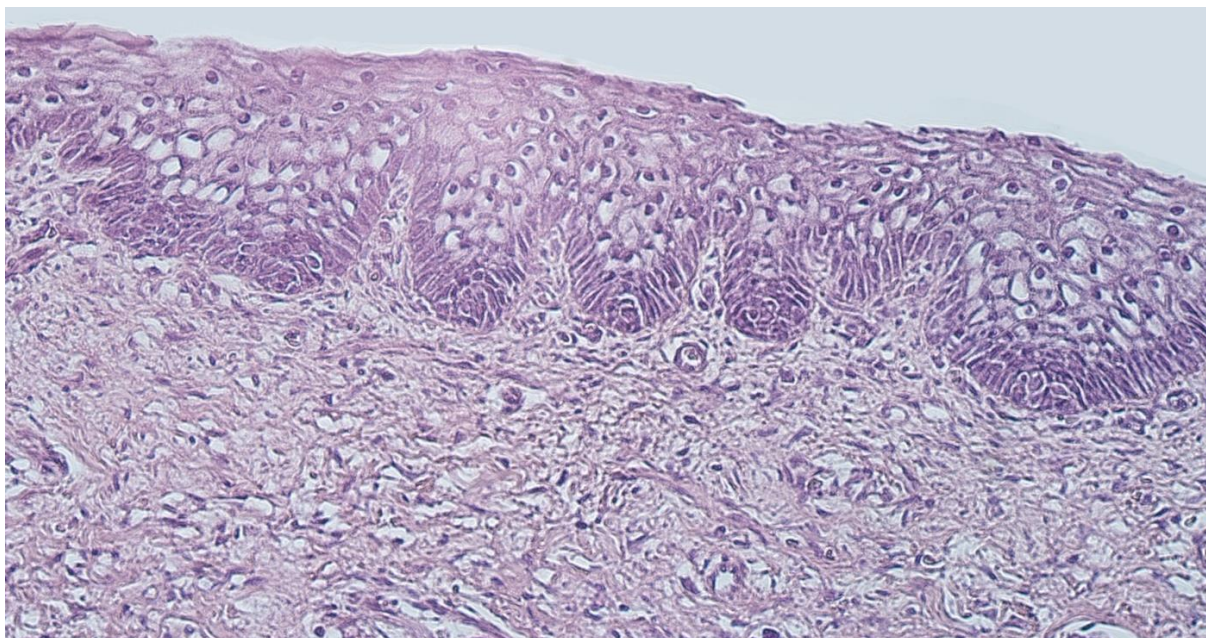
Vissirsnīgākais paldies manai ģimenei, īpaši sievai Marijai, manai mammai un brāļiem, par nenogurdināmo atbalstu, sapratni un pacietību.

Pielikumi

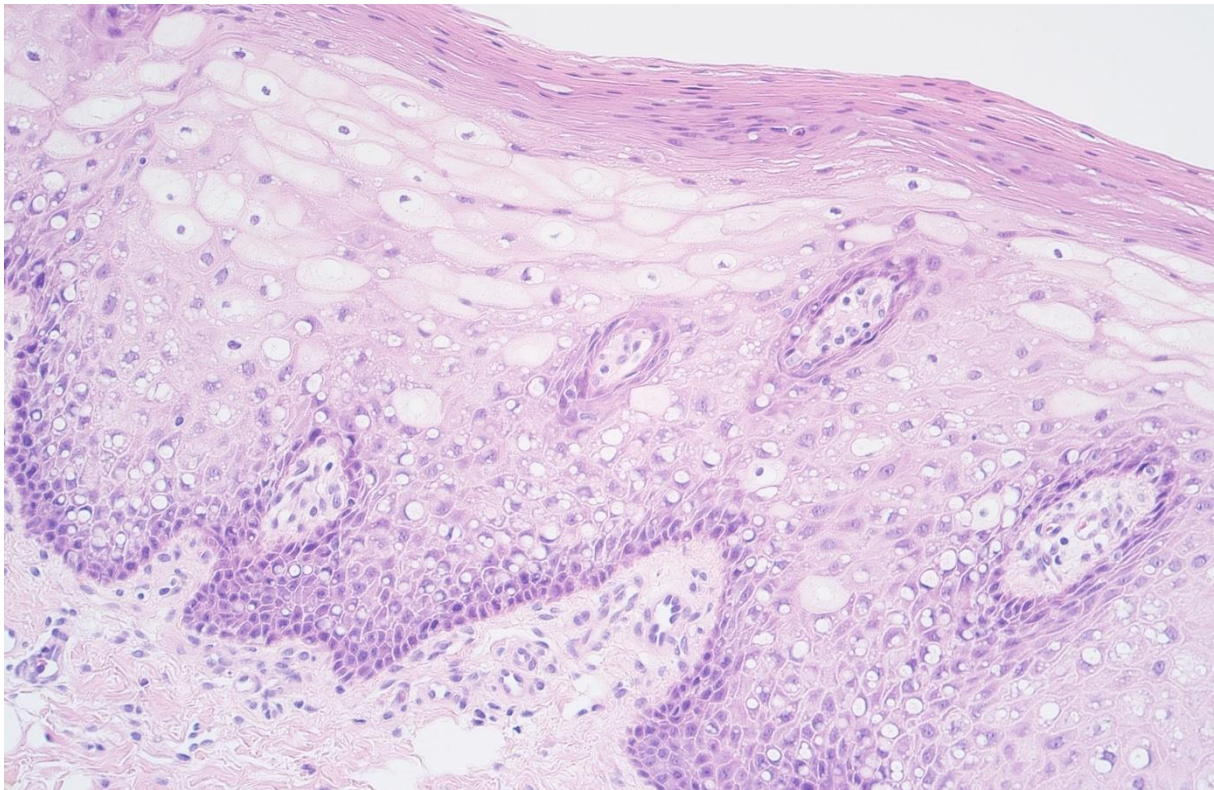
Mikrofotogrāfijas



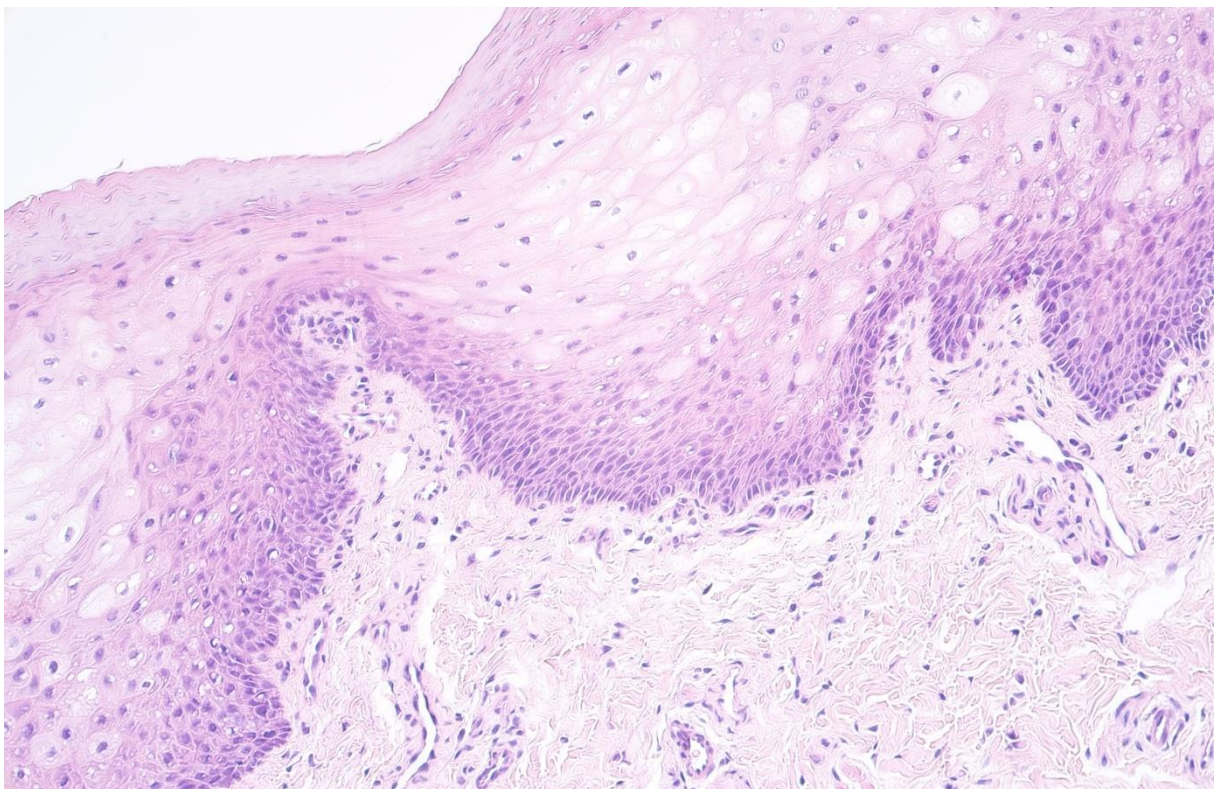
3.1. attēls. Deviņus gadus veca pacienta mutes dobuma gļotāda ar neizmainītu daudzkārtainu plakanu epitēliju un gļotādas saistaudiem (pacients no pirmās kontroles grupas, kam veikta augšlūpas saitītes plastika). Hematoksilīns un eozīns, × 200



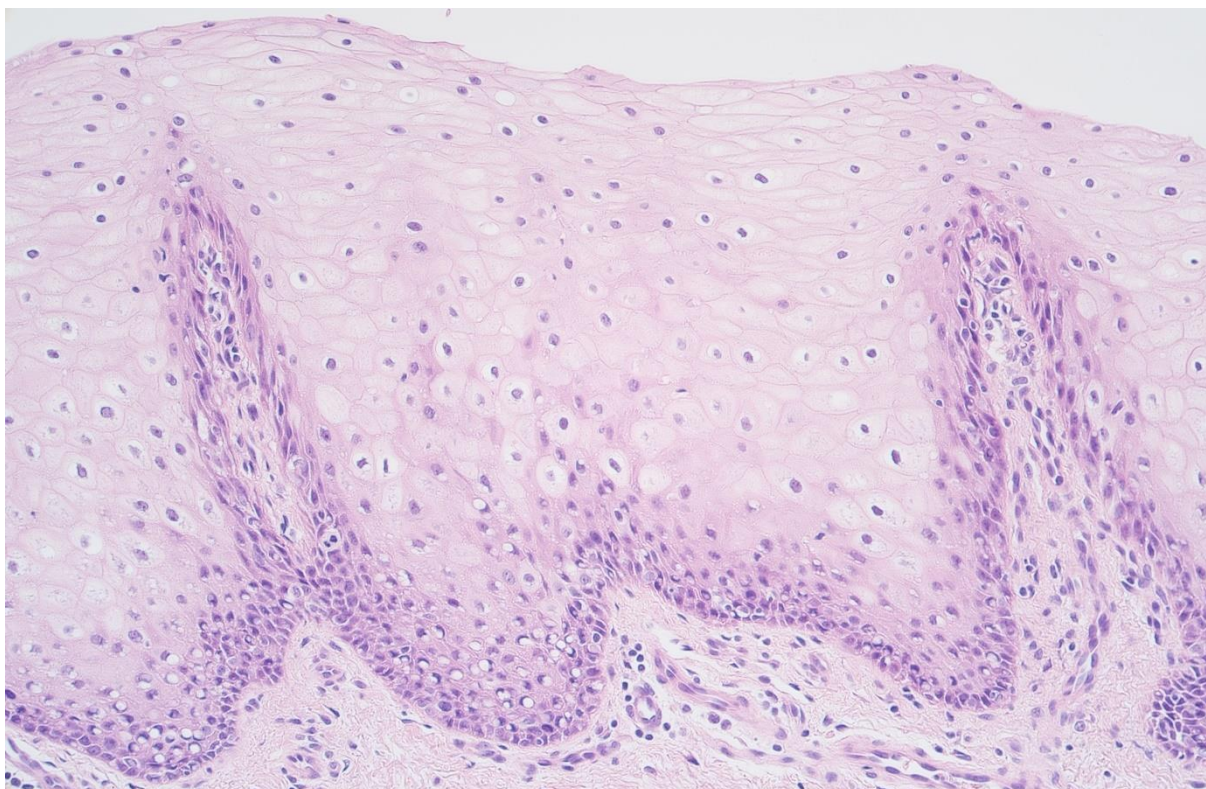
3.2. attēls. Jaundzimušā mutes dobuma gļotāda ar daudzkārtainu plakanu nepārragotu epitēliju un gļotādas saistaudiem (pacients no otrās kontroles grupas, kura mutes dobuma audi iegūti no RSU AAI vēsturiskās kolekcijas). Hematoksilīns un eozīns, × 250



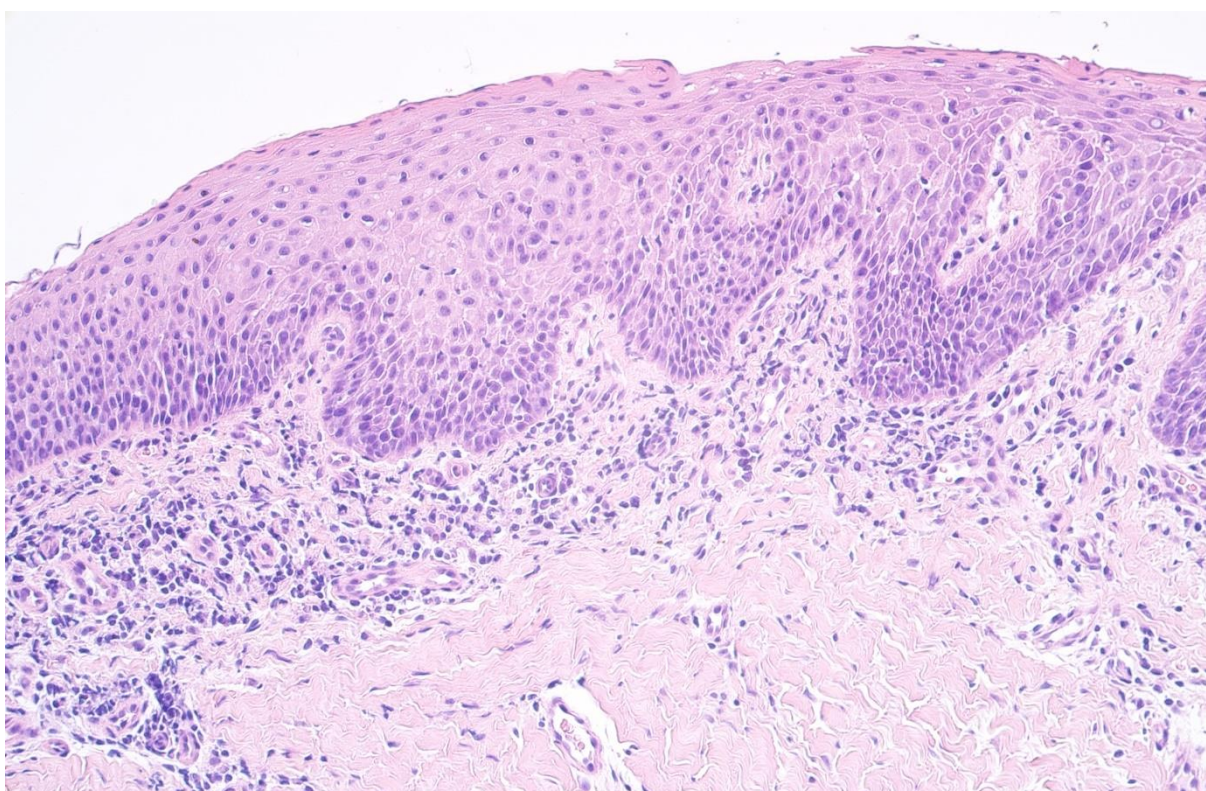
3.3. attēls. Četrus mēnešus veca pacienta ar vienaspusēju lūpas šķeltni mutes dobuma gļotādas audi, kuros redzams sabiezēts epitēlijs ar epitēlijšūnu vakuolizāciju un epitēlija bazālā slāņa hiperplāziju. Hematoksilīns un eozīns, × 250



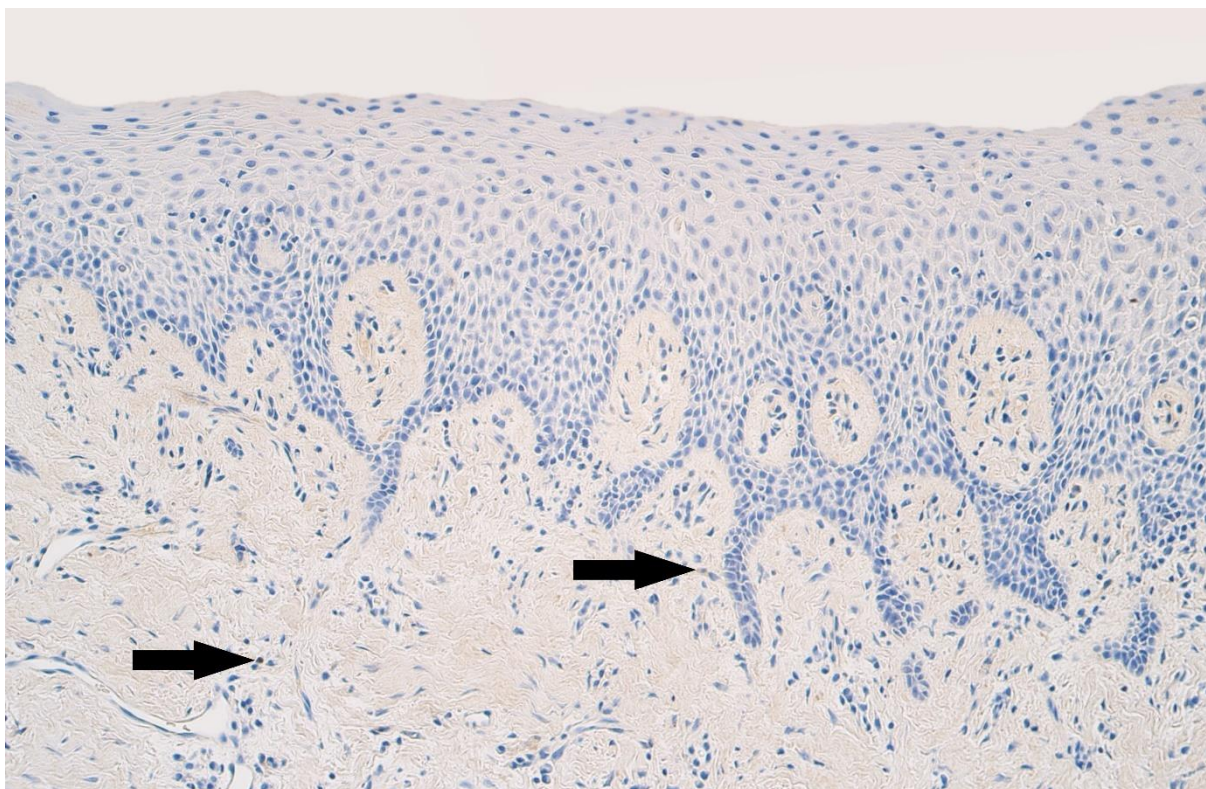
3.4. attēls. Sešus mēnešus veca pacienta ar divpusēju lūpas šķeltni mutes gļotādas audi, kuros redzama epitēlijšūnu vakuolizācija un epitēlija bazālā slāņa hiperplāziju. Hematoksilīns un eozīns, × 250



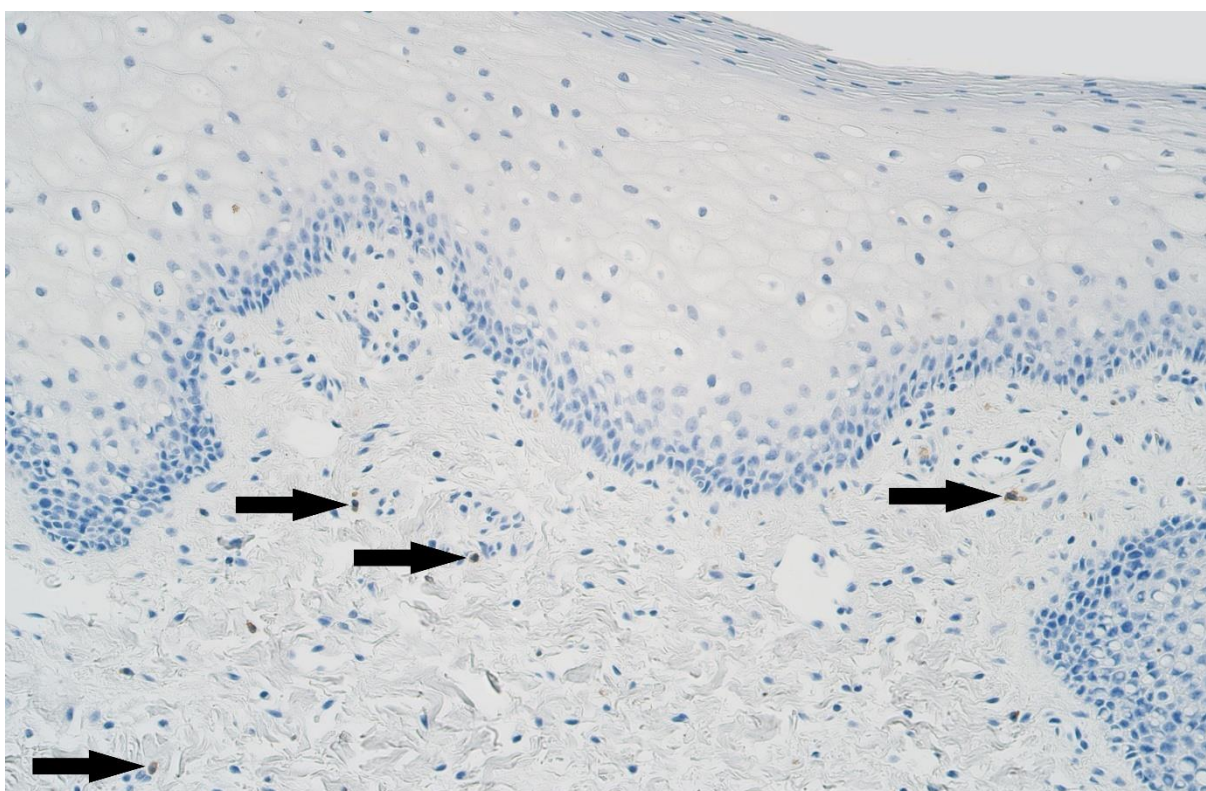
3.5. attēls. Četrus mēnešus veca pacienta lūpas plastikas laikā iegūti mutes dobuma gļotādas audi, kuros redzama epitēlija bazālā slāņa hiperplāzija un saistaudu kārpīņu iespiešanās epitēlijā. Hematoksilīns un eozīns, × 200



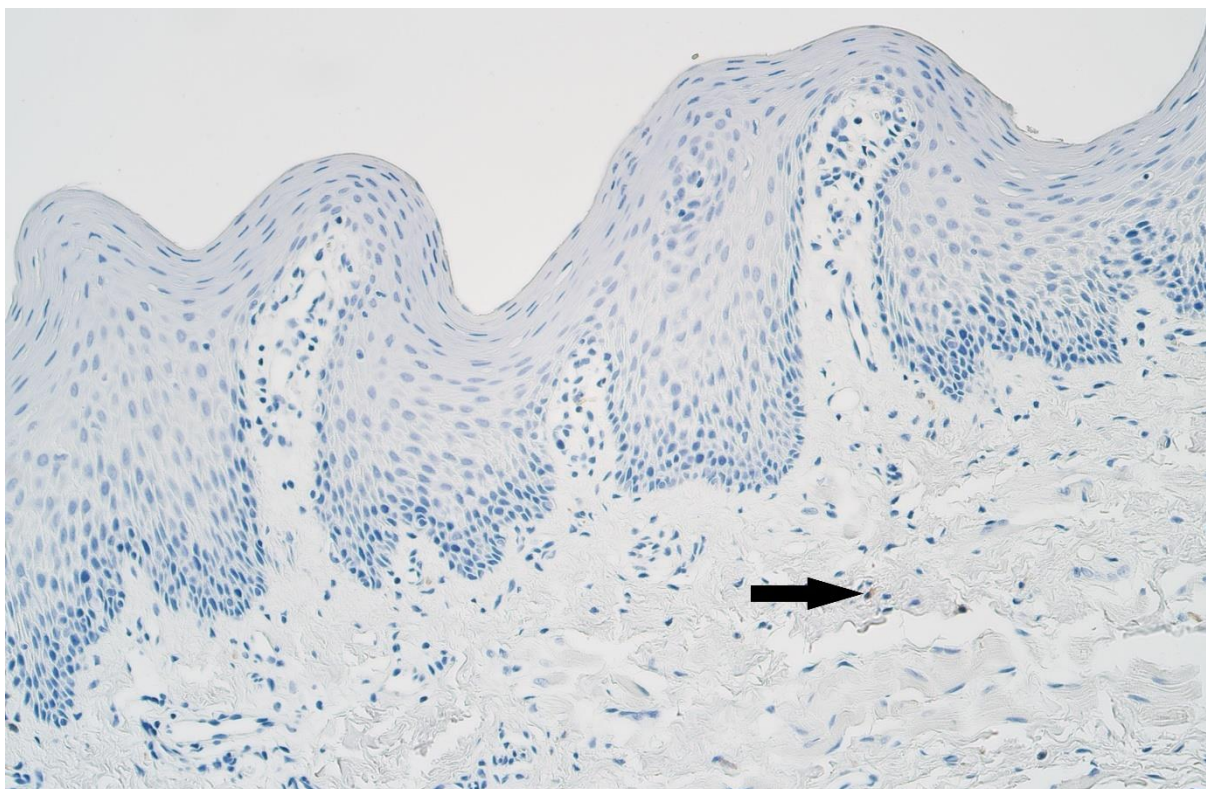
3.6. attēls. Vienpadsmit mēnešus veca pacienta aukslēju šķeltnes audi ar subepitēliālu iekaisuma šūnu infiltrātu un fibrotiskām izmaiņām gļotādas saistaudos. Hematoksilīns un eozīns, × 200



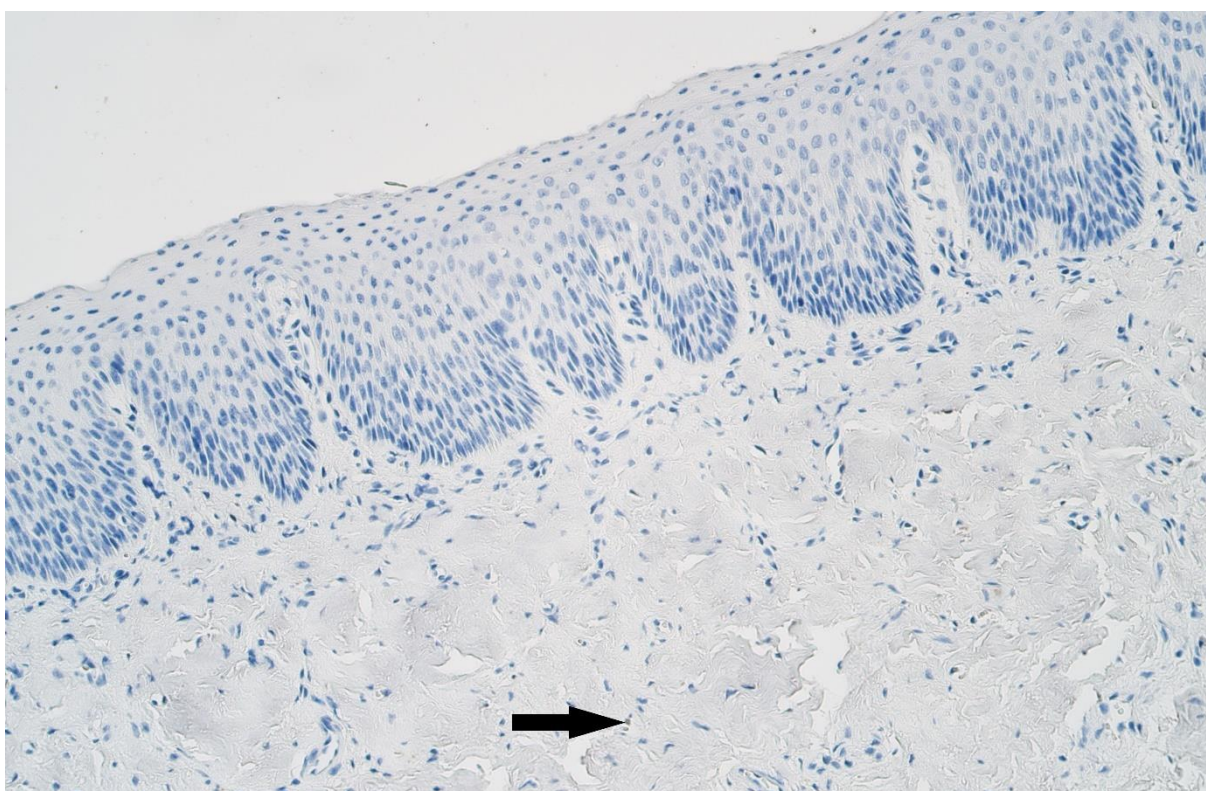
3.7. attēls. Retas (0/+) vāji pozitīvas BARX1 pozitīvas saistaudu šūnas (bultiņas) desmit gadu vecam pacientam pirmajā kontrolē grupā – augšlūpas saitītes plastika. BARX1 IMH, × 200



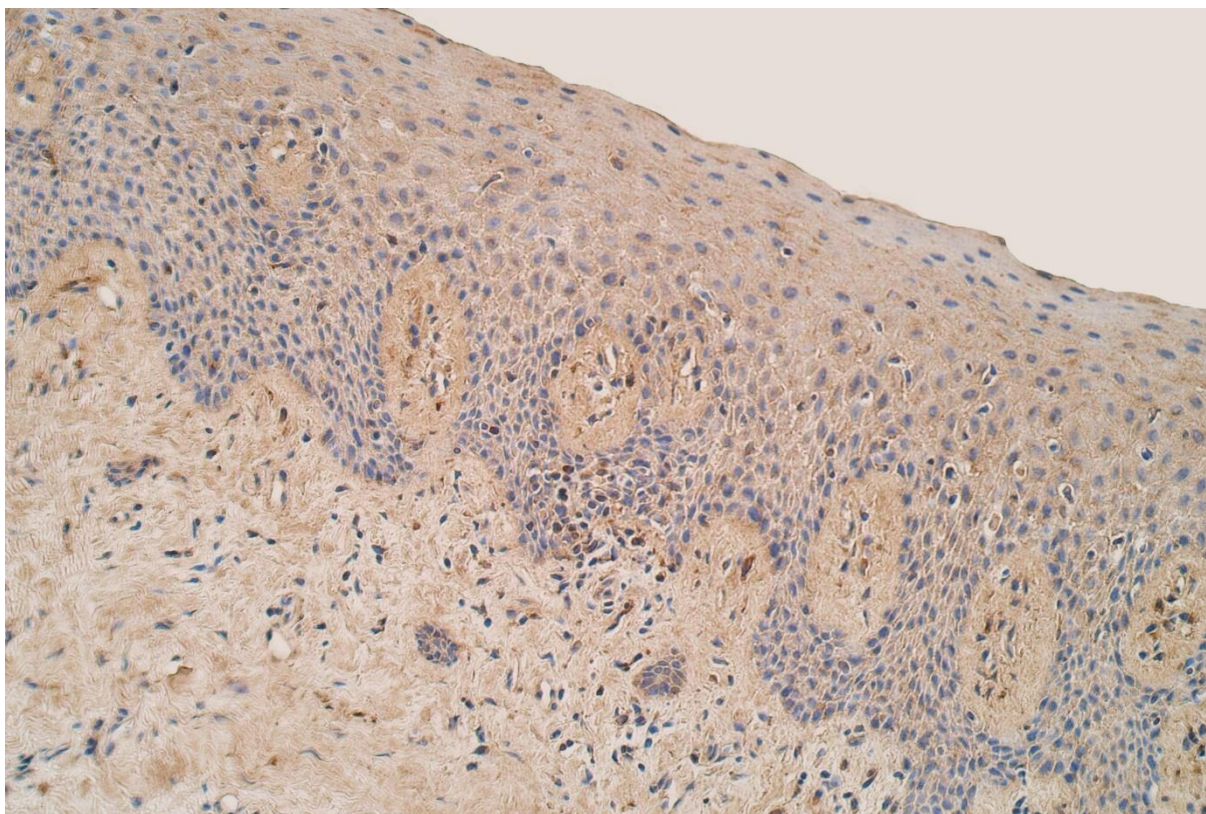
3.8. attēls. Retas (0/+) BARX1 pozitīvas saistaudu šūnas (bultiņas) trīs mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. BARX1 IMH, × 200



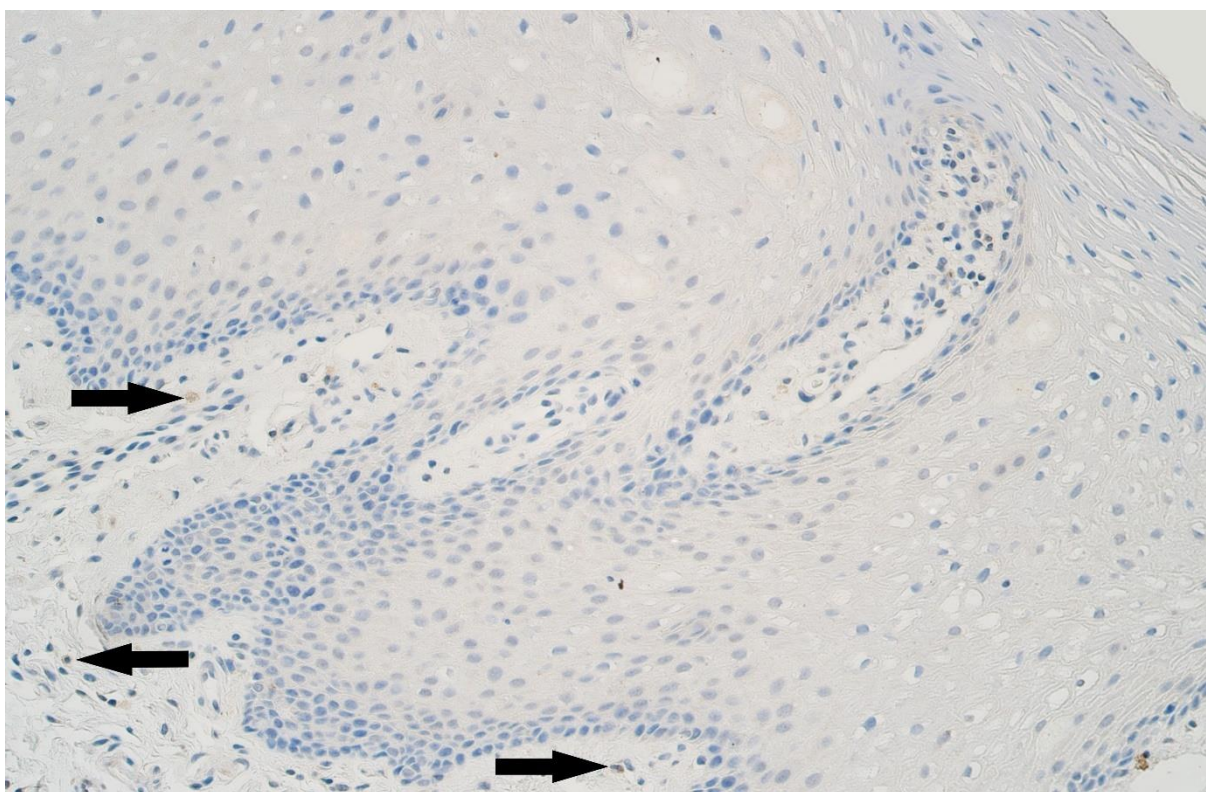
3.9. attēls. Retas (0/+) BARX1 pozitīvas saistaudu šūnas (bultiņa) septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. BARX1 IMH, × 200



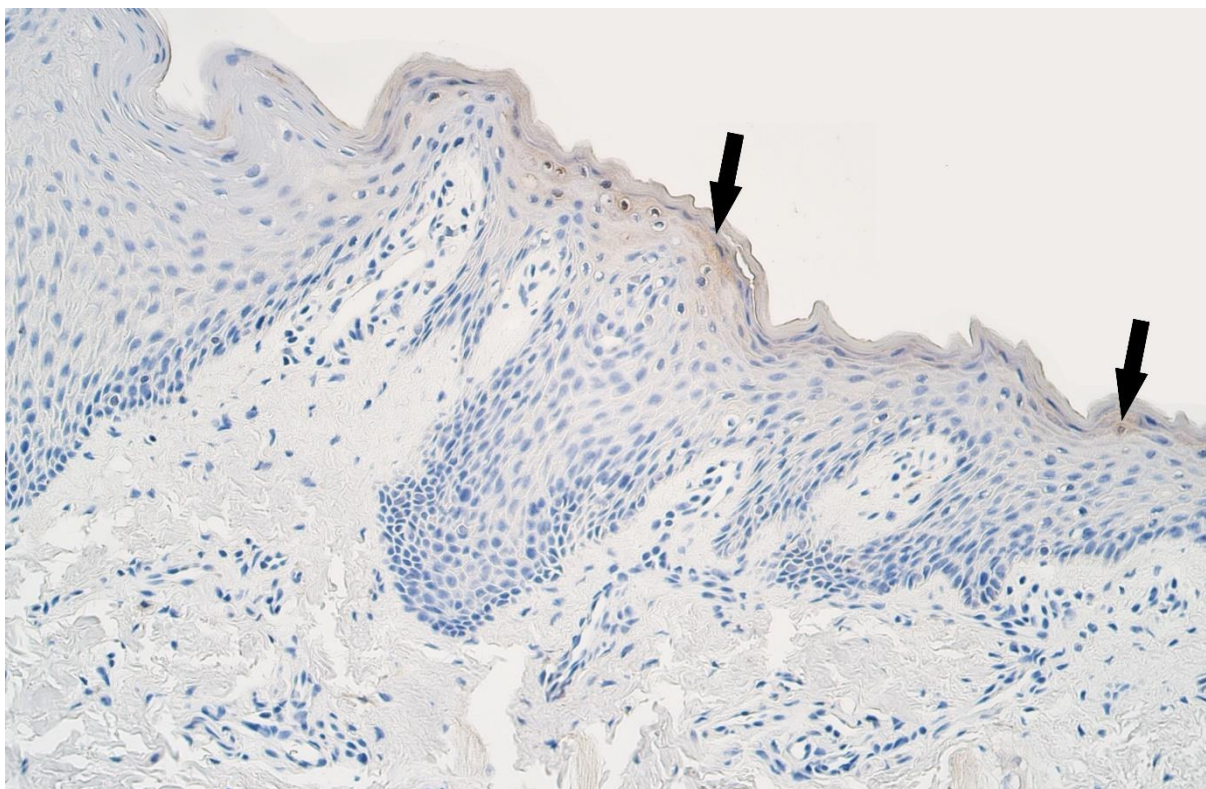
3.10. attēls. Retas (0/+) BARX1 pozitīvas saistaudu šūnas (bultiņa) astoņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – mīksto aukslēju plastika. BARX1 IMH, × 200



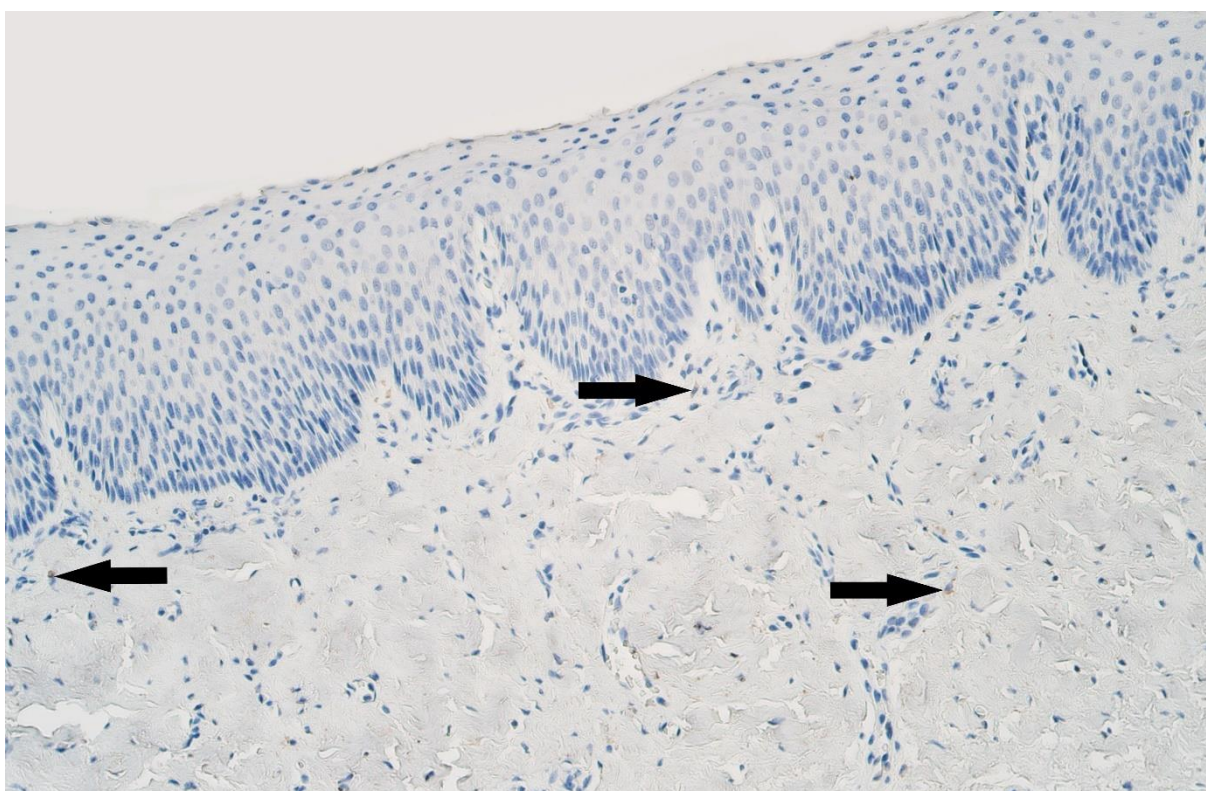
3.11. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++) DLX4 pozitīvu epitēlijšūnu un vidēji daudz (++) gēna proteīna pozitīvu saistaudu šūnu deviņus gadus vecam pacientam no pirmās kontroles grupas – augšlūpas saitītes plastika. DLX4 IMH, × 200



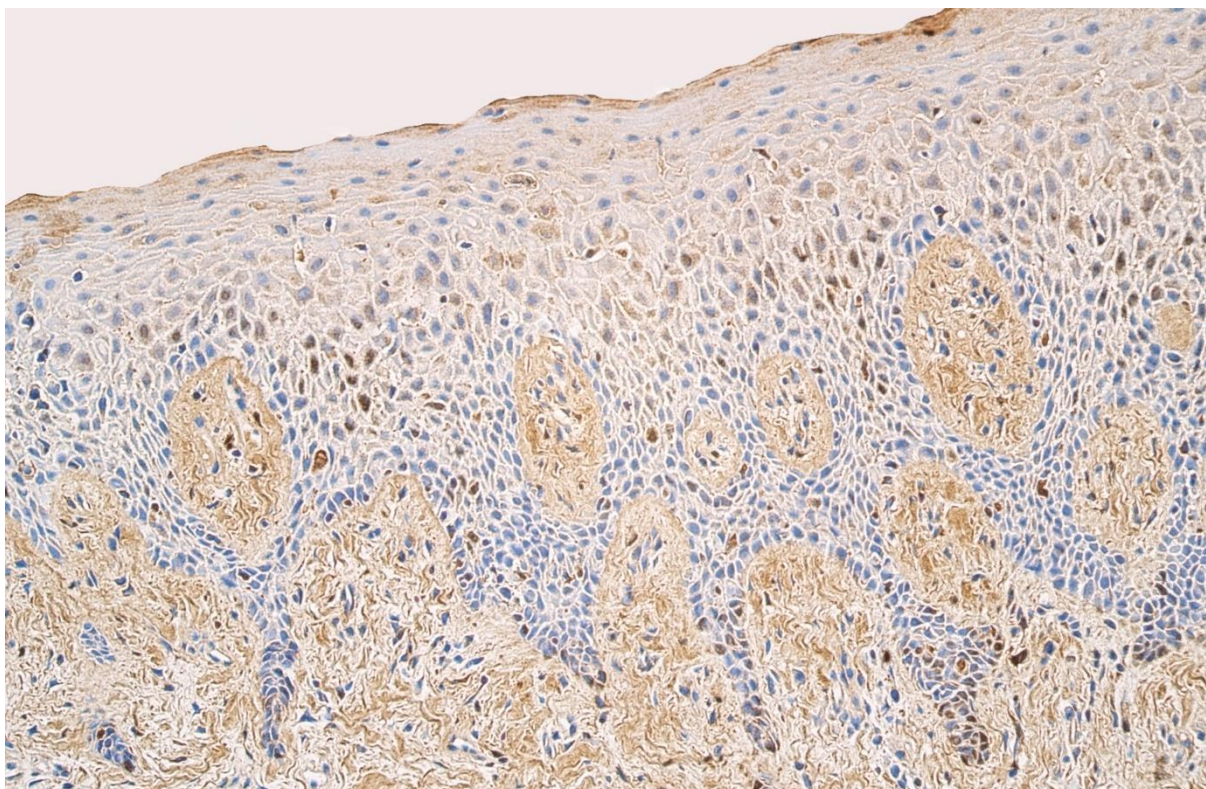
3.12. attēls. Retas (0/+) DLX4 pozitīvas saistaudu šūnas (bultiņas) trīs mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. DLX4 IMH, × 200



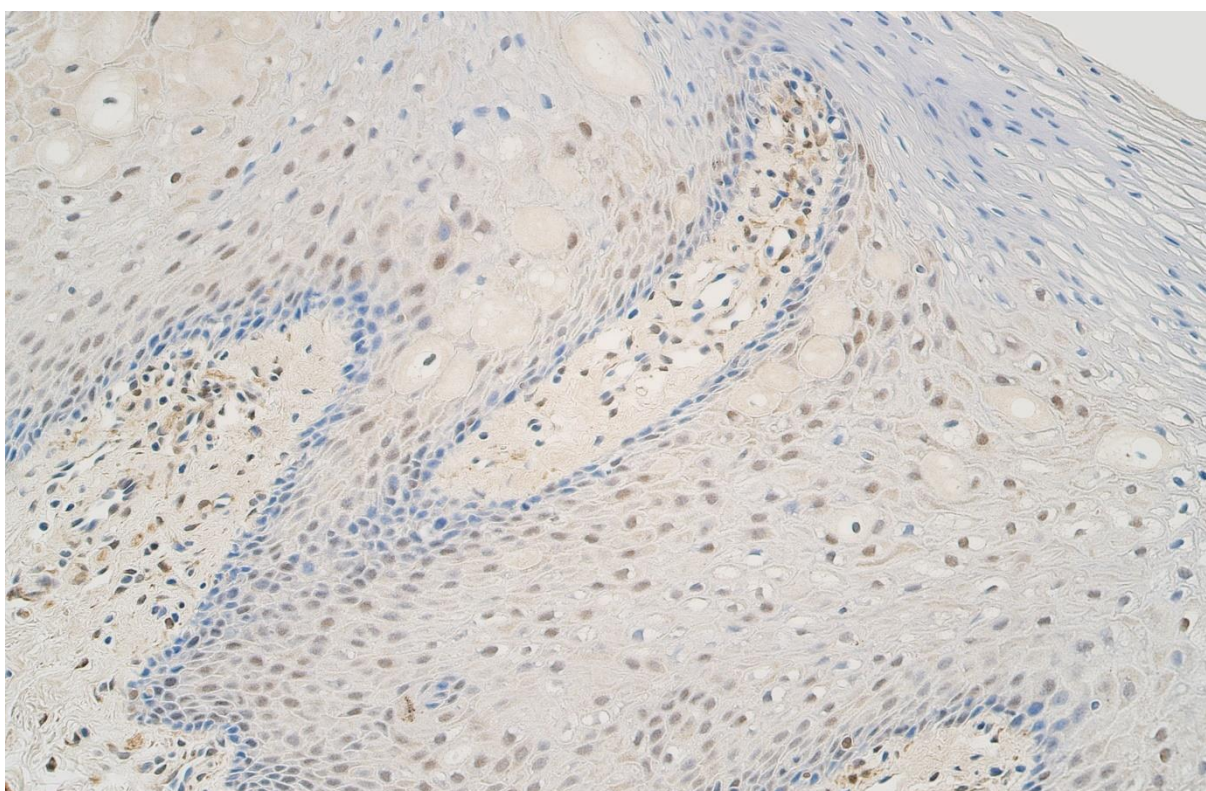
3.13. attēls. Maz (+) DLX4 pozitīvu epitēlijšūnu un intraepitēliālu limfocītu (bultiņas) septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un ausklēju šķeltņi – lūpas plastika. DLX4 IMH, × 200



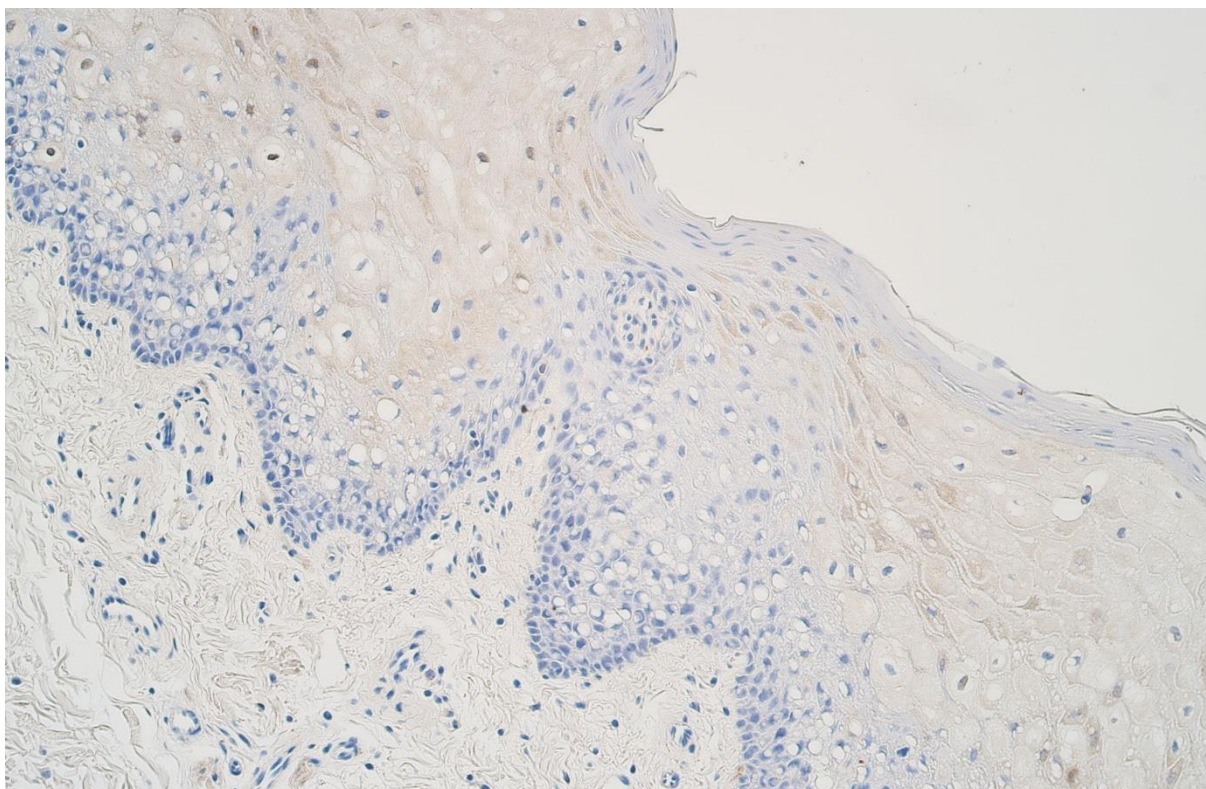
3.14. attēls. Retas (0/+) DLX4 pozitīvas saistaudu šūnas (bultiņas) astoņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un ausklēju šķeltņi – mīksto ausklēju plastika. DLX4 IMH, × 200



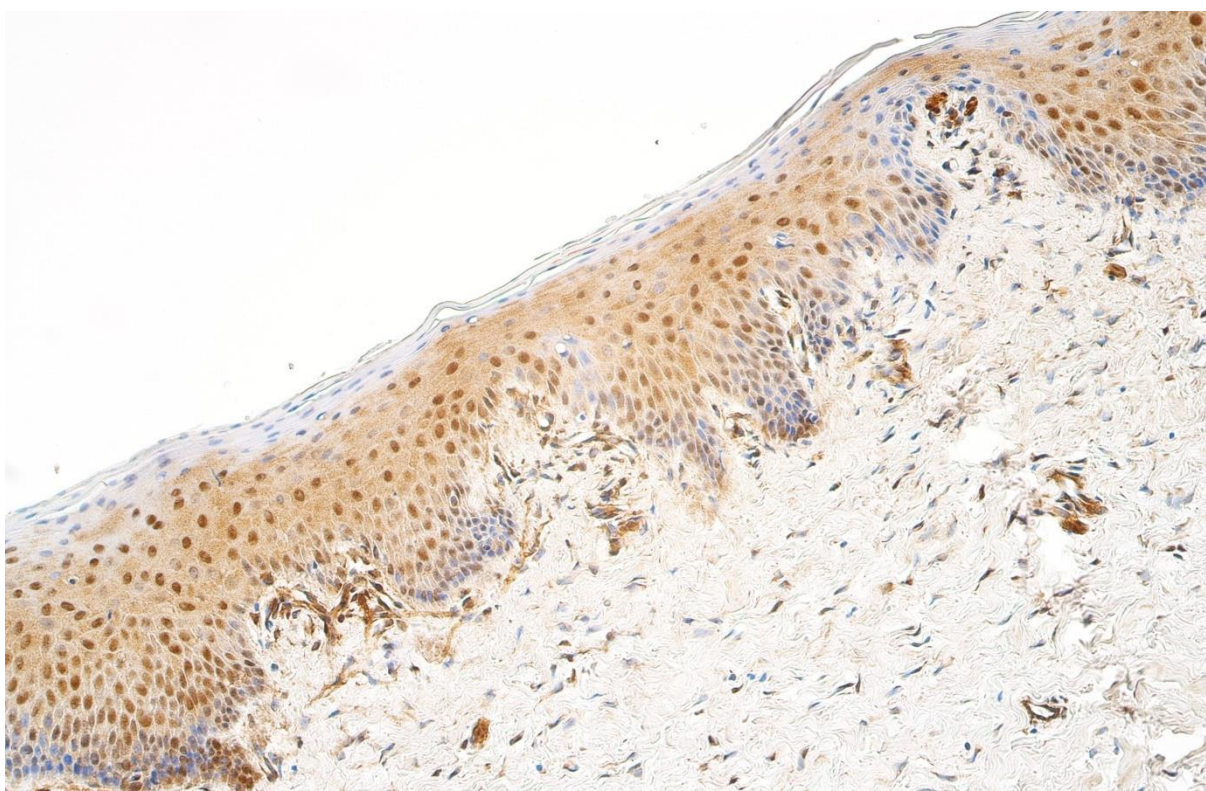
3.15. attēls. Vidēji daudz (++) FOX E1 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu desmit gadu vecam pacientam no pirmās kontroles grupas – augšlūpas saitītes plastika. FOX E1 IMH, × 250



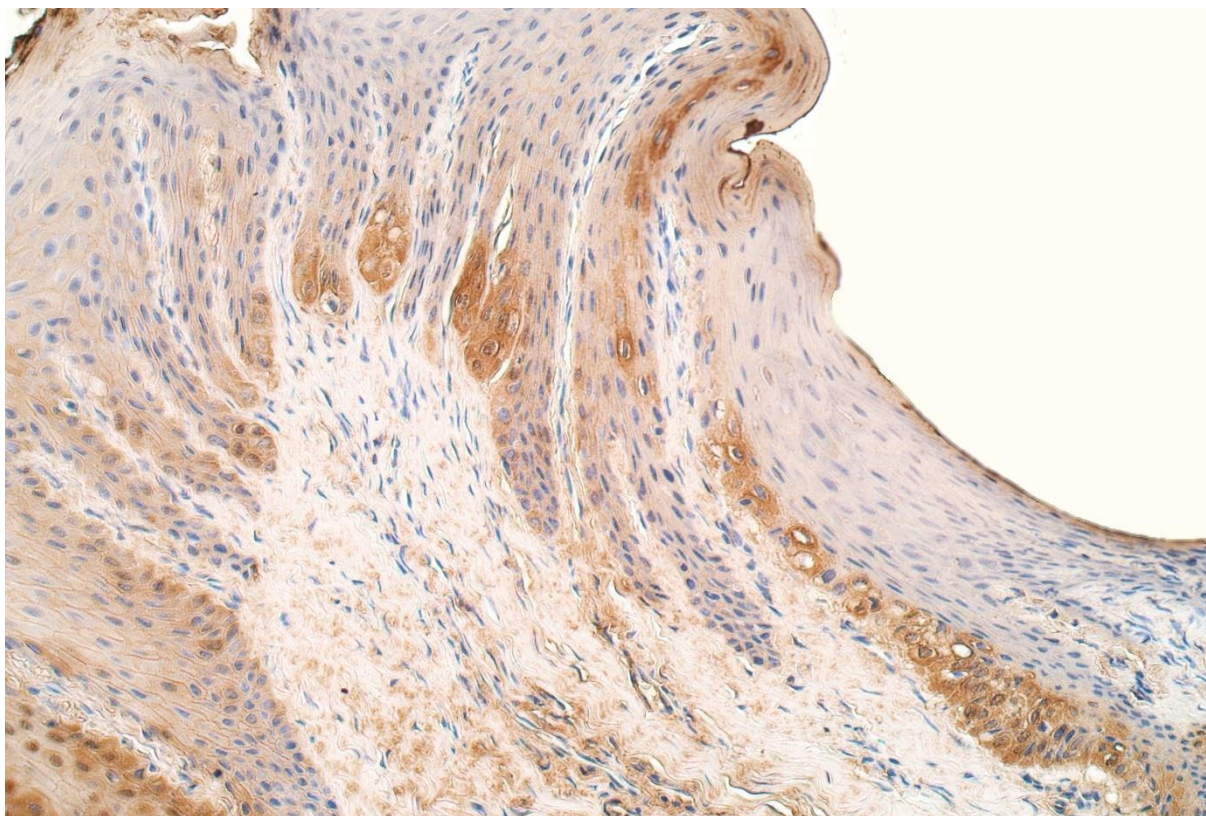
3.16. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ pozitīvu FOX E1 saturošu epitēlija un saistaudu šūnu septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. FOX E1 IMH, × 200



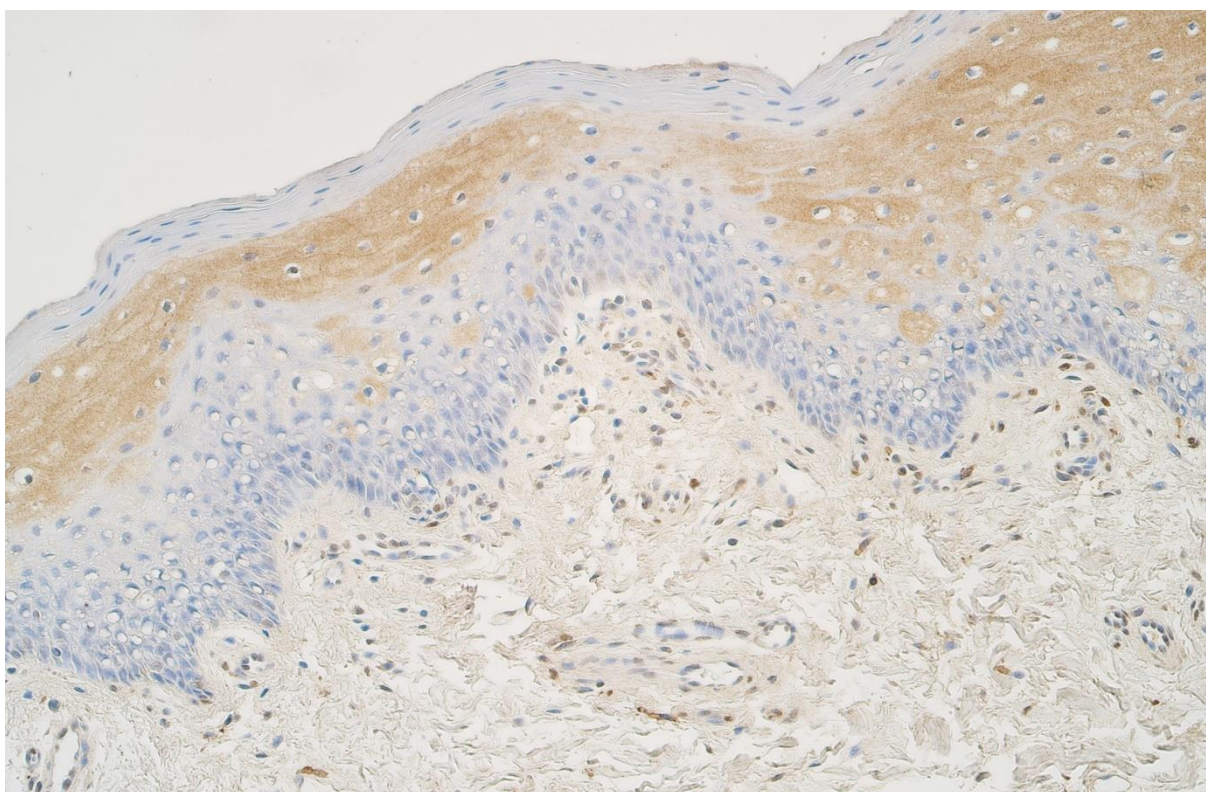
3.17. attēls. Vidēji daudz (++) vāji krāsotu FOX E1 pozitīvu epitēlijšūnu sešus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. FOX E1 IMH, × 200



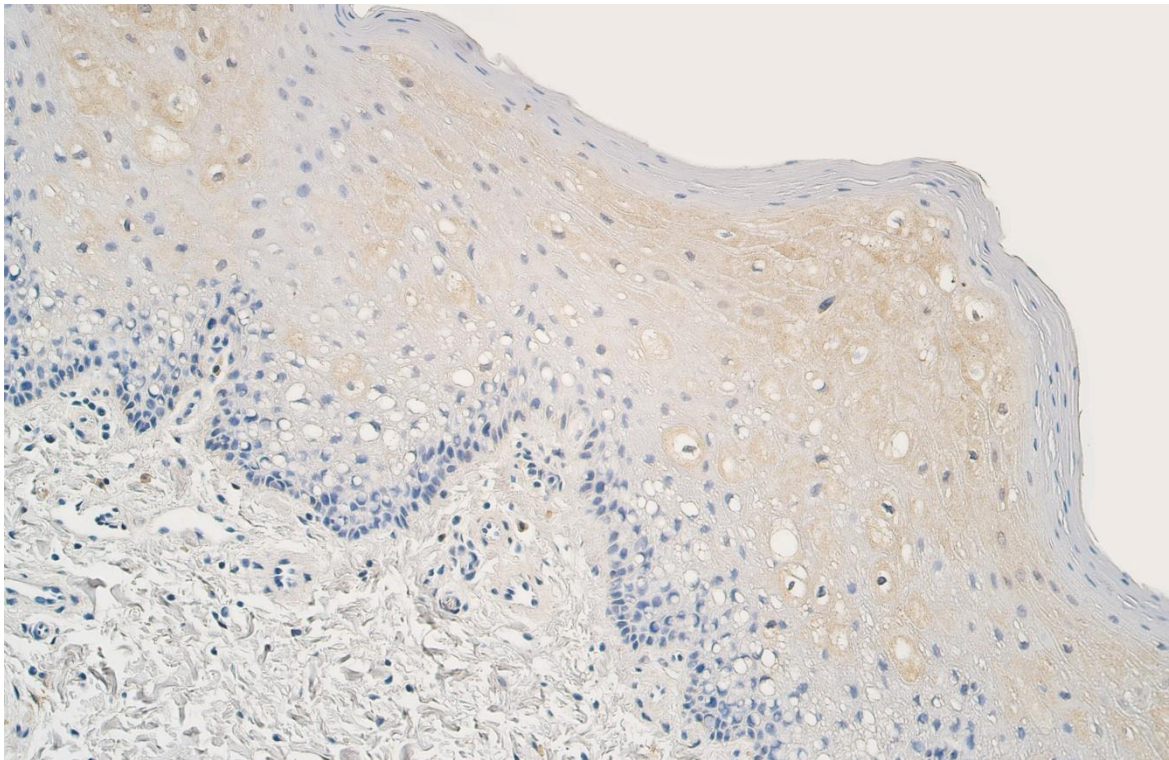
3.18. attēls. Daudz (+++) FOX E1 pozitīvu epitēlijšūnu un vidēji daudz (++) subepitēliālu saistaudu šūnu četrus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – mīksto aukslēju plastika. FOX E1 IMH, × 200



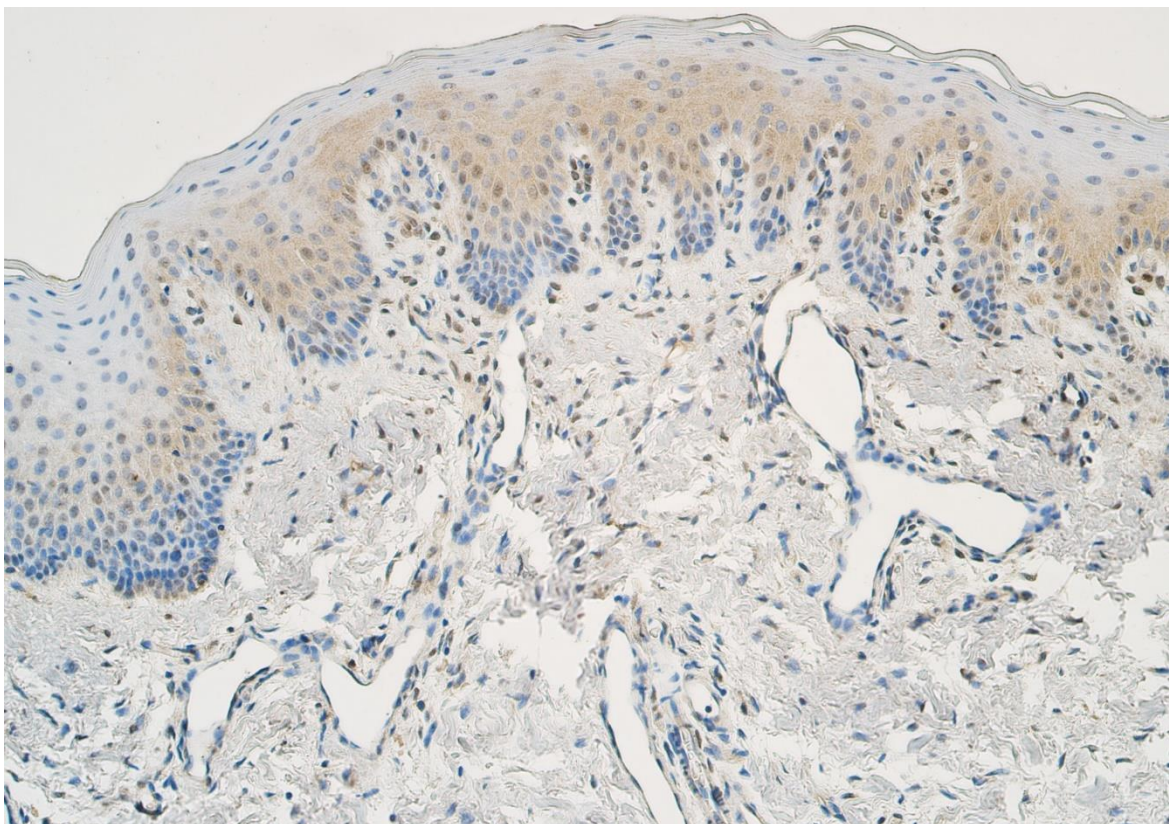
3.19. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ HOXB3 pozitīvu epitēlijšūnu
astoņus gadus vecam pacientam no pirmās kontroles grupas –
augšlūpas saitītes plastika. HOXB3 IMH, × 200



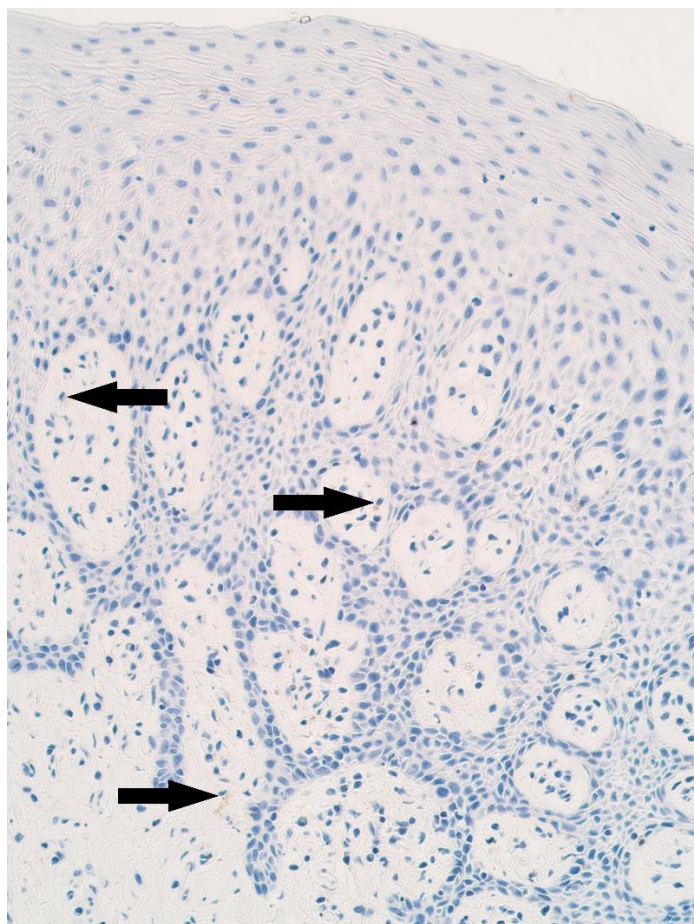
3.20. attēls. Vidēji daudz (++) HOXB3 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu
septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma
un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. HOXB3 IMH, × 200



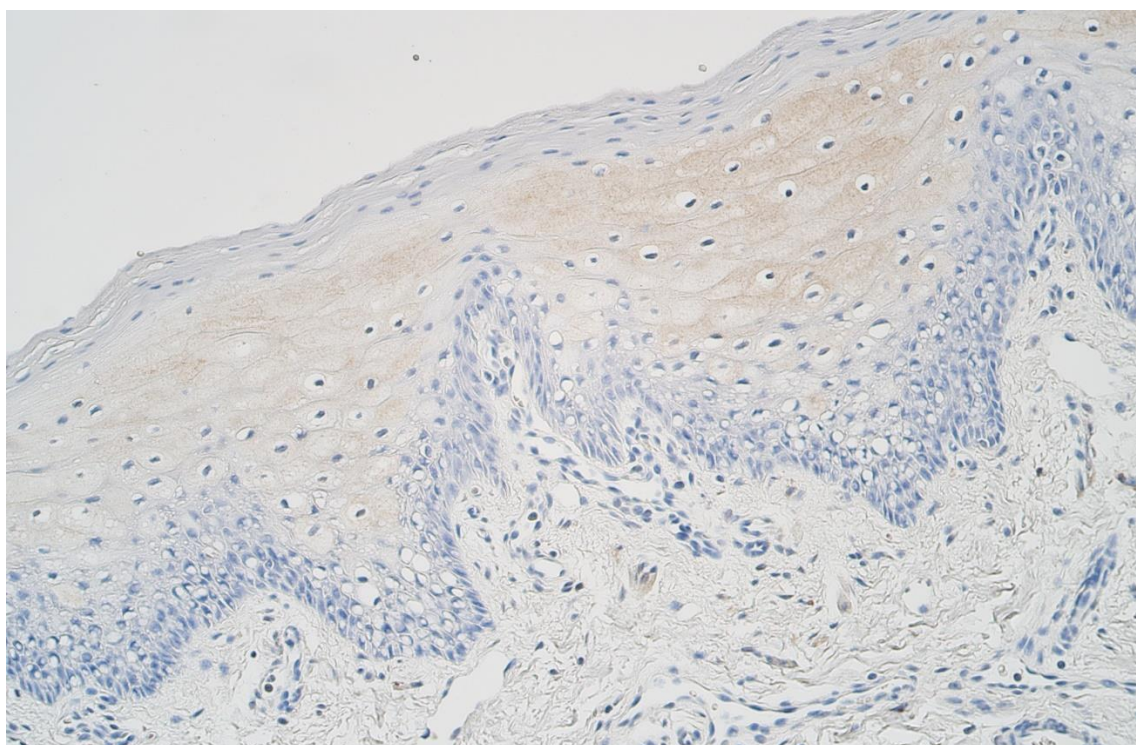
3.21. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vāji krāsotas HOXB3 pozitīvas epitēlijšūnas sešus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. HOXB3 IMH, × 200



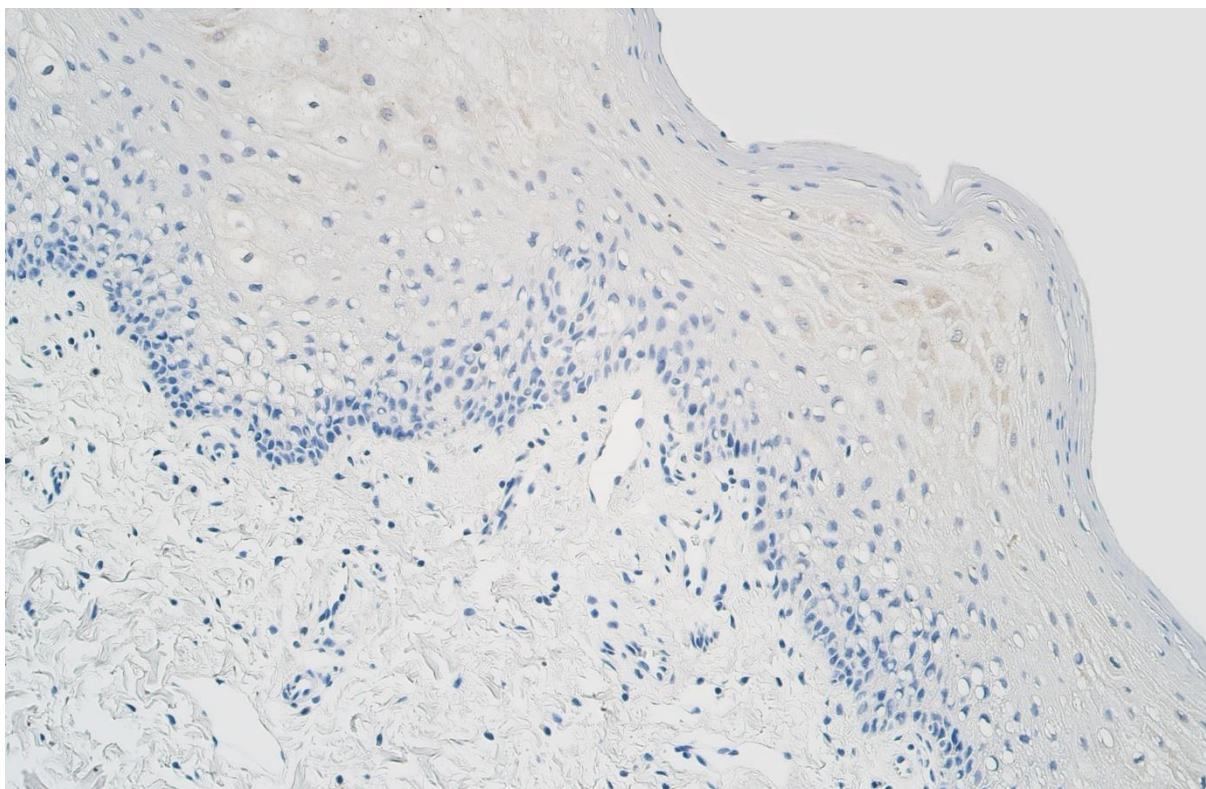
3.22. attēls. Vidēji daudz (++) HOXB3 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu astoņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu viensusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – mīksto aukslēju plastika. HOXB3 IMH, × 250



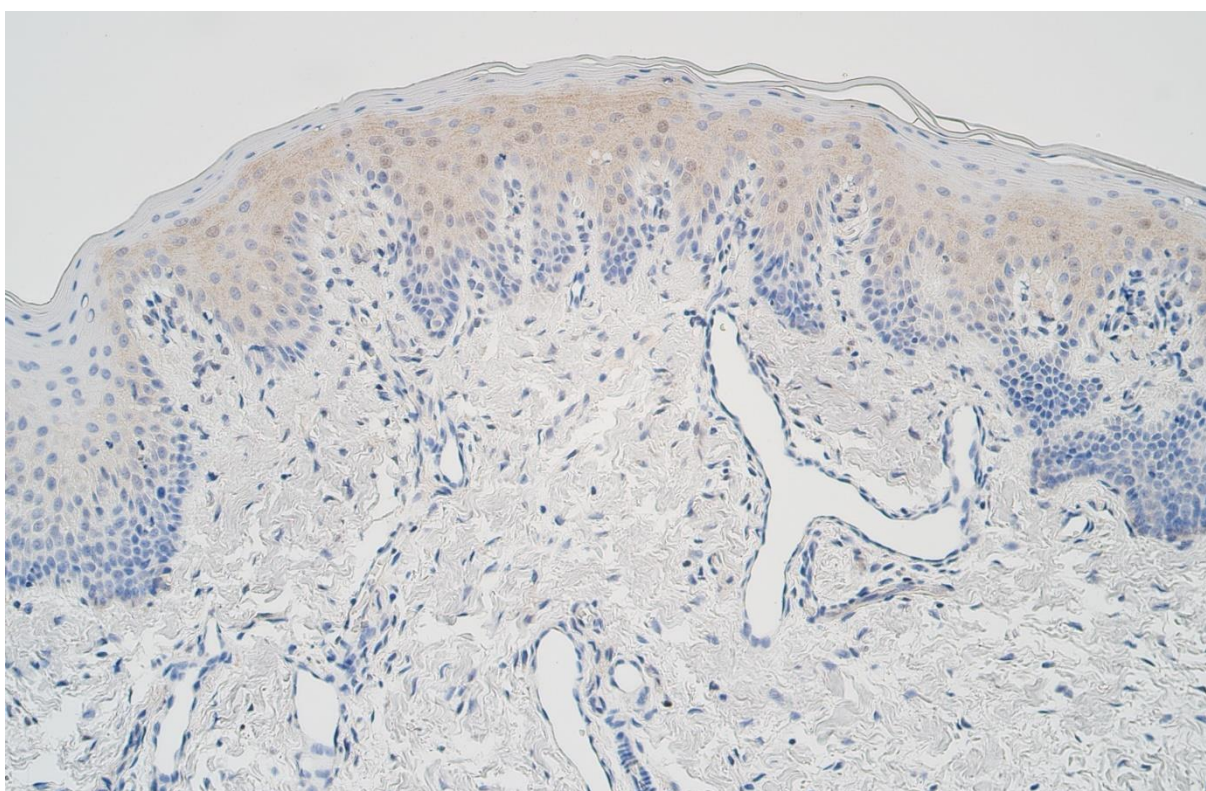
3.23. attēls. Retas (0/+) MSX2 pozitīvas saistaudu šūnas (bultiņas) deviņus gadus vecam pacientam no pirmās kontroles grupas – augšlūpas saitītes plastika. MSX2 IMH, × 250



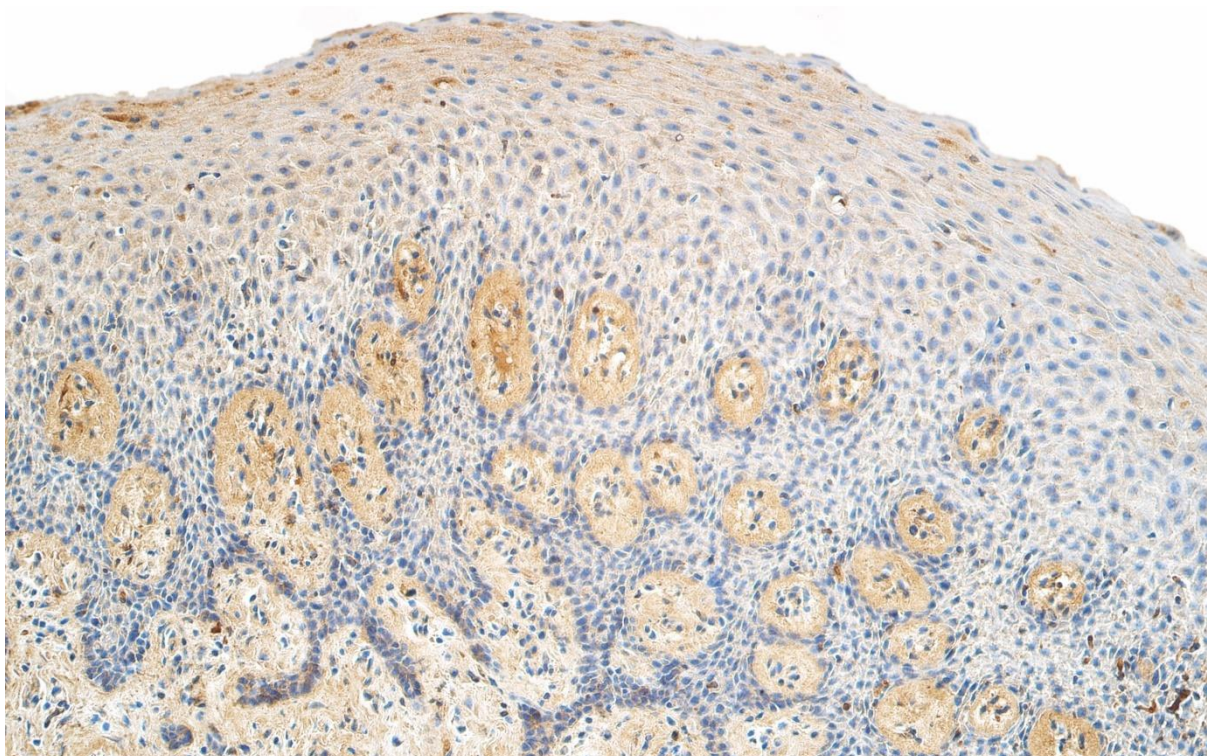
3.24. attēls. Vidēji daudz (++) vāji pozitīvu MSX2 saturošu epitēlijšūnu septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. MSX2 IMH, × 200



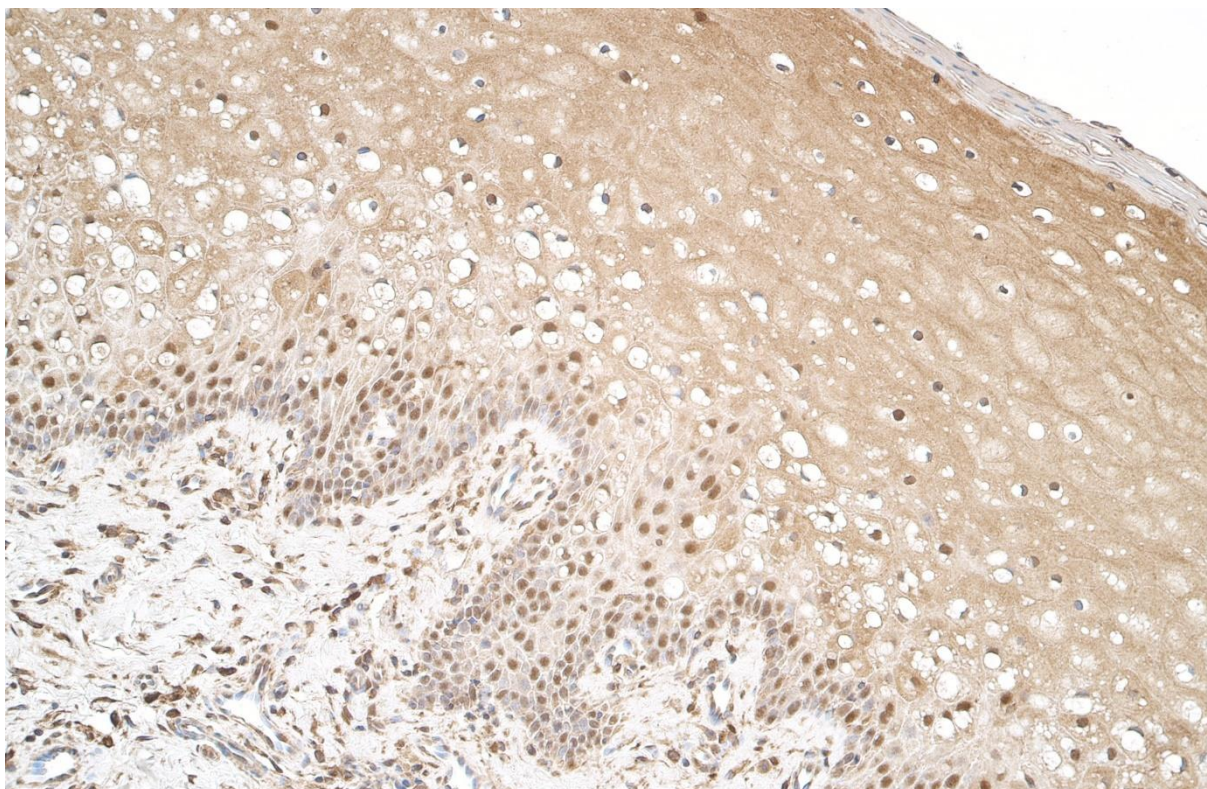
3.25. attēls. Maz (+) vāji pozitīvu MSX2 saturošu epitēlijšūnu sešus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. MSX2 IMH, × 200



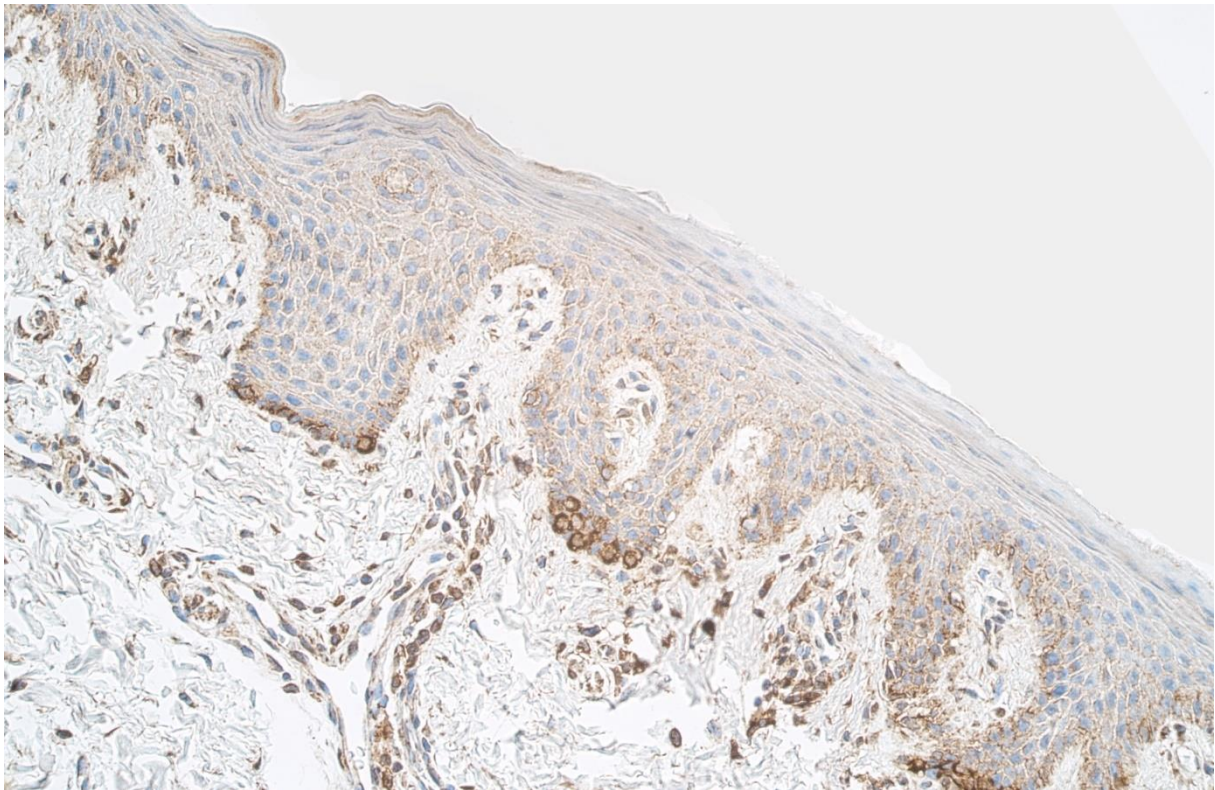
3.26. attēls. Vidēji daudz (++) MSX2 pozitīvu epitēlijšūnu astoņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – mīksto aukslēju plastika. MSX2 IMH, × 200



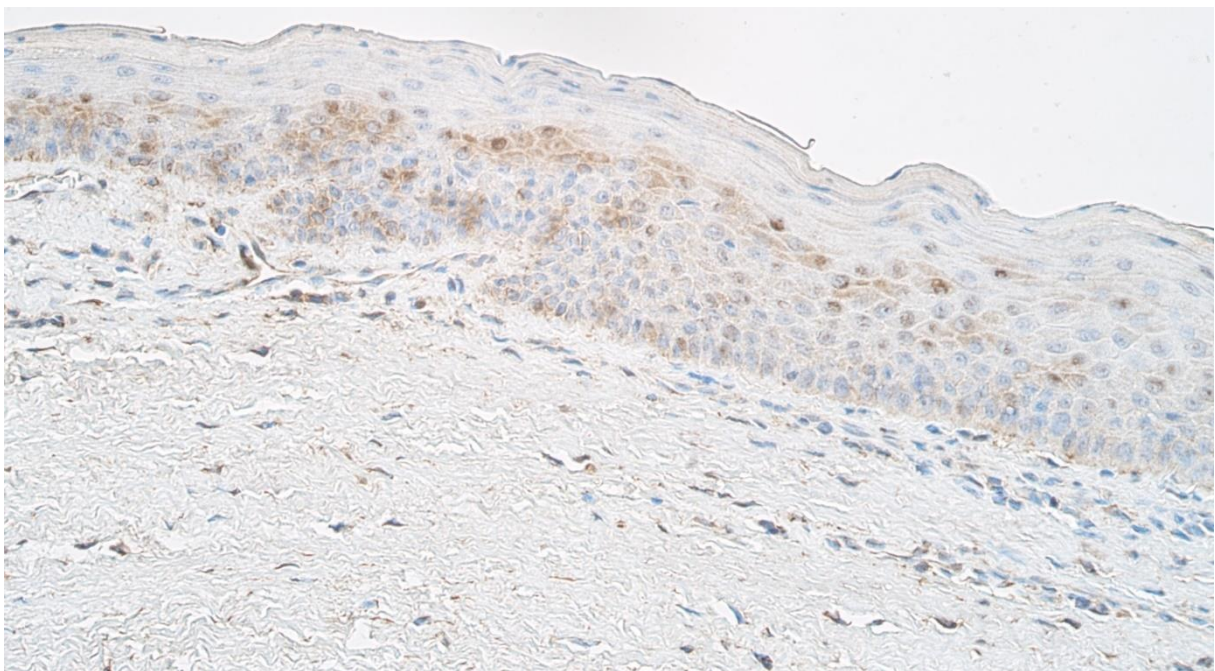
3.27. attēls. Vidēji daudz (++) PAX7 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu deviņus gadus vecam pacientam pirmajā kontrolē grupā – augšlūpas saitītes plastika. PAX7 IMH, × 200



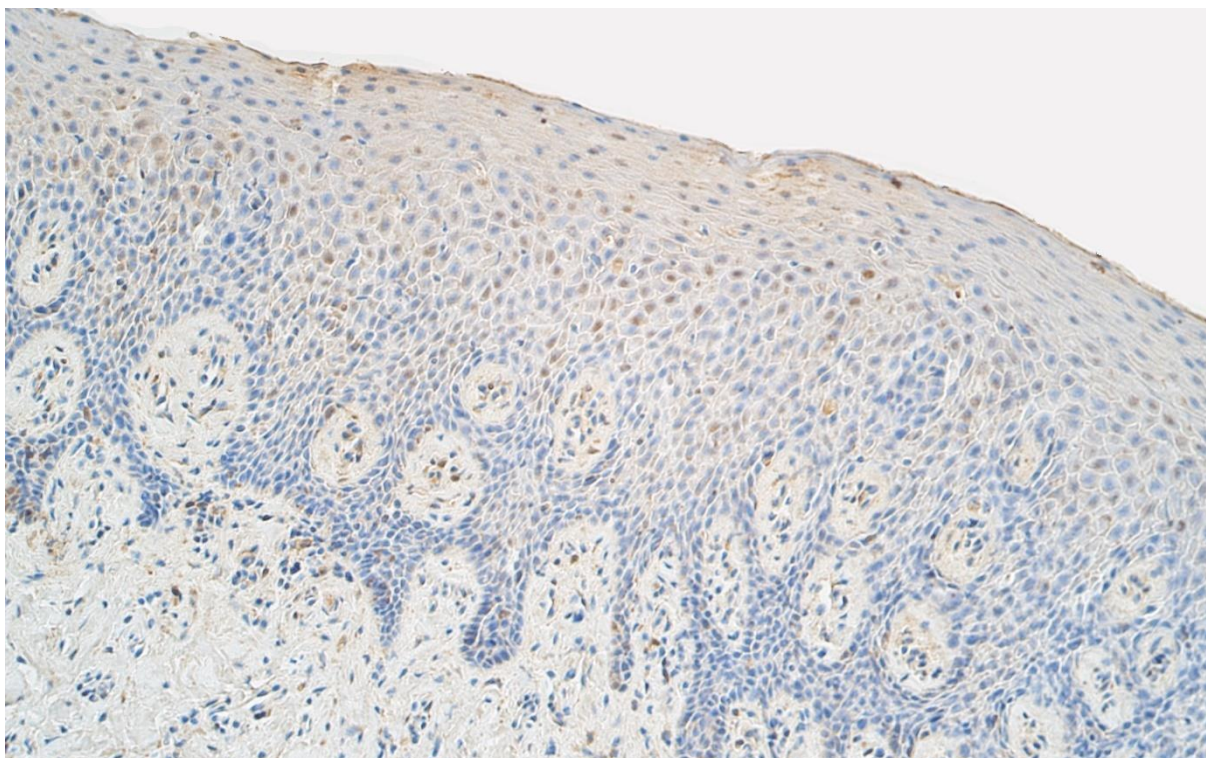
3.28. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (++++/+++++) PAX7 pozitīvu epitēlija un daudz (++) saistaudu šūnu četrus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienaspusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. PAX7 IMH, × 200



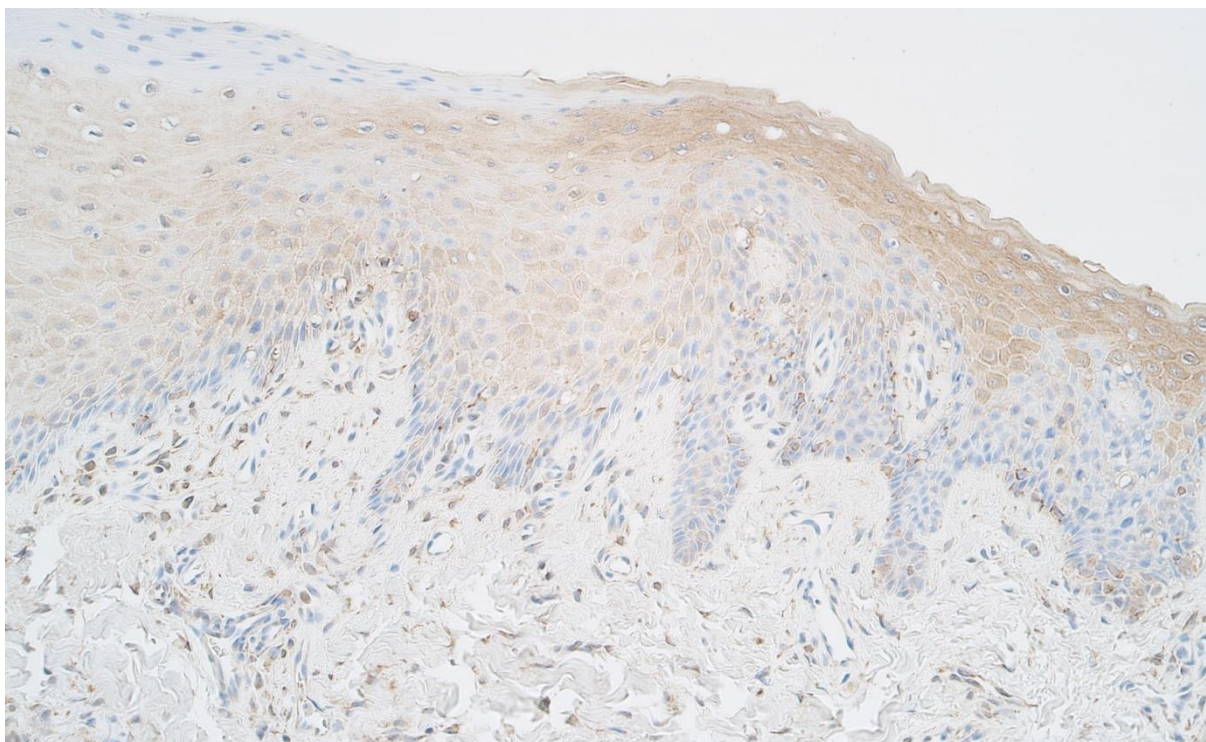
3.29. attēls. Vidēji daudz (+/++) PAX7 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu četrus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. PAX7 IMH, × 200



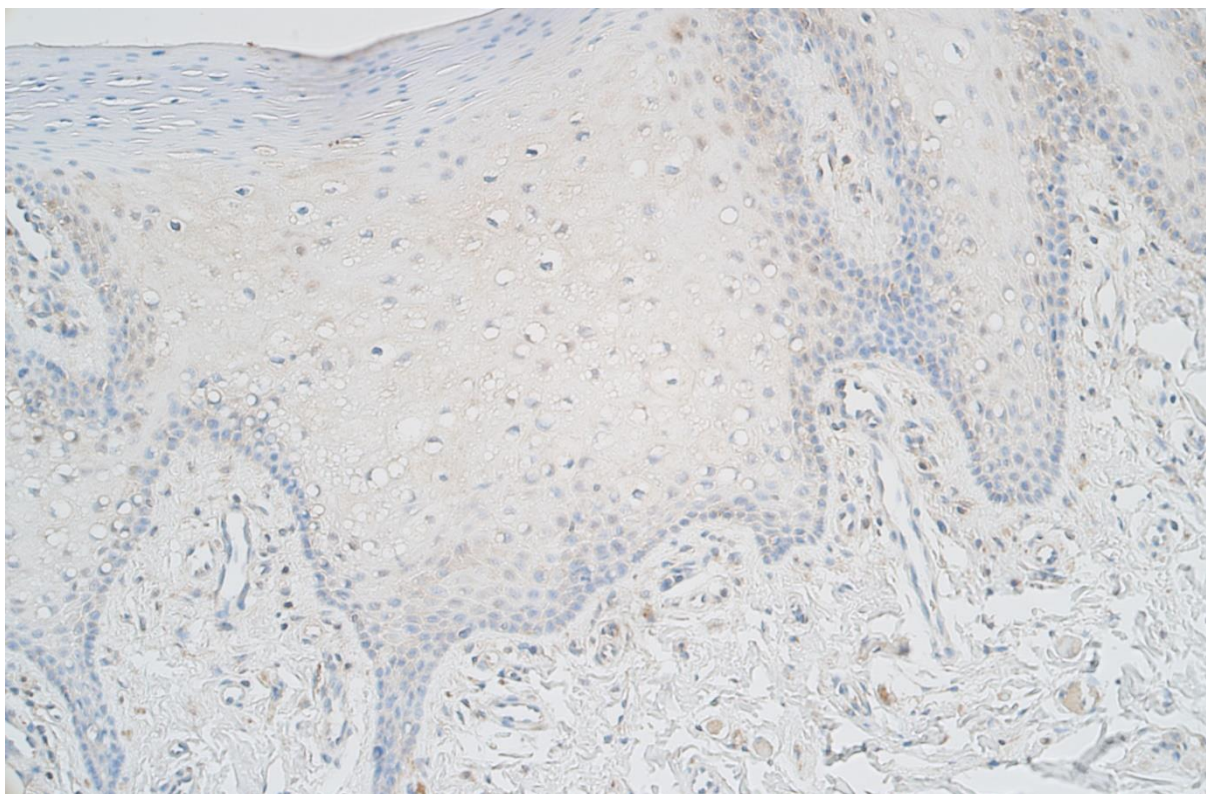
3.30. attēls. Vidēji daudz (++) PAX7 pozitīvu epitēlijšūnu astoņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – mīksto aukslēju plastika. PAX7 IMH, × 250



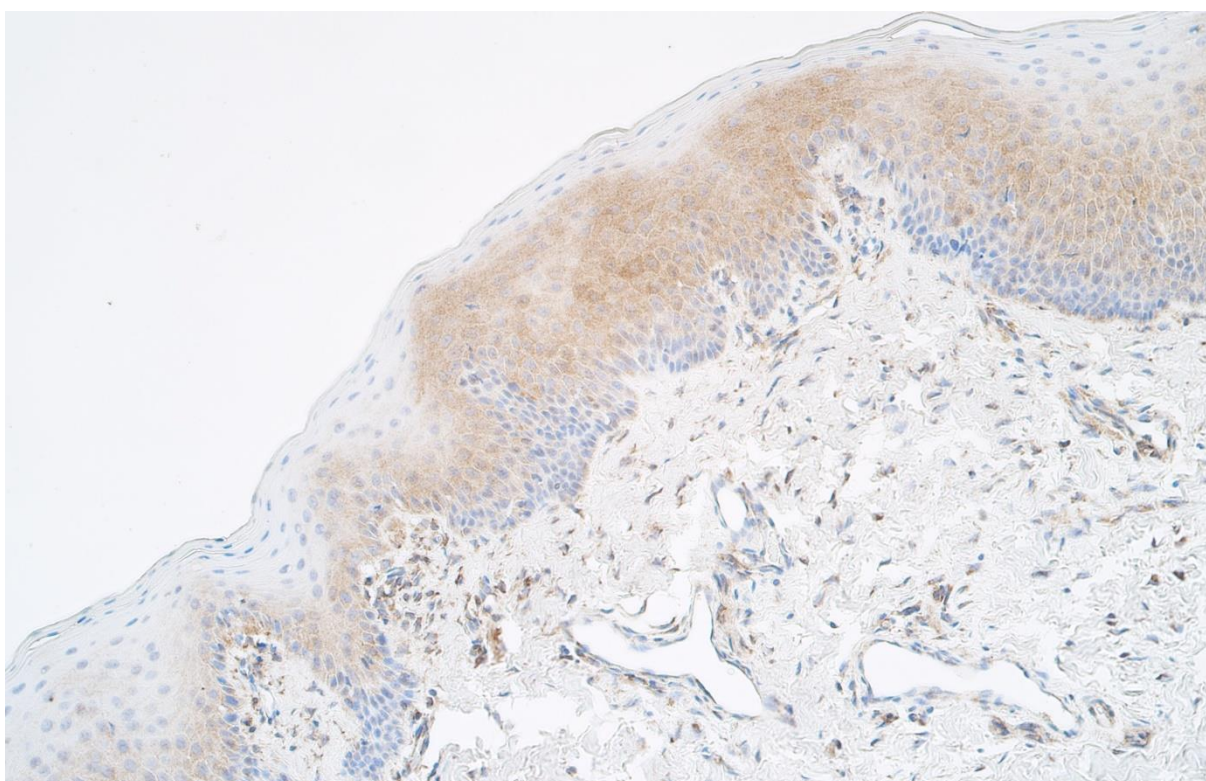
3.31. attēls. Vidēji daudz (++) PAX9 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu desmit gadu vecam pacientam pirmajā kontroles grupā – augšlūpas saiķītes plastika. PAX9 IMH, × 200



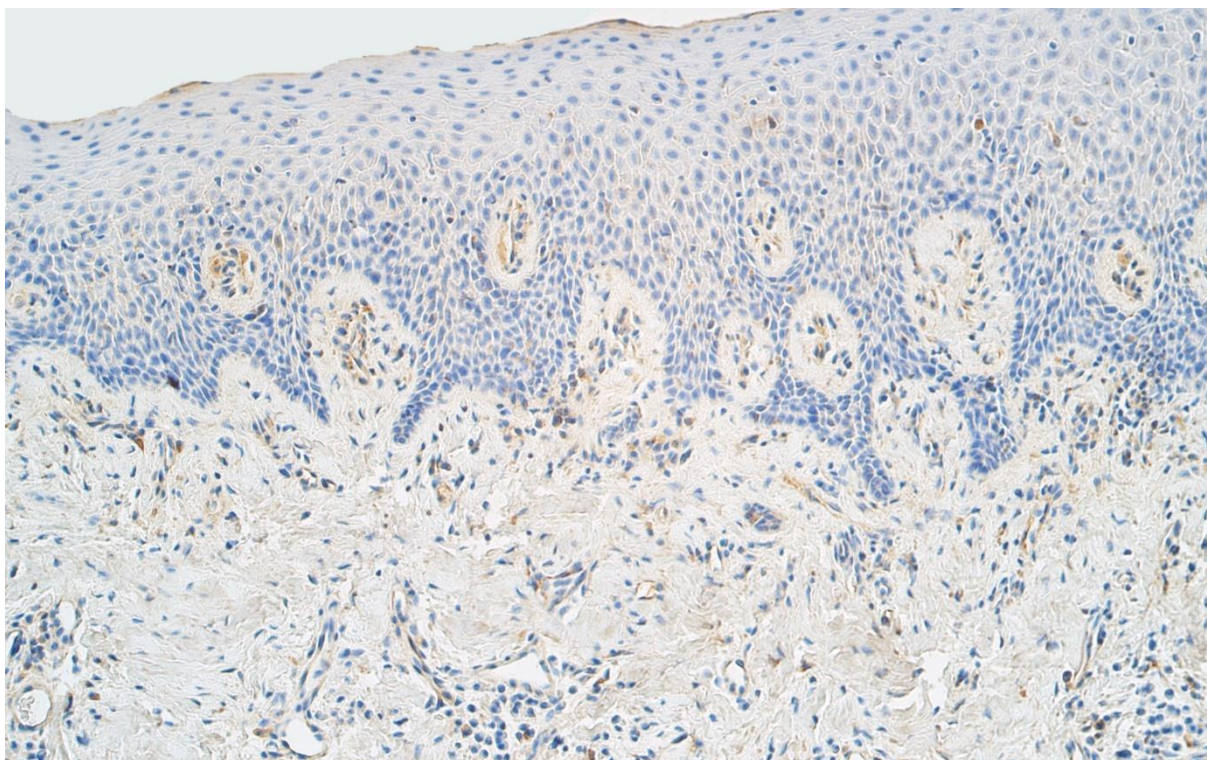
3.32. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++/+++) PAX9 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu četrus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. PAX9 IMH, × 200



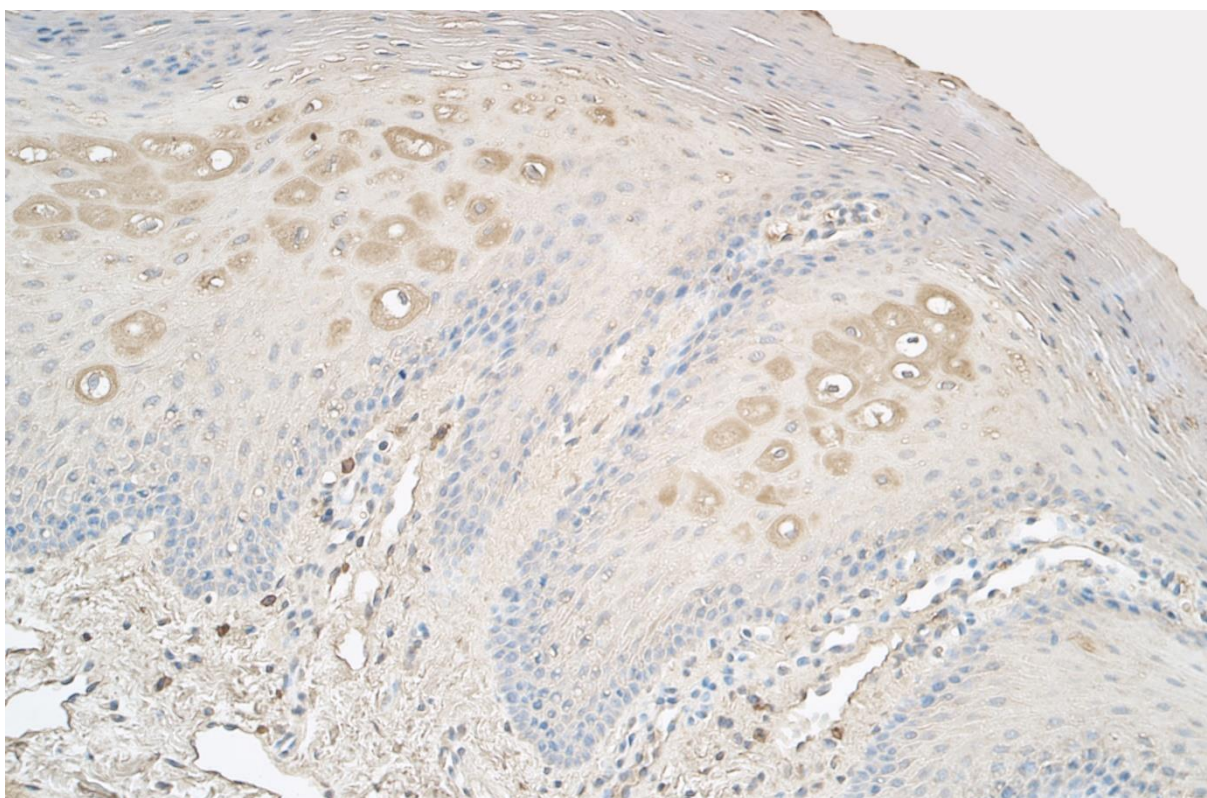
3.33. attēls. Vidēji daudz (++) ļoti vāji PAX9 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu četrus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. PAX9 IMH, × 200



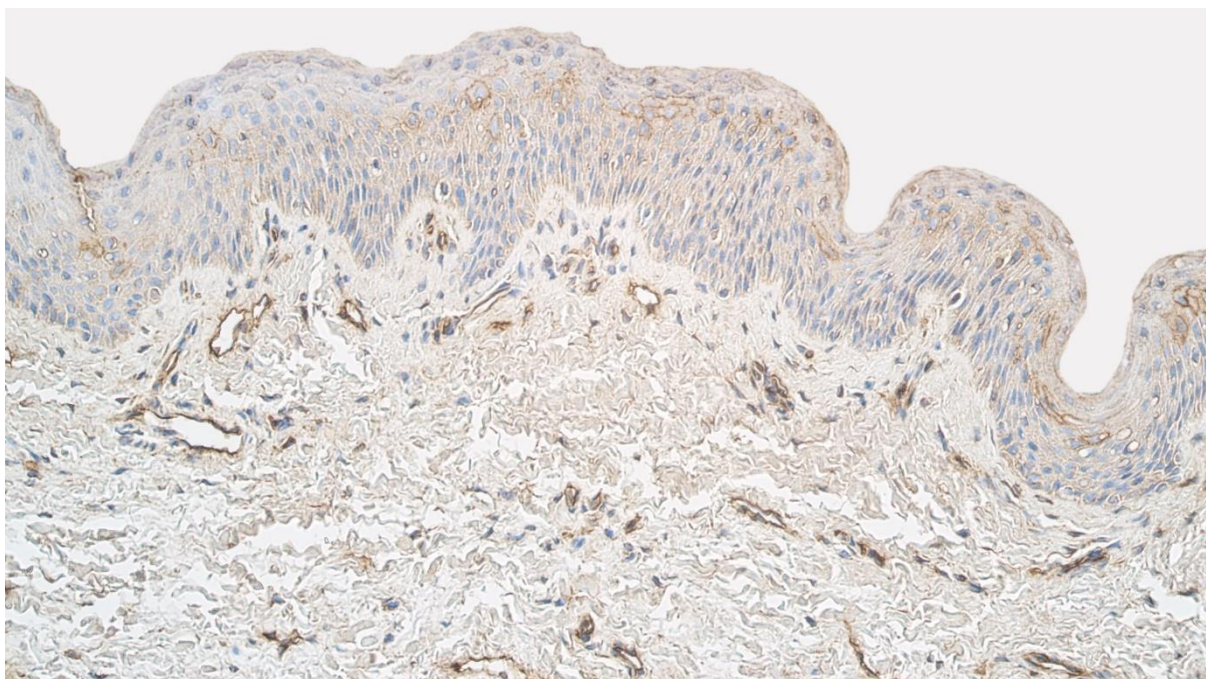
3.34. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++/+++) PAX9 pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu astoņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – mīksto aukslēju plastika. PAX9 IMH, × 200



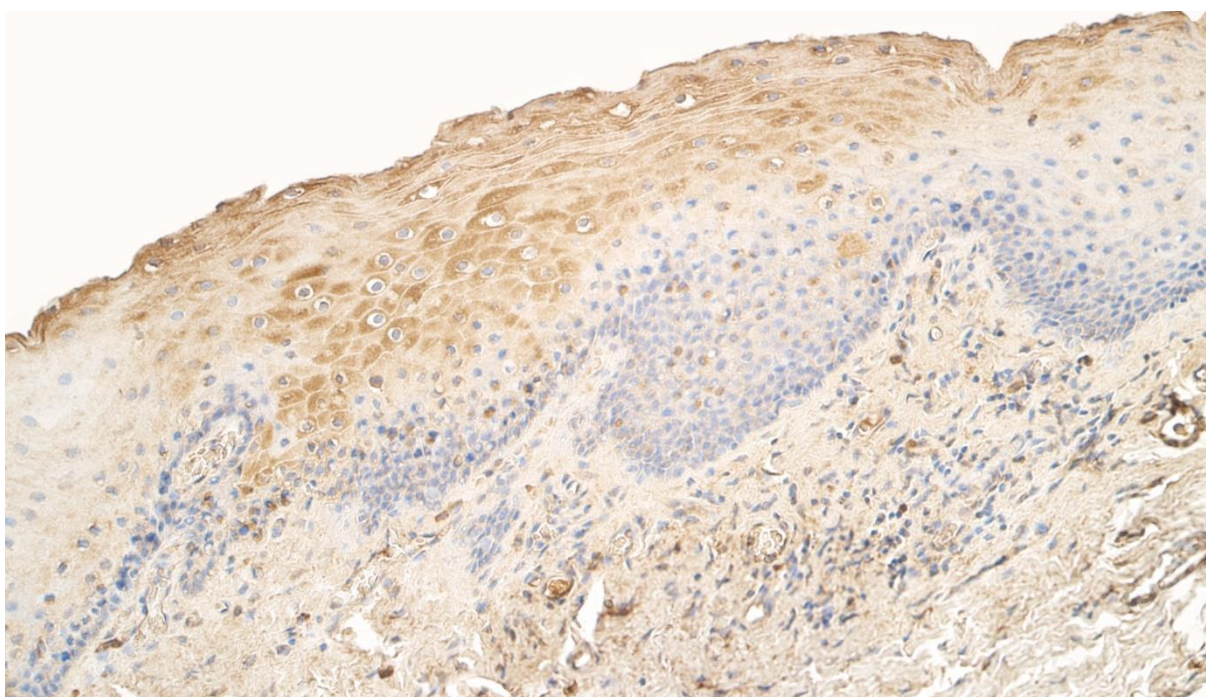
3.35. attēls. Vidēji daudz (++) RYK pozitīvu saistaudu šūnu desmit gadu vecam pacientam pirmajā kontroles grupā – augšlūpas saītītes plastika. RYK IMH, × 200



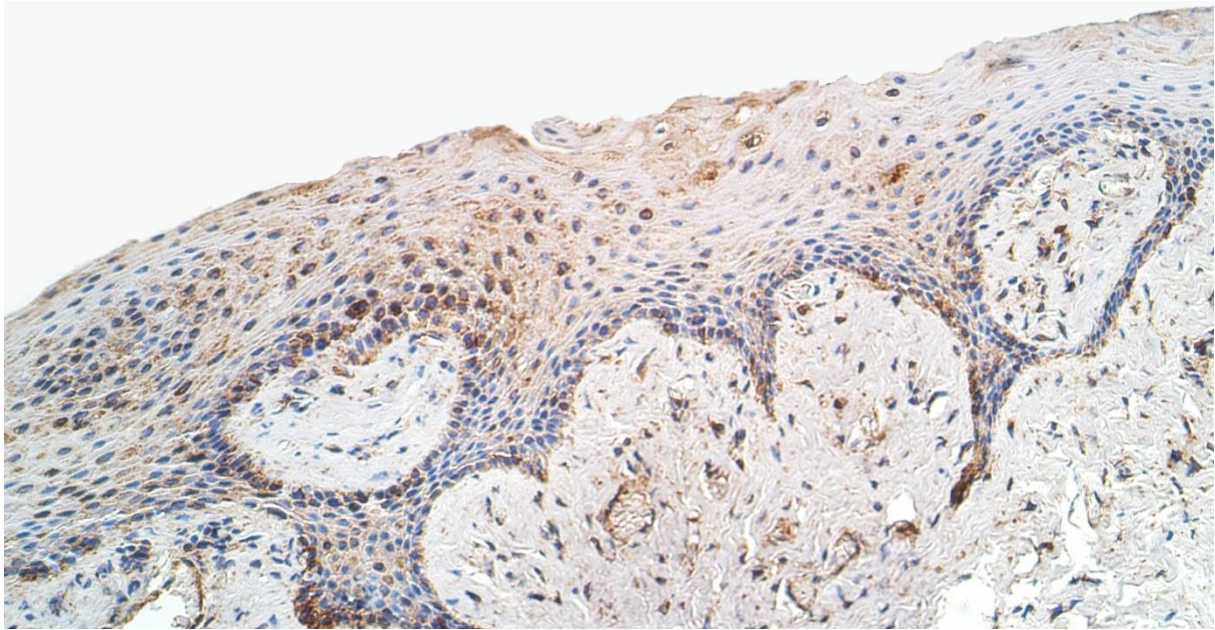
3.36. attēls. Vidēji daudz (++) RYK pozitīvu epitēlijšūnu un vidēji daudz (++) RYK pozitīvu saistaudu šūnu astoņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. RYK IMH, × 200



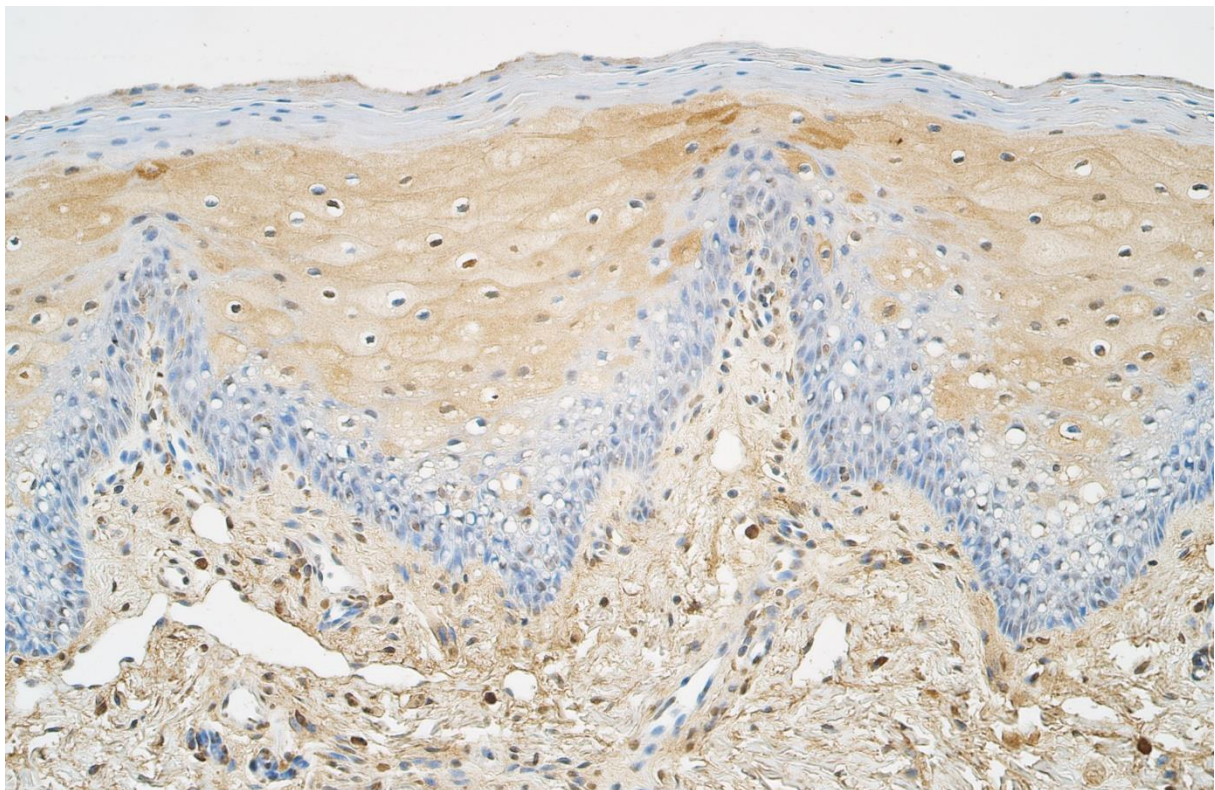
3.37. attēls. Vidēji daudz (++) RYK pozitīvu saistaudu un daudz (+++) endotēlija šūnu septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. RYK IMH, × 200



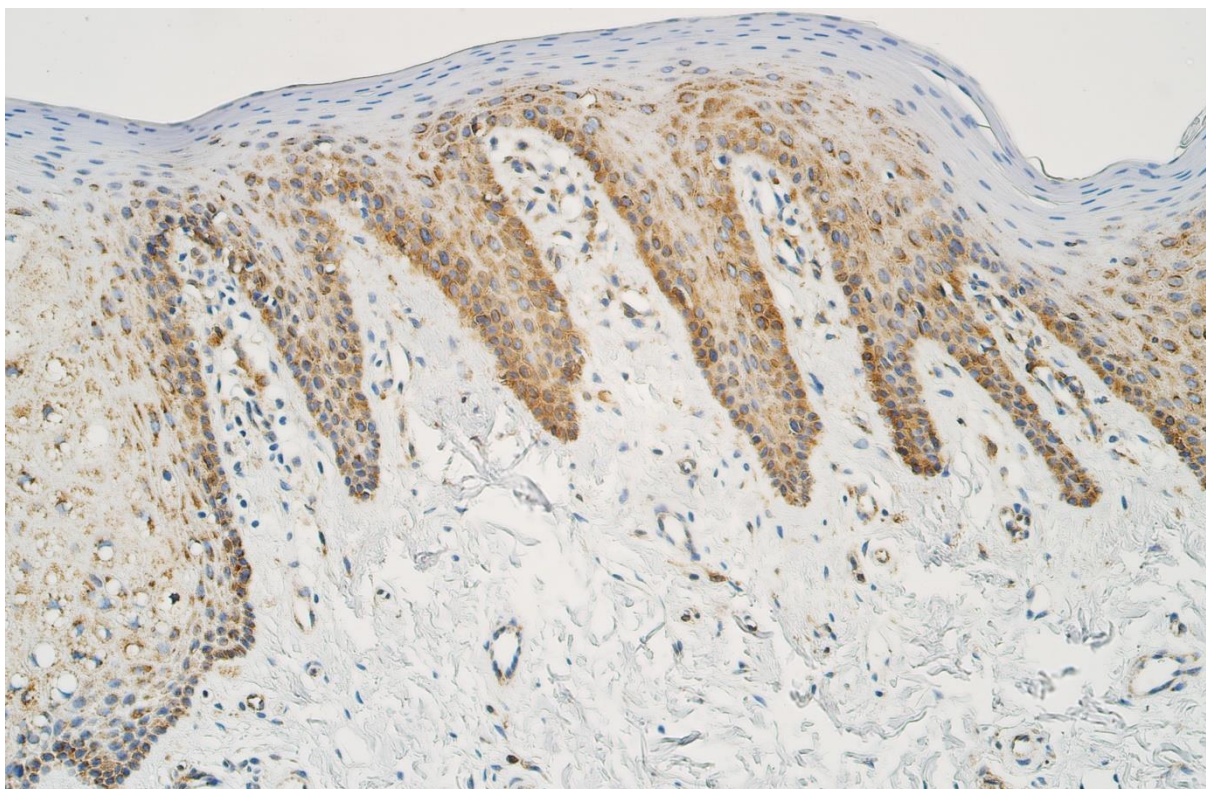
3.38. attēls. Daudz (+++) RYK pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu desmit mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienaspusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – mīksto aukslēju plastika. RYK IMH, × 200



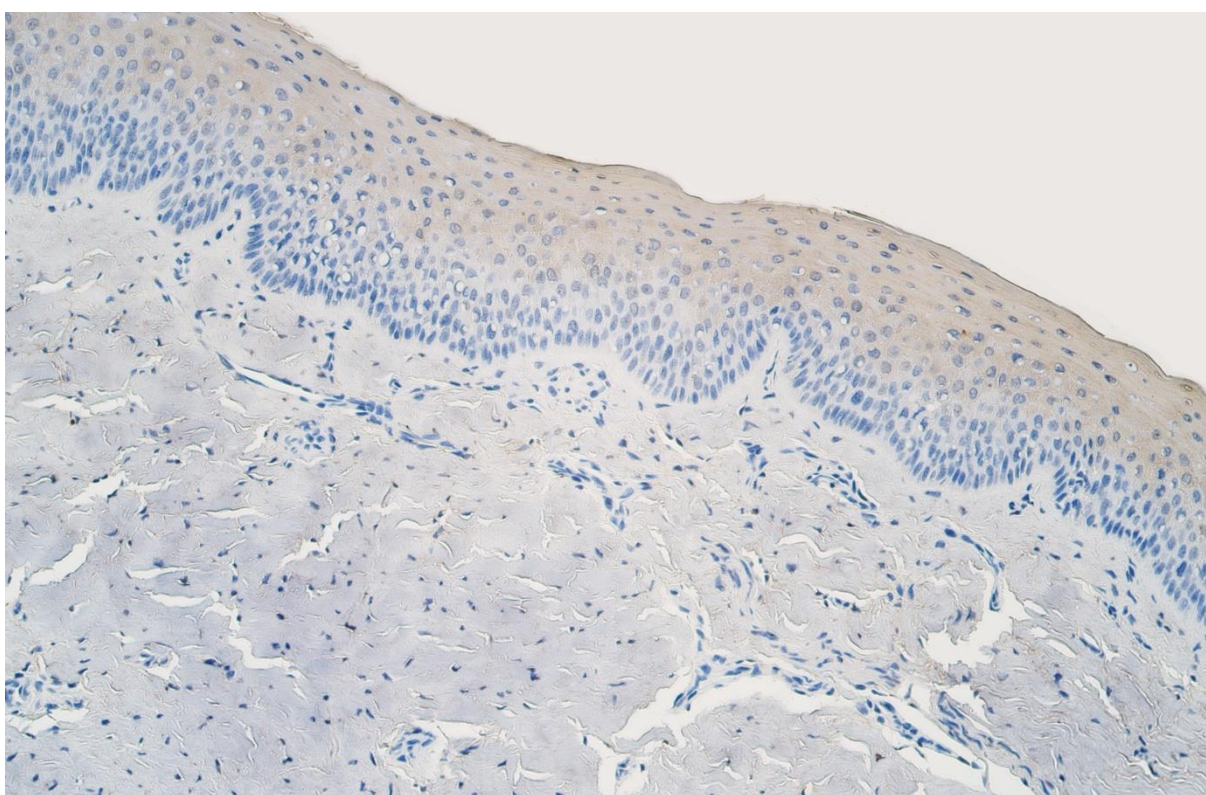
3.39. attēls. Vidēji daudz (++) SHH pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu jaundzimušajam no otrās kontroles grupas – RSU AAI vēsturiskā kolekcija. SHH IMH, × 200



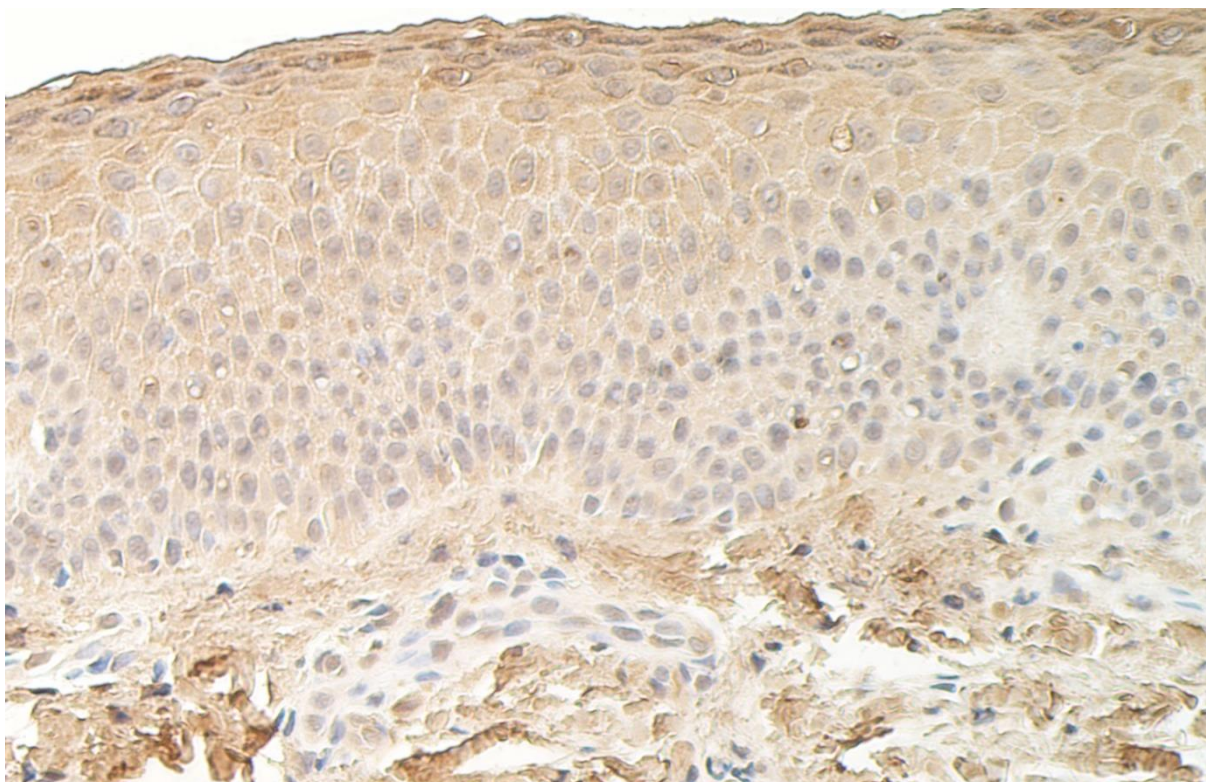
3.40. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++/+++) SHH pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienaspusēju lūpas, alveolārā izauguma un ausklēju šķeltni – lūpas plastika. SHH IMH, × 200



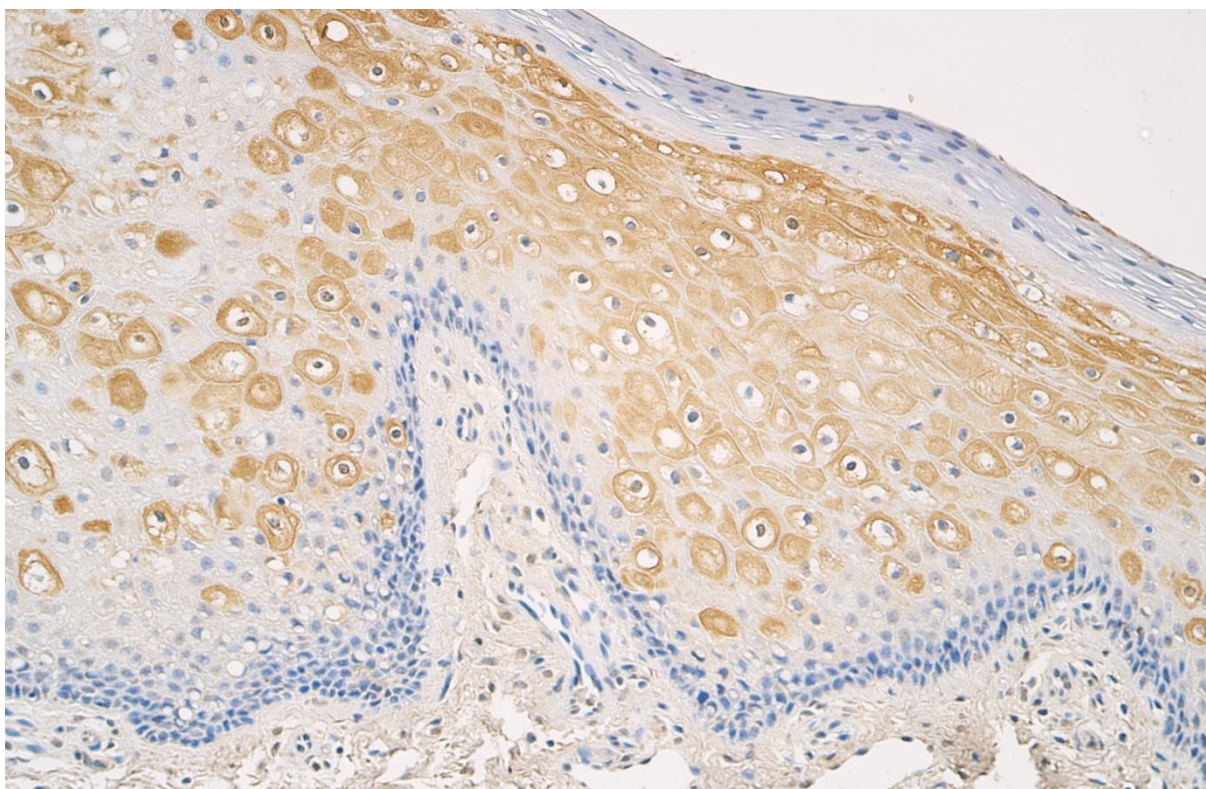
3.41. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ SHH pozitīvu epitēlijšūnu sešus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un ausklēju šķeltni – lūpas plastika. SHH IMH, × 200



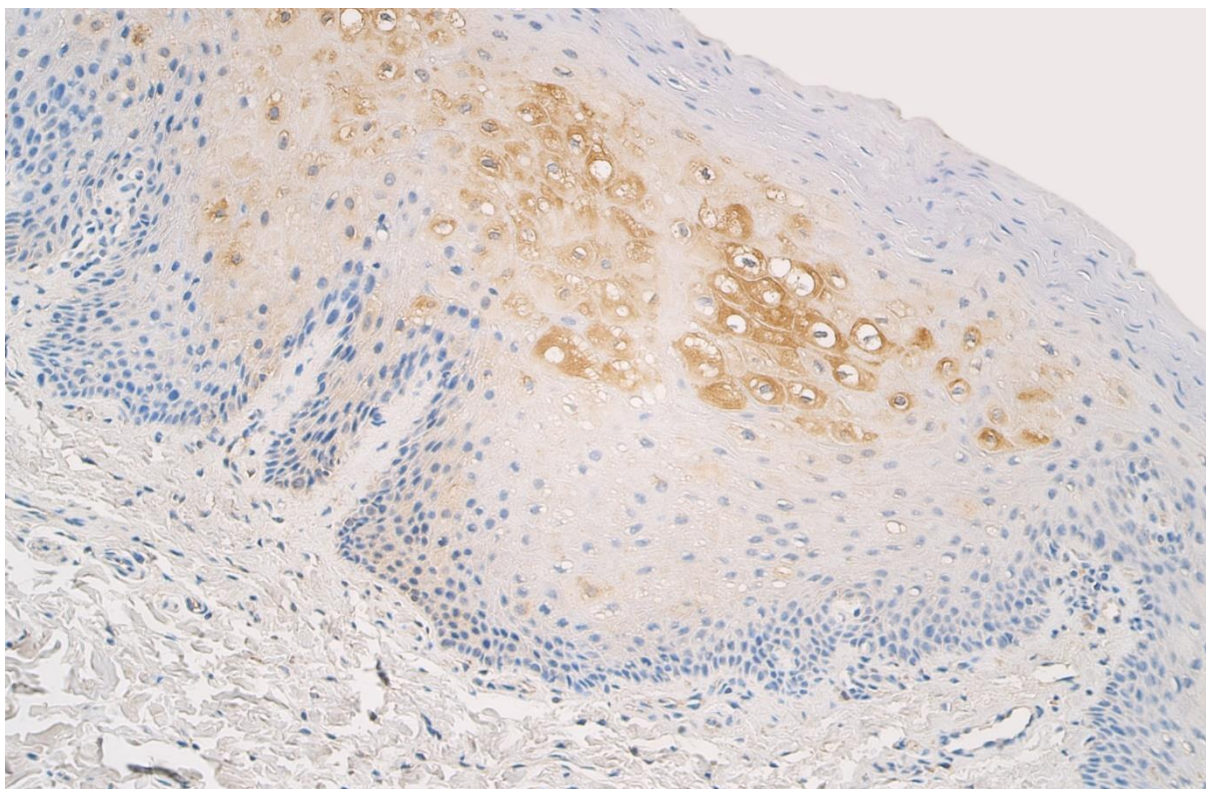
3.42. attēls. Daudz (+++) vāji pozitīvu SHH saturošu epitēlijšūnu desmit mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienaspusēju lūpas, alveolārā izauguma un ausklēju šķeltni – mīksto ausklēju plastika. SHH IMH, × 200



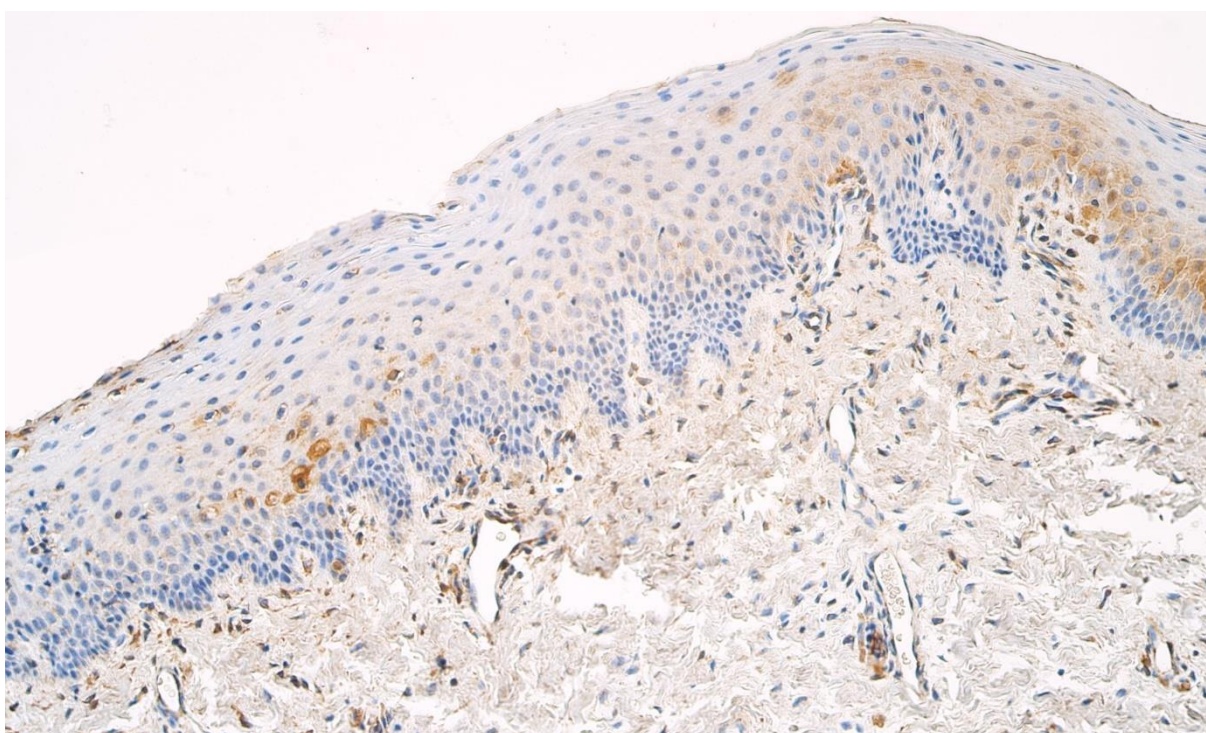
3.43. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) SOX3 pozitīvu epitēlijšūnu jaundzimušajam no otrās kontroles grupas – RSU AAI vēsturiskā kolekcija. SOX3 IMH, × 400



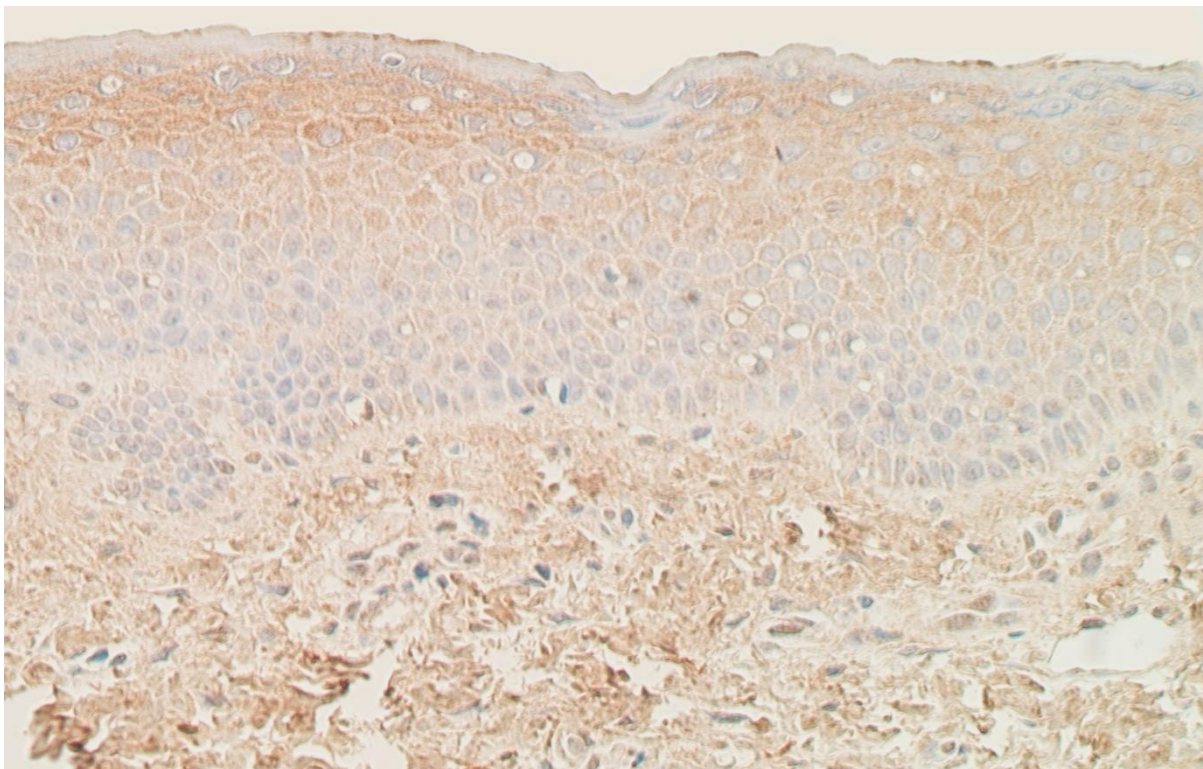
3.44. attēls. Daudz (+++) SOX3 pozitīvu epitēlijšūnu trīs mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienaspusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. SOX3 IMH, × 200



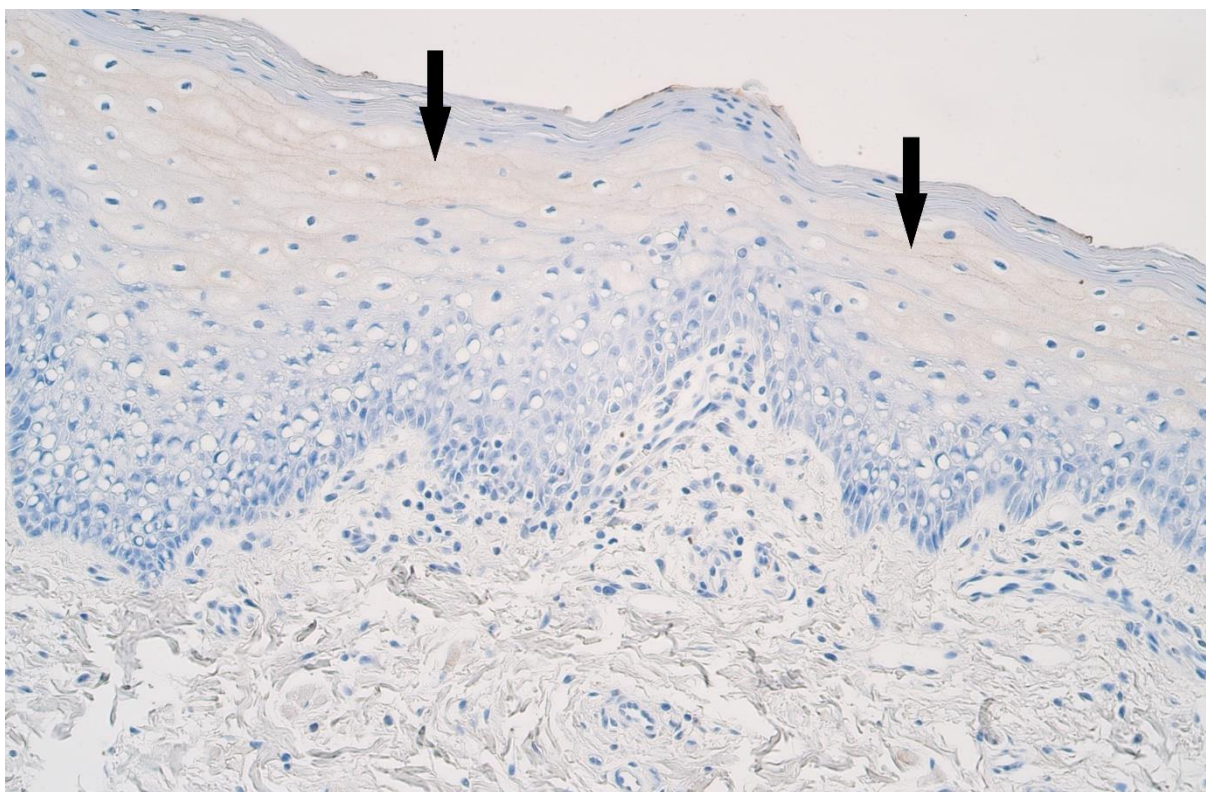
3.45. attēls. Vidēji daudz (++) SOX3 pozitīvu epitēlijšūnu sešus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. SOX3 IMH, × 200



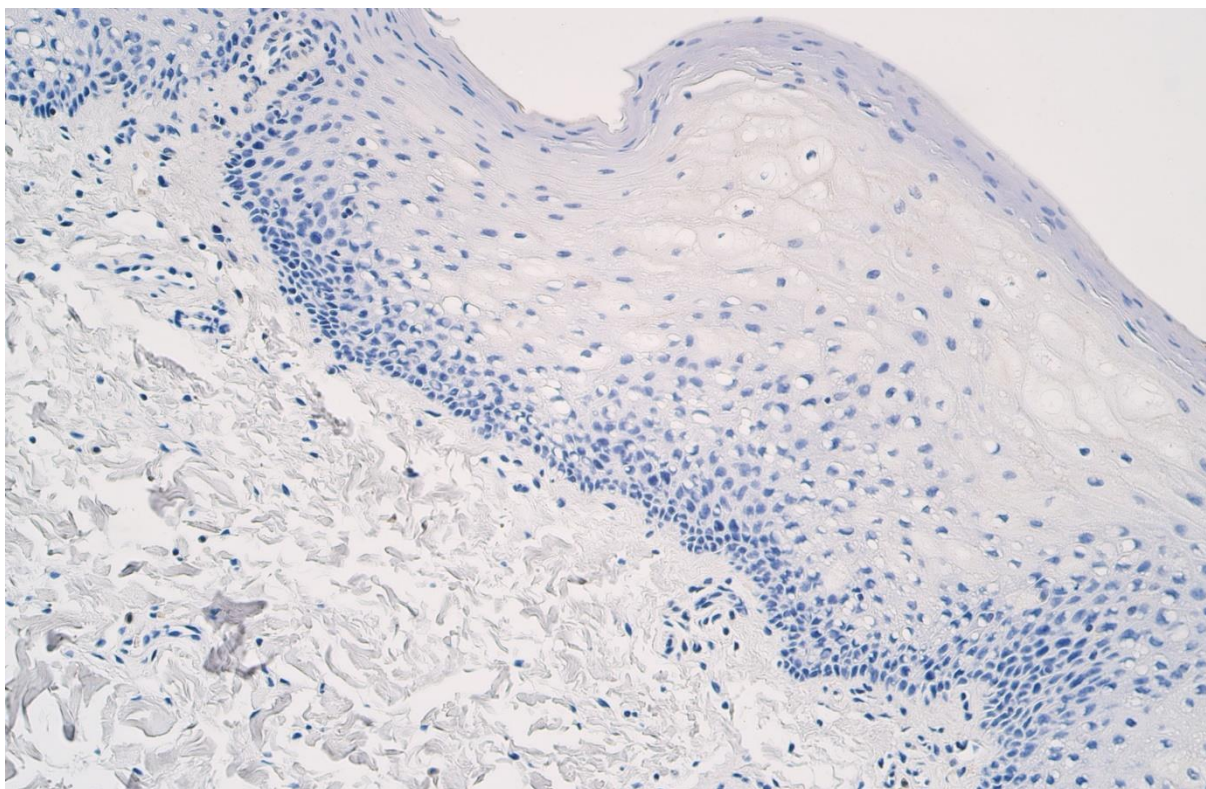
3.46. attēls. Maz līdz vidēji daudz (+/++) SOX3 pozitīvu epitēlijšūnu desmit mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – mīksto aukslēju plastika. SOX3 IMH, × 200



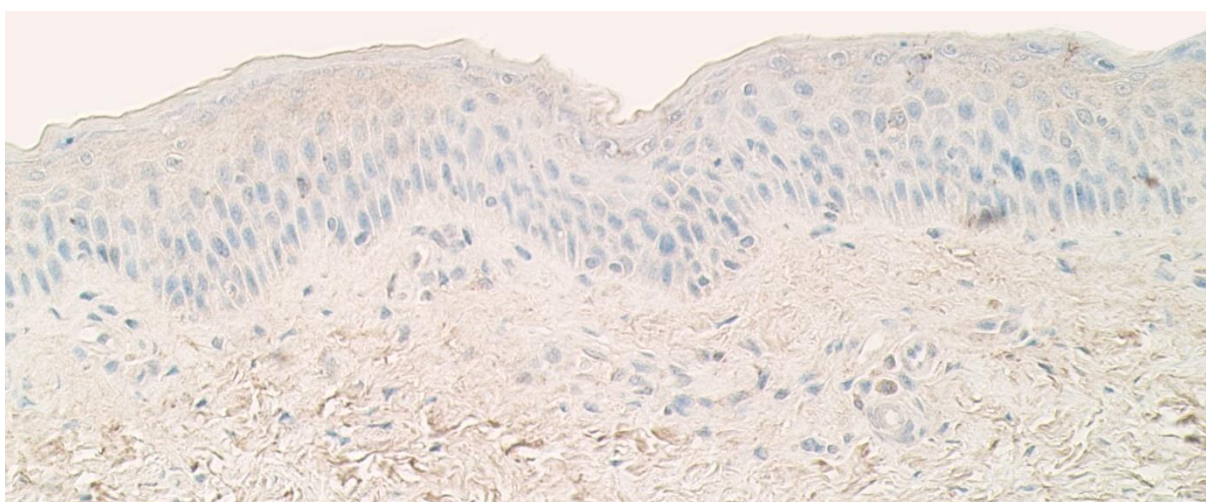
3.47. attēls. Daudz (+++) WNT3A pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu jaundzimušajam no otrās kontroles grupas – RSU AAI vēsturiskā kolekcija. WNT3A IMH, × 400



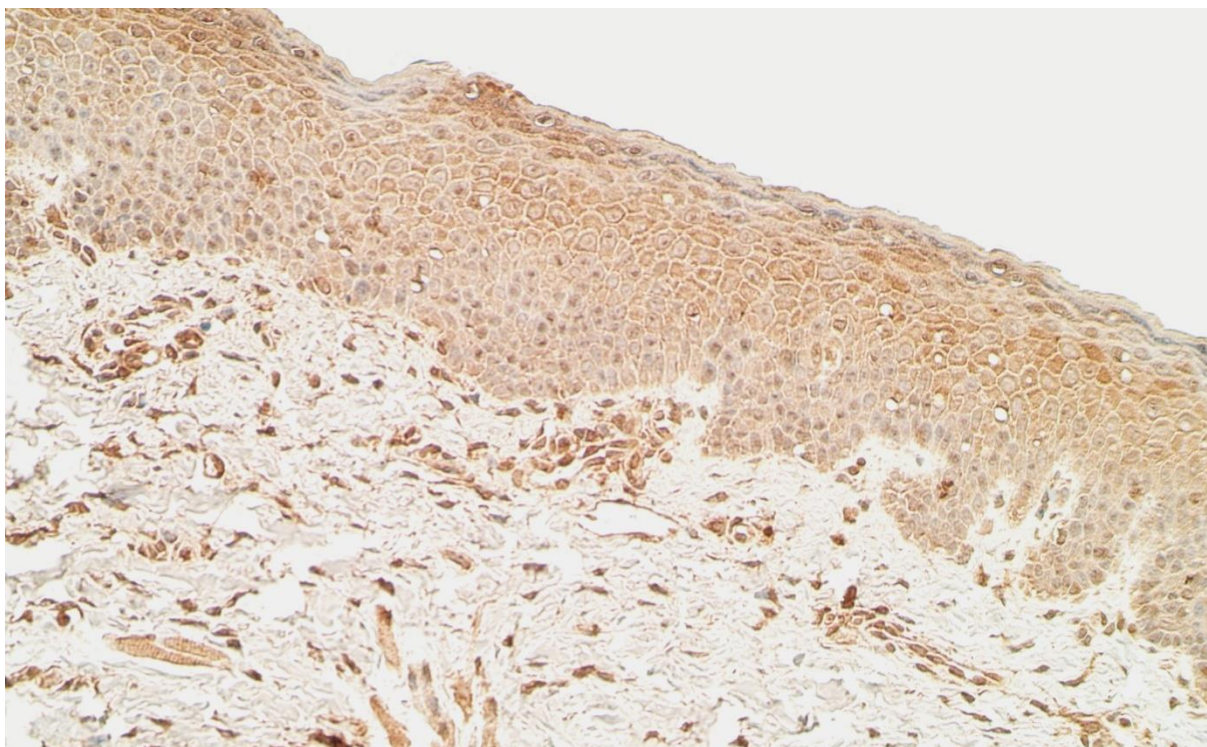
3.48. attēls. Maz līdz vidēji daudz (+/++) ļoti vāji pozitīvu WNT3A saturošu epitēlijšūnu (bultiņas) septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. WNT3A IMH, × 200



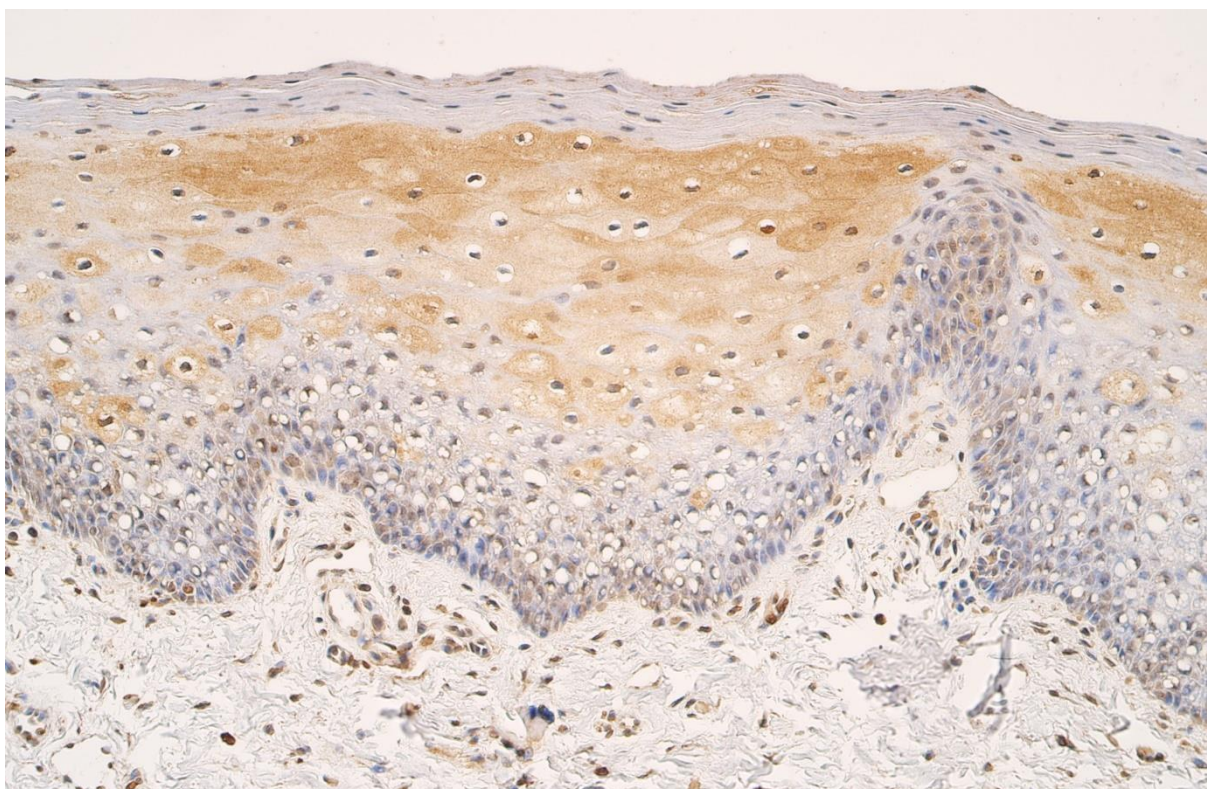
3.49. attēls. **WNT3A trūkums (0) epitēlijā un saistaudu šūnās sešus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – lūpas plastika. WNT3A IMH, × 200**



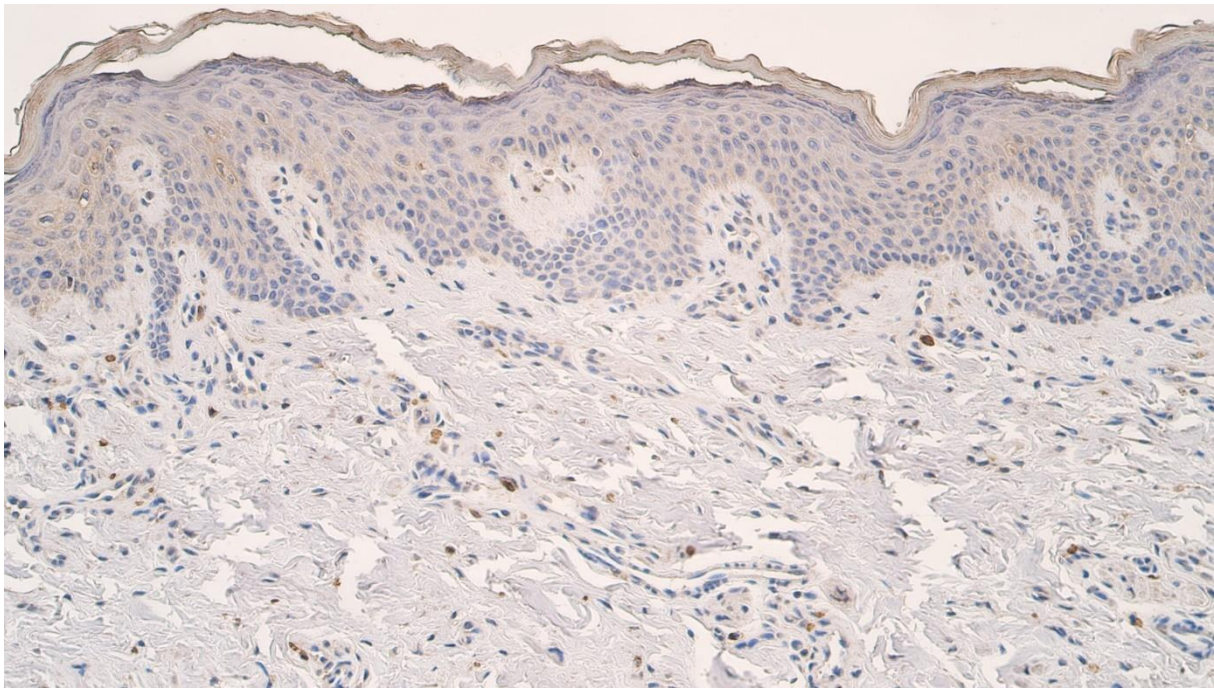
3.50. attēls. **Vidēji daudz (++) vāji pozitīvu WNT3A saturošu epitēlija un saistaudu šūnu desmit mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltņi – mīksto aukslēju plastika. WNT3A IMH, × 400**



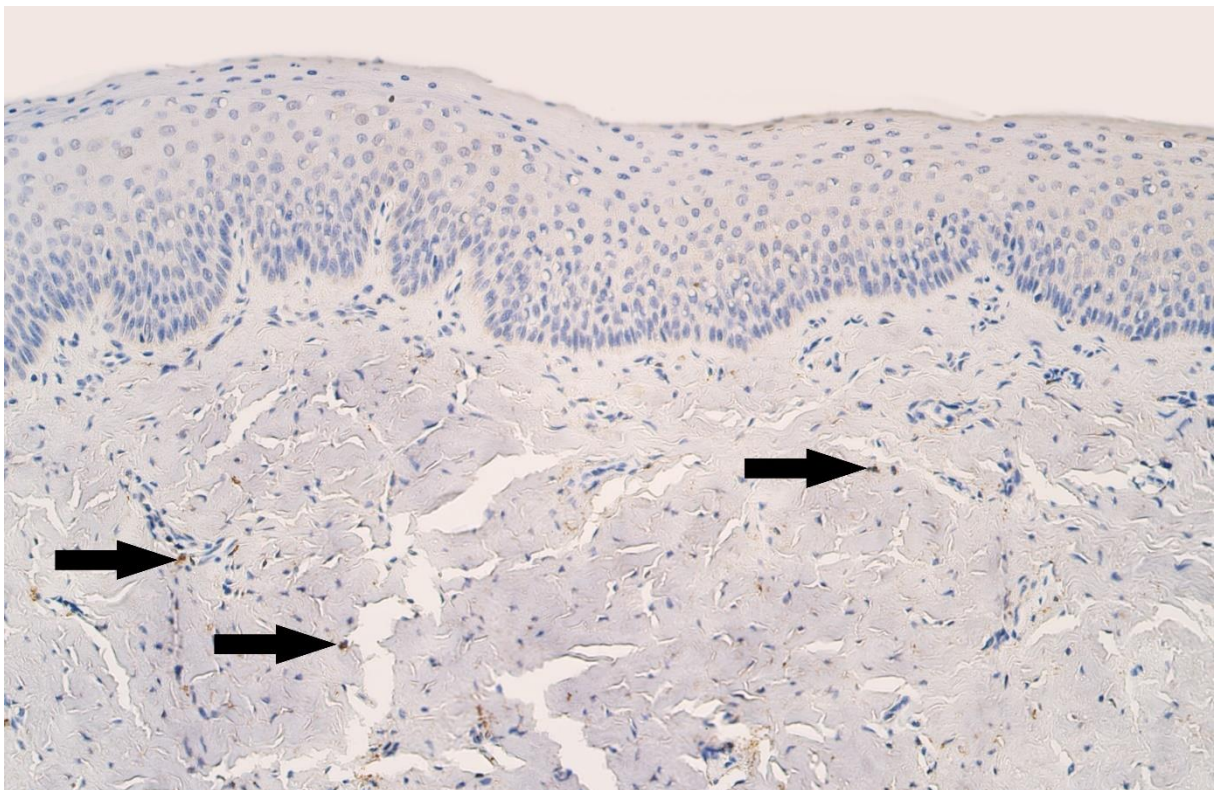
3.51. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) WNT9B pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu jaundzimušajam no otrās kontroles grupas – RSU AAI vēsturiskā kolekcija. WNT9B IMH, × 250



3.52. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (+/++) WNT9B pozitīvu epitēlija un saistaudu šūnu septiņus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienaspusēju lūpas, alveolārā izauguma un auslēju šķeltņi – lūpas plastika. WNT9B IMH, × 200



3.53. attēls. Maz līdz vidēji daudz (+/++) WNT9B pozitīvu saistaudu šūnu sešus mēnešus vecam pacientam ar caurejošu divpusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – lūpas plastika. WNT9B IMH, × 200



3.54. attēls. Vidēji daudz (++) vāji pozitīvu WNT9B saturošu epitēlijšūnu un maz (+) WNT9B pozitīvu saistaudu šūnu (bultiņas) desmit mēnešus vecam pacientam ar caurejošu vienaspusēju lūpas, alveolārā izauguma un aukslēju šķeltni – mīksto aukslēju plastika. WNT9B IMH, × 200

RSU Pētījumu ētikas komitejas lēmums Nr. 6-1/10/11 (24.09.2020.)

Veidlapa Nr. E-9(3)
 APSTIPRINĀTA
 ar Rīgas Stradiņa universitātes rektora
 2018. gada 26. septembra rīkojumu Nr. 5-1/238/2018

Rīgas Stradiņa universitātes
 Pētījumu ētikas komitejas
LĒMUMS
 Rīgā

24.09.2020.

Nr.6-1/10/ 11

	Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1	Profesors Olafs Brūvers	Dr.theo.	teologs
2	Asoc.prof. Santa Purviņa	Dr.med.	farmakologs
3	Asoc.prof. Voldemārs Arnis	Dr.biol.	rehabilitologs
4	Profesore Regīna Kleina	Dr.med.	patalogs
6	Asoc.prof. Viesturs Liguts	Dr.med.	toksikologs
7	Docente Iveta Jankovska	Dr.med.	ortodonts
8	Docents Kristaps Čircenis	Dr.med.	docētājs

Pieteikuma iesniedzējs/i: Mārtiņš Vaivads
 RSU Anaatomijas un antropoloģijas institūta
 Morfoloģijas katedra

Pētījuma / pētnieciskā darba nosaukums: “Gēnu un gēnu proteīnu izpēte šķeltnes skartos audos”.

Iesniegšanas datums: 20.09.2020.

Pētījuma protokols:

Izskatot augstāk minētā pētījuma pieteikuma materiālus (protokolu) ir redzams, ka pētījuma mērķis tiek sasniegts veicot no pacienta/dalībnieka nepieciešamo sejas audu materiālu paraugu ņemšanu, izdarot atbilstošas analīzes, pārbaudes, mērījumus, iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī izsaktot priekšlikumus. Personu (pacientu, dalībnieku) datu izmantošana, glabāšana, aizsardzība, informēta brīvprātīga piedalīšanās, anonimitāte un konfidencialitāte ir ievērota un nodrošināta. Līdz ar to pieteikums atbilst pētījuma ētikas prasībām.

Komitejas lēmums: piekrist pētījumam

Komitejas priekšsēdētājs Olafs Brūvers

Tituls: Dr. miss., prof.

Paraksts



I. Bēniņa
 67061596

RSU Ētikas komitejas lēmums 22.05.2003.

RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

Rīga, Dzirciema iela 16, LV-1007
Tel.409173

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Prof. L. Feldmane	Dr. habil. med.	patologs
2. Prof. J. Baltkājs	Dr.habil.med.	farmakologs
3. Prof. L.AberbergaAugškalne	Dr. habil.med.	fiziologs
4. Doc. E.Daugulis	Dr. med.	anesteziologs
5. Doc. I Bārene	Dr.pharm.	farmaceits
6. Asoc.prof. U.Teibe	Dr. biol.	fiziķis
7. Doc. M.Pūce	Dr.med.	ķirurgs

Pieteikuma iesniedzējs: M.Pilmane
RSU Anatomijas un antropoloģijas institūts

Pētījuma nosaukums: Augšanas reģenerācijas un kvalitātes marķieri iedzimto šķautņu patpģenēzē, diagnostikā un terapijas prognozē.

Iesniegšanas datums: 7.05.2003.

Izskatītie dokumenti :

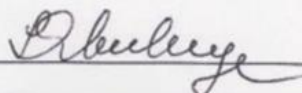
- (X) Pētījuma protokols:
- (X) Pētījuma veids: operatīvā materiāla fiksēto audu morfoloģiska izpēte
- (X) Pētījuma populācija: Lūpu, aukslēju un iedzimtu sejas šķautņu centra pacienti
- (X) Informācija par pētījumu
- (X) Piekrišana piedalīties pētījumā:

Citi dokumenti: SIA RSU Stomatoloģijas institūta direktores, Lūpu, aukslēju un iedzimtu sejas šķautņu centra vadītājas piekrišana

Lēmums: pozitīvs - piekrist biomedicīniskajam pētījumam.

Vārds, uzvārds: Līga AberbergaAugškalne Tituls: Dr.habil. med. prof.
priekšsēdētājs

Paraksts



Ētikas komitejas sēdes datums: 22.05.2003.



RSU Pētījumu ētikas komitejas lēmums Nr. 2-PĒK-4/492/2022 (21.11.2022.)

Veidlapa Nr. E-9(3)
APSTIPRINĀTA
ar Rīgas Stradiņa universitātes rektora
2018. gada 26. septembra rīkojumu Nr. 5-1/238/2018

Rīgas Stradiņa universitātes
Pētījumu ētikas komitejas
LĒMUMS
Rīgā

21.11.2022.

2-PĒK-4/492/2022

	Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1	Profesors Jānis Vētra	Dr.habil. med.	Morfoloģijas katedra
2	Asoc. Prof. Zanda Daneberga	Dr.med.	OI Molekulārās ģenētikas laboratorijas vadītāja
3	Asoc. Prof. Anita Vētra	Dr.med.	Rehabilitācijas katedras vadītāja
4	Profesore Ingrīda Čēma	Dr.habil. med.	Mutes medicīnas katedras vadītāja
5	Docente Anna Junga	Dr.med.	Morfoloģijas laboratorijas vadītāja
6	Vadošā pētniece, docente Karina Palkova	Ph.D.	Advokāte, Doktora studiju programmas vadītāja
7	Marina Siņkovska		Datu drošības un pārvaldības nodaļas vadītāja

**Pieteikuma
iesniedzējs/i:****Laura Sabīne Taurmane, Medicīnas
fakultāte****Pētījuma / pētnieciskā
darba
nosaukums:**Lūpas un aukslēju ausu aizsardzības faktoru
variācijas III trimestra augļiem un nedzīvi
dzimušiem bērniem**Pētījumu ētikas
komitejas sēdes
datums:**

27.10.2022.

**Pētījuma
protokols:**

Izskatot augstāk minētā pētījuma pieteikuma materiālus, t.sk., protokolu, secinām, ka pētījuma mērķi - izpētīt lūpas un aukslēju ausu morfoloģijas variācijas augļiem III trimestrī un nedzīvi dzimušiem bērniem AAI vēsturiskās kolekcijas materiālā, ir paredzēts sasniegt, veicot III trimestra augļu un nedzīvu dzimušu bērnu (10 gadījumi) ausu materiālu izpēti, iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī publiskojot iegūtos rezultātus. Pētījums ir retrospektīvs, jo audi tiks paņemti no AAI vēsturiskās kolekcijas (50-100 gadu vecā), jau fiksētiem mirušu augļu un nedzīvi dzimušu bērniņu audiem. Līdz ar to pieteikums atbilst pētījuma ētikas prasībām.

**Komitejas
lēmums:****Piekrīst** pētījuma īstenošanaiKomitejas priekšsēdētājs Jānis Vētra
profesors.

Tituls: Dr.habil. med.,

ŠIS DOKUMENTS IR ELEKTRONISKI PARAKSTĪTS AR DROŠU
ELEKTRONISKO PARAKSTU UN SATUR LAIKA ZĪMOGUK. Kaņķe
Tālrunis: 26691306